

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

URŠKA URNAUT
MAGISTRSKA NALOGA
ENOVIT MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2017

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

URŠKA URNAUT

**RAZVOJ METODE ZA DOLOČANJE KONČNE TOČKE
GRANULIRANJA V HITRO VRTEČEM GRANULATORJU**

**DEVELOPMENT OF END-POINT DETECTION METHOD IN
HIGH-SHEAR GRANULATOR**

MAGISTRSKA NALOGA
ENOVIT MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2017

Magistrsko nalogo sem opravljala v farmacevtski družbi Lek, d. d., Ljubljana, na oddelku za Farmacevtsko tehnologijo pod mentorstvom izr. prof. dr. Roka Dreua, mag. farm. in somentorstvom dr. Matejke Burjak, mag. farm.

ZAHVALA

Zahvaljujem se izr. prof. dr. Roku Dreuu za strokovno pomoč in nasvete med eksperimentalnim delom in pri nastajanju magistrske naloge. Iskreno se zahvaljujem dr. Matejki Burjak za vsestransko pomoč in spodbudo v trenutkih, ko sem jo najbolj potrebovala.

Zahvaljujem se podjetju Sensum za strokovne nasvete in pomoč pri izvedbi poskusov in interpretaciji rezultatov.

Zahvala gre tudi članom Skupine FTI, posebej Sari Vidovič, za spodbudo in nasvete v času nastajanja magistrske naloge.

IZJAVA

Izjavljam, da sem magistrsko delo izdelala samostojno pod mentorstvom izr. prof. dr. Roka Dreua, mag. farm. in somentorstvom dr. Matejke Burjak, mag. farm.

Urška Urnaut

Ljubljana, 2017

Komisija za zagovor:

Predsednik komisije: prof. dr. Janko Kos, mag. farm.

Mentor: izr. prof. dr. Rok Dreu, mag. farm.

Somentor: dr. Matejka Burjak, mag. farm.

Član komisije: doc. dr. Izidor Sosič, mag. farm.

KAZALO VSEBINE

KAZALO VSEBINE	I
KAZALO PREGLEDNIC.....	IV
POVZETEK	V
ABSTRACT	VI
KLJUČNE BESEDE	VII
KEY WORDS	VII
SEZNAM OKRAJŠAV	VII
1 UVOD	1
1.1 GRANULIRANJE	1
1.2 GRANULIRANJE V HITRO VRTEČIH GRANULATORJIH	1
1.2.1 Nastanek zrn v hitro vrtečem granulatorju	2
1.2.2 Vpliv procesnih spremenljivk na proces granuliranja in končni produkt.....	4
1.3 DOLOČANJE KONČNE TOČKE GRANULIRANJA.....	7
1.3.1 Posredne metode	7
1.3.2 Neposredne metode	9
1.4 METODA AVTOKORELACIJE	10
1.5 SPEKTER MOČI IN SPEKTRALNI MOMENTI	11
1.6 TABLETIRANJE.....	12
1.6.1 Proces stiskanja tablet	12
1.6.2 Kompresibilnost	13
1.6.3 Kompaktibilnost	14
2 NAMEN DELA.....	16
3 MATERIALI IN METODE	17
3.1 MATERIALI.....	17
3.2 LABORATORIJSKA OPREMA IN NAPRAVE	19
3.3 METODE	19
3.3.1 Izdelava granulata v hitro vrtečem granulatorju.....	19
3.3.2 Vrednotenje velikosti delcev granulata	23
3.3.3 Vrednotenje lastnosti granulata	26
3.3.4 Tabletiranje pripravljenih zmesi.....	27
3.3.5 Vrednotenje izdelanih tablet.....	27
3.3.6 Postavitev modela z uporabo metode avtokorelacije	30

3.3.7	Postavitev modela z uporabo metodo spektralnih momentov	31
3.3.8	Določitev cenilk z najboljšo napovedno vrednostjo.....	33
4	REZULTATI IN DISKUSIJA	35
4.1	PRVA LABORATORIJSKA SERIJA ZRNC (1*).....	35
4.2	LABORATORIJSKE SERIJE ZA POSTAVITEV MODELA (2*–4*).....	39
4.2.1	AUC NAF pri odmikih 50–70 slikovnih točk	42
4.2.2	AUC NAK pri zamikih od 0 do 3 slikovnih točk.....	44
4.2.3	Spektralni momenti	44
4.2.4	Vrednotenje lastnosti končnega granulata – pretočnost, kompaktilnost, kompresibilnost in sposobnost procesa	45
4.3	POTRĐITVENE LABORATORIJSKE SERIJE IZDELAVE ZRNC (5*–7*) – USTAVITEV PROCESA NA PODLAGI MEJ CENILK.....	47
4.3.1	AUC NAF pri odmikih 50–70 slikovnih točk	51
4.3.2	AUC NAK pri odmikih 0–3 slikovnih točk	52
4.3.3	Spektralni momenti	52
4.3.4	Vrednotenje lastnosti granulotov, izdelanih v ponovitvenih poskusih – pretočnost, kompatibilnost, kompresibilnost, sposobnost procesa	54
4.4	POVEČANJE PODROČJA OPAZOVALNEGA OKNA IN PONOVA ANALIZA ZAJETIH SLIK IN ODVZETIH VZORCEV ZA POSTAVITEV MEJE KONČNE TOČKE GRANULIRANJA.....	57
5	SKLEP.....	62
6	LITERATURA.....	64

KAZALO SLIK

Slika 1: Shema hitro vrtečega granulatorja (prirejeno po(1)).....	1
Slika 2: Shematski prikaz različnih faz relativne nasičenosti s tekočino (Prirejeno po (3))	4
Slika 3: Spreminjanje porabe moči med granuliranjem (prirejeno po (2))	8
Slika 4: Shema, ki so jo za spremljanje granuliranja s slikovno analizo uporabili Watano in sodelavci (prirejeno po (13)).....	9
Slika 5: Proces stiskanja tablet (prirejeno po (24))	13
Slika 6: Graf odvisnosti natezne trdnosti tablet od sile stiskanja (I – običajna odvisnost, II – odvisnost v primeru laminacije pri visokih silah stiskanja)(prirejeno po (24)).....	15
Slika 7: Prikaz mest odvzema, oznaka S predstavlja postavitev sekala v napravi	20
Slika 8: Shema poteka dela	21
Slika 9: Shema, uporabljena za realnočasovno ustavljanje procesa.....	22
Slika 10: Omejujoča dolžina delca za prehod skozi sito	24

