

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

KLEMENTINA KOZODERC

**MAGISTRSKA NALOGA**  
**MAGISTRSKI ŠTUDIJ INDUSTRIJSKE FARMACIJE**

Ljubljana, 2017

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

KLEMENTINA KOZODERC

**PROUČEVANJE STISLJIVOSTI DELCEV POLIMORFNIH OBLIK  
TOLBUTAMIDA**

**COMPRESSIBILITY AND COMPACTIBILITY STUDY OF TOLBUTAMIDE  
POWDER**

Ljubljana, 2017

Diplomsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom doc. dr. Biljane Janković. Slike vrstične elektronske mikroskopije smo posneli na Kemijskem inštitutu.

## **Zahvala**

*Zahvaljujem se izjemni mentorici, doc. dr. Biljani Janković, ki je bila vedno pripravljena priskočiti na pomoč. Iskrena hvala za vsestransko pomoč, vse nasvete in vodenje pri eksperimentalnem delu ter pisanju magistrske naloge. Zahvaljujem se tudi vsem ostalim prisotnim v laboratorijih Katedre za farmacevtsko tehnologijo za koristne nasvete. Zahvala Tatjani Joksimović, mag. farm. za usmerjanje ter dobavo materiala, asist. dr. Zoranu Lavriču za zajem slik na vrstičnem elektronskem mikroskopu in doc. dr. Iliji Iliću za pomoč pri obdelavi podatkov.*

*Zahvaljujem se družini, da mi je omogočila študij in Klemnu za potrpežljivost tekom nastajanja magistrske naloge.*

*In slednje, magistrsko nalogo posvečam v čast spominu na očeta.*

## **Izjava**

Izjavljam, da sem magistrsko nalogo samostojno izdelala pod vodstvom mentorice doc. dr. Biljane Janković.

Klementina Kozoderc

Predsednik komisije:izr. prof. dr. Robert Roškar

Član komisije: doc. dr. Matej Sova

# Vsebina

POVZETEK .....	I
ABSTRACT .....	II
SEZNAM OKRAJŠAV .....	IV
1 UVOD .....	1
1.1 MEHANSKE LASTNOSTI SNOVI IN PROCES STISKANJA PRAŠKOV .....	1
1.1.1 PROCES STISKANJA PRAŠKOV .....	1
1.1.2 PROUČEVANJE KOMPRESIBILNOSTI PRAŠKOV .....	3
1.1.3 ŠTUDIJ KOMPAKTIBILNOSTI .....	5
1.2 TABLETIRANJE VEČKOMPONENTNIH ZMESI .....	7
1.2.1 KLASIFIKACIJA POMOŽNIH SNOVI GLEDE NA NJIHOVE MEHANSKE LASTNOSTI .....	7
1.2.1.1 KOMPRESIBILNOST PLASTIČNO DEFORMIRAJOČIH SE SNOVI .....	8
1.2.1.2 KOMPRESIBILNOST FRAGMENTIRAJOČIH SE SNOVI .....	8
1.2.1.3 KOMPRESIBILNOST BINARNE ZMESI DVEH PLASTIČNO DEFORMIRAJOČIH SE SNOVI .....	8
1.2.1.4 KOMPRESIBILNOST BINARNE ZMESI DVEH FRAGMENTIRAJOČIH SE SNOVI .....	8
1.2.1.5 KOMPRESIBILNOST BINARNE ZMESI PLASTIČNO DEFORMIRAJOČE SE SNOVI IN FRAGMENTIRAJOČE SE SNOVI .....	9
1.2.2 SODOBNI PRISTOP KLASIFIKACIJE DEFORMACIJSKIH LASTNOSTI PRAHOV .....	9
1.3 POJAVNE OBLIKE TRDNIH SNOVI IN NJIHOVE LASTNOSTI .....	10
1.3.1 KRISTALIZACIJA IN NJEN NADZOR .....	12
1.4 TOLBUTAMID .....	13
2 NAMEN DELA .....	14
3 MATERIALI IN METODE .....	15
3.1 MODELNA ZDRAVILNA UČINKOVINA ZA PROUČEVANJE POLIMORFIZMA- TOLBUTAMID .....	15
3.2 ZDRAVILNA UČINKOVINA IN POMOŽNE SNOVI ZA TABLETIRANJE .....	17
3.3 TOPILA .....	19
3.4 LABORATORIJSKA OPREMA IN NAPRAVE .....	20
3.5 METODE .....	20
3.5.1 DIFERENČNA DINAMIČNA KALORIMETRIJA .....	20
3.5.2 LASERSKA DIFRAKCIJA .....	21

3.5.3 DOLOČANJE MOČLJIVOSTI Z METODO SEDEČE KAPLJICE .....	21
3.5.4 DIREKTNO TABLETIRANJE .....	22
3.6 EKSPERIMENTALNO DELO.....	25
3.6.1 PRIPRAVA POLIMORFNIH OBLIK.....	25
3.6.2 VREDNOTENJE POLIMORFNIH OBLIK TOLBUTAMIDA .....	27
3.6.3 PRIPRAVA ZMESI ZA TABLETIRANJE.....	30
3.6.4 VREDNOTENJE ZMESI ZA TABLETIRANJE .....	31
3.6.5 TABLETIRANJE.....	32
3.6.6 VREDNOTENJE TABLET .....	32
3.6.6.1 VREDNOTENJE KOMPRESIBILNOSTI .....	34
3.6.6.2 VREDNOTENJE KOMPAKTIBILNOSTI .....	35
4 REZULTATI IN RAZPRAVA .....	36
4.1 PRIPRAVA POLIMORFNIH OBLIK TOLBUTAMIDA IN VREDNOTENJE.....	36
4.1.1 IDENTIFIKACIJA POLIMORFNIH OBLIK TBD .....	36
4.1.2 MOČLJIVOST POLIMORFNIH OBLIK TBD.....	38
4.1.3 FIZIKALNE LASTNOSTI PRAHOV POLIMORFNIH OBLIK TBD.....	39
4.1.4 MORFOLOGIJA DELCEV POLIMORFNIH OBLIK TBD.....	40
4.1.5 PRAVA GOSTOTA POLIMORFNIH OBLIK TBD IN PROUČEVANIH MEŠANICAH .....	41
4.2 VREDNOTENJE KOMPRESIBILNOSTI .....	42
4.2.1 KOMPRESIBILNOST PRAHOV POLIMORFNIH OBLIK TBD .....	42
4.2.2 KOMPRESIBILNOST ZMESI TBD IN IZBRANIH POMOŽNIH SNOVI .....	44
4.2.2.1 Zmesi z mikrokristalno celulozo .....	44
4.2.2.2 Zmesi s kalcijevim fosfatom dihidratom.....	45
4.2.2.3 Zmes s kapa-karagenanom .....	46
4.3 VREDNOTENJE KOMPAKTIBILNOSTI .....	47
4.3.1 KOMPAKTIBILNOST PRAHOV POLIMORFNIH OBLIK TBD .....	48
4.3.2 KOMPAKTIBILNOST ZMESI TBD IN IZBRANIH POMOŽNIH SNOVI.....	49
4.3.2.1 Zmesi z mikrokristalno celulozo .....	49
4.3.2.2 Zmesi s kalcijevim fosfatom dihidratom.....	50
4.3.2.3 Zmesi s kapa-karagenanom .....	51
5 SKLEP.....	53
6 VIRI.....	55

## POVZETEK

Za načrtovanje uspešnega procesa stiskanja večkomponentnih zmesi je pomembno poznavanje njihovih fizikalno-kemijskih lastnosti in interakcij med delci. Vsaka izmed vključenih snovi v zmes za tabletiranje izkazuje svojevrstno obnašanje pri procesu stiskanja in tako vpliva na lastnosti celotne zmesi. Znane lastnosti zdravilne učinkovine so nam v pomoč pri izbiri ustreznih pomožnih snovi za doseganje primerne stisljivosti tablet. S kristalizacijo iz topil smo pridobili polimorfne oblike tolbutamida I, II in III, ki smo jih identificirali z diferenčno dinamično kalorimetrijo. Proučevali smo stisljivost (kompresibilnost in kompaktilnost) polimorfnih oblik tolbutamida ter njegovih mešanic s pomožnimi snovmi, ki izkazujejo različne deformacijske mehanizme (mikrokristalna celuloza- plastična snov, kalcijev hidrogenfosfat dihidrat- fragmentirajoča se snov in kapa – karagenan- elastična snov). Na osnovi inverzne vrednosti Heckelovega koeficienta (mejni tlak stiskanja) smo klasificirali mehanske lastnosti snovi kot zelo žilave, žilave, zmerno krhke ali krhke. Na osnovi rezultatov je vrstni red plastičnosti polimorfnih oblik tolbutamida:  $II < III \approx I$  (zmerno krhke snovi). Enaka stopnja plastičnosti oblik I in III sovпада s podobnostjo njunih konformacij (U tip), ureditve vodikovih vezi in kristalnega pakiranja; medtem ko oblika II zavzema konformacijo stola, kot posledica torzijskih rotacij alkilnega repa. Posledično je plastičnost te snovi nižja. Stopnja kompaktilnosti polimorfnih oblik narašča:  $I < II < III$ . Pri zmesih z mikrokristalno celulozo plastičnost narašča v vrstnem redu:  $II < III < I$ . Razvrstimo jih kot žilave (I) in zmerno krhke (II in III). Zmes z obliko I je bolj plastična v primerjavi z mikrokristalno celulozo, medtem ko obliki II in III bistveno ne spremenita deformacijskih lastnosti mikrokristalne celuloze in obratno. Zmesi mikrokristalne celuloze z oblikama II in III imata stopnjo plastičnosti med mikrokristalno celulozo in preiskovano polimorfno obliko. Kompaktilnost le-teh si sledi:  $I < II < III$ . Pri zmesih s kalcijevim hidrogenfosfat dihidratom, plastičnost narašča v vrstnem redu:  $I < II \approx III$ , so bolj plastične kot sama pomožna snov in jih razvrstimo kot zmerno krhke. Stopnja kompaktilnosti le-teh je sledeča:  $II < III < I$ . 50% dodatek tolbutamida kapa-karagenanu ne spremeni njegove mehanske lastnosti glede na vrsto polimorfne oblike in zmesi razvrstimo kot zmerno krhke. Kompaktilnost zmesi s kapa- karagenanom narašča v vrstnem redu:  $I < III \approx II$ . V sklopu nadaljnjih proučevanj je smiselna identifikacija koncentracije vključene polimorfne oblike, ki ima največji vpliv na celotno obnašanje zmesi.

KLJUČNE BESEDE: tolbutamid, polimorfizem, deformacijske lastnosti

## ABSTRACT

Managing of successful compression process for multicomponent mixtures denotes evaluation of their physico-chemical properties and interactions between particles. Each of the substance involved in the formulation has a unique behaviour during compression, thus affecting the characteristics of the entire mixture. The known properties of the active pharmaceutical ingredients are helpful to select appropriate excipients for adequate compression step. Polymorphic forms of tolbutamide I, II and III have been prepared with solvent recrystallization process identified with differential scanning calorimetry. The main aim of the study was determination of compressibility and compactibility of tolbutamide polymorphic forms and their mixtures with excipients which exhibit different deformation properties (microcrystalline cellulose- plastic material, calcium phosphate dihydrate- brittle material and kappa-carrageenan- elastic material). Based on the inverse values of Heckel coefficients (yield pressure) we categorized mechanical characteristics of the materials as follows: very soft, soft, moderately hard or hard. Plasticity of tolbutamide polymorphs is ranked as:  $II < III \approx I$  (moderately hard materials). Similar plasticity of forms I and III are in agreement with the same conformation (U type), hydrogen bonds network and crystal packaging. On the other hand, chair conformation of form II as consequence of alkyl chain torsional rotations resulted in lower degree of plasticity. The degree of compactibility of the polymorphic forms increases as follows:  $I < II < III$ . For mixtures with microcrystalline cellulose plasticity increases in the order:  $II < III < I$ . Mixtures are classified as soft (I) and moderately hard (II and III). Mixture of microcrystalline cellulose and form I has a degree of plasticity greater than the excipient itself while forms II and III do not have significant influence on deformational behaviour of microcrystalline cellulose and vice versa. Mixture of microcrystalline cellulose and polymorphic forms II or III have a degree of plasticity between the microcrystalline cellulose and the investigated polymorphic form. Compactibility of microcrystalline cellulose mixtures is ranked as:  $I < II < III$ . Plasticity of mixtures with calcium hydrogen phosphate dihydrate increases in the order:  $I < II \approx III$  and can be classified as moderately hard. The degree of compactibility of mixtures with calcium hydrogen phosphate dihydrate is as follows:  $II < III < I$ . 50% addition of tolbutamide to kappa-carrageenan does not change its mechanical characteristics, mixtures are classified as moderately hard. Compactibility of mixtures with kappa-carrageenan increases in the order:  $I < III \approx II$ . Follow up study would include identification of the concentration of polymorphic

forms included in the formulation, which have the greatest impact to overall behaviour of the mixture.

KEY WORDS: tolbutamide, polymorphism, compression behaviour

## SEZNAM OKRAJŠAV

CHFD – kalcijev hidrogenfosfat dihidrat

$C_p$  – kompaktilnostni indeks, naklon premice

DSC – Diferenčna dinamična kalorimetrija

$K$  – Heckelova konstanta, dobljena iz naklona premice

MCC – mikrokristalna celuloza

$P$  – tlak stiskanja

$P_y$  – mejni tlak stiskanja

SEM – vrstična elektronska mikroskopija

SD – standardna deviacija

TBD – tolbutamid

ZU – zdravilna učinkovina

# 1 UVOD

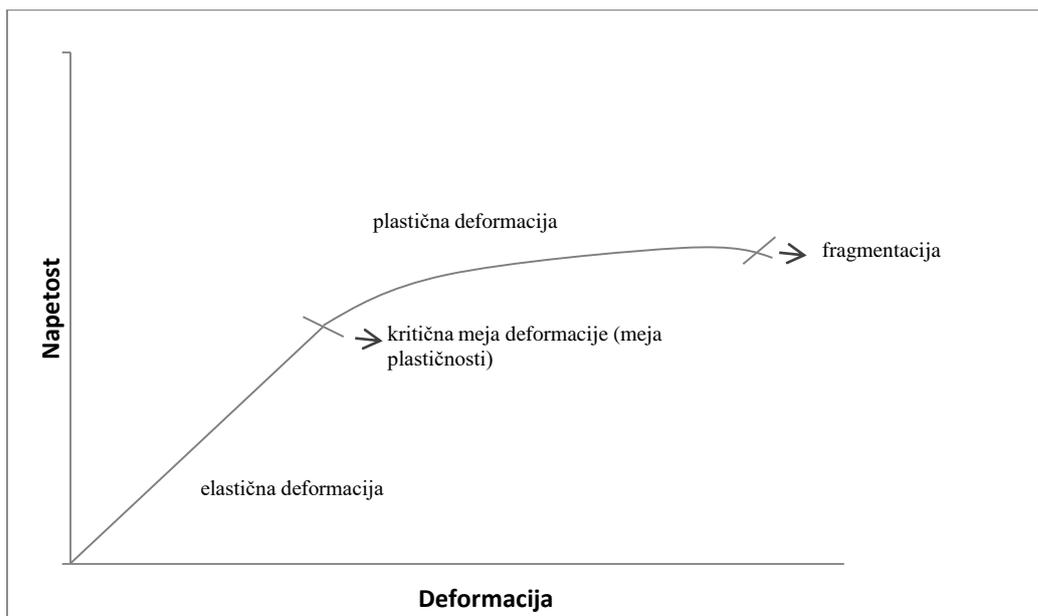
## 1.1 MEHANSKE LASTNOSTI SNOVI IN PROCES STISKANJA PRAŠKOV

Za načrtovanje uspešnega procesa stiskanja večkomponentnih zmesi je pomembno poznavanje njihovih fizikalno-kemijskih lastnosti in interakcij med delci različnih snovi. Znane lastnosti zdravilne učinkovine (ZU) so nam v pomoč pri izbiri ustreznih pomožnih snovi za doseganje izboljšane stisljivosti tablet (1, 2, 3).

### 1.1.1 PROCES STISKANJA PRAŠKOV

Pojem stisljivost pri procesu tabletiranja razdelimo na dve podpomenki in sicer: kompresibilnost in kompaktilnost. Kompresibilnost označuje sposobnost zmanjševanja volumna zmesi (poroznosti) pri delovanju tlaka stiskanja. Kompaktilnost pa pomeni sposobnost snovi, da tvori mehansko trdni komprimat, oziroma tableto (4, 5).

V fizikalnem pogledu, zmes za tabletiranje lahko obravnavamo kot heterogeni dvo-fazni sistem, kjer kontinuirana plinska faza tvori porozno omrežje praznih prostorov med delci. Ko na nasutje delcev prične delovati tlak stiskanja, se aktivirajo različni mehanizmi stiskanja, ki sodelujejo pri procesu zmanjševanja volumna. Po začetni fazi polnjenja v matrično vdolbino, je preureditev delcev v tesneje pakirane strukture, bistvenega pomena za nastanek kompakta pri nižjih tlakih stiskanja. Z naraščajočim tlakom je preurejanje delcev manjše, ker interpartikularno trenje prepreči nadaljnje interpartikularno gibanje. Pri določenem vnesenem tlaku stiskanja, delci dosežejo maksimalno strukturo tesnega pakiranja; t.j. dosežejo fiksno urejenost pri določeni relativni gostoti. Pri nadaljnjem povečanju tlaka stiskanja, snovi izrazijo upor proti deformaciji, pojavi se napetost znotraj delcev. Vsako nadaljnje zmanjševanje volumna je nato povezano s spremembami dimenzij delca, kot posledica plastične/elastične deformacije ali fragmentacije. Da omogočimo nastanek ireverzibilnih povezav med delci, moramo pri procesu stiskanja preseči t.i. kritično mejo deformacije (meja plastičnosti – ang. *Yield pressure*) (slika 1). Le-ta predstavlja določeno mejno napetost, nad katero lahko pride do ireverzibilne plastične deformacije in/ali fragmentacije delcev (6-8).



**Slika 1: Graf odvisnosti deformacije materialov od napetosti (obremenitve).**

Snovi, ki so krhke, lahko fragmentirajo v manjše enote, predvidoma že neposredno po začetni fazi preurejanja. Ti novonastali manjši delci se v nadaljevanju preurejajo in se pri povečevanju tlaka stiskanja deformirajo (elastično ali plastično) (6, 7, 8).

Omenjeni fizikalni procesi se pojavljajo v različnem obsegu pri različnih območjih tlaka stiskanja, kar je odvisno od velikosti delcev ter mehanskih lastnosti surovin. Vse snovi nimajo izraženih prevladujočih mehanizmov deformacije v različnih območjih stiskanja, med tem ko lahko nekatere zavzemajo več deformacijskih lastnosti hkrati (elasto-plastične lastnosti ali tendenco k lomljenju). Na stopnjo elastične in plastične deformacije ter fragmentacije vplivajo tudi naslednji pogoji: tlak stiskanja, rezidualni čas stiskanja in temperatura. Vpliv hitrosti tabletiranja je zlasti izražen pri viskoplastičnih oz. viskoelastičnih snoveh, katerih deformacija je časovno odvisna (9).

Polnjenje praznih prostorov por istega reda velikosti kot delci, se prične z drsenjem delcev drug ob drugem, za kar je potrebna elastična deformacija ali celo fragmentacija, oziroma plastični tok delcev. Polnjenje por, ki so znatno manjše od delcev zmesi, temelji na plastičnem toku ali fragmentaciji (10).

Ko prenehamo z delovanjem tlaka stiskanja, nastopi faza dekompresije, v kateri nastopi elastična relaksacija tablete. Ko je tableta še v matrični vdolbini in se odmakne zgornji pečat, relaksacija lahko poteče le v aksialni smeri, ko pride do izmeta tablete pa tudi v radialni smeri. Elastična relaksacija tablete je razvidna v povečanju njene debeline in premera. Le-ta

lahko povzroči prekinitev povezav med delci, zaradi katere pride do razslojevanja tablete (laminacija, nastanek kopic) ter povečane krušljivosti robov (11, 12).

### 1.1.2 PROUČEVANJE KOMPRESIBILNOSTI PRAŠKOV

Da pridobimo informacije o kompresibilnosti prahov, spremljamo razmerje med tlakom stiskanja in poroznostjo tablete. Le-to nam omogoča napoved ustreznih tlakov stiskanja za želeno trdnost tablet in primerjavo kompresibilnosti med različnimi snovmi. Za proučevanje kompresibilnosti najpogosteje uporabljamo matematične modele, kot so Heckelov, Walkerjev in Adamsov model (3). Pri diplomski nalogi smo izbrali Heckelovo analizo za oceno kompresibilnosti ZU in zmesi, zato jo bomo podrobneje opisali v nadaljevanju.

- *Heckelova analiza*

Enačba, ki je osnova za Heckelov model temelji na predpostavki, da je zmanjšanje volumna nasutja delcev, ki se deformirajo plastično, analogno reakciji kinetike prvega reda. Pore predstavljajo reagente, produkt pa je zgoščevanje nasutja delcev. Matematično, model opisujemo kot linearno povezavo med naravnim logaritmom poroznosti tablete (kompakta) in tlaka stiskanja (1, 3, 4, 6).

$$-\ln(\varepsilon) = \ln\left(\frac{1}{1-D}\right) = -\ln\left(1 - \frac{\rho_{tbl}}{\rho_{prava}}\right) = K \cdot P + A \quad (\text{enačba 1})$$

$\varepsilon$  – poroznost tablete

$D$  – relativna gostota tablete (razmerje med navidezno in pravo gostoto pri določenem tlaku stiskanja)

$\rho_{tbl}$  – navidezna gostota tablete [ $\text{g/cm}^3$ ]

$\rho_{prava}$  – prava gostota zmesi za tabletiranje [ $\text{g/cm}^3$ ]

$K$  – Heckelova konstanta, dobljena iz naklona premice (enačba 1) [ $\text{MPa}^{-1}$ ]

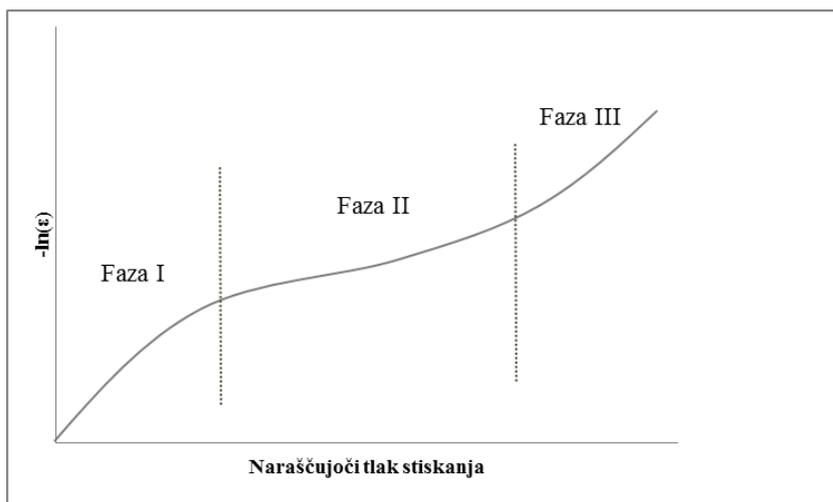
$P$  – tlak stiskanja [ $\text{MPa}$ ]

$A$  – konstanta, ki ponazarja prerazporejanje delcev, izračunana iz presečišča ekstrapoliranega linearnega dela z ordinato.

Za večino proučevanih snovi v farmaciji velja, da Heckelov diagram ni linearen na celotnem območju tlaka stiskanja (slika 2). Nelinearni odsek pri nizkih tlakih stiskanja, se pogosto pripisuje preurejanju delcev ali fragmentaciji (**faza I** na sliki 2). Iz naklona premice linearnega dela krivulje (**faza II**, slika 2, enačba 1) določimo konstanto  $K$ , ki je merilo plastičnosti snovi. Recipročno vrednost konstante  $K$  enačimo z najmanjšim tlakom, pri katerem se snov deformira plastično (mejni tlak stiskanja;  $P_y$ ) (enačba 2). V primeru, ko je vrednost  $P_y$  nizka, pride do plastične deformacije snovi pri nižjih tlakih stiskanja (1-4, 6).

$$P_y = \frac{1}{K} \quad (\text{enačba 2})$$

**Faza III**, ki je ponazorjena na sliki 2, prikazuje odstopanje od linearnega, osrednjega dela krivulje pri višjih tlakih stiskanja. V literaturi se pojavlja več razlag za le-to obnašanje, najpogosteje se odstopanje pripisuje: elastični deformaciji pečatov tabletirnega orodja, spremembi gostote kristalov in elastični relaksaciji snovi (6, 8, 13).



**Slika 2: Heckelov diagram - odvisnost spreminjanja negativnega naravnega logaritma poroznosti od tlaka stiskanja.**

Za pridobitev eksperimentalnih podatkov v okviru Heckelove analize, sta v splošnem uveljavljena dva pristopa: znotrajmatrična metoda (»in-die«) in izvenmatrična metoda (»out-die«). Znotrajmatrična metoda temelji na spremljanju podatkov o višini stolpca tabletno zmesi v matrični vdolbini, v odvisnosti od tlaka stiskanja. Prednost te metode je, da lahko hitro in relativno enostavno dobimo celoten Heckelov diagram pri iztisu le ene tablete.

Ampak, ker meritve potekajo tekom stiskanja tablete, elastična relaksacija, ki potencialno poteče po izmetu tablete, v okvir te metode ni zajeta. Podatek o plastičnosti snovi z izvenmatrično metodo dobimo po izmetu tablet. Običajno po 24 urah izmerimo debelino, premer in maso tablet ter nato izračunamo relativno gostoto in poroznost tablet (3, 8, 13).

### 1.1.3 ŠTUDIJ KOMPACTIBILNOSTI

Pod pojmom kompaktiranje razumemo tvorbo vezi med procesom stiskanja, ki omogočajo mehansko trdnost tablete. Visoka kompaktibilnost zmesi za tabletiranje pomeni, da je le-ta mehansko odporna in nima težnje po laminaciji ali tvorbi kapic. Glavna dejavnika, ki opredeljujeta kompaktibilnost praškov sta mehanizem vezave in površina, ki je na voljo za vezavo (ang. *total bonding area*). Na slednjo vplivajo predvsem lastnosti delcev, kot sta oblika in velikost. Delci z veliko specifično površino in nepravilnih oblik pripomorejo k nastanku tablet z večjo natezno trdnostjo. Na površino, ki je na razpolago za vezavo, vpliva tudi mehanizem deformacije. Med kompaktibilnostjo (Heckelova konstanta,  $K$ ) in kompaktibilnostjo praškov (natezna trdnost) lahko obstaja povezava, saj visoke vrednosti  $K$  kažejo na nastanek večjega števila stičnih točk med delci, ki bodo posledično prispevale k večji natezni trdnosti tablet (14, 15).

Pri stiskanju tablet je optimalno, da snov omogoča tvorbo mehansko robustnih komprimatov že pri zmernih tlakih stiskanja. Za oceno kompaktibilnosti zmesi za tabletiranje, najpogosteje spremljamo vpliv tlaka stiskanja v odvisnosti od natezne trdnosti tablet. Z ekstrapolacijo linearnega dela krivulje dobimo kompaktibilnostni indeks (enačba 3),  $C_p$ , ki številčno ponazarja kompaktibilnost snovi. Iz tega sledi, višja kot je vrednost  $C_p$ , bolj je snov kompaktibilna (5).

$$\sigma = C_p \cdot P + b \quad (\text{enačba 3})$$

$\sigma$  – natezna trdnost tablete [MPa ali N/mm<sup>2</sup>]

$C_p$  – kompaktibilnostni indeks, naklon premice

$P$  - tlak stiskanja [MPa]

$b$  - konstanta, dobljena iz presečišča ekstrapoliranega linearnega dela z ordinato

Pod mejo kritičnega tlaka stiskanja, tableta, ki odraža dovolj veliko mehansko trdnost, da bi jo obravnavali kot koherentno, ne bo nastala, t.j. prah tabletne zmesi se ne bo spremenil v

tableto. Nad mejo kritičnega tlaka za nastanek tablete, je natezna trdnost odvisna od tlaka stiskanja v približno linearnem odseku v določenem intervalu tlakov stiskanja. Nad tlakom stiskanja, ki ustreza nastanku tablet z ničelno poroznostjo, se natezna trdnost več ne povečuje in je tako dosežen stabilen plato natezne trdnosti (8, 16).

Vezi nastanejo na stikih med delci (interpartikularni stiki) ali na ploskvah stika tekom procesa stiskanja. Mehansko trdnost tablete definira seštevek prispevka moči vseh vezi, ki koherentno povezujejo molekule. Poglavitne povezave med delci so: medmolekularne privlačne sile (vodikove, van der Waalsove in elektrostatske sile), snovni mostički in mehanske zagozditve. Da se med delci tvorijo medmolekularne privlačne sile, je pomembna razdalja med njimi. Vodikove in van der Waalsove vezi so močnejše na kratkih razdaljah, medtem ko so elektrostatske sile daljnosežne. Pogoj za nastanek snovnih mostičkov je taljenje na stičnih površinah delcev, ki privede do njihove adhezije. Taljenje, kot posledica povzroči nastanek tekočinskih mostičkov, ki po ohlajanju kristalizirajo in tvorijo trdne mostičke. Večja možnost za nastanek mehanskih zagozditev je pri delcih nepravilnih oblik in hrapavih površin (npr. vlaknasta struktura mikrokristalne celuloze) (17).

Mehanizem nastanka vezi je odvisen od obnašanja zmesi za tabletiranje in značilnosti deformacije. V primeru plastičnih snovi, se razdalja med delci zmanjša zaradi ireverzibilne plastične deformacije, medtem ko fragmentirajoče se snovi, z lomom ali preurejanjem delcev, povečajo število novih površin za tvorbo vezi. Če snov izkazuje tendenco k elastični deformaciji, se zaradi relaksacije pretrgajo vezi med delci, ko prenehamo z delovanjem tlaka stiskanja (dekompresijska faza) (17).

Na kompaktilnost vplivajo prisotne nečistoče v snovi in vsebnost vlage. Vezana voda, kot del površinske molekulske strukture delcev lahko pripomore k nastanku vodikovih ali van der Waalsovih vezi med delci. Na drugi strani visoka vsebnost vlage pri visokih hitrostih tabletiranja vpliva na zmanjšanje natezne trdnosti tablete. Hitrost tabletiranja vpliva na kompaktilnost zlasti pri časovno odvisnih mehanizmih nastanka vezi. Pri plastično deformirajočih se snoveh je obseg deformacije manjši z večanjem hitrosti tabletiranja, medtem ko hitrost tabletiranja na kompaktilnost fragmentirajočih se snovi ne vpliva znatno (18,19).

## 1.2 TABLETIRANJE VEČKOMPONENTNIH ZMESI

Vsaka izmed vključenih snovi v formulacijo izkazuje svojevrstno obnašanje pri procesu stiskanja in tako vpliva na lastnosti celotne zmesi za tabletiranje ter končno na mehansko trdnost izdelanih tablet. Pri stiskanju večkomponentnih zmesi je potrebno namreč upoštevati tudi interakcije med snovmi, zato ni vedno pravilo, da lahko na podlagi proučevanja stisljivosti posameznih komponent, napovemo lastnosti stiskanja zmesi. Zlasti le-ta povezava ni izražena pri zmesih za tabletiranje, ki imajo različne mehanizme deformacije (npr. plastična snov/ snov, ki fragmentira) (20).

### 1.2.1 KLASIFIKACIJA POMOŽNIH SNOVI GLEDE NA NJIHOVE MEHANSKE LASTNOSTI

Kadar imamo formulacije, ki vsebujejo visoke odmerke ZU, ima le-ta večji vpliv na proces stiskanja, v primerjavi z nizkoodmernimi formulacijami. Pogosto uporabljamo pomožne snovi, s katerimi izboljšujemo neustrezne mehanske lastnosti same ZU. V preglednici I je prikazana klasifikacija pogosto uporabljenih pomožnih snovi za direktno tabletiranje, glede na mehanske lastnosti (21).

#### Preglednica I: Klasifikacija pomožnih snovi glede na njihove mehanske lastnosti (22-25)

Pomožna snov		
Plastična	Elastična	Fragmentirajoča
<ul style="list-style-type: none"><li>• Mikrokristalna celuloza</li><li>• Koruzni škrob</li><li>• Stearinska kislina</li><li>• Natrijev klorid</li><li>• Polivinilpirolidon</li><li>• Sorbitol</li><li>• Alginska kislina</li><li>• Natrijev alginat</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Karagenani (kapa, iota, lambda)</li><li>• Natrijev škrobni glikolat</li><li>• Kopovidon</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Dikalcijev fosfat dihidrat</li><li>• Magnezijev karbonat</li><li>• Kalcijev karbonat</li><li>• Laktoza</li><li>• Manitol</li><li>• Natrijev citrat</li><li>• Saharoza</li></ul>

### ***1.2.1.1 KOMPRESIBILNOST PLASTIČNO DEFORMIRAJOČIH SE SNOVI***

Kompresibilnost plastično deformirajočih posameznih snovi smo podrobneje opisali v podpoglavjih 1.1.1 in 1.1.2. Zaradi plastičnega toka se površina stika med sosednjimi delci, ki se deformirajo plastično, enakomerno povečuje, kot funkcija tlaka stiskanja (26-30).

### ***1.2.1.2 KOMPRESIBILNOST FRAGMENTIRAJOČIH SE SNOVI***

Pri stiskanju dikalcijevega fosfata dihidrata ali laktoze, kot predstavnikov fragmentirajočih se snovi, se površina delcev znatno poveča zaradi lomljenja le-teh, zlasti v zgodnjih fazah stiskanja. V poznejših fazah, fragmentacija manjših delcev postane vse težja, saj je potrebno več energije za iniciacijo loma delcev. Slednje se odraža na obliki Heckelove krivulje fragmentirajočih se snovi, saj konsolidacija in zgoščevanje poteče zaradi obsežnega preurejanja že pri nizkih tlakih stiskanja. Zaradi fragmentacije se poveča število točk stika med delci, v določeni točki pa nadaljnje vnesena obremenitev nima več vpliva (26).

### ***1.2.1.3 KOMPRESIBILNOST BINARNE ZMESI DVEH PLASTIČNO DEFORMIRAJOČIH SE SNOVI***

Za stiskanje zmesi dveh plastično deformirajočih se snovi je mogoče linearno napovedati obnašanje zmesi. Plastična deformacija je odvisna od velikosti in trajanja obremenitve na stikih med delci. Med stiskanjem, se obseg deformacije posameznih delcev večja, ko vnesena obremenitev zaradi tlaka stiskanja preseže mejo plastičnosti delcev (slika 1). Celokupna deformacija zmesi prahov poteka enakomerno in obnašanje pri stiskanju zmesi dveh plastično deformirajočih se snovi lahko obravnavamo kot seštevek obnašanja posameznih komponent v skladu z njihovim deležem v zmesi (26).

### ***1.2.1.4 KOMPRESIBILNOST BINARNE ZMESI DVEH FRAGMENTIRAJOČIH SE SNOVI***

V primeru stiskanja dveh fragmentirajočih se snovi, kot sta dikalcijev fosfat dihidrat in laktoza, ima slabše stisljiv dikalcijev fosfat dihidrat višji  $P_y$  ter večji vpliv na celokupno stisljivost zmesi. V osnovi je fragmentacija krhkih materialov odvisna le od velikosti obremenitve. Kadar je presežena meja plastičnosti, se pojavi fragmentacija. Če je napetost premajhna, struktura ostane nespremenjena. Manj deformabilni delci dikalcijevega fosfata dihidrata v binarni zmesi tvorijo kontinuirano omrežje ali skelet, ki preprečuje fragmentacijo

hitreje deformirajočih se delcev (laktoze). Na ta pojav imajo vpliv tudi razlike v velikosti delcev med posameznimi komponentami in delež le-teh v zmesi (26).

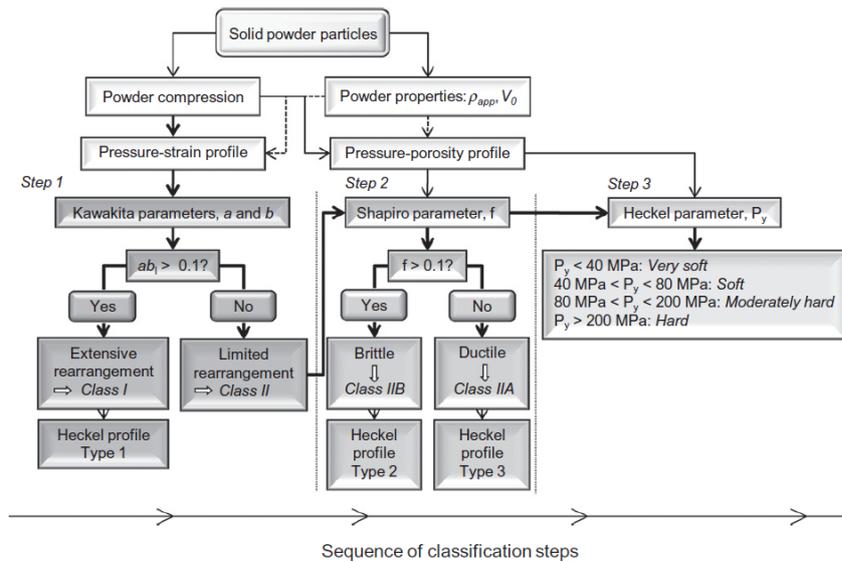
#### ***1.2.1.5 KOMPRESIBILNOST BINARNE ZMESI PLASTIČNO DEFORMIRAJOČE SE SNOVI IN FRAGMENTIRAJOČE SE SNOVI***

Heckelove krivulje za zmesi plastično deformirajoče se in fragmentirajoče snovi v študiji Ilke in Peronena nakazujejo, da se lahko zmesi obnašajo kot intermediati (vmesni materiali) med krivuljami posameznih snovi ali pa ima ena izmed komponent zmesi večji vpliv na zgoščevanje zmesi, v primerjavi z drugo (26).

Narava plastične deformacije prevladuje pri obnašanju binarne zmesi plastično deformirajoče se in fragmentirajoče se snovi, vsaj kadar je koncentracija plastične komponente večja (28).