Slika 11: Postopek analize fotografije: najprej ustvarimo binarno fotografijo, ki jo analiziramo in dobimo oštevilčen obris vsakega posameznega delca (slika na desni je približana).....	25
Slika 12: Vpliv lege procesa na indekse sposobnosti procesa (prirejeno po (37))	29
Slika 13: Primer spektra moči prostorskih frekvenc, ki ga dobimo pri analizi slik	32
Slika 14: Ostanke na situ 3,15 mm na različnih odvzemnih mestih	36
Slika 15: Spreminjanje porazdelitve delcev med procesom granuliranja (združeni rezultati dinamične in statično slikovno analizo)	37
Slika 16: Kumulativne porazdelitve vzorcev odvzetih med procesom granuliranja 1*	38
Slika 17: Krivulje normirane avtokorelacijske funkcije ob točkah 90 % dodane vode, 100 % dodane vode in 1 min gnetenja (oznaka 110)	38
Slika 18: Primerjava ostankov po ročnem sejanju skozi sito 3,15 mm	40
Slika 19: Primerjava deleža delcev v posameznem velikostnem razredu za vse tri laboratorijske serije, ki smo jih uporabili za postavitve mejnih vrednosti cenilk procesa	41
Slika 20: Kumulativna porazdelitev velikosti delcev v bližini končne točke granuliranja pri laboratorijskih serijah za postavitev metode objektivnega določanja končne točke	41
Slika 21: Spreminjanje površine pod krivuljo normirane avtokorelacijske funkcije pri zamikih od 50 do 70 slikovnih točk pri treh laboratorijskih serijah za postavitev metode	43
Slika 22: Spreminjanje površine pod krivuljo normiranega avtokorelacijskega koeficienta pri zamikih od 0 do 3 slikovnih točk pri treh laboratorijskih serijah za določitev meje cenilke	44
Slika 23: Spreminjanje spektralnih momentov pri treh laboratorijskih serijah za določitev meje cenilke	45
Slika 24: Hecklov diagram laboratorijskih serij za postavitev metode določanja končne točke granuliranja	45
Slika 25: Kompaktibilnostni diagram laboratorijskih serij za postavitev modela.....	46
Slika 26: Primerjava ostankov na situ 3,15 mm pri potrditvenih laboratorijskih serij	49
Slika 27: Kumulativna distribucija delcev v bližini končne točke granuliranja pri potrditvenih laboratorijskih serijah.....	49
Slika 28: Spreminjanje površine pod krivuljo normirane avtokorelacijske funkcije pri zamikih od 50 do 70 slikovnih točk pri treh potrditvenih laboratorijskih poskusih.....	51
Slika 29: Spreminjanje površine pod krivuljo normiranega avtokorelacijskega koeficienta pri zamikih od 0 do 3 slikovnih točk pri treh potrditvenih laboratorijskih poskusih.....	52
Slika 30: Spreminjanje spektralnih momentov pri treh potrditvenih laboratorijskih serijah	53
Slika 31: Hecklov diagram potrditvenih laboratorijskih serij zrn	54
Slika 32: Kompaktibilnostni diagram potrditvenih laboratorijskih serij zrn	55
Slika 33: Povečanje opazovalnega okna – začetno opazovalno okno (levo) in povečano opazovalno okno (desno).....	57

Slika 34: Prikaz odvisnosti AUC normiranega avtokorelacijskega koeficienta od deleža prahov v granulatu.....	58
Slika 35: Spreminjanje površine pod krivuljo normiranega avtokorelacijskega koeficienta med procesom granuliranja pri povečanem opazovalnem oknu	59
Slika 36: Prikaz odvisnosti spektralnega momenta od deleža prahov v granulatu.....	59
Slika 37: Spreminjanje spektralnih momentov med procesom granuliranja pri povečanem področju zanimanja	60
Slika 38: Korelacija med cenilkama normiranega avtokorelacijskega koeficienta in spektralnih momentov pri prvotnem opazovalnem oknu.....	61
Slika 39: Korelacija med cenilkama normiranega avtokorelacijskega koeficienta in spektralnih momentov pri povečanem opazovalnem oknu	61

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica I: Parametri, ki smo jih uporabili pri izdelavi vseh laboratorijskih serij	20
Preglednica II: Pregled enačb, uporabljenih za preračun kompresibilnosti tabletnih zmesi (Hecklova analiza)	27
Preglednica III: Pregled odvzetih vzorcev ter rezultati ročnega sejanja s sitom 3,15 mm.....	35
Preglednica IV: Pregled vzorcev, odvzetih med procesom granuliranja pri laboratorijskih serijah za postavitev modela (mesto odvzema št. 1)	39
Preglednica V: Parametri velikosti delcev in delež prahov za posamezno laboratorijsko serijo	42
Preglednica VI: Parametri kompresibilnosti laboratorijskih serij za postavitev modela.....	46
Preglednica VII: Parametri kompaktilnosti laboratorijskih serij za postavitev metode	47
Preglednica VIII: Indeksi sposobnosti procesa laboratorijskih serij za postavitev metode	47
Preglednica IX: Pregled odvzetih vzorcev med potrditvenimi laboratorijskimi serijami	48
Preglednica X: Parametri velikosti delcev in delež prahov za posamezno laboratorijsko serijo in velikosti uporabljene učinkovine	50
Preglednica XI: Parametri kompresibilnosti potrditvenih laboratorijskih serij zrn	54
Preglednica XII: Parametri kompaktilnosti potrditvenih laboratorijskih serij zrn	55
Preglednica XIII: Indeksi sposobnosti procesa za potrditvene laboratorijske serije	56

POVZETEK

Granuliranje predstavlja postopek, pri katerem prahove povežemo v večje delce oziroma zrnca. Potek visokostrižnega granuliranja je težko nadzorovati in ustaviti v ustreznem trenutku, saj na potek procesa vpliva veliko dejavnikov, značilne lastnosti granulata v nastajanju pa je medprocesno težko vrednotiti.

Procese granuliranja v laboratorijskem hitro vrtečem granulatorju smo *in-situ* snemali s kamero in na podlagi analize vizualne informacije določili tri cenilke procesa, ki so se na podlagi preliminarних poskusov izdelave zrnca zdele najbolj obetavne: površina pod krivuljo normirane avtokorelacijske funkcije pri zamiku 50–70 slikovnih točk, površina pod krivuljo normiranega avtokorelacijskega koeficienta pri zamiku 0–3 slikovnih točk in spektralni momenti. Med procesom smo ob določenih točkah jemali vzorce in ovrednotili porazdelitve velikosti zrnca. Za določanje velikosti zrnca smo zaradi omejitev merilnih območij uporabili kombinacijo dinamične (Camsizer XT) in statične slikovne analize. Rezultate obeh analiz smo združili, da smo dobili skupno porazdelitev velikosti delcev. Na osnovi kumulativne porazdelitve velikosti smo preračunali značilne parametre velikosti delcev. Tri laboratorijske serije smo uporabili za postavitev metode ter za določitev mej za vse tri vizualne cenilke procesa. Pri treh nadaljnjih potrditvenih laboratorijskih serijah smo spremljali realnočasovno spreminjanje vseh treh cenilk in proces ustavili, ko smo prečkali mejo vrednosti ene izmed treh cenilk vizualne informacije procesa. V vseh treh primerih je bila to meja cenilke površine pod krivuljo normiranega avtokorelacijskega koeficienta.

Področje opazovanja smo naknadno povečali tako, da smo izbrali največjo površino, ki so jo še prekrivali delci v vseh šestih laboratorijskih serijah (treh postavitvenih in treh potrditvenih) med celotnim procesom. Izkazalo se je, da smo na ta način dobili zelo dobro korelacijo med deležem prašne frakcije in vrednostmi cenilk površine pod krivuljo normiranega avtokorelacijskega koeficienta in spektralnih momentov. Izboljšala se je tudi občutljivost obeh pristopov sledenja procesa za pregranuliranje.

Izvedli smo analize kompresibilnosti in kompaktilnosti granulata, prav tako smo vrednotili sposobnost procesa tabletiranja granulata za vse laboratorijske serije. Med posameznimi laboratorijskimi serijami nismo opazili bistvenih razlik.

Pokazali smo, da lahko s cenilkama površine pod krivuljo normiranega avtokorelacijskega koeficienta in spektralnih momentov določimo končno točko granuliranja preko realnočasovnega spremljanja procesa. Ko smo povečali področje opazovanja in posledično za analizo uporabili večje število delcev, so se rezultati napovedovanja še izboljšali.

ABSTRACT

During the granulation process powder is transformed into granules. As many factors influence high shear granulation, it is hard to control the process, and its end-point determination is rather challenging.