#### **1.2.2 SODOBNI PRISTOP KLASIFIKACIJE DEFORMACIJSKIH LASTNOSTI PRAHOV**

Iz podatkov o stiskanju nasutja delcev so Nordström in sodelavci kategorizirali deformacijske lastnosti farmacevtskih materialov glede na preurejanje delcev in plastično deformacijo oziroma fragmentacijo delcev (35). Na sliki 3 je prikazan shematski pregled načina klasifikacije deformacijskih lastnosti prahov. V klasifikaciji je nasutje delcev najprej opredeljeno glede na nagnjenost k preurejanju delcev (razred I ali II), nato sledi razvrstitev v podrazrede na podlagi tendence k fragmentaciji delcev med procesom stiskanja (razred A ali B). Končna razvrstitev temelji na podlagi prevladujočih mehanskih lastnosti delcev tekom stiskanja, t.j. plastičnost in nagnjenost k fragmentaciji. Na podlagi parametra  $P_y$ , je snov opredeljena kot: zelo žilava, žilava, zmerno krhka ali krhka (35).



Slika 3: Shematski pregled klasifikacije za oceno mehanskih lastnosti snovi pri stiskanju (38). Kawakita in Shapiro sta parametra za merilo plastičnosti.

### 1.3 POJAVNE OBLIKE TRDNIH SNOVI IN NJIHOVE LASTNOSTI

Trdne snovi lahko opredelimo kot kristalne s pravilno razporeditvijo molekul v treh dimenzijah ali kot amorfne, ki nimajo daljnosežne urejenosti. Razlike v fizikalnem stanju snovi se posledično odražajo v različnih fizikalno- kemijskih lastnostih kristalnih in amorfni snovi. Slednje se praviloma hitreje raztapljajo v primerjavi s kristalnimi snovmi, vendar so le redko prisotne v farmacevtskih oblikah, zaradi slabše fizikalne in kemijske stabilnosti (36).

Kristalna struktura in morfologija definirata fizikalne in mehanske lastnosti prahov in tako določata njihovo obnašanje pri farmacevtsko-tehnoloških procesih. Napoved mehanskih lastnosti v pomenu obnašanja pri tabletiranju omogoča izdelavo robustnih izdelkov (37). Ključne determinante mehanskega obnašanja kristalov so intermolekularne interakcije znotraj rešetke. Najpogostejše vezi med molekulami v organskih kristalih so vodikove vezi, ki tvorijo različne ureditve (npr. verige, planarne strukture in tri-dimenzionalna omrežja). Vodikove vezi so predvidoma glavni razlog za anizotropijo mehanskih lastnosti molekulskih kristalov in elastične relaksacije materiala. Število in vrste vodikovih vezi ter usmerjenost vezi v kristalu vplivajo na interakcijsko energijo med ravninami (37). Od nespecifičnih vezi so v kristalih lahko prisotne van der Walsove in  $\pi$ - $\pi$  vezi, ki pripomorejo k plastični deformaciji snovi.

Plastična deformacija v kristalih poteka z drsenjem dislokacij praviloma po najgostejših ravninah in v najgostejših smereh. Drsne ravnine, so ravnine v kristalu z najšibkejšimi intermolekularnimi interakcijami. Kombinacija drsne ravnine in smeri se imenuje drsni sistem. Plastična deformacija v drsnem sistemu se pojavi, ko strižna napetost prekorači kritično strižno napetost (mejo plastičnosti). Ravnine s šibkejšimi interakcijami so nagnjene k razkolu (ang. *cleavage*), kadar kristal fragmentira (37).

Poleg Youngovega modula elastičnosti in vtisne trdnosti, kot parametrov deformacijskih lastnosti materialov, so Shariare in sodelavci opisali tudi povezavo med medravninsko razdaljo (ang. *d-spacing*), elastično konstanto kristala ter vezavno energijo (ang. *attachment energy*) ter deformacijo kristalov (37).

Medravninska razdalja v osnovi definira relativno moč interakcij med ravninami. Lahko jo izračunamo glede na parametre osnovne celice kristala ali iz difraktograma rentgenske difraktometrije. Parameter lahko uporabljamo za identifikacijo glavnih površin rasti v kristalu in tako služi kot pokazatelj jakosti vezi med danim naborom ravnin; t.j. večja je medravninska razdalja, šibkejše so interakcije med ravninami (37).

Vezavna energija je definirana kot energija, ki se sprosti na eno molekulo, ko ena plast molekul kristalizira na površini kristala. Ta metoda se pogosto uporablja za napovedovanje morfologij kristala, ki temelji na hipotezi kinetike, da je stopnja rasti kristala določene površine sorazmerna z vezavno energijo. Nižja kot je vezavna energija na določeni kristalni ploskvi, šibkejše so interakcije med molekulami, t.j. ta lahko predstavlja drsno ravnino. V praksi je vezavna energija normalizirana glede na stično površino in je definirana kot specifična interakcijska energija. Pojav plastičnega toka ali fragmentacije kristalne snovi bo odvisna od velikosti energije, ki je potrebna za zdrs ravnin ali za odcepitev molekul s površine (odcepitvena napetost).

Zdrs je opredeljen z napetostjo za lateralno premestitev plasti, fragmentacija pa z energijo za odcepitev (ang. *detachment energy*). Kadar je snov podvržena obremenitvi, ima v splošnem dve možnosti za deformacijo: plastičen tok med ravninami z najnižjo vezavno energijo ali lomljenje na stičišču z najnižjo energijo za odcepitev. Če je energija za odcepitev manjša od napetosti za zdrs ravnine, nastane lom. Če je na drugi strani energija za zdrs ravnine nižja, se za snov pričakuje predominantno plastično obnašanje (37).

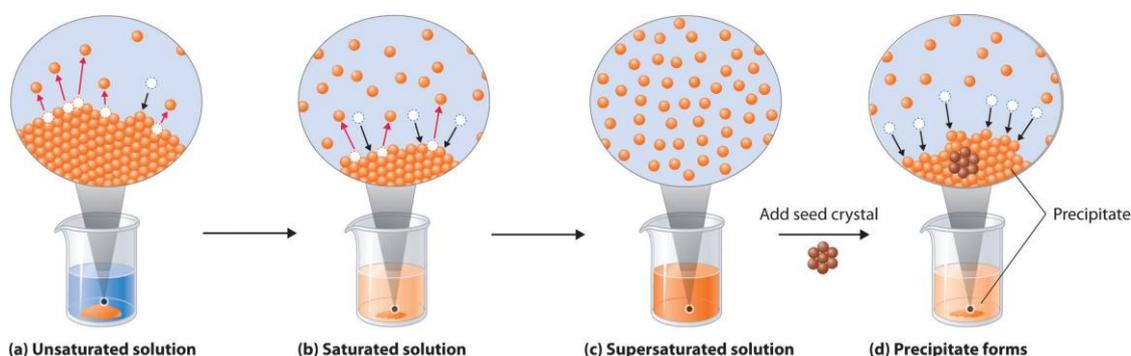
Krhki materiali izkazujejo malo ali nič plastične deformacije z nizko adsorpcijo energije med lomom, medtem ko žilave (plastične) snovi izkazujejo obsežnejšo plastično deformacijo z večjo absorpcijo energije (površina pod krivuljo na sliki 1) (37).

### 1.3.1 KRISTALIZACIJA IN NJEN NADZOR

Kristalizacija je v farmacevtski industriji pomemben postopek za čiščenje ali izolacijo tako ZU, kot pomožnih snovi. Predstavlja pomembno orodje za inženiring delcev, saj lahko z ustreznim vodenjem kristalizacije nadziramo kristalno obliko, velikost in obliko delcev. Zunanja dejavnika, s katerima lahko vplivamo na proces kristalizacije, sta izbor topila in stopnja prenasičenja (38, 39).

Prenasičen je brezdimenzijski parameter, ki ga uporabljamo za kvantifikacijo termodinamske gonilne sile za kristalizacijo. Kadar se raztopina nahaja v prenasičenem stanju, lahko poteče nukleacija in rast kristalov, v nasprotnem primeru se bodo obstoječi kristali raztopili. Za nastanek prenasičene raztopine je potrebno preseči topnost snovi, kar lahko eksperimentalno izvedemo z ohlajanjem raztopine, odparevanjem topila, dodatkom netopil in s spremembo pH (39, 40).

Nastanek kristalov iz prenasičene raztopine se prične z nukleacijo, ki je kinetični proces, tekom katerega poteče združevanje molekul in nastanek nanometrskih skupkov. Kadar nukleacija nastopi v odsotnosti površin kristalov (t.j. semen), govorimo o primarni nukleaciji. Primarna nukleacija je odvisna zlasti od treh parametrov: izbora topila (ki določa medfazno energijo med jedrom in raztopino), temperature in prenasičenja. V primerih, ko je za nadaljnji nastanek jeder kristalov potrebna prisotnost novih kristalov je nukleacija sekundarna (38, 40). Najpogosteje kristalizacijo izvajamo iz raztopin. Na sliki 4 je shematski prikaz kristalizacije iz raztopin.



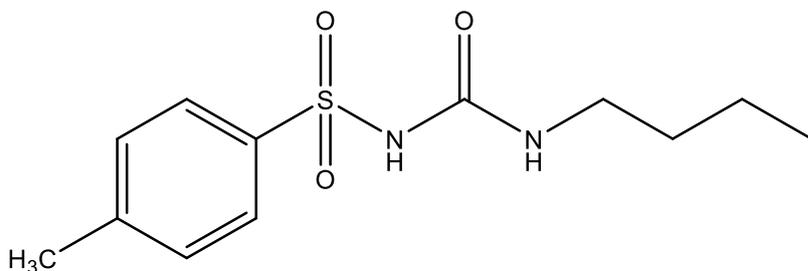
**Slika 4: Shematski prikaz kristalizacije iz raztopin. (a) nenasičena raztopina, (b) nasičena raztopina, (c) prenasičena raztopina, (d) nastanek kristalov (41).**

Ko trdni snovi dodamo topilo, v kateri je snov topna, delci topljenca zapustijo površino in se solvatirajo s topilom, kar opredeljujemo s poimenovanjem nenasičena raztopina. Ko se raztopi maksimalna količina topljenca, nastane nasičena raztopina. Z odstranjevanjem presežka topljenca (s filtracijo, znižanjem temperature) dobimo prenasičeno raztopino. Ko delci topljenca zapustijo raztopino bodisi zaradi primarne nukleacije bodisi nukleacija poteče zaradi prisotnosti semen (41).

Za nastanek kristalov iz raztopine je pomembna izbira ustreznega topila. Med seboj razlikujejo po polarnosti, dielektrični konstanti in razlikah pri tvorbi vodikovih vezi (donorji ali akceptorji) (42).

#### 1.4 TOLBUTAMID

Tolbutamid (*N*-(butilkarbamoil)-4-metilbensulfonamid, TBD) (slika 5) je predstavnik sulfonilsečnin in spada v prvo generacijo ZU za zdravljenje sladkorne bolezni tipa 2. Pot vnosa ZU v telo je peroralna in ima hipoglikemično delovanje. Stimulira beta celice trebušne slinavke k sproščanju inzulina, posledično izločanje inzulina upade. Hipoglikemični učinek je lahko tudi posledica zaviranja nastanka glukoze v jetrih in povečane občutljivosti na razpoložljiv inzulin (43, 44).



**Slika 5: Kemijska struktura molekule tolbutamida.**

Sulfonilsečnine, med katere sodi TBD, so podvržene polimorfizmu. V literaturi je navedena pojavnost TBD v različnih polimorfni oblikah: I, II, III, IV in V (glej podpoglavje 3.1). Med seboj se razlikujejo po zunanji morfologiji, stabilnosti in topnosti. Kristalna struktura je stabilizirana z vodikovimi vezmi med polarnimi skupinami in van der Waalsovimi vezmi med nepolarnimi skupinami (slika 5) (45-49).

## **2 NAMEN DELA**

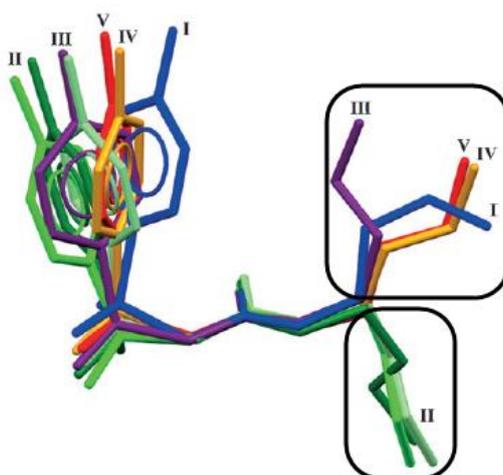
V okviru magistrske naloge bomo najprej pripravili različne polimorfne oblike TBD s postopki kristalizacije iz topil. Produkta kristalizacijskih postopkov bomo identificirali z diferenčno dinamično kalorimetrijo (DSC). Fizikalno-kemijske lastnosti polimorfnih oblik TBD bomo vrednotili z lasersko difrakcijo (porazdelitev velikosti delcev), metodo sedeče kapljice (močljivost), ter z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM) (morfologija kristalov). Proučevali bomo stisljivost (kompresibilnost in kompaktilnost) praškov polimorfnih oblik TBD ter njihovih mešanic s pomožnimi snovmi, ki izkazujejo različne deformacijske mehanizme. Izbrane pomožne snovi so: mikrokristalna celuloza (plastična snov), kalcijev hidrogenfosfat dihidrat (fragmentirajoča se snov) in kapa – karagenan (elastična snov). V ta namen bomo uporabili v literaturi znan matematični model (Heckelova analiza). Osnovni cilj magistrske naloge je ovrednotiti mehansko obnašanje polimorfnih oblik TBD ter glede na deformacijski mehanizem opredeliti ustrezno pomožno snov za proces stiskanja.

### 3 MATERIALI IN METODE

#### 3.1 MODELNA ZDRAVILNA UČINKOVINA ZA PROUČEVANJE POLIMORFIZMA- TOLBUTAMID

Za TBD je značilen konformacijski polimorfizem, ki ga pripisujemo fleksibilnosti centralnega dela molekule in alkilnega repa. To pomeni, da se lahko zaradi fleksibilnosti molekul, le-te zvijejo v različne oblike, ki se nato urejajo v različne kristalne strukture (49, 50).

Na sliki 6 so shematsko prikazane konformacijske polimorfne oblike TBD, ki so posledica razlik v kotih zasuka alkilnega repa in fenilnega obroča glede na centralni del molekule (46, 51).



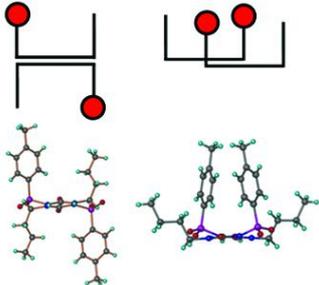
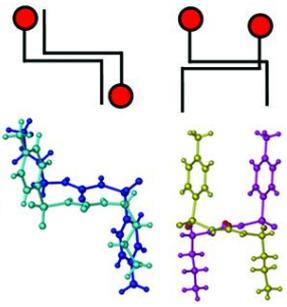
**Slika 6: Shematski prikaz polimorfnih oblik TBD I, II, III, IV in V (različni odtenki zelene ponazarjajo različne razporeditve oblike II) (51).**

Konformacijske polimorfe TBD lahko razdelimo na osnovi orientacije fenilne in alkilne skupine v centralni ravnini S-N1-C8-N2-C9 (Slika 5) na dva podtipa: U in stol (46). Pri konformaciji U, sta fenilni obroč in alkilni rep na isti strani centralne ravnine, medtem ko je pri konformaciji stola, orientacija omenjenih funkcionalnih skupin na nasprotnih straneh ravnine (slika 6). Dodatni konformacijski polimorfi TBD so posledica obsežnih torzijskih sposobnosti terminalne alkilne verige (uokvirjena predela na sliki 6). Oblike I, III in IV tako lahko zavzamejo različne konformacije U, medtem ko ima oblika II možnost obstoja v štirih različnih konformacijah stola. Zaradi razlik v konformaciji, se orientacije omrežja vodikovih

vezi med oblikami zelo razlikujejo in posledično ima vsaka polimorfna oblika drugačen režim strukturnega pakiranja (45, 51).

Sheme ureditve pakiranja molekul (preglednica II) je Thiruinari izrisal na osnovi kristalografskih podatkov, predstavljenih v preglednici III in orientacije fenilnega obroča ter alkilnega repa sosednjih molekul v omrežju vodikovih vezi. Npr. v primeru sheme A, sta sosednji molekuli urejeni tako, da fenilni obroč in alkilni rep molekule TBD leži na nasprotni strani ravnine S-N1-C8-N2-C9, medtem ko sta v primeru sheme B na isti strani ravnine (preglednica II) (42).

**Preglednica II: Shematski prikaz konformacijskih polimorfov TBD in sheme pakiranja polimorfnih oblik I, II, III in IV (povzeto po 42).**

Polimorfna oblika	Konformacijski tip	Shema konformacijskega tipa	Primeri možnih shem pakiranja polimorfne oblike
I ali III ali IV	U		 <p>A B</p>
II	Stol		 <p>C D</p>

A,B- možni shemi pakiranja polimorfov I, III in IV, C,D – možni shemi pakiranja polimorfa II

**Preglednica III: Povzetek kristalografskih podatkov polimorfnih oblik TBD: I, II, III in IV (povzeto po 42).**

Lastnosti kristalov	Oblika I	Oblika II	Oblika III	Oblika IV
Empirična formula	$C_{12}H_{18}N_2O_3S$			
Molekulska masa (g/mol)	230,24			
Habit kristala	Prizma	Ploščica	Iglica	Iglica
Kristalni sistem	Ortorombski	Monoklinski	Monoklinski	Monoklinski
Barva	Brezbarvna	Brezbarvna	Brezbarvna	Bela

### 3.2 ZDRAVILNA UČINKOVINA IN POMOŽNE SNOVI ZA TABLETIRANJE

- Tolbutamid, Sigma-Aldrich, Nemčija  
Komerčni TBD zavzema polimorfno obliko I in ima videz belega prahu.
- Mikrokristalna celuloza (Avicel® PH- 101), FMC BioPolymer, ZDA

Mikrokristalna celuloza (MCC) je delno prečiščena, depolimerizirana celuloza, pripravljena iz  $\alpha$ -celuloze tretirane z mineralnimi kislinami. Po čiščenju s filtracijo, končni produkt pridobivajo s postopkom sušenja z razprševanjem vodne raztopine. Nastali produkt je mikrokristaliničen, bel prašek iz aglomeriranih poroznih mikrovlaknen. Pri vključevanju v formulacijo tablet lahko služi kot: vezivo, polnilo, razgrajevalo ali antiadheziv. Prevladujoči mehanizem njene deformacije pri obremenjevanju je plastična deformacija. Komerčno so dostopne različne vrste MCC, ki se razlikujejo predvsem po velikosti delcev, vsebnosti vlage

in pretočnih lastnostih (52, 53). Rezultati iz certifikata analiz uporabljene serije so prikazani v preglednici IV (54).

**Preglednica IV: Rezultati iz certifikata analiz uporabljene serije AvicelA® PH- 101.**

Avicel® PH- 101	d 10 (µm)	d 50 (µm)	d 90 (µm)	IPS (%)
<b>Rezultati</b>	21	55	122	3,7

IPS – izguba pri sušenju

- Kalcijev hidrogenfosfat dihidrat, Innophos, ZDA

Kalcijev hidrogenfosfat dihidrat (CHFD) je kristalinična, bela, trdna snov, pripravljena z reakcijo fosforne kisline in kalcijevega hidroksida v stehiometrijskem razmerju v vodni raztopini. Je najpogosteje uporabljena anorganska sol, kot pomožna snov v farmaciji. Pri procesu direktnega tabletiranja izkazuje odlične pretočne lastnosti, a ima kot taka nekatere slabosti, kot sta nizka kompresibilnost in visoka abrazivnost. Prevladujoči mehanizem deformacije ob obremenjevanju je fragmentacija (55, 56). Rezultati iz certifikata analiz uporabljene serije so prikazani v preglednici V (57).

**Preglednica V: Rezultati iz certifikata analiz uporabljene serije kalcijevega hidrogenfosfata dihidrata.**

CHFD	Sejalna analiza sito 0,8 mm	Sejalna analiza sito 0,16 mm	Sejalna analiza sito 0,045 mm
<b>Rezultati</b>	>95 %	< 60%	< 5 %

- Kapa – karagenan (Gelcarin® GP812), FMC BioPolymer, ZDA

Karagenani so naravni polisaharidi, ekstrahirani iz alg razreda *Rhodophyceae* in izkazujejo lastnosti hidrokolidov. Kemijsko so sestavljeni iz sulfatnih estrov galaktoze ter 3,6-anhidrogalaktoznih kopolimerov. Glede na naraščajočo vsebnost sulfatnih estrov in 3,6-

anhidrogalaktoze ločimo 3 podvrste karagenanov: kapa < iota < lambda. Kapa- karagenan ima povprečno eno sulfatno skupino na eno disaharidno enoto.

Visoko substituirani lambda karagenan ne gelira, ostala predstavnika pa to sposobnost imata. Razlike se kažejo tudi v tališču in sposobnosti vezave vlage. V trdnih farmacevtskih oblikah se karagenani uporabljajo kot veziva, pospeševalci krogliččenja pelet, možnost tvorbe gela pa se izkorišča tudi za doseganje nadzorovanega sproščanja. Kapa- karagenan je na izgled rumenkast oz. rumeno-rjav fin prah. Prevladujoči mehanizem deformacije pa je elastična deformacija (58 - 61).

- Magnezijev stearat, Lex, d.o.o., Slovenija

Magnezijev stearat se pridobiva z interakcijo vodne raztopine magnezijevega klorida z natrijevim stearatom ali kot produkt reakcije magnezijevega oksida/ karbonata/ hidroksida s stearinsko kislino. Najpogostejše se uporablja kot drsilo v formulacijah tablet. Njegova funkcije predstavljajo izboljšanje pretočnih lastnosti zmesi za tabletiranje (zmanjša trenje med delci) ter lepljenja tabletne zmesi na pečate. Z blaženjem trenja med delci in steno matrične vdolbine izboljša porazdelitev gostote v tableti. V formulacije vstopa v količinah med 0,5 in 4%, saj je snov z nizko površinsko energijo. Presežek snovi namreč zniža van der Waalsove interakcije in tako vpliva na nastanek manj trdnih tablet. Pri procesu mešanja tabletne zmesi in magnezijevega stearata, le-ta tvori film na površini delcev tabletne zmesi in zapolni prazne prostore med njimi. Zaradi hidrofobne narave, nastali film zmanjša močljivost površine tablete in hitrost raztapljanja tablet (13, 17, 63, 64).

### **3.3 TOPILA**

- Acetonitril, J.T. Baker, ZDA
- Metanol suhi, SeccoSolv<sup>®</sup>, Merck, ZDA
- Etanol (96 %), Kefolab, Slovenija
- Diklorometan, EMSURE<sup>®</sup>, Merck, ZDA
- Etilacetat, EMSURE<sup>®</sup>, Merck, ZDA
- Tetrahidrofuran, LiChrosolv<sup>®</sup>, Merck, ZDA
- Prečiščena voda, pripravljena na Fakulteti za farmacijo

### **3.4 LABORATORIJSKA OPREMA IN NAPRAVE**

- steklovina (bučke z okroglim dnom, merilni valji, čaše, liji, petrijevke)
- hladilnik za kondenzacijo par
- merilne pipete
- kalota
- filter papir (grade: 388), Sartorius stedim
- analitske tehtnice: Mettler Toledo AG245 (Mettler Toledo, Švica), Sartorius AX224 (Sartorius mechatronics, Nemčija)
- precizne tehtnice: Mettler Toledo XS205 (Mettler Toledo, Švica), Sartorius CPAA2025 (Sartorius mechatronics, Nemčija)
- vakuumski sušilnik Heraeus (Thermo Fisher Scientific, ZDA)
- diferenčni dinamični kalorimeter DSC 1 Star<sup>e</sup> System, Mettler Toledo, Švica
- laserski difraktometer, Mastersizer S, Malvern, Velika Britanija
- ultrazvočna kopel
- ročna hidravlična stiskalnica, Graseby Specac, Velika Britanija
- naprava za merjenje stičnega kota, Drop Shape Analysis System DSA 100 Contact Angle Meter, KRUSS, Nemčija
- helijev piknometar, AccuPyc 1330 Pycnometer, Micromeritics, ZDA
- mešalnik Inversina Tumbler Mixer 2l, Bioengineering, Švica
- hidravlična tabletirka na udarec, Killian SP 3000, IMA, Nemčija
- precizno digitalno kljunasto merilo PMS 150 M 823-160
- naprava za določanje trdnosti tablet, Tablet hardness tester VK 200, Vanderkamp, ZDA

### **3.5 METODE**

#### **3.5.1 DIFERENČNA DINAMIČNA KALORIMetriJA**

Diferenčna dinamična kalorimetrija sodi v skupino tehnik namenjenih termični analizi. V okviru termične analize proučujemo lastnosti snovi, ki so funkcija toplotnega toka. Natančneje, diferenčni dinamični kalorimeter meri razliko v toplotnih tokovih med vzorčnim in referenčnim lončkom, pri definiranem temperaturnem programu. Z integracijo površine krivulje izmerjenega toplotnega toka v odvisnosti od temperature izračunamo energijo, ki se pri določenem termičnem učinku porabi ali sprosti (sprememba entalpije). Rezultat meritev

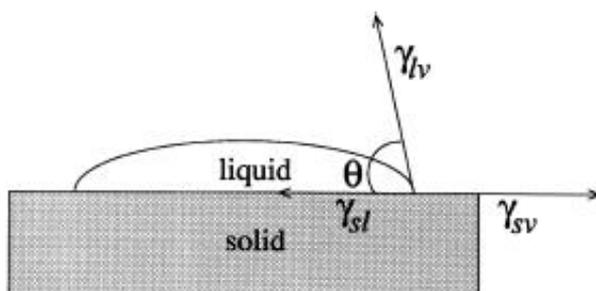
z DSC je sprememba entalpije v določenem temperaturnem intervalu, kar nam omogoča vrednotenje termičnih učinkov vzorca kot so: izhlapevanje, temperatura tališča, steklasti prehod, termična stabilnost, identifikacijo polimorfnih oblik in prehodov med njimi, in prisotnost nečistot (65).

### 3.5.2 LASERSKA DIFRAKCIJA

Laserska difrakcija je metoda, ki omogoča meritve velikosti delcev in njihove porazdelitve. Sodobne naprave omogočajo meritve velikega razpona velikosti delcev od 0,01  $\mu\text{m}$  do 3500  $\mu\text{m}$ . Meritev temelji na potovanju laserskega žarka skozi dispergirani vzorec v toku zraka ali topilu. Razlike v porazdelitvi velikosti delcev se kažejo v spremembah kotov intenzitete sipane svetlobe. Majhni delci sipajo svetlobo pri večjih kotih, med tem ko je v primeru velikih delcev, kot sipanja svetlobe manjši. Nato sledi obdelava podatkov, ki temelji na podlagi Mie-vega algoritma za sipanje svetlobe. Slednji predpostavlja, da so delci sferični, kar v realnih sistemih vedno ne drži. Iz volumna, ki ga zaseda delec, izračunamo premer krogle, ki predstavlja volumski ekvivalent delca. Rezultat obdelave je volumska porazdelitev posameznih velikosti delcev (66).

### 3.5.3 DOLOČANJE MOČLJIVOSTI Z METODO SEDEČE KAPLJICE

Močljivost vrednotimo z merjenjem stičnega kota. Ko kapljico tekočine kanemo na trdno površino, stični kot označuje kot, ki ga zavzame tangenta na površino kapljice ob stiku s kompaktom. Stični kot kapljice tekočine s površino je v oziru na mehansko ravnotežje kapljice, pod vplivom treh površinskih oz. medfaznih napetosti (slika 7): trdno-plinasto ( $\gamma_{sv}$ ), trdno-tekoče ( $\gamma_{sl}$ ) in tekoče-plinasto ( $\gamma_{lv}$ ). Le-to opisuje Youngova enačba (enačba 4) (67).



**Slika 7: Shematski prikaz sedeče kapljice na trdni površini in usmerjenost površinskih oz. medfaznih napetosti (67).**

$$\gamma_{lv} \cdot \cos\theta_{\gamma} = \gamma_{SV} - \gamma_{sl} \quad (\text{enačba 4})$$

$\theta_{\gamma}$  – stični kot

$\gamma_{SV}$  – površinska napetost trdne snovi

$\gamma_{sl}$  – medfazna napetost, trdno-tekoče

$\gamma_{lv}$  – površinska napetost kapljice

Stični kot  $< 90^{\circ}$  pomeni, da je površina kompakta hidrofilna in ima veliko površinsko energijo (dobra močljivost). Obratno, stični kot  $> 90^{\circ}$  pomeni, da je površina kompakta hidrofobna in ima majhno površinsko energijo (slaba močljivost) (67).

Naprava, s katero določamo stični kot z metodo sedeče kapljice, se imenuje goniometer. Izvedba metode je lahko statična ali dinamična. V primeru statične metode določimo stični kot tako, da horizontalno na ploskev komprimata kanemo eno kapljico ter spremljamo stični kot v določenem časovnem okviru. Medtem ko v primeru dinamične metode, injekcijska igla, s katero kanemo kapljico, ostane med meritvijo v kapljici (67).

### **3.5.4 DIREKTNO TABLETIRANJE**

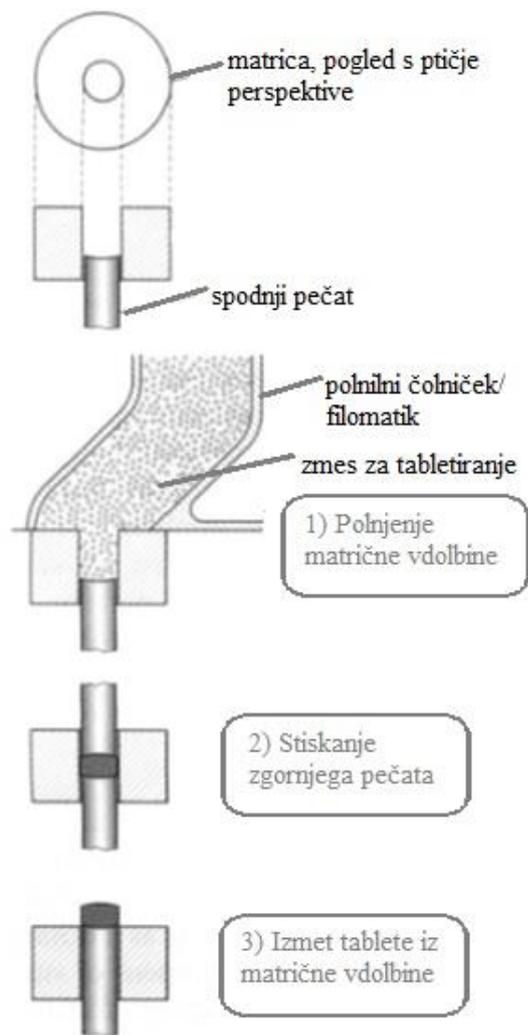
Direktno tabletiranje je proces stiskanja zmesi, katero pripravimo le s predhodnim tehtanjem, sejanjem in mešanjem posameznih komponent. Je metoda izbora, ko pomožne snovi izkazujejo dobre pretočne lastnosti in stisljivost ter kemijsko kompatibilnost z ZU. Z direktnim tabletiranjem se tako izognemo časovno potratnim tehnološkim postopkom predobdelave snovi, kot je na primer proces vlažnega granuliranja (5, 11, 68).

Najbolj enostavna procesna oprema za direktno tabletiranje je tabletirka na udarec, ki je zaradi iztisa le ene tablete na cikel stiskanja, primerna zgolj za raziskovalne namene. Medtem ko je zaradi večjih hitrosti tabletiranja, na industrijskem nivoju v uporabi rotacijska tabletirka. Le-ta ima v grobem, večje število parov orodja za tabletiranje (pečati), v primerjavi s tabletirko na udarec (5, 11, 68).

Cikel direktnega stiskanja praškov na tabletirki na udarec sestoji iz treh faz (slika 8):

- polnjenje matrične vdolbine
- premik zgornjega pečata
- izmet tablete iz matrične vdolbine

Volumen polnjena matrične vdolbine je odvisen od položaja spodnjega pečata, ki zapira dno matrične vdolbine. Zmes za tabletiranje se vsuje v matrično vdolbino s pomočjo polnilnega čolnička (oziroma vetrnic, v primeru prisilnega polnjenja). Ko se polnilni čolniček odmakne nazaj, se spusti zgornji pečat, ki z nastavljeno silo stiskanja deluje na nasutje zmesi za tabletiranje in tako povezovanje delcev zmesi v tableto. Nato se zgornji pečat pomakne navzgor in spodnji pečat v ravnino matrične vdolbine (med fazo stiskanja spodnji pečat miruje). V fazi izmeta polnilni čolniček, ki se primakne v smeri naprej za ponovno nasutje, tableto odrine. Spodnji pečat se ponovno spusti v naprej definirano lego in cikel direktnega stiskanja se nadaljuje (5, 11, 68).



**Slika 8: Shema cikla direktnega stiskanja praškov na tabletirki na udarec (prirejeno po 5).**

## 3.6 EKSPERIMENTALNO DELO

### 3.6.1 PRIPRAVA POLIMORFNIH OBLIK

#### Polimorfna oblika I

Postopek 1) V bučko smo natehtali 22 g izhodnega TBD in pri sobni temperaturi dodali 70 mL etanola (96 %). Nato smo vsebino bučke segrevali 1,5 h na 80 °C ob refluxu s povratnim hladilnikom do nastanka bistre raztopine. Vročo raztopino smo nato prefiltrirali skozi lij z vstavljenim nagubanim filter papirjem (grade: 388 Sartorius stedim) v čašo. Kristali so nastali po 4 dneh v obliki prizmatičnih kristalov. Za odstranjevanje rezidualnega topila, smo suspenzijo kristalov sušili na 70 °C, 1 uro.

Postopek 2) V stekleno bučko z okroglim dnom smo natehtali 20 g izhodnega TBD in pri sobni temperaturi dodali 200 mL tetrahidrofurana. Nato smo vsebino bučke segrevali 0,5 h na 100 °C ob refluxu s povratnim hladilnikom do nastanka bistre raztopine. Vročo raztopino smo nato prelili v čašo in jo pokrili s preluknjano aluminijasto folijo ter jo shranili na sobno temperaturo. Kristali so v morfologiji kroglic nastali po 1 dnevu. Za odstranjevanje rezidualnega topila smo suspenzijo kristalov sušili na 70 °C, pol ure.

Postopek 3) V stekleno bučko z okroglim dnom smo natehtali 20 g izhodnega TBD in pri sobni temperaturi dodali 100 mL etanola (96 %). Nato smo vsebino bučke segrevali 1,5 h na 80 °C ob refluxu s povratnim hladilnikom do nastanka bistre raztopine. Vročo raztopino smo nato prefiltrirali skozi lij z vstavljenim nagubanim filter papirjem (grade: 388 Sartorius stedim) v čašo in jo pokrili s petrijevko. Raztopino v čaši smo nato ohladili v hladilniku pri -80 °C, 5 minut ter jo nato shranili na sobno temperaturo. Kristali so izpadli po 4 dneh v obliki prizmatičnih kristalov. Za odstranjevanje rezidualnega topila smo suspenzijo kristalov sušili na 60 °C, 30 minut.

Postopek 4) V stekleno bučko z okroglim dnom smo natehtali 18 g izhodnega TBD in pri sobni temperaturi dodali 180 mL etilacetata. Nato smo vsebino bučke segrevali 0,5 h na 100 °C ob refluxu s povratnim hladilnikom do nastanka bistre raztopine. Raztopino smo ohladili do sobne temperature. Kristali so nastali po 6 dneh v obliki prizmatičnih kristalov (slika 19 A).

## **Polimorfna oblika II** (modificirano po literaturnem viru 46)

V stekleno bučko z okroglim dnom smo natehtali 1,2 g izhodnega TBD in pri sobni temperaturi dodali 13 mL acetonitrila. Nato smo vsebino bučke segrevali 0,5 h na 100 °C ob refluxu s povratnim hladilnikom do nastanka bistre raztopine. Vroči raztopini smo nato po kapljicah dodali 5 mL prečiščene vode in bučko pokrili s preluknjano aluminijasto folijo ter jo shranili na sobno temperaturo. Kristali so izpadli po 4-5 dneh v obliki iglic (modificirano po literaturnem viru 46).

## **Polimorfna oblika III**

Postopek 1) V stekleno bučko z okroglim dnom smo natehtali 20 g izhodnega TBD in pri sobni temperaturi dodali predhodno pripravljeno mešanico topil etanola (96 %) in prečiščene vode v razmerju 2:1 (60 mL). Nato smo vsebino bučke segrevali 1 h na 100 °C ob refluxu s povratnim hladilnikom do nastanka bistre raztopine. Vročo raztopino smo prefiltrirali skozi lij z vstavljenim nagubanim filter papirjem (grade: 388 Sartorius stedim) v čašo. Le-to smo nato pokrili s preluknjano aluminijasto folijo in jo shranili na sobno temperaturo. Kristali so nastali po treh dneh. Nato smo še rahlo vlažno suspenzijo kristalov prenesli v petrijevko in sušili na 60 °C, 1 uro.

Postopek 2) V stekleno bučko z okroglim dnom smo natehtali 15 g izhodnega TBD in pri sobni temperaturi dodali 150 mL brezvodnega metanola (ang. dried methanol). Nato smo vsebino bučke segrevali 0,5 h na 100 °C ob refluxu s povratnim hladilnikom do nastanka bistre raztopine. Vročo raztopino smo nato prelili v petrijevko in jo pokrili s preluknjano aluminijasto folijo ter jo shranili na sobno temperaturo. Kristali so v morfologiji iglic izpadli po 1 dnevu. Za odstranjevanje rezidualnega topila smo suspenzijo kristalov sušili na 60 °C, pol ure.

Postopek 3) V stekleno bučko z okroglim dnom smo natehtali 20 g izhodnega TBD in pri sobni temperaturi dodali predhodno pripravljeno mešanico topil acetona (96 %) in diklorometana v razmerju 1:1 (40 mL). Nato smo vsebino bučke segrevali 0,5 h na 80 °C ob refluxu s povratnim hladilnikom do nastanka bistre raztopine. Vročo raztopino smo nato prelili v petrijevko, jo pokrili s preluknjano aluminijasto folijo in jo shranili na sobno temperaturo. Jedra so začela kristalizirati nekaj minut po končanem postopku. Nastali so

agregati delcev nepravilne oblike. Za odstranjevanje rezidualnega topila smo sušili suspenzijo kristalov na 60 °C, 1 uro.

### 3.6.2 VREDNOTENJE POLIMORFNIH OBLIK TOLBUTAMIDA

#### a) Identifikacija – diferenčna dinamična kalorimetrija (DSC)

Termično analizo polimorfnih oblik TBD smo ovrednotili z diferenčnim dinamičnim kalorimetrom DSC 1 Star®, Mettler Toledo, Švica (slika 8). Vzorec za meritev smo pripravili tako, da smo kristale najprej zmleli v pateni in nato prah natehtali v aluminijaste lončke (~5 mg). Vsi lončki so bili zaprti in preluknjani pred izvedbo analize. Pogoji pri katerih smo izvedli meritve so navedeni v preglednici VI. Rezultate meritev smo analizirali s pomočjo programske opreme STAR Software 9.30, kjer smo določevali temperaturo taljenja vzorcev ( $T_m$ ) in talilne entalpije termogramskih vrhov ( $\Delta H$ ).