All granulation experiments were conducted and evaluated on a laboratory-scale high shear granulator. Visual information was used to determine the three most promising estimators of process evolution and end-point, which were: area under the curve of the normed autocorrelation function at 50-70 pixel offset, area under the curve of the normed autocorrelation coefficient at 0-3 pixel offset, and spectral moments. During the process, samples were taken at specific time points and afterwards analysed in order to evaluate particle size distribution. Samples were analysed using two different methods – dynamic and static image analysis. Furthermore, the results of dynamic (Camsizer XT) and static image analysis were combined and used to determine particle size distribution. Cumulative particle size distributions were used in order to calculate particle size parameters. Based on three initial experiments, end-point limits for all three process visual information estimators were determined. This was followed by three additional experiments during which a real-time evaluation of all three estimators was performed and the process was stopped when the first limit was reached. In all three cases the limit for the area under the curve of the normed autocorrelation coefficient at 0-3 pixel offset was reached first.

After analysing all experiments, the area of interest was enlarged by selecting the largest area that was entirely covered with particles during all experiments. After this enlargement, the correlation between powder fraction and values of estimators of the area under the curve of the normed autocorrelation coefficient and spectral moments increased significantly. The method's sensitivity to overgranulation detection was also increased for both estimators.

For all of the produced granular samples, compressibility, compactibility and process capability during tablet compression were analysed. No significant differences were observed between granulation experiments.

It has been demonstrated that estimators of the area under the curve of the normed autocorrelation coefficient and spectral moments can both be employed for real-time determination of the granulation end-point. When the area of interest was enlarged, more particles were analysed and consequently the estimation results were greatly improved.

KLJUČNE BESEDE

granuliranje v hitro vrtečem granulatorju, končna točka granuliranja, realnočasovno vrednotenje, normirana avtokorelacijska funkcija, normiran avtokorelacijski koeficient, spektralni momenti

KEY WORDS

high shear granulation, granulation end point, real time assesment, normed autocorrelation function, normed autocorrelation coefficient, spectral moments

SEZNAM OKRAJŠAV

AUC	površina pod krivuljo (angl. »area under curve«)
FBRM	<i>angl.</i> »focused beam reflectance measurement«
FO	farmacevtska oblika
HPC	hidroksipropilceluloza
NAF	normirana avtokorelacijska funkcija
NAK	normiran avtokorelacijski koeficient
NIR	<i>angl.</i> »near infrared«
PVM	<i>angl.</i> »particle vision and measurement«

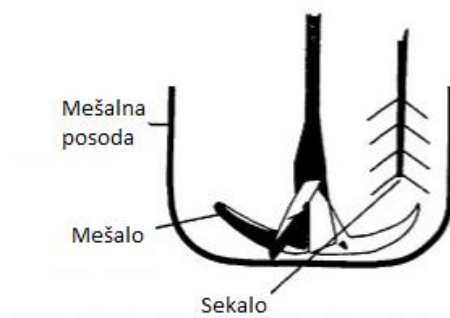
1 UVOD

1.1 GRANULIRANJE

Granuliranje je proces aglomeriranja prahov z uporabo ustreznega veziva. Med granuliranjem prihaja do povečevanja delcev oziroma nastajanja zrn. To je pogosto nujen vmesni korak v proizvodnji trdnih farmacevtskih oblik (FO). Zmesi delcev, ki se pri tem uporabljajo, morajo imeti namreč ustrezno pretočnost, nasipno gostoto, pri stiskanju tablet pa je ključnega pomena tudi stisljivost. Poleg izboljšanja stisljivosti in pretočnosti lahko proces granuliranja pozitivno vpliva tudi na: enakomernost porazdelitve zdravilne učinkovine v volumnu delcev, porazdelitev velikosti delcev, ki se zoži, ter na zmanjšanje segregacije in prašenja zmesi. Pogost je tudi vpliv na sproščanje učinkovine iz končnega izdelka. Prahove, ki vstopajo v proces granuliranja, na začetku mešamo, s čimer zagotovimo enakomernejšo razporeditev posameznih sestavin. Tri najpogostejše uporabljene metode granuliranja so: vlažno granuliranje, suho granuliranje in granuliranje s talinami. Razlike med temi metodami so predvsem v vrsti uporabljenega veziva in lastnostih nastalih zrn (1, 2).

1.2 GRANULIRANJE V HITRO VRTEČIH GRANULATORJIH

Večina hitro vrtečih granulatorjev, ki se običajno uporabljajo, je sestavljena iz mešalne posode, mešala s tremi kraki in sekala (Slika 1). Mešalo se uporablja za mešanje vsebine in razporejanje granulacijske tekočine med delci. Od velikosti naprave je odvisna tudi primerna hitrost mešala – od 100 do 500 obratov na minuto. Maksimalni strig mešala je namreč odvisen od obodne hitrosti konice mešala. Naloga sekala je, da večje gmote razbije v manjša zrnca. Sekalo lahko, enako kot mešalo, nastavimo na različne hitrosti delovanja (2).



Slika 1: Shema hitro vrtečega granulatorja (prirejeno po (1))

Visokostrižno granuliranje ima v primerjavi z drugimi metodami granuliranja naslednje prednosti pred vrtnčnoslojnim granuliranjem: možnost obdelave veziv večjih viskoznosti, manjša poraba granulacijske tekočine in nastanek gostejših zrn, ki so manj krušljiva. Ena izmed prednosti je tudi manjše prašenje med procesom in s tem manjša izpostavljenost ljudi izdelku (2).

1.2.1 Nastanek zrn v hitro vrtečem granulatorju

Za nastanek zrn je najpomembneje, da se med delci prahov tvorijo dovolj močne vezi, ki preprečujejo razpad zrn. Med visokostrižnim granuliranjem hkrati potekajo in se prepletajo različni procesi. Te procese razdelimo na močenje in jedrenje ter konsolidacijo in koalescenca, ki povzročajo rast zrn na eni ter obrabo in drobljenje, ki povzročata zmanjšanje velikosti zrn, na drugi strani. Pri vlažnem granuliranju se dodana tekočina razporedi med prahovi s postopnim kapljanjem ali razprševanjem na površino praškov v gibanju ter s prerazporejanjem s pomočjo mešala. Zaradi tekočinskih filmov, ki nastanejo na površini delcev prahov in nadaljnega dodajanja tekočine, se delci začnejo adherirati med seboj zaradi nastanka tekočinskih mostičkov (3).

→ Nastanek primarnih jeder

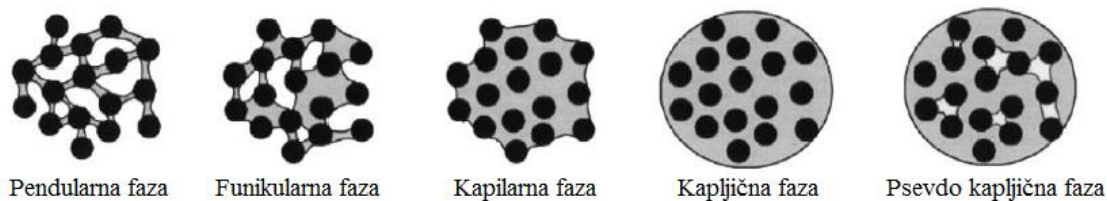
Primarno jedro nastane v trenutku, ko posamezna kapljica granulacijske tekočine doseže prahove v granulatorju. Ločimo dva mehanizma nastanka zrn, ki se med seboj razlikujeta glede na to, kakšna je velikost kapljice v primerjavi z velikostjo prahov. Če je kapljica velika, prevlada tako imenovani **imerzijski mehanizem**, pri katerem je osnova kapljica in se prahovi vanjo potopijo. Kadar so kapljice manjše, primarna jedra nastanejo po principu **distribucijskega mehanizma** – granulacijska tekočina z vezivom se razporedi po površini trdnih delcev, koalescenca med omočenimi delci pa povzroči nastanek primarnih jeder. Slabo močenje in jedrenje sta vzroka za široko porazdelitev velikosti zrn in slabo porazdeljevanje granulacijske tekočine, kar poveča tudi možnost za neenakomerno porazdelitev zdravilne učinkovine v končni zmesi. Idealno stanje je, ko vsaka kapljica tekočine, ki prodre v nasutje prahov, postane eno primarno jedro. Pri tem je pomembno, da se prostori, kamor kapljice padejo, med seboj ne prekrivajo. Da dosežemo takšno idealno stanje, sta pomembni dinamika praškov v mešalni posodi in kinetika prodora kapljice v nasutje prahov, kar je odvisno predvsem od lastnosti formulacije. Z regulacijo pretoka

granulacijske tekočine in hitrostjo vrtenja mešala lahko zagotovimo, da ne prihaja do prekrivanja površine, kamor posamezne kapljice padejo (3, 4).