Slika 9: Diferenčni dinamični kalorimeter DSC 1 Star®, Mettler Toledo, Švica.

#### Preglednica VI: Pogoji DSC analiz.

<b>Temperaturni interval (T):</b>	25 - 200 °C
<b>Hitrost segrevanja (v):</b>	10 °C/min
<b>Pretok dušika (Φ):</b>	30 mL/min

## b) Morfološke lastnosti TBD – Vrstična elektronska mikroskopija (SEM)

Morfologijo polimorfnih oblik TBD smo proučevali z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM) Supra 35 VP. Kristale TBD smo pritrdili na dvostranski prevodni ogljikov lepilni trak in jih nato posneli. Meritve smo opravili pri napetosti 1 kV na elektronskem topu in uporabili detektor SE2.

## c) Fizikalne lastnosti polimorfnih oblika TBD

### • **Velikost delcev - laserska difrakcija**

Kristale posameznih polimorfnih oblik smo zmleli s pestilom v pateni in presejali skozi sito s luknjami velikosti 500  $\mu\text{m}$ . Nato smo delce posamezne polimorfne oblike dispergirali v prečiščeni vodi. Da bi preprečili aglomeracijo delcev smo nastalo suspenzijo izpostavili ultrazvoku za 5 minut. Sledilo je filtriranje skozi pore velikosti 104  $\mu\text{m}$ , 3x, in nato ponovna izpostavljenost ultrazvoku za 5 minut oziroma 10 minut v primeru oblike I (bolj močni agregati).

Za vsako polimorfno obliko smo izvedli 3 ponovitve meritev na laserskem difraktometru (Mastersizer S, Malvern, Velika Britanija). Volumsko porazdelitev velikosti delcev, kot rezultat meritev zajemajo statistične vrednosti:  $D_{10}$ ,  $D_{50}$  in  $D_{90}$ .

### • **Močljivost – Merjenje stičnega kota z metodo sedeče kapljice**

Natehtali smo ~200 mg v terilnici predhodno strtih delcev posameznih polimorfnih oblik TBD. Nato smo s pomočjo ročne hidravlične stiskalnice, Graseby Specac, Velika Britanija (slika 10) stisnili tablete s silo 10 ton in z rezidualnim časom stiskanja 10 sekund. Tableto smo postavili na stekleno objektno stekelce in stični kot določili z goniometrom Drop Shape Analysis System DSA 100 Contact Angle Meter, KRUSS, Nemčija (slika 11). Z brizgo smo na tableto kanili 1  $\mu\text{l}$  prečiščene vode in v določenem časovnem okviru s kamero v napravi zaporedno posneli slike kapljice. Spremljali smo, kako se ta spreminja v času in določili stični kot posameznih polimorfnih oblik z metodo sedeče kapljice. Programska oprema s pomočjo Young-ove enačbe (enačba 4) omogoča avtomatično določanje stičnega kota.



**Slika 10: Ročna hidravlična stiskalnica, Graseby Specac, Velika Britanija.**



**Slika 11: Naprava za merjenje stičnega kota, Drop Shape Analysis System DSA 100 Contact Angle Meter, KRÜSS, Nemčija.**

### 3.6.3 PRIPRAVA ZMESI ZA TABLETIRANJE

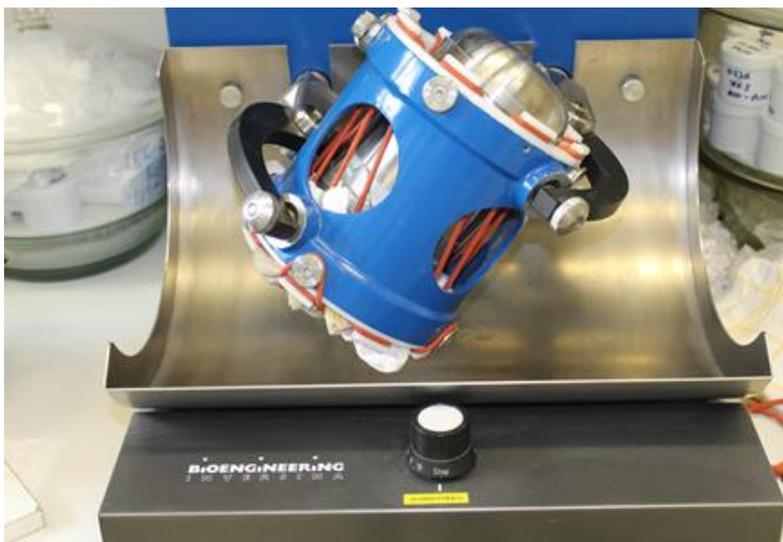
Prahove polimorfne oblike TBD smo najprej zdrobili v pateni ter presejali skozi sito z velikostjo luknjic 500 µm.

Sestava mešanic polimorfne oblike TBD s pomožnimi snovmi je prikazana v preglednici VII.

**Preglednica VII: Sestava mešanic polimorfne oblike TBD s pomožnimi snovmi.**

Zdravilna učinkovina/ pomožna snov	Sestava na tableto (mg)	%, ut/ut
TBD I/ II/ III	250	50
MCC/ CHFD/ kapa – karagenan	245	49
Magnezijev stearat	5	1

Zmesi za tabletiranje smo pripravili tako, da smo na precizni tehtnici natehtali predvideno količino TBD in pomožne snovi ter dodali drsilo, magnezijev stearat. Prahove smo združili v 1,5 L posodo iz nerjavnega jekla in jo vstavili v mešalnik s Paul Schatzovim gibanjem, Inversina Tumbler Mixer 2l, Bioengineering, Švica (slika 12). Zmes smo mešali 2 minuti na stopnji 4,5 (hitrost vrtenja 60 obratov na minuto). Za zagotavljanje enakih pogojev smo pripravljeno zmes shranjevali v eksikatorju pri sobni temperaturi in 43% zračni vlagi do naslednjega dne, ko smo vrednotili zmes za tabletiranje in stiskali tablete.



**Slika 12: Mešalnik Inversina Tumbler Mixer 2l, Bioengineering, Švica.**

### **3.6.4 VREDNOTENJE ZMESI ZA TABLETIRANJE**

- Prava gostota

Pravo gostoto smo zmesem za tabletiranje izmerili s helijevim piknometrom AccuPyc 1330 Pycnometer, Micromeritics, ZDA (slika 13). Vnesen podatek o masi nato omogoča izračun prave gostote. Končni podatek meritve je tako povprečje treh meritev prave gostote in standardna deviacija.



**Slika 13: Helijev piknometrom AccuPyc 1330 Pycnometer, Micromeritics, ZDA.**

### 3.6.5 TABLETIRANJE

S tabletirko na udarec, Killian SP3000, IMA, Nemčija, (slika 14) smo stisnili tablete iz delcev polimorfnih oblik TBD I, II, III in mešanic le-teh ob dodatku pomožnih snovi: MCC, CHFD in kapa – karagenan. Za tabletiranje smo uporabili ravne pečate Euro B s premerom 12 mm. Hitrost tabletiranja smo nastavili na 33 tablet na minuto.

Pripravljeno zmes za tabletiranje smo nato vsuli v polnilni čolniček tabletirke na udarec, Killian SP3000, IMA, Nemčija, (slika 14) ali posamično zatehtali 500 mg tabletne zmesi in jo neposredno vsuli v matrično vdolbino. Volumen polnjenja oz. maso tablet smo definirali z odmikom spodnjega pečeta (~ 500 mg), z odmikom zgornjega pečeta pa smo določili silo stiskanja. Z namenom proučevanja stisljivosti zmesi ob naraščanju tlaka stiskanja, smo tabletiranje izvedli pri različnih tlakih stiskanja v območju 4– 280 MPa in pri posameznem odmiku zgornjega pečeta stisnili 5 tablet. Tablete smo označili s svinčnikom in jih shranili v plastične lončke.



**Slika 14: Tabletirka na udarec, Killian SP3000, IMA, Nemčija.**

### 3.6.6 VREDNOTENJE TABLET

Takoj po tabletiranju, smo izdelanim tabletam s preciznim digitalnim kljunastim merilom PMS 150 M 823-160, Meßschieber, Nemčija), izmerili premer in debelino z 0,01 mm natančno (slika 15) ter maso na tehtnici Sartorius AX224, Sartorius mechatronics, Nemčija. Tablete smo nato v plastičnih lončkih shranjevali v eksikatorju 24 ur. V tej časovni točki smo ponovno pomerili premer in debelino tablet.



**Slika 15: Precizno digitalno kljunasto merilo PMS 150 M 823-160.**

Sledilo je merjenje trdnosti z napravo za določanje trdnosti tablet, Tablet hardness tester VK 200, Vanderkamp, ZDA (slika 16). Tableto smo položili na ustrezno mesto med potisni in mirujoči del naprave, kot prikazuje slika 16. Na ekranu se je ob lomu tablete izpisala sila v N, pri kateri je tableta počila.



**Slika 16: Naprava za določanje trdnosti tablet, Tablet hardness tester VK 200, Vanderkamp, ZDA.**

### 3.6.6.1 VREDNOTENJE KOMPRESIBILNOSTI

#### Heckelova analiza

Za vrednotenje stisljivosti zmesi za tabletiranje s Heckelovo analizo smo uporabili zunajmatrično metodo. Dimenzije tablet smo namreč izmerili po izmetu tablet iz matrične vdolbine. Uporabljene enačbe so zbrane v preglednici VIII.

**Preglednica VIII: Enačbe za izračun poroznosti tablet.**

Gostota tablete (enačba 5)	$\rho_{tbl} = \frac{m_{tbl}}{h \cdot \pi \cdot r^2}$	$\rho_{tbl}$ – gostota tablete (g/cm <sup>3</sup> ) $m_{tbl}$ – masa tablete (mg) $h$ – debelina tablete (mm) $r$ – polmer tablete (mm)
Poroznosti tablet (enačba 6)	$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_{tbl}}{\rho_{prava}}$	$\varepsilon$ – poroznost (%) $\rho_{prava}$ – prava gostota zmesi za tabletiranje (g/cm <sup>3</sup> )
Tlak stiskanja tablete (enačba 7)	$P = \frac{F_{zg}}{S_{peč}}$	$P$ – tlak stiskanja tablete (MPa) $F_{zg}$ – sila stiskanja na zgornjem pečatu (kN) $S_{peč}$ – površina pečata (mm <sup>2</sup> )
Heckelova enačba (enačba 1)	$-\ln(\varepsilon) = \ln\left(\frac{1}{(1-D)}\right) = K \cdot P + A$	$\varepsilon$ – poroznost tablete $D$ – relativna gostota tablete (razmerje med navidezno in pravo gostoto pri določenem tlaku stiskanja) $K$ – Heckelova konstanta, dobljena iz naklona premice (enačba 1) [MPa <sup>-1</sup> ] $P$ – tlak stiskanja [MPa]

		$A$ – konstanta, ki ponazarja prerazporejanje delcev, izračunana iz presečišča ekstrapoliranega linearnega dela z ordinato.
Mejni tlak stiskanja (enačba 2)	$P_y = \frac{1}{K}$	$P_y$ - Mejni tlak stiskanja

Rezultat Heckelove analize, odvisnost negativnega logaritma poroznosti od tlaka stiskanja, smo izrisali grafično s programom OriginPro 9.0. Iz dobljenih krivulj smo ekstrahirali linearni del (sprejemljiv del) na podlagi determinacijskega koeficienta  $R^2 \geq 0,98$  v območju tlakov stiskanja cca. 30-100 MPa. Naklon dobljene premice,  $K$ , je Heckelova konstanta, ki je merilo za kompresibilnost in plastičnost snovi. Heckelove konstante proučevanih zmesi oziroma  $P_y$  (obratno sorazmerna vrednost Heckelove konstante) smo predstavili tabelarično.

### 3.6.6.2 VREDNOTENJE KOMPACTIBILNOSTI

Natezno trdnost tablet smo izračunali s pomočjo enačbe 8.

$$\sigma = \frac{2 \cdot H}{\pi \cdot d \cdot h} \quad (\text{enačba 8})$$

$\sigma$  – natezna trdnost tablet

$H$  – trdnost tablete

$d$  – premer tablete

$h$  – debelina tablete

Kompaktibilnostni graf predstavlja odvisnost natezne trdnosti od tlaka stiskanja, iz katerega smo ekstrahirali linearni del na podlagi koeficienta korelacije  $R^2 \geq 0,95$  v območju tlakov stiskanja približno 10-55 MPa. Kompaktibilnostne koeficiente ( $C_p$ ) smo predstavili tabelarično.

## 4 REZULTATI IN RAZPRAVA

### 4.1 PRIPRAVA POLIMORFNIH OBLIK TOLBUTAMIDA IN VREDNOTENJE

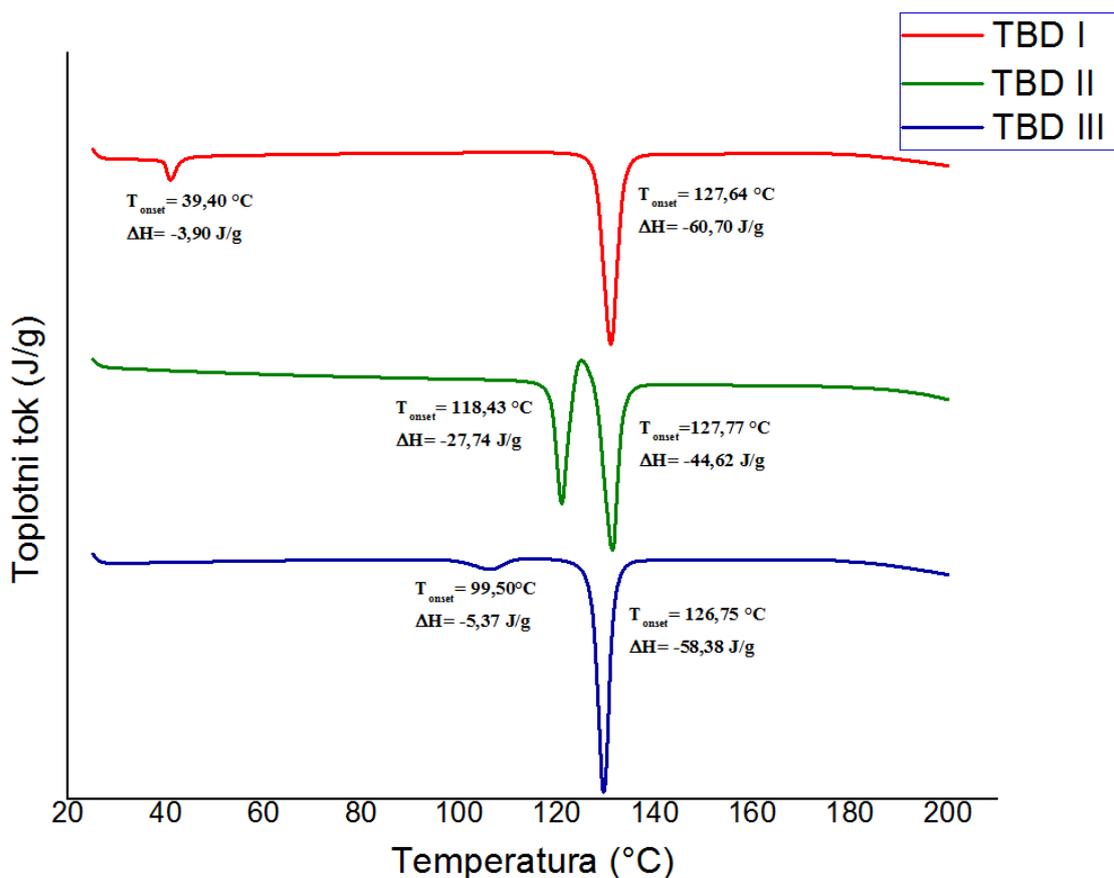
**Polimorfna oblika I:** na kristalizacijski postopek izdelave polimorfne oblike I ne vpliva koncentracijski gradient TBD, temperatura in polarnost topila. Največji izkoristek produkta kristalizacije smo dobili s kristalizacijskih postopkom 2 (topilo tetrahidrofuran, poglavje 3.6.1).

**Polimorfna oblika II:** na kristalizacijski postopek izdelave polimorfne oblike II, ključno vpliva koncentracijski gradient TBD, polarnost topila in temperatura (dodatek acetonitrila pri sobni temperaturi, segrevanje ob refluxu s povratnim hladilnikom, dodatek prečiščene vode k vroči raztopini po kapljicah ter počasno odparevanje topil na sobni temperaturi v prvotnem vsebniku).

**Polimorfna oblika III:** Na kristalizacijski postopek izdelave polimorfne oblike III vpliva koncentracijski gradient TBD, polarnost topila in temperatura. Kombinacij le-teh parametrov je možnih več: različna polarnost topil v določenih razmerjih (suhi metanol, etanol in prečiščena voda v razmerju 2:1 ter aceton in diklorometan v razmerju 1:1), različne temperature priprave (refluks s povratnim hladilnikom ali priprava suspenzije z mešanjem na magnetnem mešalu). Največji izkoristek produkta kristalizacije smo dobili s kristalizacijskih postopkom 3 (mešanica topil acetona in diklorometana, poglavje 3.6.1).

#### 4.1.1 IDENTIFIKACIJA POLIMORFNIH OBLIK TBD

Polimorfne oblike vsakega produkta kristalizacije TBD smo identificirali s pomočjo DSC. Termične lastnosti polimorfov smo primerjali z dostopnimi podatki v literaturi in tako okarakterizirali nastalo polimorfno obliko pri kristalizaciji. Na sliki 17 so prikazani združeni termogrami polimorfni oblik I, II in III v preglednici IX pa so zbrane eksperimentalne in literaturne vrednosti.



Slika 17: DSC termogrami polimorfnih oblik TBD: I, II in III.

**Preglednica IX: Rezultati meritev DSC.**

TBD	T prehod (°C)	T prehod (°C): literaturni podatek (46)	$\Delta H$ prehod (J/g)	T tališče (°C)	T tališče (°C): literaturni podatek (46)	$\Delta H$ tališče (J/g)
I	39,4	40	-3,9	127,6	128	-60,70
II	118,4	117	-27,74	127,8	128	-44,62
III	99,50	106	-5,37	126,75	128	-58,38

**Polimorfna oblika I:** prvi vrh na termogramu označuje temperaturo prehoda. Gre za reverzibilni, kinetični prehod polimorfne oblike I<sup>L</sup> (ang. *low melting point*) v obliko I<sup>H</sup> (*high*

*melting point*). Iz drugega vrha termograma lahko sklepamo, da gre za taljenje polimorfne oblike I.