→ Rast zrn in konsolidacija

Rast zrn je posledica trkov materiala v granulatorju. Če po trku delcev pride do združitve materiala, zrnca zrastejo. Ločimo dva mehanizma rasti zrn, in sicer, če se združita dve večji zrnca, govorimo o **koalescenci**, kadar se prahovi oprimejo na površino že nastalega zrnca, pa govorimo o **oblaganju**. Za uspešno koalescenco in posledično rast zrn je ključna prisotnost kapljevine na področju stika zrn. Med procesom mešanja zaradi striga prihaja do konsolidacije, to je zgoščevanje zrn. Med tem procesom se poveča nasičenost intrapartikularnih por s tekočino in pride do iztiska tekočine na površino oziroma stično površino delcev, kar spremeni mehanske lastnosti (plastičnost) delcev in omogoči uspešno koalescenco (3, 4).

Pri visokostrižnem granuliranju zmesi prahov dodajamo granulacijsko tekočino, ki se razporeja med delci in okrog njih. Zrnca lahko obstajajo v različnih stanjih relativne nasičenosti s tekočino. Ločimo pet različnih stanj: pendularno, funikularno, kapilarno, kapljično in psevdo kapljično fazo (Slika 2). Najprej nastopi **pendularna** faza, v kateri so delci povezani s tekočinskimi mostovi (oblika konkavne leče), ki so prisotni le na površini primarnih delcev. Sledi **funikularna** faza, v kateri vsi prostori med delci aglomerata še niso do popolnosti napolnjeni s tekočino. Tekočinski mostički se med seboj združujejo in zapolnjujejo pore med delci. Ko med delci ni več prisotnega zraka, preidemo v **kapilarno** fazo. V tej fazi granulacije so zrnca mehansko najmočnejša. Prehod med funikularno in kapilarno fazo ni pogojen samo z dodajanjem tekočine, lahko je tudi posledica zmanjševanja prostora med delci – zgoščevanja aglomerata. Takšni pogoji se pojavijo pri visokostrižnem granuliranju, kjer lahko z dodatnim gnetenjem, brez nadaljnjega dodajanja tekočine, preidemo iz funikularne v kapilarno fazo. V **kapljični** fazi so prahovi popolnoma obdani z granulacijsko tekočino in je moč zrn odvisna zgolj od njene površinske napetosti ter stičnega kota s trdno snovjo (močenja). Te faze med granuliranjem ne želimo doseči, saj v tej fazi material že pregranuliramo. Pri **psevdo kapljični** fazi so znotraj kapljice še vedno prisotni prazni prostori. Ta faza se lahko pojavi pri sistemih s slabšo močljivostjo (1, 3).



Slika 2: Shematski prikaz različnih faz relativne nasičenosti s tekočino (Prirejeno po (3))

Tekočinski mostički so začasne strukture. Za njihov nastanek so najpomembnejše sile površinske napetosti in negativnega kapilarnega tlaka. So predhodniki snovnih mostičkov, ki nastajajo med procesom sušenja z enim od dveh procesov: trdenje veziva ali rekristalizacija raztopljenih snovi. Velikost nastalih kristalov je odvisna predvsem od hitrosti sušenja – pri počasnejšem sušenju nastanejo večji kristali vezivnega materiala. Če se v granulacijski tekočini učinkovina raztaplja in potem rekristalizira, lahko velikost nastalih kristalov vpliva na hitrost sproščanja učinkovine (1).

→ Obraba in drobljenje

Obraba in drobljenje sta dva popolnoma ločena pojavi, ki sta od vseh treh naštetih pojavov med granuliranjem najmanj raziskana. Drobljenje se nanaša na vlažna zrnca v granulatorju, obraba pa na že posušena ali delno posušena zrnca v granulatorju ali sušilniku, kjer prihaja do površinske abrazije aglomerata (5).

Drobljenje vlažnih zrn vpliva na porazdelitev velikosti končnih zrn tako, da izboljša njihovo homogenost in s spodbujanjem konsolidacije poveča trdnost zrn. Do drobljenja zrn pride v primeru, če nanje delujemo z dovolj veliko kinetično energijo, kar se zgodi pri večjih hitrostih delovanja mešala ali sekala. Pogostost tega pojava je odvisna od natezne trdnosti zrn v primerjavi s strižnimi silami, ki nanje delujejo. Različni materiali se pod vplivom delovanja strižnih sil obnašajo popolnoma drugače. Lomljiva, krhka zrnca se bodo drobila preprosto, nasprotno pa se bodo popolnoma plastična zrnca, prej kot zdrobila, razmazala po stenah posode in mešala. Obraba zrn med procesom sušenja je pojav, ki si ga ne želimo. Posušena zrnca se navadno lomijo po predhodno nastalih razpokah, za kar je v primerjavi z drobljenjem vlažnih zrn zadosti že manjša sila (3–5).

1.2.2 Vpliv procesnih spremenljivk na proces granuliranja in končni produkt

Procesne spremenljivke imajo ključno vlogo pri zagotavljanju ustreznih lastnosti končnega produkta. Razvoj FO večinoma poteka na laboratorijski ravni, kjer so granulatorji manjši, nato se s povečevanjem velikosti serij (»scale up«) tehnološki proces prenese na proizvodno

opremo. Med laboratorijskimi in proizvodnimi granulatorji lahko obstajajo pomembne razlike glede geometrije posode, mešala in sekala ter uporabljenih hitrosti vrtenja obeh. Čeprav je sestava zmesi za granuliranje enaka, lahko vse te razlike privedejo do tega, da imajo zrnca proizvedena na proizvodni ravni občutno drugačne farmacevtsko – tehnološke (fizikalne) lastnosti (2).

Hitrost mešala, hitrost dodajanja granulacijske tekočine, celokupna količina dodane tekočine in čas gnetenja so ključne spremenljivke. S povečevanjem količine dodane tekočine in z večjo hitrostjo mešala se poveča velikost nastalih zrn. Koalescenca prahov v zrnca je večinoma povezana s pogoji mešanja (hitrost mešala ter čas mešanja/gnetenja) in celokupno količino dodane tekočine ter manj s hitrostjo dodajanja granulacijske tekočine (2, 6).

→ Celokupna količina dodane tekočine

Celokupna količina dodane tekočine je dejavnik, ki ima največji vpliv na rast zrn. Težava nastane, ker je v dosti primerih območje, v katerem govorimo o optimalni količini dodane vode, zelo ozko. V teoriji naj bi bilo optimalno, če bi dodali tolikšno količino granulacijske tekočine, da bi imeli celovito nasičenost prahov s kapljevino, nekje v poznem funikularnem stanju. Če ne dodamo dovolj granulacijske tekočine, se lahko zgodi, da sploh ne pride do nastanka zrn. Večja količina dodane tekočine povzroči večjo nasičenost zrn in na ta način se poveča možnost za njihovo rast preko koalescence. Zrnca se z nasičenjem s kapljevino tudi lažje deformirajo, kar omogoči prehod tekočine na njeno površino, s čimer se povečata tako verjetnost koalescence kot tudi uspešnost njenega poteka. Večja količina dodane tekočine povzroči porast gostote celotne zmesi. Če pa dodamo preveliko količino tekočine, lahko hitro preidemo v pregranulirano stanje (7–9).

→ Hitrost mešala

Pri večji hitrosti vrtenja mešala se poveča hitrost trkov delcev v granulatorju. Vpliv tega na rast zrn je odvisen od mehanskih lastnosti vlažnih zrn (ločimo zrnca, ki se plastično deformirajo, in drobljiva, fragmentirajoča zrnca). Plastična zrnca, ki nastanejo pri visoki nasičenosti s tekočino in veliki hitrosti trkov, se lažje deformirajo, zato je verjetnost uspešne koalescence večja, kar vodi v hitro rast takšnih zrn. Fragmentirajoča zrnca so rezultat manjše nasičenosti s tekočino, pri takšnih zrnih velike hitrosti trkov verjetneje povzročijo drobljenje kot koalescenca in rast zrn. Za fragmentirajoča zrnca je značilno, da je njihova maksimalna velikost v obratnem sorazmerju s hitrostjo mešala. Pri plastičnih zrnih je ravno obratno, saj je zaradi njihove sposobnosti deformacije pri višjih obratih mešala večja

možnost koalescence. Ob tem dodatno pride tudi do zmanjšanja njihove poroznosti, kar vodi v močnejša zrnca. Pri preizkušanju hitrosti mešala v območju 100–500 obratov na minuto so ugotovili, da je pri višjih obratih manj prašne frakcije in več zrn optimalne velikosti. Za zadostno kontrolo rasti zrn torej potrebujemo dovolj visoke obrate mešala (7, 8, 10).

Mešalo vpliva tudi na porazdeljevanje tekočine med prahovi v granulatorju. Med jedrenjem lahko nastanejo velika zrnca, ki niso posledica koalescence, temveč neenakomernega dodajanja kapljevine. Rezultat tega je, da imamo na začetku bimodalno porazdelitev velikosti delcev. Porazdelitev delcev se med procesom spremeni v unimodalno in takšna ostane do konca. Večje hitrosti mešala izboljšajo porazdelitev tekočine in razbijejo velika zrnca, ki so posledica lokalnega premočenja (7).

→ Čas gnetenja

Gnetenje je faza procesa granuliranja, ko po prenehanju dodajanja granulacijske tekočine nadaljujemo z mešanjem. Podobno kot povečana hitrost mešala lahko tudi faza gnetenja tako poveča kot zmanjša velikost zrn. Med gnetenjem prihaja do zgoščevanja zrn in posledično sprememb v nasičenosti s tekočino in mehanskih lastnosti zrn, kar poveča možnost uspešne koalescence. Na drugi strani lahko med gnetenjem pride do drobljenja večjih zrn. Že kratki časi gnetenja (1–3 min) pomembno vplivajo na gostoto oziroma poroznost zmesi, zato moramo biti zelo pozorni, da ne dobimo preveč zgoščenih zrn (7, 8).

→ Hitrost in čas dodajanja granulacijske tekočine

Hitrost in čas dodajanja tekočine sta v obratnem sorazmerju; hitreje kot dodajamo granulacijsko tekočino, krajši je čas dodajanja. Hitrost dodajanja tekočine je pomembna predvsem v povezavi s hitrostjo mešala in posledično prerazporejanjem tekočine. Če mešalo ne uspe ustrezno prerazporediti dodane tekočine in prihaja do nastanka prevelikih zrn, lahko to kontroliramo tako, da zmanjšamo hitrost dodajanja granulacijske tekočine. Predvsem pri izdelkih, pri katerih je treba dodati veliko količino tekočine, je pomembno, da se to dodaja počasi, saj v nasprotnem primeru pogosto pride do lokalnega premočenja in nastanka velikih primarnih jeder. Hitrost dodajanja granulacijske tekočine ima vpliv predvsem v primerih, ko mešalo slabo prerazporeja dodano granulacijsko tekočino. Znani so primeri, ko so nastala ustrezna zrnca, tudi ko so vso granulacijsko tekočino dodali naenkrat. Izkazalo se je, da je vpliv mešanja na poroznost zrn odvisen od nasičenosti teh. Pri nizkih nasičenostih, med začetnim dodajanjem granulacijske tekočine, mešanje torej nima takšnega vpliva na

poroznost oziroma gostoto zrn. S podaljšanjem časa dodajanja granulacijske tekočine so opazili le majhno spremembo v njihovi poroznosti (6, 7).

1.3 DOLOČANJE KONČNE TOČKE GRANULIRANJA

Lastnosti zrn, pridobljenih s procesom hitro vrteče granulacije, so v veliki meri odvisne od procesnih parametrov ter hkrati pomembno vplivajo na lastnosti in kakovost končnih farmacevtskih oblik. Zato je zelo pomembno, da granuliranje ustavimo v pravem trenutku. Končno točko lahko določimo na podlagi želene povprečne velikosti zrn ali jo definiramo na podlagi poroznosti nastajajočih delcev. Ko dosežemo končno točko granuliranja in prekinemo proces, imajo lahko zrnca podobne lastnosti, neodvisno od tega, kakšne procesne parametre smo uporabili (2, 11).

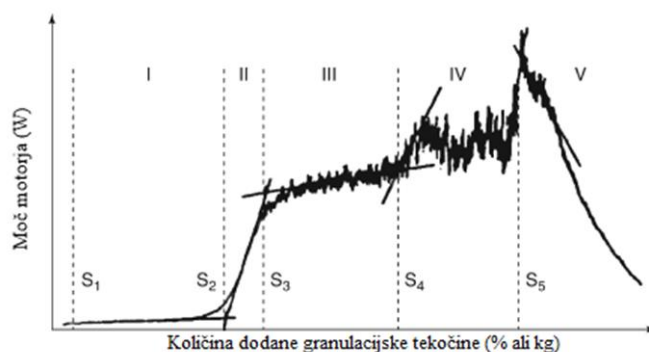
Prednosti uporabe ustrezne metode za določitev končne točke granuliranja so naslednje:

- lažje izvedemo optimizacijo procesa – ocenimo vpliv vhodnih materialov, določimo optimalno končno točko,
- imamo bolj ponovljiv proces med serijami in podobno velikost končnih zrn,
- lažje obvladujemo spremembe v procesu in variabilnost vstopnih materialov.

Raziskanih je bilo več pristopov, s katerimi bi lahko določali končno točko granuliranja. Razdelimo jih lahko v dve večji skupini: posredne in neposredne metode (2).

1.3.1 Posredne metode

Pri posrednih metodah spremljamo predvsem električne in mehanske spremenljivke motorja, s pomočjo katerih lahko določimo končno točko granuliranja. Med **električne spremenljivke** motorja prištevamo moč in električni tok, ki ju motor porablja za svoje delovanje. Na trgu obstajajo hitro vrteči granulatorji, ki omogočajo določanje končne točke granuliranja z meritvijo porabe moči motorja. Moč, ki jo mešalo porablja za delovanje, se med rastjo in združevanjem zrn spreminja in je povezana s povprečno velikostjo zrn, zgoščevanjem zmesi in nasičenostjo s tekočino. Povezava ni vedno linearna. Klasičen primer grafičnega prikaza spreminjanja moči med procesom granuliranja je prikazan na Sliki 3 (2, 11).