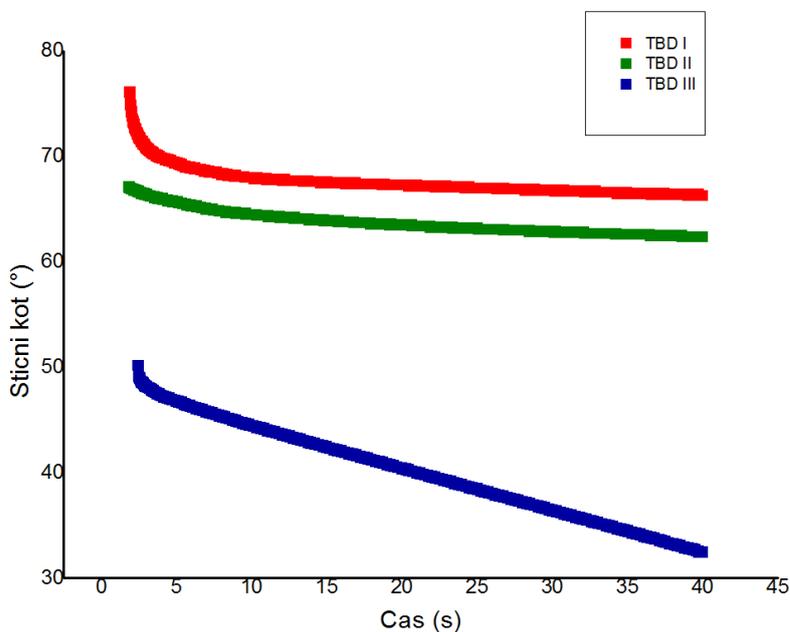
**Polimorfna oblika II:** prvi vrh na termogramu označuje temperaturo prehoda oblike II v obliko I<sup>H</sup>. Iz drugega vrha termograma lahko sklepamo, da gre za taljenje polimorfne oblike I.

**Polimorfna oblika III:** prvi vrh na termogramu označuje temperaturo prehoda oblike III v obliko I<sup>H</sup>. Iz drugega vrha termograma lahko sklepamo, da gre za taljenje polimorfne oblike I.

Iz primerjave rezultatov smo razbrali, da se dobljeni rezultati naših poskusov ujemajo z letimi v dostopni literaturi. Iz DSC termogramov je jasno razvidno, da vse polimorfne oblike TBD preidejo najstabilnejšo polimorfno obliko I<sup>H</sup> (46, 69).

#### 4.1.2 MOČLJIVOST POLIMORFNIH OBLIK TBD

Na sliki 18 imamo prikazan graf odvisnosti stičnega kota polimorfnih oblik TBD I, II in III in časa močenja. Stični kot smo določali na izdelanih kompaktnih posameznih polimorfni oblik, da smo zagotovili ravno površino.



**Slika 18: Rezultati meritev stičnega kota polimorfni oblik TBD I, II, III.**

Največji stični smo določili za polimorfno obliko I (67,6 °), sledil je stični kot oblike II (63,9 °) ter oblike III (40,0 °). Iz dobljenih rezultatov lahko sklepamo, da ima najboljšo močljivost TBD III, obliki I in II pa izkazujejo slabšo močljivost. V dostopni literaturi je mogoče zaslediti podatke o kinetiki raztapljanja polimorfnih oblik TBD, pri čemer so ugotovili večjo hitrost raztapljanja polimorfne oblike III, napram oblikama II in I, ki sta imeli primerljiv profil hitrosti raztapljanja. Naše ugotovitve so skladne z rezultati dostopne literature (48).

#### 4.1.3 FIZIKALNE LASTNOSTI PRAHOV POLIMORFNIH OBLIK TBD

Zmlete kristale posameznih polimorfnih oblik smo presejali skozi sito, z velikostjo mreže 500 µm, da bi zagotovili približno enako velikost delcev za proces tabletiranja. Vzorec presejanih polimorfnih oblik smo uporabili tudi za pripravo disperzije vzorca za meritev z laserskim difraktometrom. Priprava disperzij s polimorfni oblikama I in II je zahtevala večkratno filtriranje s ciljem odstranjevanja vidnih aglomeratov, kar je posledica slabše močljivosti oblik I in II, v primerjavi z obliko III (slika 18). Rezultati meritev laserske difrakcije posameznih polimorfnih oblik so podani v preglednici X, kot volumska porazdelitev.

**Preglednica X: Rezultati meritev laserske difrakcije polimorfnih oblik TBD I, II in III.**

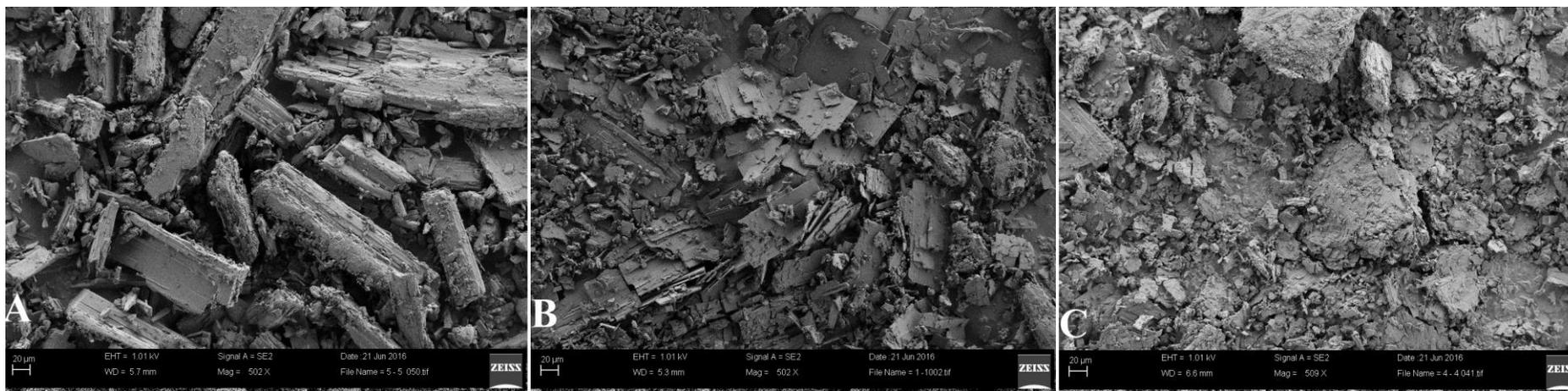
Polimorfna oblika	I	II	III
<b>D<sub>10</sub> (µm) ± SD</b>	3,8 ± 0,6	7,0 ± 1,3	4,5 ± 0,3
<b>D<sub>50</sub> (µm) ± SD</b>	18,8 ± 2,1	23,8 ± 1,8	18,9 ± 1,0
<b>D<sub>90</sub> (µm) ± SD</b>	52,7 ± 1,6	56,3 ± 0,8	45,8 ± 2,9

SD- standardna deviacija

Iz rezultatov prikazanih v preglednici X sklepamo, da je volumska porazdelitev velikosti posameznih polimorfnih oblik primerljiva.

#### 4.1.4 MORFOLOGIJA DELCEV POLIMORFNIH OBLIK TBD

Izbrane produkte različnih postopkov kristalizacij posameznih polimorfnih oblik smo vrednotili z SEM (slika 19).



**Slika 19: SEM slike morfologij polimorfnih oblik TBD. A – TBD I, B- TBD II, C- TBD III**

Iz mikroskopskih SEM slik lahko opazimo, da so delci polimorfne oblike I (pridobljeni iz topila etilacetat, postopek kristalizacije 4, poglavje 3.6.1) prizmatične oblike s hrapavimi površinami kristalnih ploskev (Slika 19 A). Razvidni so delci od 20 µm do 200 µm. Delci polimorfne oblike II (pridobljeni iz mešanice topil acetononitrila in vode, postopek kristalizacije poglavje 3.6.1) imajo ploščato obliko, katerih površina je bolj gladka v primerjavi z obliko I (Slika 19 B). S tem kristalizacijskim postopkom nastanejo delci široke distribucije velikosti (od 20 µm do 200 µm). Kristali oblike III (pridobljeni iz mešanice topil acetona in diklorometana, postopek 3, poglavje 3.6.1) so definirani kot aglomerati, nepravilnih oblik (Slika 19 C).

#### 4.1.5 PRAVA GOSTOTA POLIMORFNIH OBLIK TBD IN PROUČEVANIH MEŠANICAH

V preglednici XI so predstavljeni rezultati pravih gostot za proučevane polimorfne oblike in pripravljene zmesi za tabletiranje.

**Preglednica XI: Rezultati meritev prave gostote polimorfni oblik TBD I, II in III.**

Polimorfna oblika	TBD I	TBD II	TBD III	MCC	MCC in TBD I	MCC in TBD II	MCC in TBD III	CHFD	CHFD in TBD I	CHFD in TBD II	CHFD in TBD III	Kapakarage nan	Kapakarage nan in TBD I	Kapakarage nan in TBD II	Kapakarage nan in TBD III
Prava gostota (g/cm <sup>3</sup> ) ± SD	1,2454 ± 0,0001	1,2741 ± 0,0022	1,2612 ± 0,0005	1,5420 ± 0,0003	1,3763 ± 0,0006	1,4033 ± 0,0004	1,4025 ± 0,0011	2,3606 ± 0,0007	1,6577 ± 0,0015	1,6587 ± 0,0008	1,6487 ± 0,0002	1,7063 ± 0,0001	1,4405 ± 0,0005	1,4561 ± 0,0012	1,4507 ± 0,0002

SD- standardna deviacija

Molekule v kristaliničnih snoveh se značilno uredijo tesno skupaj, da maksimizirajo intermolekularne interakcije. To pomeni, manjša kot je razdalja med atomoma, nižja je njuna energija. Najstabilnejša polimorfna oblika ima na podlagi tega višjo gostoto od metastabilne, kar praviloma velja za kristalne strukture, pri katerih prevladujejo Van der Waalove interakcije. V primeru struktur, povezanih z vodikovimi vezmi, ima lahko najstabilnejša polimorfna oblika najmanjšo gostoto (70).

Najmanjšo pravo gostoto zavzema najstabilnejša polimorfna oblika I, sledi ji oblika III, največja prava gostota pa pripada obliki II, ki je po redu stabilnosti najmanj stabilna (Preglednica XI).

Prava gostota ob dodatku polimorfni obliki II in III je primerljiva, medtem ko dodatek oblike I prispeva k manjši izmerjeni pravi gostoti zmesi z MCC. Celokupno imajo zmesi MCC s TBD manjšo pravo gostoto, kot sama MCC (Preglednica XI).

Dodatek TBD k CHFD značilno spremeni celokupno pravo gostoto. Med pravimi gostotami zmesi s CHFD glede na polimorfno obliko TBD ni značilnih razlik (Preglednica XI).

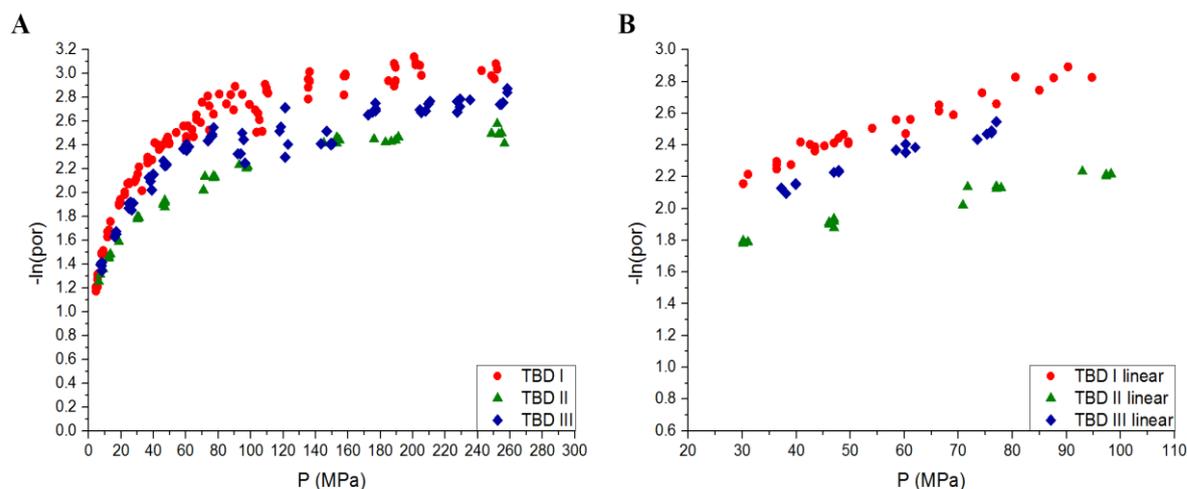
Prava gostota ob dodatku polimorfni obliki TBD h kapa- karagenanu je primerljiva. Celokupno imajo zmesi kapa- karagenana s TBD manjšo pravo gostoto, kot sam kapa- karagenan (Preglednica XI).

## **4.2 VREDNOTENJE KOMPRESIBILNOSTI**

Stisljivost delcev lahko opišemo s fazami kot so: prerazporeditev delcev, fragmentacija delcev, plastična deformacija ter elastična relaksacija trdnega telesa (tablete) (5). Deformacijske lastnosti polimorfni obliki TBD ter njegovih zmesi z izbranimi pomožnimi snovmi smo ocenili s pomočjo Heckelovega koeficienta. Na osnovi inverzne vrednosti Heckelovega koeficienta (mejni tlak stiskanja) lahko ovrednotimo mehanske lastnosti (plastičnost) snovi kot: zelo žilave ( $P_y < 40$  MPa), žilave ( $40 \text{ MPa} < P_y < 80$  MPa), zmerno krhke ( $80 \text{ MPa} < P_y < 200$  MPa) in krhke ( $P_y > 200$  MPa) (16).

### **4.2.1 KOMPRESIBILNOST PRAHOV POLIMORFNIH OBLIK TBD**

Odvisnost negativnega logaritma poroznosti od tlaka stiskanja polimorfni obliki TBD je predstavljena na sliki 20. TBD I, II in III izkazujejo primerljivo stopnjo prerazporejanja delcev, kar je razvidno iz podobne začetne spremembe poroznosti prahov ob enakem tlaku stiskanja (sliki 20 A).



**Slika 20: Kompresibilnost polimorfnih oblik TBD. A- celotne krivulje kompresibilnosti, B- linearni odseki krivulj kompresibilnosti.**

**Preglednica XII: Parametri kompresibilnosti prahov polimorfnih oblik TBD.**

Polimorfna oblika	$K \times 10^3 \text{ (MPa}^{-1}\text{)}$	$P_y \text{ (MPa)}$	$R^2$
<b>I</b>	10,36	96,5	0,976
<b>II</b>	6,48	154,3	0,985
<b>III</b>	9,57	104,50	0,981

$K$  – Heckelova konstanta,  $P_y$  (MPa) - Mejni tlak stiskanja,  $R^2$ - Determinacijski koeficient

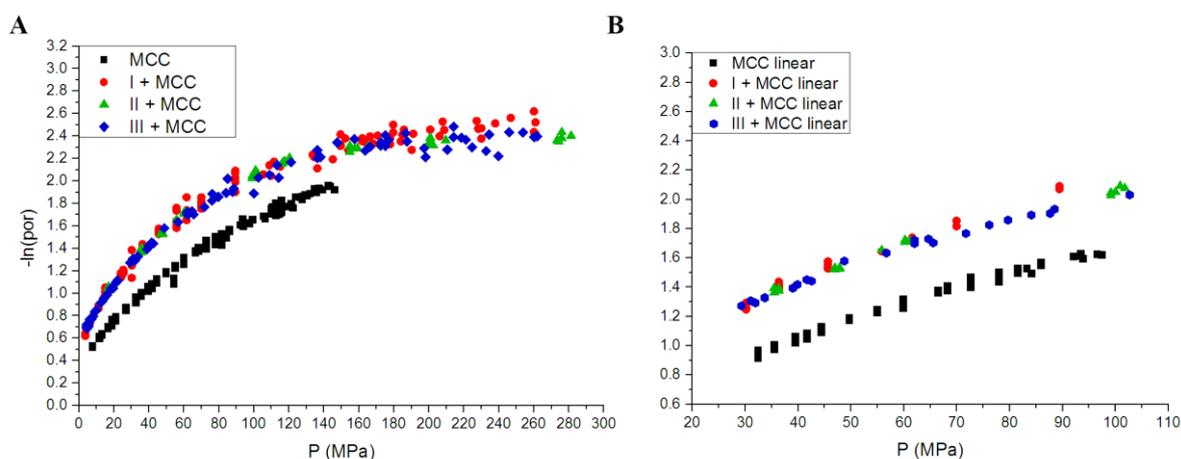
Z linearno regresijo smo določili Heckelov koeficient (oziroma  $P_y$ ) z upoštevanjem območja tlakov stiskanja 30-100 MPa (Slika 20 B in Preglednica XII). Glede na vrednosti Heckelove konstante je bil vrstni red naraščajoče plastičnosti polimorfnih oblik TBD naslednji: II, III $\approx$ I. Na osnovi klasifikacije snovi predlagane s strani Nordström in sodelavcev, vse polimorfne oblike sodijo med zmerno krhke (16). Enaka stopnja plastičnosti oblike I in III je v soglasju s podobnostjo njunih konformacij (U tip), ureditve vodikovih vezi in kristalnega pakiranja (46). Na drugi strani, oblika II zavzema konformacijo stola in tvori dodatne konformacijske polimorfe, kot posledica torzijskih rotacij alkilnega repa. Ta kristalna ureditev je rezultirala k nižji plastičnosti materiala (Preglednica XII). Oblike profilov kompresibilnosti so podobne za preiskovane polimorfne oblike, kar nakazuje na enake deformacijske faze

(prerazporeditev in fragmentacija ter plastična deformacija). Najvišja končna poroznost kompaktoev TBD pri tlaku stikanja  $> 250$  MPa je značilna za obliko II (slika 22 A).

#### 4.2.2 KOMPRESIBILNOST ZMESI TBD IN IZBRANIH POMOŽNIH SNOVI

##### 4.2.2.1 Zmesi z mikrokrystalno celulozo

Ob dodatku MCC opažamo podobnost profilov odvisnosti negativnega logaritma poroznosti od tlaka stikanja ne glede na polimorfno obliko TBD. Za vse zmesi je značilna enaka začetna in končna poroznost kompaktoev TBD z MCC (slika 21 A). Dodatek TBD zmanjša poroznost zmesi (slika 21).



Slika 21: Kompresibilnost polimorfne oblike TBD in MCC. A- celotne krivulje kompresibilnosti, B- linearni odseki krivulj kompresibilnosti.

Preglednica XIII: Parametri kompresibilnosti polimorfne oblike TBD v zmesih z MCC.