Slika 3: Spreminjanje porabe moči med granuliranjem (prirejeno po (2))

Dokazali so povezavo med stopnjo nasičenosti in porabo moči. V prvi stopnji (S1) dodajamo granulacijsko tekočino in na ta način vlažimo prahove. Do tvorbe tekočinskih mostičkov še ne prihaja, zato je poraba moči konstantna. V drugi stopnji (S2) pride do hitrega porasta porabe moči, saj se začnejo tvoriti tekočinski mostički in s tem zrnca. V tretji stopnji (S3) granulacijsko tekočino še vedno dodajamo in zapolnjujemo prostore med delci. V tej fazi je poraba moči dokaj konstantna. Ko je zmes prahov nasičena s tekočino, preidemo v četrto fazo (S4), kjer pride do tvorbe močnejših zrn. Med prehodom iz tretje v četrto fazo pride do zvišanja porabe moči, medtem ko je v četrti fazi spet dokaj konstantna. Če nadaljujemo dodajanje granulacijske tekočine, preidemo v peto stopnjo (S5), v kateri pride do nastanka suspenzije in upada porabe moči. Zrnca, ki nastanejo v tretji stopnji, so najbolj primerna za nadaljnjo uporabo (2, 6).

Težava, ki se pojavlja pri uporabi metode porabe moči motorja za določanje končne točke granuliranja, je, da poleg obremenjenosti mešala odraža tudi obremenjenost motorja (11).

Pri **mehanskih spremenljivkah** motorja spremljamo hitrost mešala, ki se meri v obratih na minuto, ter navor mešala. Hitrost mešala lahko definiramo oziroma nastavimo in po želji spreminjamo med procesom. Navor mešala se med procesom spreminja v povezavi s spremembami kohezivnih sil oziroma natezne trdnosti aglomeratov. Močno je povezan s porabo moči motorja in je odličen in-line pokazatelj obremenjenosti mešala. Navor mešala je v primerjavi s porabo moči motorja bolj občutljiv na visoko frekvenčne oscilacije, saj nanj ne vplivajo spremembe v električnih lastnostih motorja (2, 11).

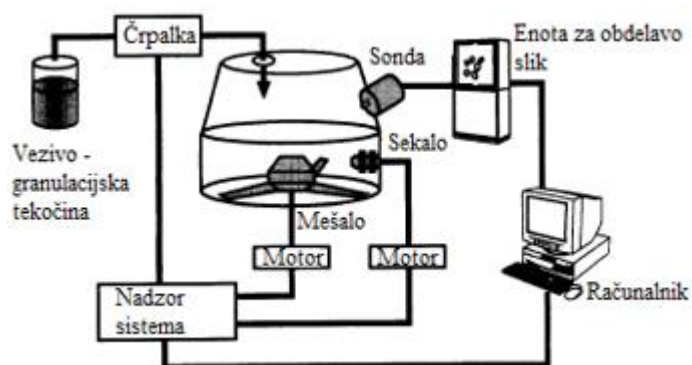
Navor mešala in poraba moči motorja sta odvisna od viskoznosti granulata in granulacijske tekočine, hitrosti mešala in hitrosti dodajanja granulacijske tekočine (12).

1.3.2 Neposredne metode

Med procesom granuliranja prihaja do sprememb v fizikalnih lastnostih materiala, ki jih lahko spremljamo in te podatke potem uporabimo za določitev končne točke granuliranja (2).

→ Slikovna analiza

Za določanje končne točke granuliranja se uporabljajo tudi različne metode, ki temeljijo na analizi slik. Watano in sodelavci so razvili sistem, ki je omogočil sprotno določanje rasti zrn. Sistem je sestavljen iz kamere, svetila in vpiha zraka, ki omogoča čiščenje objektiv kamere. Pomembna je lokacija sonde, ki jo sestavljata kamera in svetilo, hkrati pa mora sonda dovolj hitro zajemati posnetke, da lahko spremljamo hitro rast zrn. Podatke so realnočasovno obdelali z računalnikom, ki je povezan s sondo. Shema sistema, ki so ga pri tem uporabili, je predstavljena na Sliki 4. S tem sistemom so lahko vrednotili zgolj dispergirana zrnca, ki so med seboj ločena in se ne prekrivajo. Do tega pojava pride proti koncu granuliranja, ko se pojavijo »leteča« zrnca. Za vsako takšno zrnce je sistem izmeril premer in na podlagi več meritev so dobili oceno porazdelitve velikosti delcev. Za meritve velikosti zrn v nasutju, kjer se ta med sabo prekrivajo, takšen sistem ni primeren (2, 13).



Slika 4: Shema, ki so jo za spremljanje granuliranja s slikovno analizo uporabili Watano in sodelavci (prirejeno po (13))

Za analizo velikosti delcev na podlagi slikovnih podatkov se pojavljajo novi pristopi, ki veliko obetajo. Med njimi sta tudi metodi **avtokorelacije**, ki je predstavljena v poglavju 1.4, in **spektralnih momentov**, ki je predstavljena v poglavju 1.5.

»Particle vision and measurement« (PVM) sonda deluje na principu slikovne analize in je namenjena meritvam velikosti in tudi spremljanju spreminjanja oblike delcev. Sonda ovrednoti premajhno število delcev na časovno enoto, da bi dobili dovolj reprezentativne meritve (15).

→ »Focused beam reflectance measurement« (FBRM) sonda

FBRM deluje na principu analize tetivnih dolžin delca, ki omogoča spremljanje granuliranja v realnem času brez dodatnega vzorčenja. Sonda deluje na principu ocene velikosti delcev z merjenjem trajanja prekinitve povratno sipanega laserskega žarka (2, 14).

→ Merjenje zvočnih emisij

Zaradi sprememb v lastnostih materiala, do katerih prihaja med granuliranjem, se med procesom spreminja zvok delcev v mešalni posodi. Zvok med granuliranjem je posledica trkov zrnca med sabo in z opremo. Sprememba v številu, velikosti zrnca in moči vezi med njimi privede do sprememb v frekvenci in jakosti zvoka. Prednost te tehnike je, enako kot pri slikovni analizi, neinvazivnost (2, 16).

→ Bližnja infrardeča spektroskopija (angl. near-infrared, NIR)

S spektroskopijo NIR zaznamo spremembe v velikosti delcev, gostoti in vlažnosti materiala med procesom granuliranja. Metoda predstavlja precejšen izziv, saj zaradi velikega ekstinkcijskega koeficienta vode meri količino vode predvsem na površini delcev. Zaradi omejitve v selektivnosti in občutljivosti moramo metodo dobro razumeti (imeti postavljen robusten kalibracijski model), saj lahko zazna popolnoma naključne spremembe, ki niso v povezavi s spremembami velikosti delcev materiala, ki ga proučujemo (2, 17, 18).

1.4 METODA AVTOKORELACIJE

Korelacija med posameznimi slikovnimi točkami na digitalni fotografiji se lahko uporablja kot metoda za oceno velikosti zrnca. Avtokorelacija pomeni, da primerjamo sliko samo s sabo. Metoda je sicer manj občutljiva kot tradicionalno uporabljene laboratorijske metode, a ima tudi številne prednosti: je veliko hitrejša, ni treba jemati vzorcev in omogoča realnočasovno analizo zajetih podatkov. V primeru, da izvedemo predhodno umeritev, lahko določimo dejansko velikost zrnca. V nasprotnem primeru lahko njihovo velikost samo relativno ocenimo, kar je dovolj za spremljanje trenda spreminjanja velikosti zrnca.

Osnova te ideje je, da se prostorska avtokorelacija na sliki spreminja z velikostjo zrnca. Pri prostorski avtokorelaciji na področju slike, kjer so prisotni delci, površino razdelimo na enako velike kvadrate. Običajno vsaka slikovna točka predstavlja en takšen kvadrat. Potem določimo korelacijo med intenziteto slikovne točke na prvi sliki in enako ležeče slikovne točke na drugi, zamaknjeni, sliki. Ena slikovna točka je opazovana, druga je napovedana vrednost. Pri večjih delcih imajo sosednje slikovne točke podobno vrednost na daljši razdalji

oziroma pri večjih zamikih druge slike kot pri manjših delcih. Avtokorelacija je občutljiva na relativno velikost delcev na sliki (19).

Avtokorelacijska krivulja je funkcija prostorske avtokorelacije v odvisnosti od zamika oziroma razdalje med kvadratkoma, ki ju opazujemo (20).

Za postavitev uspešne avtokorelacijske metode je v idealnem primeru potrebno naslednje:

- zagotoviti je treba zadostno ločljivost slike, da tudi najmanjše delce predstavlja več kot samo ena slikovna točka,
- imeti moramo čim bolj konstantno osvetlitev,
- vedno moramo slikati/snemati zrnca iz enake razdalje in pod enakim kotom,

vzorec mora biti čim bolj homogen, brez prisotne segregacije (19).

1.5 SPEKTER MOČI IN SPEKTRALNI MOMENTI

Spekter moči prikazuje deleže moči signala po posameznih frekvenčnih razredih. Dejansko imamo spekter moči prostorskih frekvenc, ki ponazarjajo ponavljanje nekega vzorca v prostoru. Pri belem šumu, ki vsebuje vse frekvence v enaki meri, bi bil graf premica, vzporedna z osjo x . Spekter moči za posamezno sliko dobimo z uporabo Furierjeve transformacije. Za spekter moči je značilno, da se spreminja v odvisnosti od velikosti delcev, ki so prisotni na sliki. Pri manjši povprečni velikosti delcev, prisotnih na sliki, je spekter širši, saj se poveča moč višjih frekvenc. Ko se velikost delcev povečuje, se spekter zoži in poveča se moč nižjih frekvenc. Za takšno analizo slik so najbolj primerne črno-bele oziroma binarne slike, saj na ta način izboljšamo občutljivost metode (21).

Spektralne momente računamo iz spektra moči. Moment se vedno nanaša na neko specifično količino, ki jo računamo iz funkcije gostote verjetnosti. Funkcija gostote verjetnosti je vsaka funkcija, pri kateri lahko za vsako zvezno spremenljivko napovemo točno določeno vrednost. Moment ničtega reda opisuje moč spektra, moment prvega reda je enak pričakovani oziroma povprečni vrednosti, moment drugega reda je enak varianci in moment tretjega reda je enak standardiziranemu koeficientu simetrije (21).

Ta metoda je neposredno povezana z metodo avtokorelacije (poglavje 1.4). Pri metodi spektralnih momentov uporabljamo prostorske frekvence in iščemo ponavljanje vzorcev na sliki – večja kot so zrnca, manj jih je prisotnih na sliki in frekvence so nižje. Pri metodi avtokorelacije iščemo korelacijo med dvema slikovnima točkama, pri čemer je v primeru homogenih vzorcev pri večjih delcih višja korelacija prisotna na daljši razdalji (20–22). Torej lahko s pomočjo obeh metod ocenimo trend spreminjanja velikosti delcev na sliki.

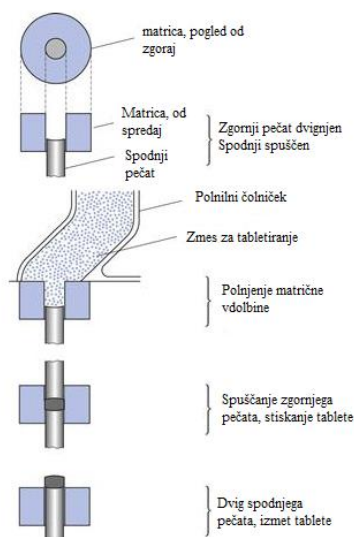
1.6 TABLETIRANJE

Tablete so najpogostejše uporabljena FO. Izdelamo jih s stiskanjem prahov, ki jih lahko predhodno preoblikujemo v večje delce (zrnca). Z granuliranjem izboljšamo njihove lastnosti, ki so pomembne za uspešno tabletiranje (pretočnost, stisljivost). Tablete morajo ustrezati določenim specifikacijam: imeti morajo ustrezno enakomernost vsebnosti, hitrost sproščanja, vsebnost in mikrobiološko kakovost. Biti morajo tudi dovolj mehansko odporne, da omogočajo rokovanje z njimi in pri tem ne pride do drobljenja ali obrabe tablet. Stiskanje prahov je opredeljeno kot zmanjšanje volumna prahov (zmanjšanja poroznosti) zaradi uporabe sile (23, 24).

1.6.1 Proces stiskanja tablet

Glavne stopnje v procesu stiskanja tablet so: prerazporejanje delcev, elastična deformacija, plastična deformacija in fragmentacija (lom delcev). Pri prerazporejanju delcev pride do povečanja gostote zmesi v matrični vdolbini, na kar pomembno vplivajo velikost, oblika in površinske lastnosti delcev. V nekem trenutku zgoščevanje oziroma preurejanje delcev ni več mogoče in takrat pride do elastične deformacije. Če bi v tej fazi na delce prenehali delovati s silo, bi se vrnili v prvotno obliko. Ob naraščajoči sili stiskanja pride do plastične deformacije, ki je nepovratna. V primeru, da s povečevanjem sile še vedno nadaljujemo, pride do loma delca. Z vidika delcev zgoraj opisani procesi potekajo zaporedno, z vidika tablete pa se med seboj prepletajo (25).

Proces tabletiranja lahko razdelimo v naslednje faze: polnjenje matrice, spuščanje zgornjega pečata, stiskanje zmesi in dvig spodnjega pečata ter s tem iztisa nastale tablete. Polnjenje matrice je posledica pretoka prahov zaradi delovanja gravitacije. Na spodnji strani matrico omejuje spodnji pečat, s položajem katerega določimo, kakšna količina prahov se bo vsula v matrico oziroma volumen polnjenja. Z volumnom polnjenja določimo maso tablete. Ko je matrica napolnjena, se začne spuščanje zgornjega pečata in oblikovanje tablete. Ko zgornji pečat doseže silo, ki smo jo določili, se začne dvigati, s čimer začnemo fazo dekompresije. Sledi faza izmeta tablete, v kateri se spodnji pečat dvigne, tableta doseže rob matrice ter se na ta način odstrani iz matrične vdolbine. Proces stiskanja je predstavljen na Sliki 5 (23, 24).



Slika 5: Proces stiskanja tablet (prirejeno po (24))

Zmesi prahov, ki jih želimo tabletirati, morajo imeti dobre pretočne lastnosti in stisljivost. Stisljivost lahko razdelimo na dve podskupini: kompresibilnost in kompaktilnost. Obe podskupini bosta podrobneje predstavljeni v naslednjih poglavjih (1.6.2 in 1.6.3) (23).

1.6.2 Kompresibilnost

Kompresibilnost je opredeljena kot zmanjšanje poroznosti oziroma volumna tablete, do katere pride med stiskanjem. Gre torej za funkcijo zmanjšanja poroznosti v odvisnosti od uporabljenega tlaka stiskanja. Za oceno kompresibilnosti se pogosto uporablja Hecklov diagram, ki prikazuje linearno odvisnost negativnega naravnega logaritma poroznosti od tlaka stiskanja. Predpostavka te teorije je, da se poroznost zmanjšuje po kinetiki prvega reda, pri čemer ima poroznost vlogo reaktanta (24).