Tabletna zmes	$K \times 10^3$ (MPa <sup>-1</sup> )	$P_y$ (MPa)	$R^2$
MCC	10,92	91,58	0,992
I	13,18	75,87	0,991
II	10,37	96,43	0,992
III	10,85	92,17	0,991

$K$  – Heckelova konstanta,  $P_y$  - Mejni tlak stikanja,  $R^2$ - Determinacijski koeficient

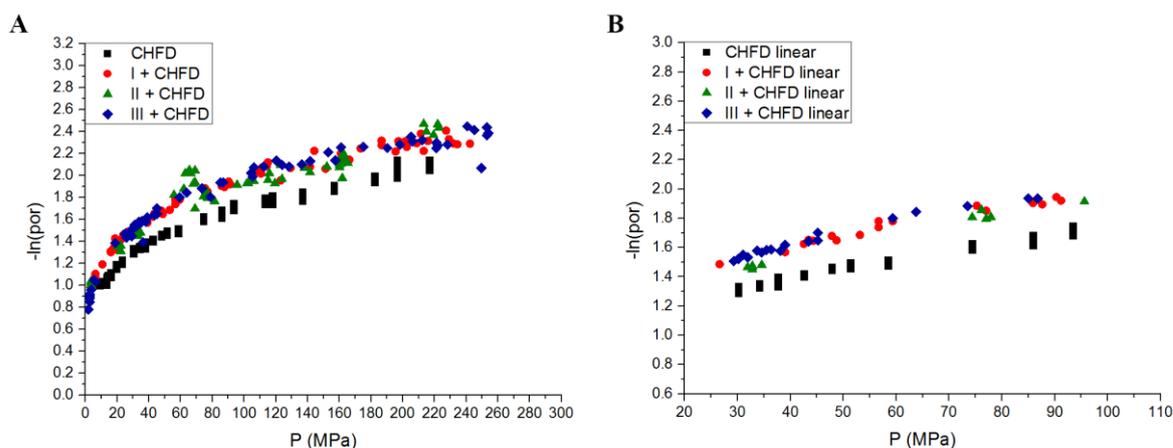
Glede na vrednosti Heckelove konstante je bil vrstni red naraščajoče plastičnosti zmesi MCC s TBD naslednji: II, III, I (Slika 21 B in Preglednica XIII). Na osnovi klasifikacije snovi predlagane s strani Nordström in sodelavcev, zmesi polimorfne oblike TBD z MCC lahko

razvrstimo kot žilave (oblika I) in zmerno krhke (Obliki II in III). MCC je po svojih lastnostih razvrščena v skupino zmerno krhkih pomožnih snovi. Pokazali smo, da je zmes oblike I z MCC bolj plastična v primerjavi z MCC, medtem ko obliki II in III bistveno ne spremenita deformacijskih lastnosti MCC in obratno. Zmesi MCC in TBD II in III 50:50 imata stopnjo plastičnosti med MCC in preiskovano polimorfno obliko TBD.

#### 4.2.2.2 Zmesi s kalcijevim fosfatom dihidratom

Iz slike 22 A lahko razberemo, da so si krivulje kompresibilnosti pri kombinaciji polimorfnih oblik TBD s CHFD podobne.

Dodatek TBD zmanjša poroznost zmesi (slika 22).



**Slika 22: Kompresibilnost polimorfnih oblik TBD in CHFD. A- celotne krivulje kompresibilnosti, B- linearni odseki krivulj kompresibilnosti.**

**Preglednica XIV: Parametri kompresibilnosti polimorfnih oblik TBD v zmesih s CHFD.**

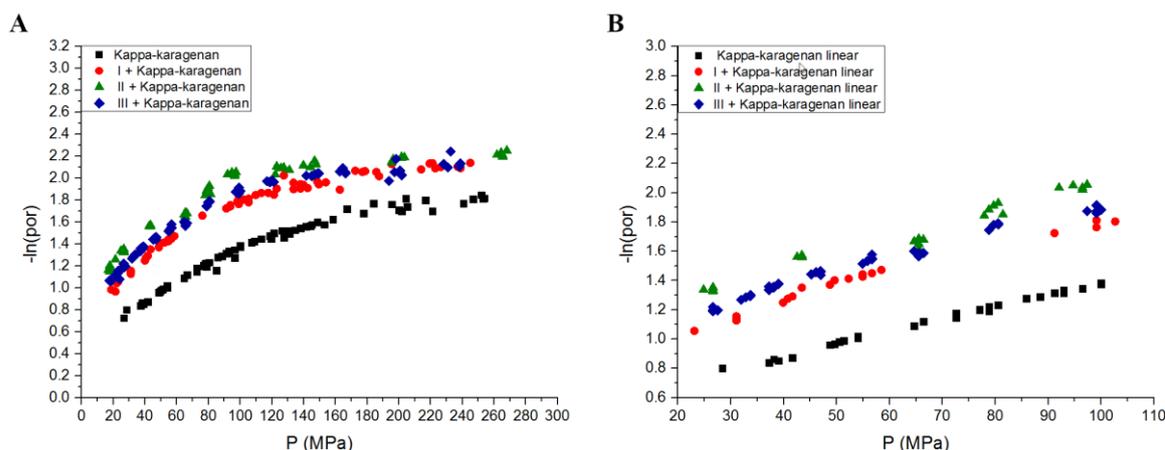
Tabletna zmes	$K \times 10^3$ (MPa <sup>-1</sup> )	$P_y$ (MPa)	$R^2$
<b>CHFD</b>	6,15	162,60	0,987
<b>I</b>	6,62	151,06	0,978
<b>II</b>	7,66	130,55	0,992
<b>III</b>	7,67	130,38	0,986

$K$  – Heckelova konstanta,  $P_y$  - Mejni tlak stiskanja,  $R^2$ - Determinacijski koeficient

Glede na vrednosti Heckelove konstante je bil vrstni red naraščajoče plastičnosti zmesi CHFD s TBD naslednji: I, II $\approx$ III (slika 22 B, Preglednica XIV). Ni značilnih razlik  $K$  zmesi s CHFD glede na polimorfni obliki TBD II in III. Na osnovi klasifikacije snovi predlagane s strani Nordström in sodelavcev, zmesi polimorfnih oblik TBD z CHFD lahko razvrstimo kot zmerno krhke. CHFD je po svojih lastnostih razvrščena v skupino zmerno krhkih pomožnih snovi. Pokazali smo, da so zmesi oblik I, II in III s CHFD bolj plastične v primerjavi s CHFD.

**4.2.2.3 Zmes s kapa-karagenanom**

Ob dodatku kapa-karagenana opažamo podobnost oblike profilov odvisnosti negativnega logaritma poroznosti od tlaka stiskanja ne glede na polimorfno obliko TBD (slika 23 A). Nismo zasledili značilnih razlik v začetni in končni poroznosti kompakto kapa-karagenana in proučevanih polimorfni oblik TBD. Od mejne vrednosti približno 130 MPa, se poroznost izdelanih tablet ne spreminja značilno, kar pomeni, da smo pri stiskanju vseh zmesi s kapa-karagenanom dosegli maksimalno zmanjšanje por. Dodatek TBD znatno zmanjša poroznost zmesi v primerjavi s samim kapa-karagenom (slika 23).



**Slika 23: Kompresibilnost polimorfnih oblik TBD in kapa- karagenan. A- celotne krivulje kompresibilnosti, B- linearni odseki krivulj kompresibilnosti.**

**Preglednica XV: Parametri kompresibilnosti polimorfnih oblik TBD v zmesih s kapa-karagenanom.**

Tabletna zmes	$K \times 10^3 \text{ (MPa}^{-1}\text{)}$	$P_y \text{ (MPa)}$	$R^2$
<b>Kapa-karagenan</b>	8,46	118,2	0,998
<b>I</b>	9,18	108,9	0,987
<b>II</b>	9,70	103,1	0,983
<b>III</b>	9,40	106,8	0,990

$K$  – Heckelova konstanta,  $P_y$  - Mejni tlak stiskanja,  $R^2$ - Determinacijski koeficient

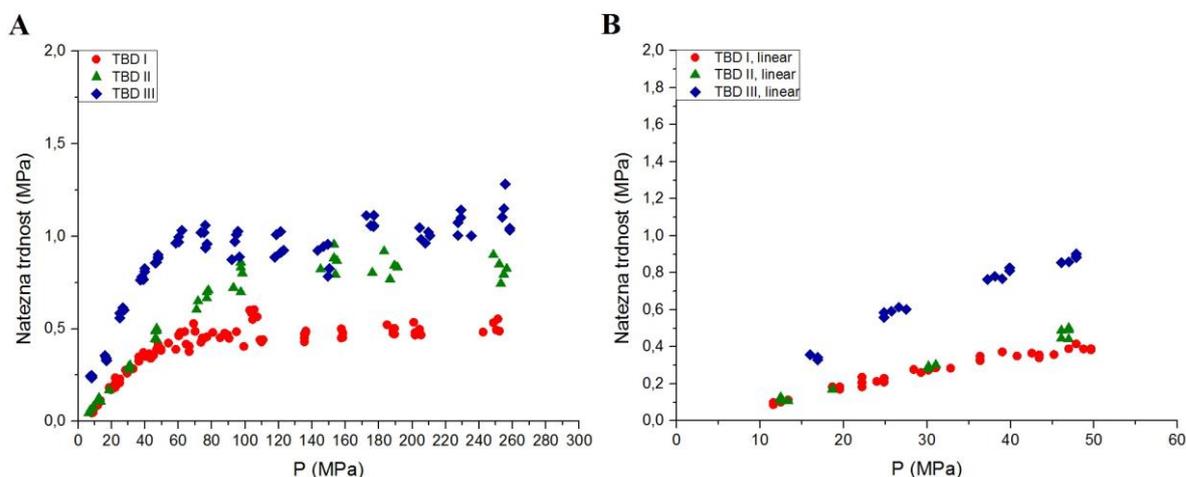
Glede na vrednosti Heckelove konstante je bil vrstni red naraščajoče plastičnosti zmesi kapa-karagenana s TBD naslednji: I, III, II (Preglednica XV, Slika 23 B). 50% dodatek TBD kapa-karagenanu ne spremeni značilno njegovih mehanskih lastnosti glede na vrsto polimorfne oblike. Na osnovi klasifikacije snovi predlagane s strani Nordström in sodelavcev, zmesi polimorfnih oblik TBD s kapa-karagenanom lahko razvrstimo kot zmerno krhke.

### 4.3 VREDNOTENJE KOMPACTIBILNOSTI

Z namenom opredelitve kompaktibilnosti snovi smo izrisali profile, ki prikazujejo odvisnost natezne trdnosti snovi od naraščajočega tlaka stiskanja. Iz linearnih odsekov smo določili kompaktibilnostne indekse,  $C_p$  in jih medsebojno primerjali.

### 4.3.1 KOMPAKTIBILNOST PRAHOV POLIMORFNIH OBLIK TBD

Odvisnost natezne trdnosti od tlaka stiskanja prahov polimorfni oblik TBD je predstavljena na sliki 24.



**Slika 24: Kompaktibilnost prahov polimorfni oblik TBD. A- celotne krivulje kompaktibilnosti, B- linearni odseki krivulj kompaktibilnosti.**

V preglednici XVI so predstavljeni rezultati kompaktibilnosti prahov polimorfni oblik TBD.

**Preglednica XVI: Parametri kompaktibilnosti polimorfni oblik TBD.**

Polimorfna oblika	$C_p \times 10^3$	$R^2$
I	7,93	0,980
II	10,62	0,994
III	17,35	0,980

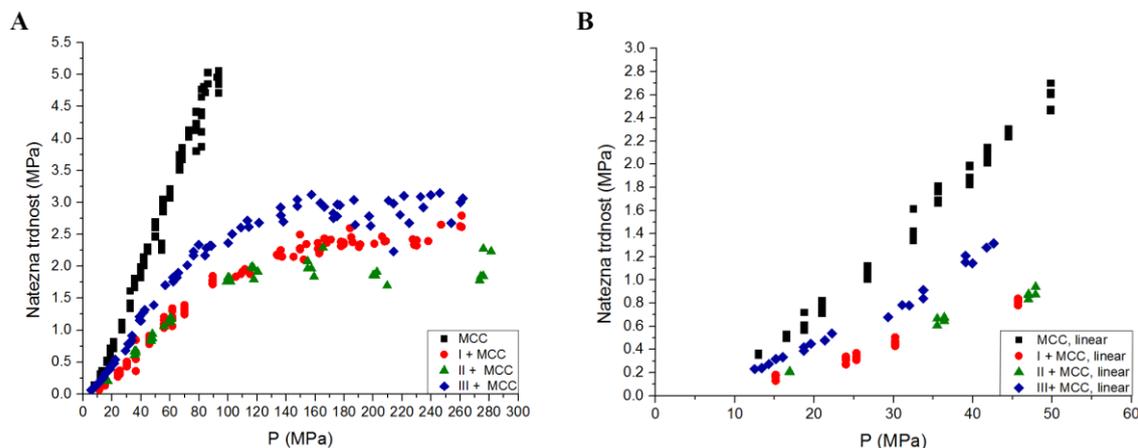
$C_p$ - kompaktibilnostni koeficient,  $R^2$ - Determinacijski koeficient

Iz rezultatov prikazanih v preglednici XVI lahko razberemo, da največji  $C_p$  in tako največjo kompaktibilnost zavzema polimorfna oblika III, sledi oblika II in številčno opredeljena najmanjša kompaktibilnost pripada obliki I. Iz krivulj (slika 24 A) lahko razberemo, da je natezna trdnost oblike II linearno naraščala s tlakom stiskanja v najširšem obsegu in je bila tako maksimalna ireverzibilna deformacija snovi dosežena pri primerjalno največjem tlaku stiskanja.

## 4.3.2 KOMPAKTIBILNOST ZMESI TBD IN IZBRANIH POMOŽNIH SNOVI

### 4.3.2.1 Zmesi z mikrokrystalno celulozo

Odvisnost natezne trdnosti od tlaka stiskanja polimorfnih oblik TBD v zmesih z MCC je predstavljena na sliki 24.



**Slika 25: Kompaktibilnost polimorfnih oblik TBD in MCC. A- celotne krivulje kompaktibilnosti, B- linearni odseki krivulj kompaktibilnosti.**

V preglednici XVII so predstavljeni rezultati kompaktibilnosti polimorfnih oblik TBD v zmesih z MCC, ki jih grafično ponazarja slika 25 B.

**Preglednica XVII: Parametri kompaktibilnosti polimorfnih oblik TBD v zmesih z MCC.**

Tabletna zmes	$C_p \times 10^3$	$R^2$
<b>MCC</b>	62,18	0,996
<b>I</b>	21,78	0,986
<b>II</b>	22,28	0,996
<b>III</b>	35,11	0,990

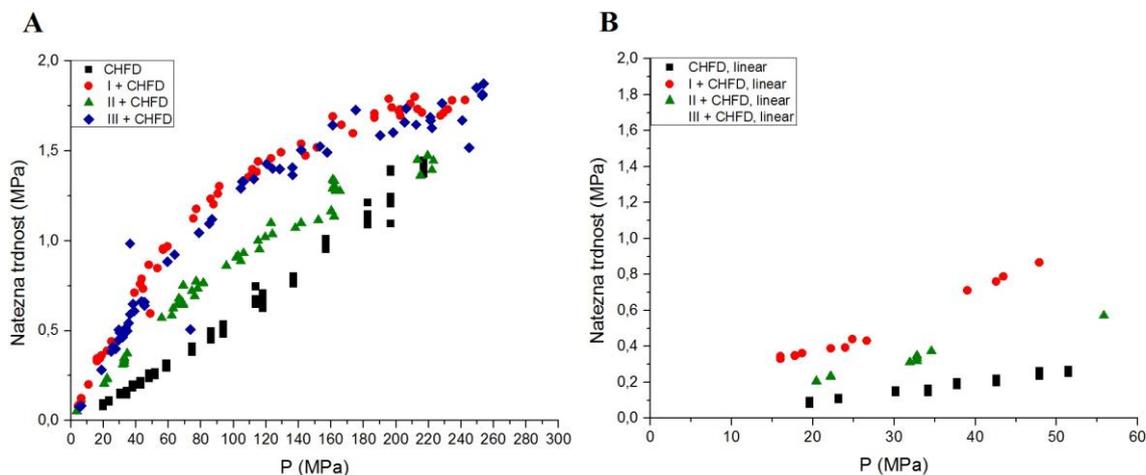
$C_p$ - kompaktibilnostni koeficient,  $R^2$ - Determinacijski koeficient

Iz rezultatov prikazanih v preglednici XVII lahko razberemo, da največjo kompaktibilnost zavzema zmes MCC in polimorfne oblike III, sledi ji zmes z obliko II in številčno opredeljena najmanjša kompaktibilnost pripada zmesi z obliko I.

S primerjavo kompaktilnosti stiskanja same pomožne snovi MCC, lahko ugotovimo, da dodatek TBD v vseh polimorfnih modifikacijah zmanjša kompaktilnost zmesi za tabletiranje. Iz tega lahko sklepamo, da deformacijski mehanizmi obravnavanih polimorfni oblik TBD v zmesi z MCC prispevajo k izdelavi mehansko manj trdnih tablet pri zmernih tlakih stiskanja. Pri tlaku cca. 100 MPa se profil prelomi in nadaljnje povečevanje tlaka stiskanja več ne povečuje trdnosti zmesi. Sipanje trdnosti se močno poveča in elastična relaksacija postane vse bolj izrazita zaradi predvidenega prekomernega približevanja delcev in vse močnejših odbojnih van der Waalsovih sil.

#### 4.3.2.2 Zmesi s kalcijevim fosfatom dihidratom

Ovisnost natezne trdnosti od tlaka stiskanja polimorfni oblik TBD v zmesih s CHFD je predstavljena na sliki 26.



**Slika 26: Kompaktilnost polimorfni oblik TBD in CHFD. A- celotne krivulje kompaktilnosti, B- linearni odseki krivulj kompaktilnosti.**

V preglednici XVIII so predstavljeni rezultati kompaktilnosti polimorfni oblik TBD v zmesih s CHFD, ki jih grafično ponazarja slika 26 B.

**Preglednica XVIII: Parametri kompaktilnosti polimorfnih oblik TBD v zmesih s CHFD.**

Tabletna zmes	$C_p \times 10^3$	$R^2$
<b>CHFD</b>	5,54	0,990
<b>I</b>	17,12	0,990
<b>II</b>	10,29	0,995
<b>III</b>	14,11	0,980

$C_p$ - kompaktilnostni koeficient,  $R^2$ - Determinacijski koeficient

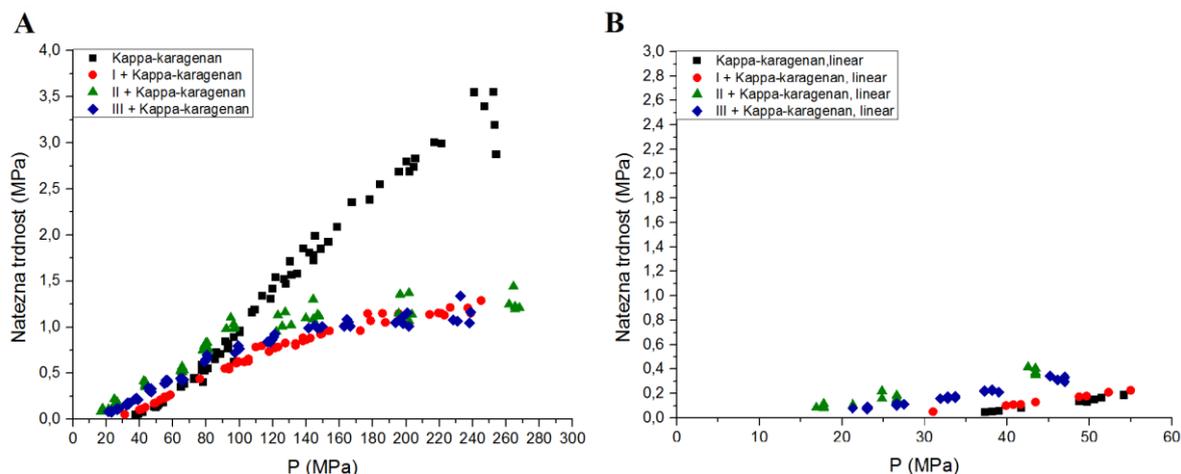
Iz rezultatov prikazanih v preglednici XVIII lahko razberemo, da največjo kompaktilnost zavzema zmes CHFD in polimorfne oblike I, sledi ji zmes z obliko III in številčno opredeljena najmanjša kompaktilnost pripada zmesi z obliko II.

Pri višjih tlakih se natezna trdnost še vedno povečuje (slika 26 A), kar lahko pojasnimo z nadaljnjim lomljenjem materiala in vzpostavljanjem novih povezav med delci.

S primerjavo kompaktilnosti stiskanja same pomožne snovi, CHFD, lahko ugotovimo, da dodatek TBD v vseh polimorfni modifikacijah poveča kompaktilnost zmesi za tabletiranje. Pri tabletiranju samega CHFD so se tablete, stisnjene pri tlakih pod 19 MPa, pri rokovanju zdrobile, medtem ko je dodatek TBD prispeval k mehansko sprejemljivim tabletam za rokovanje tudi pri nižjih tlakih stiskanja od 19 MPa. Predvidevamo, da je boljše kompaktilnost zmesi mogoče pojasniti z povezovanjem novih kontaktnih površin zlomljenih delcev CHFD s plastičnimi delci TBD.

**4.3.2.3 Zmesi s kapa-karagenanom**

Odvisnost natezne trdnosti od tlaka stiskanja polimorfni oblik TBD v zmesih s kapa karagenanom je predstavljena na sliki 27.



**Slika 27: Kompaktibilnost polimorfnih oblik TBD in kapa- karagenana. A- celotne krivulje kompaktibilnosti, B- linearni odseki krivulj kompaktibilnosti.**

V preglednici XIX so predstavljeni rezultati kompaktibilnosti polimorfnih oblik TBD v zmesih s kapa- karagenanom, ki jih grafično ponazarja slika 27 B.

**Preglednica XIX: Parametri kompaktibilnosti polimorfnih oblik TBD v zmesih s kapa- karagenanom.**

Tabletna zmes	$C_p \times 10^2$	$R^2$
<b>Kapa-karagenan</b>	8,07	0,995
<b>I</b>	7,60	0,992
<b>II</b>	11,43	0,977
<b>III</b>	10,13	0,986

$C_p$ - kompaktibilnostni koeficient,  $R^2$ - Determinacijski koeficient

Iz rezultatov prikazanih v preglednici XIX lahko razberemo, da največji  $C_p$  in tako največjo kompaktibilnost zavzemata zmesi kapa-karagenana in polimorfne oblike II  $\approx$  zmes z obliko III in številčno opredeljena najmanjša stopnja kompaktibilnosti pripada zmesi kapa karagenana z obliko I  $\approx$  kapa-karagenan.

Tablete kapa-karagenana stisnjene pri tlakih pod 30 MPa so se pri rokovanju zdrobile, medtem ko je dodatek TBD prispeval k mehansko sprejemljivim tabletam tudi pri nižjih tlakih stiskanja od 30 MPa.

## 5 SKLEP

- Z različnimi postopki kristalizacije iz topil smo uspešno pripravili tri različne polimorfne oblike TBD: I, II in III in jih identificirali z diferenčno dinamično kalorimetrijo.
- Na kristalizacijski postopek izdelave polimorfni oblik II in III ključno vplivajo: koncentracijski gradient TBD, polarnost topila in temperatura.
- Meritve stičnega kota kažejo na najboljšo močljivost TBD III, obliki I in II pa izkazujeta slabšo močljivost.
- Proučevali smo stisljivost (kompresibilnost in kompaktilnost) polimorfni oblik TBD ter njegovih mešanic s pomožnimi snovmi, ki izkazujejo različne deformacijske mehanizme (mikrokristalna celuloza- plastična snov, kalcijev hidrogenfosfat dihidrat- fragmentirajoča se snov in kapa – karagenan- elastična snov). Na osnovi inverzne vrednosti Heckelovega koeficienta (mejni tlak stiskanja) smo klasificirali mehanske lastnosti snovi kot zelo žilave, žilave, zmerno krhke ali krhke.
  - Na osnovi rezultatov je vrstni red plastičnosti polimorfni oblik TBD:  $II < III \approx I$  (zmerno krhke snovi). Enaka stopnja plastičnosti oblik I in III sovпада s podobnostjo njunih konformacij (U tip), ureditve vodikovih vezi in kristalnega pakiranja; medtem ko oblika II zavzema konformacijo stola, kot posledica torzijskih rotacij alkilnega repa. Posledično je plastičnost te snovi nižja. Vrednosti  $C_p$  nakazujejo na vrstni red naraščajoče kompaktilnosti TBD: I, II, III.
  - Pri zmesih z MCC plastičnost narašča v vrstnem redu:  $II < III < I$ . Razvrstimo jih kot žilave (I) in zmerno krhke (II in III). Zmes z obliko I je bolj plastična v primerjavi z MCC, medtem ko obliki II in III bistveno ne spremenita deformacijskih lastnosti MCC in obratno. Zmesi MCC in TBD II in III 50:50 imata stopnjo plastičnosti med MCC in preiskovano polimorfno obliko TBD. Glede na vrednosti  $C_p$  je bil vrstni red naraščajoče kompaktilnosti zmesi MCC s TBD naslednji: I, II, III. Pri tlaku cca. 100 MPa se profil prelomi in nadaljnje povečevanje tlaka stiskanja več ne povečuje trdnosti tablet.
  - Pri zmesih s CHFD, plastičnost narašča v vrstnem redu:  $I < II \approx III$ , so bolj plastične kot sama pomožna snov in jih razvrstimo kot zmerno krhke. Glede na vrednosti  $C_p$  je bil vrstni red naraščajoče kompaktilnosti zmesi CHFD s

TBD naslednji: II, III, I. Pri visokih tlakih stiskanja se CHF<sub>D</sub> še vedno deformira oz. lomi in vzpostavlja nove povezave med delci, kar vidimo kot povečanje natezne trdnosti.

- 50% dodatek TBD kapa-karagenanu ne spremeni njegove mehanske lastnosti glede na vrsto polimorfne oblike in zmesi razvrstimo kot zmerno krhke. Glede na vrednosti  $C_p$  je bil vrstni red naraščajoče kompaktilnosti zmesi kapa-karagenana s TBD naslednji: I, III $\approx$  II. Tablete kapa-karagenana stisnjene pri tlakih pod 30 MPa so se pri rokovanju zdrobile, medtem ko je dodatek TBD prispeval k mehansko sprejemljivim tabletam tudi pri nižjih tlakih stiskanja od 30 MPa.
- Za sklop nadaljnjih proučevanj smo prepoznali priložnosti nadgradnje eksperimentalnega dela: razvoj kristalizacijskega postopka za pridobivanje večjih količin termodinamsko manj stabilnih polimorfnih oblik TBD II in III, IV in V in tako omogočanje tabletiranja večjih količin snovi ter proučevanje vpliva koncentracije vključene polimorfne oblike TBD v formulacijo in identifikacija koncentracije vključene polimorfne oblike, ki ima največji vpliv na celokupno obnašanje zmesi.

## 6 VIRI

1. Lum SKY. A Viscoelastic Analysis of Particle-Particle Deformation in Pharmaceutical Powder Compaction. Doktorska disertacija. University of Toronto. Faculty of Pharmacy, 1999
2. Busignies V, Leclerc B, Porion P, Evesque P, Couarraze G, Tchoreloff P. Compaction behaviour and new predictive approach to the compressibility of binary mixtures of pharmaceutical excipients. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2006; 64: 66–74
3. Bunjavac M, Vrečer F, Ilić I, Baumgartner S. Pomen Heckelove analize za proučevanje kompresibilnosti zmesi za tabletiranje. *Farmacevtski vestnik* 2009; 60: 327-335
4. Ilić I. Študij kompresibilnosti in kompaktilnosti izbranih farmacevtskih ekscipientov. Doktorska disertacija. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, 2011
5. Aulton M E. Tablets and compaction. In: *Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design*, 2nd edition. Churchill Livingstone, 2001: 397-438
6. Nordström J. Compression analysis as a tool for technical characterization and classification of pharmaceutical powders. Doktorska disertacija. Uppsala University, Faculty of Pharmacy, 2008
7. Joksimović T, Baumgartner T. Tabletiranje snovi, občutljivih na povišan tlak. *Farmacevtski vestnik* 2008; 59, 193-199
8. Yaniv N. Vpliv sestave in deformacijskih lastnosti posameznih komponent na mehanske lastnosti binarnih zmesi za direktno tabletiranje. Magistrska naloga, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, 2015
9. Ingvild I. Compression Analysis of Pharmaceutical Powders: Assessment of Mechanical Properties and Tablet Manufacturability Prediction. Doktorska disertacija. University of Tromsø. Faculty of Pharmacy, 2011
10. Chowhan Zt, Chow Yp. Compression Behavior Of Pharmaceutical Powders. *International Journal of Pharmaceutics* 1980;5:139-148
11. Robinson BJ. Characterization of the Viscoelastic Behavior of Pharmaceutical Powders. Magistrska naloga. Drexel Universit. Department of Materials Science & Engineering, 2009

12. Govedarica B, Ilić I, Šibanc R, Dreu R, Srčić S. The use of single particle mechanical properties for predicting the compressibility of pharmaceutical materials. *Powder Technology* 2012; 225: 43–51
13. Sun C, Grant DJW. Influence of Elastic Deformation of Particles on Heckel Analysis. *Pharmaceutical Development and Technology* 2001; 6(2): 193–200
14. Wong LW, Pilpel N. The effect of particle shape on the mechanical properties of powders. *International Journal of Pharmaceutics* 1990; 59: 145-154
15. Vromans H, Lerk FC. Densification Behaviour of Powder Mixtures in Relation to their Binding Properties. *Chemie Ingenieur Technik* 1989; 61(3): 256–257, 30
16. Alderborn G. A Novel Approach to Derive a Compression Parameter Indicating Effective Particle Deformability, *Pharmaceutical Development and Technology* 2003; 8 (4): 367-377
17. Rojas J, Aristizabal J, Henao M. Screening of several excipients for direct compression of tablets: A new perspective based on functional properties. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. 2013; 34(1): 17-23
18. Gentis ND, Betz G. Compressibility of Binary Powder Formulations: Investigation and Evaluation with Compaction Equations. *Journal Of Pharmaceutical Sciences* 2012; 101 (2): 277-292
19. Nokhodchi A, Rubinstein MH, Larhrib H, Guyot JC. The effect of moisture content on the energies involved in the compaction of ibuprofen. *International Journal of Pharmaceutics* 1995; 120 (1): 13-20
20. Amin MCIM, Albawani SM, Amjad MW. A Comparative Study of the Compaction Properties of Binary and Bilayer Tablets of Direct Compression Excipients. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* August 2012; 11 (4): 585-594
21. Davies P. Oral Solid Dosage Forms. In: Gibson M. *Pharmaceutical Preformulation and Formulation: Practical Guide from Candidate Drug Selection to Commercial Dosage Form*, Second Edition, Informa Healthcare, ZDA, 2009: 367-431
22. Gupta P, Nachaegari SK, Bansal AK. Improved Excipient Functionality by Coprocessing. In: Katdare A, Chaubal M. *Excipient Development for*

- Pharmaceutical, Biotechnology, and Drug Delivery Systems. Taylor & Francis Group, ZDA, 2006: 109-124
23. Al-Ibraheemi ZAM, Anuar MS, Taip FS, Amin MCI, Tahir SM, Mahdi AB. Deformation and Mechanical Characteristics of Compacted Binary Mixtures of Plastic (Microcrystalline Cellulose), Elastic (Sodium Starch Glycolate), and Brittle (Lactose Monohydrate) Pharmaceutical Excipients. *Particulate Science and Technology* 2013; 31: 561–567
  24. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. *Handbook of Pharmaceutical Excipients, Sixth Edition*. Pharmaceutical Press, ZDA, 2009
  25. Antikainen O, Yliruusi J. Determining the compression behaviour of pharmaceutical powders from the force–distance compression profile. *International Journal of Pharmaceutics* 2003; 252: 253–261
  26. Ilkka J, Paronen P. Prediction of the compression behaviour of powder mixtures by the Heckel equation. *International Journal of Pharmaceutics* 1993; 94: 181-187
  27. Sheikh-Salem M, Fell JT. Compaction characteristics of mixtures of materials with dissimilar compaction mechanisms. *International journal of pharmaceutical technology & product manufacture*. 1981; 2: 19-22.
  28. Vromans H, Lerk CF. Densification properties and compactibility of mixtures of pharmaceutical excipients with and without magnesium stearate. *International Journal of Pharmaceutics*. 1988; 46: 183-192
  29. Humbert-Droz P, Mordier D, Doelker E. Densification behaviour of powder mixtures. *Acta Pharmaceutica Technology*. 1983; 29: 69-73
  30. Duberg M, Nystrom C. Studies on direct compression of tablets: The consolidation and bonding properties of some pharmaceutical compounds and their mixtures with Avicel 105. *International Journal of pharmaceutical technology & product manufacture*. 1985; 6: 17-25
  31. Alderborn G. A Novel Approach to Derive a Compression Parameter Indicating Effective Particle Deformability, *Pharmaceutical Development and Technology* 2003; 8 (4): 367-377

32. Sonnergaard, J.M. Investigation of a new mathematical model for compression of pharmaceutical powders. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2001, 14, 149–157
33. Denny, P.J. Compaction equations: a comparison of the Heckel and Kawakita equations. *Powder Technol.* 2002, 127, 162–172
34. Michrafy, A.; Ringenbacher, D.; Tchoreloff, P. Modelling the compaction behaviour of powders: application to pharmaceutical powders. *Powder Technology.* 2002, 127, 257–266.
35. Nordström J, Klevan I, Alderborn G. A protocol for the classification of powder compression characteristics. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2012; 80: 209–216
36. Roberts RJ. *Particulate Analysis – Mechanical Properties.* Storey RA, Ymén I. *Solid State Characterization of Pharmaceuticals,* Wiley-Blackwell, UK, 2011: 357-382
37. Shariare MH, Leusen FJJ, De Matas M, York P, Anwar J. Prediction of the Mechanical Behaviour of Crystalline Solids. *Pharm Res* 2012; 29:319–331
38. Ticehursta MD, Marziano I. Integration of active pharmaceutical ingredient solid form selection and particle engineering into drug product design. *Royal Pharmaceutical Society, Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2015; 67: 782–802
39. Chen J, Sarma B, Evans MJB, Myerson AS. *Pharmaceutical Crystallization.* *Crystal Growth & Design.* 2011; 11: 887–895
40. Vrečer F, Planinšek O. *Izbrana poglavja iz načrtovanja lastnosti delcev.* Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, 2011
41. Averill BA, Eldredge P. Solutions In Averill BA, Eldredge P. *Principles of General Chemistry.* Flat World Education. 2016: 1525-1642
42. Thirunahari S. *Polymorphic crystallization process development.* Doktorska disertacija. Indian Institute of Technology Guwahati, 2011
43. Datapharm Ltd. Tolbutamide Tablets. <https://www.medicines.org.uk/emc/> (dostopano: 14. 4. 2016)

44. Li Destri G, Marrazzo A, Rescifina A, Punzo F. Crystal Morphologies and Polymorphs in Tolbutamide Microcrystalline Powder. *Journal Of Pharmaceutical Sciences* 2013; 102 (1): 73-83
45. Nirmala KA, Gowda DSS. Structure Determination of Tolbutamide. *Acta Crystallographica Section B* 1981; 37: 1597-1599
46. Thirunahari S, Aitipamula S, Chow PS, Tan RBH. Conformational Polymorphism of Tolbutamide: A Structural, Spectroscopic, and Thermodynamic Characterization of Burger's Forms I-IV. *J. Pharmaceutical Science* 2010; 99: 2975-2990
47. Donaldson JD, Leary JR, Ross SD, Thomas MJK, Smith CH. The structure of the orthorhombic form of tolbutamide (1-n-butyl-3-p-toluenesulphonylurea). *Acta Crystallographica Section B* 1981; 37: 2245-2248
48. Kimura K, Hirayama F, Uekama K. Characterization of tolbutamide polymorphs (burger's forms II and IV) and polymorphic transition behavior. *Journal Of Pharmaceutical Sciences* 1999; 88: 385-391
49. Bernstein J. Conformational polymorphism: intra- and intermolecular energetics. In: Bernstein J. *Polymorphism in Molecular Crystals*. Oxford University Press, New York, 2002: 151-182
50. Bernstein J. Polymorphism of pharmaceuticals. In: Bernstein J. *Polymorphism in Molecular Crystals*. Oxford University Press, New York, 2002: 240-255
51. Boldyreva EV, Arkhipo SG, Drebuschak TN et al. Isoenergetic Polymorphism: The Puzzle of Tolazamide as a Case Study. *Chem. Eur. J.* 2015; 21: 15395 - 15404
52. FMC Health and Nutrition. Avicel.  
<http://www.fmcbiopolymer.com/Pharmaceutical/Products/Avicelforsoliddos eforms.aspx> (Dostopano: 5.5.2016)
53. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. Cellulose, Microcrystalline. In: Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Sixth Edition. Pharmaceutical Press, ZDA, 2009: 129-134

54. FMC BioPolymer. Specifikacija surovine: Mikrokristalna celuloza. ZDA, 2015
55. Deorkar N, Farina J, Miinea L, Randive S. Directly compressible high functionality granular dibasic calcium phosphate based coprocessed excipient. US20110229527 (2011)
56. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. Calcium Phosphate, Dibasic Dihydrate. In: Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. Handbook of Pharmaceutical Excipients, Sixth Edition. Pharmaceutical Press, ZDA, 2009: 96-99
57. Lek d.d. Specifikacija surovine: Kalcijev hidrogenfosfat dihidrat. Ljubljana, 2015
58. Picker KM. The use of carrageenan in mixture with microcrystalline cellulose and its functionality for making tablets. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 1999; 48: 27–36
59. Picker KM. Matrix Tablets of Carrageenans. I. A Compaction Study. Drug Development and Industrial Pharmacy 1999; 25(3): 329–337
60. Picker KM. “Soft Tableting”: A New Concept to Tablet Pressure-Sensitive Materials. Pharm Dev Technol. 2004; 9(1): 107-21
61. Bukovac Maja. Vpliv vsebnosti vlage v izbranih pomožnih snoveh na njihovo stisljivost. Diplomaska naloga. Univerza v Ljubljani. Fakulteta za farmacijo, 2013
62. Lek d.d. Specifikacija surovine: Karagen Gelcarin GP812. Ljubljana, 2014
63. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. Magnesium stearate. In: Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. Handbook of Pharmaceutical Excipients, Sixth Edition. Pharmaceutical Press, ZDA, 2009: 404-408
64. Kottke MJ, Rudnic EM. Tablet Dosage Form. In: Banker GS, Siepmann J, Rhodes C. Modern Pharmaceutics, Fourth Edition. Taylor & Francis Group, ZDA, 2002
65. Particle Analytical. Differential Scanning Calorimetry (DSC) theory. <http://particle.dk/methods-analytical-laboratory/dsc-differential-scanning-calorimetry/dsc-theory/> (dostopano 15.6.2016)

66. Malvern. Laser Diffraction.  
<http://www.malvern.com/en/products/technology/laser-diffraction/>  
(dostopano 1.5.2016)
67. Kwok DY, Neumann AW. Contact angle measurement and contact angle interpretation. *Colloid Interface Science*. 1999; 81: 167- 249
68. Florence AT, Attwood D. Solids. In: *Physicochemical Principles of Pharmacy: In Manufacture, Formulation and Clinical Use*, Sixth edition. Pharmaceutical Press London, 2016: 7-68
69. Burger A. Zur Polymorphie oraler Antidiabetika. 2. Mittellung: Tolbutamid. *Scientia Pharmaceutica* 1975; 43 (3): 161-168
70. Rodríguez-Sponga B, Priceb CP, Jayasankara A, Matzgerb AJ, Rodríguez-Hornedo N. General principles of pharmaceutical solid polymorphism: A supramolecular perspective. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2004; 56 (3): 241–274