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

ε – poroznost tablete

$\rho_{tableta}$ – navidezna (granularna) gostota tablete [g/cm^3]

ρ_{prava} – prava gostota zmesi za tabletiranje [g/cm^3]

K – Hecklova konstanta, dobljena iz naklona premice [MPa^{-1}]

P – mejni tlak stiskanja [MPa]

A – konstanta, ki ponazarja prerazporejanje delcev, presečišče ekstrapoliranega linearnega dela z ordinato

Hecklova konstanta (K) predstavlja naklon premice in jo dobimo z linearno regresijo. Njena vrednost je obratno sorazmerna s povprečnim mejnim tlakom stiskanja. To je tlak, ki je potreben, da pride do plastične deformacije materiala. Presečišče premice z ordinato (A) odraža stopnjo zgostitve prahov, zaradi preureditve medsebojne lege delcev. Pri značilnem Hecklovem profilu večkrat pride do začetnega nelinearnega dela, ki odraža preurejanje delcev. Sledi linearni del, ki ga uporabimo za Hecklovo analizo. Hecklova analiza kompresibilnosti se lahko izvaja po dveh različnih metodah, tako imenovanih »in die« oziroma »out-die« metodah. Pri »in die« metodi oziroma metodi znotraj matrične vdolbine lahko graf skonstruiramo neposredno iz meritve odvisnosti sile na zgornjem pečatu od odmika zgornjega pečata. Pri »out-die« metodi pri različnih tlakih stisnemo tablete, ki jim naknadno, ko je že prišlo do elastične relaksacije, določimo poroznost (24, 26).

1.6.3 Kompaktibilnost

Kompaktibilnost je sposobnost zmesi prahov, da med procesom stiskanja tvorijo vezi, kar vodi v nastanek tablete. Tableta ima določeno natezno trdnost, ki je opredeljena kot sila, ki je potrebna, da se tableta prelomi. Natezna trdnost je poenostavljeno gledano seštevek moči vseh vezi, ki povezujejo molekule v tableti, in je odvisna od dveh glavnih dejavnikov: mehanizma vezave in površine, ki je na voljo za vezavo. Površina, ki je na voljo za vezavo, je odvisna od oblike in velikosti delcev. Velika specifična površina in nepravilne oblike omogočajo tvorbo tablet z višjo natezno trdnostjo. Fragmentirajoče snovi povečajo število vezi, medtem ko plastične snovi povečajo njihovo moč (24, 27).

Najboljša metoda za oceno kompaktibilnosti zmesi za tabletiranje je študija natezne trdnosti tablet v odvisnosti od uporabljenega tlaka stiskanja. Takšna povezava je pogosto linearna med mejnim tlakom, ki je nujen za tvorbo tablete in tlakom, pri katerem ima tableta še nekaj odstotkov poroznosti. Pri višjih tlakih stiskanja povezava preide v plato (Slika 6, primer I). Linearni del grafa ekstrapoliramo in na ta način dobimo kompaktibilnostni indeks (C), ki nam pove, katere zmesi tvorijo tablete z višjo natezno trdnostjo pri enakem tlaku stiskanja (24).

$$\sigma = C \cdot P + b \quad \text{Enačba 2}$$

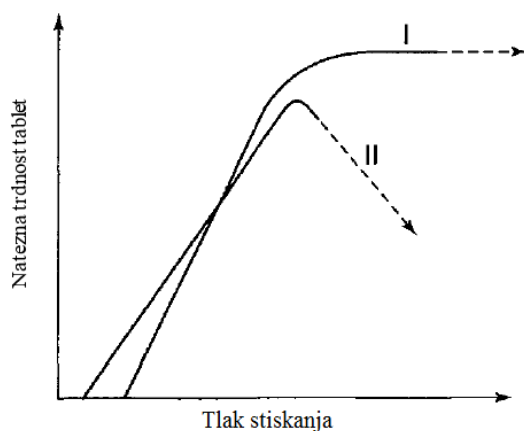
σ – natezna trdnost tablete [MPa ali N/mm²]

C – kompaktibilnostni indeks, naklon premice

P – tlak stiskanja [MPa]

b – konstanta, presečišče ekstrapoliranega dela z ordinatno osjo

Laminacija in tvorba kapic sta pogostejša pojava pri višjih tlakih stiskanja, pri čemer pride do porušitve povezave med trdnostjo in tlakom stiskanja (Slika 6, primer II).



Slika 6: Graf odvisnosti natezne trdnosti tablet od sile stiskanja (I – običajna odvisnost, II – odvisnost v primeru laminacije pri visokih silah stiskanja)(prirejeno po (24))

Na kompaktilnost v veliki meri vpliva izbrana metoda granuliranja, saj na ta način vplivamo na fizikalne lastnosti nastalih zrn, predvsem na intragranularno porazdelitev veziva, obliko in poroznost. Tablete, ki jih izdelamo s stiskanjem močnih zrn, so fizikalno gledano zrnca, povezana z intergranularnimi vezmi. Moč nastalih intergranularnih vezi je ključnega pomena za natezno trdnost tablet. Zmesi za tabletiranje, sestavljene iz zrn nepravilnih oblik in višjih poroznosti, imajo boljšo kompaktilnost in kompresibilnost. Najpomembnejši način kontrole kompaktilnosti je količina dodanega veziva, saj večja količina dodanega veziva vodi v izboljšano kompaktilnost snovi. To je lahko posledica tvorbe močnejših intergranularnih vezi in dejstva, da so veziva ponavadi deformirajoče snovi in posledično olajšajo deformacijo zrn med tabletiranjem (24).

2 NAMEN DELA

Namen naloge je razvoj metode, ki bi se lahko uporabila za določanje končne točke granuliranja v laboratorijskem hitro vrtečem granulatorju z uporabo vizualne informacije.

V ta namen bomo v laboratorijskem hitro vrtečem granulatorju izvedli vlažno granuliranje, pri čemer bomo proces snemali (periodično in z visoko frekvenco zajemali slike). Ob določenih časovnih točkah bomo granulat vzorčili in s kombinacijo dinamične (Camsizer XT) in statične slikovne analize določili porazdelitev velikosti zrn. Rezultate bomo vrednotili s programsko opremo naprave Camsizer, ter programoma Fiji (ImageJ) in Excel. Preverili bomo, ali rezultati meritev velikosti zrn korelirajo z rezultati, ki jih dobimo na podlagi vizualne informacije.

Na prvi laboratorijski seriji bomo ocenili možnosti uporabe vizualne informacije za spremljanje granuliranja.

Potem bomo na treh laboratorijskih serijah ovrednotili metode in izbrali cenilke vizualne informacije, ki bodo izkazovale najboljšo napovedno vrednost za proces granuliranja. Za izbrane cenilke bomo določili mejne vrednosti, ki jih moramo preseči, da dosežemo končno točko granuliranja. V te tri laboratorijske serije bodo vstopale vhodne surovine z enakimi kontrolnimi številkami.

Sledile bodo tri laboratorijske serije, ki bodo služile za potrditev ustreznosti izbranih cenilk in njihovih mej. Pri laboratorijskih serijah bomo uporabili različno velikost delcev učinkovine (d90). Za ta pristop smo se odločili, saj je delež učinkovine v naši FO 55,5 % in ima velikost delcev učinkovine največji vpliv na potek hitro vrteče granulacije in nastanek zrn. Velikosti delcev učinkovine bomo prilagodili količino vode, potrebne za granulacijo. Proces bomo ustavili na osnovi realnočasovnega spremljanja izbranih cenilk procesa. Ko bomo dosegli mejno vrednost, ki določa končno točko granuliranja za prvo izmed cenilk, bomo proces ustavili.

Te laboratorijske serije bomo kasneje vrednotili na enak način kot prejšnje, na katerih smo postavili model.

Ovrednotili bomo tudi pretočnost, kompresibilnost in kompaktibilnost izdelanih granulatov. Izdelane granulate bomo ocenili tudi z vidika sposobnosti procesa tabletiranja.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIALI

→ Modelna učinkovina

Modelna učinkovina glede na biofarmacevtsko klasifikacijo spada v razred II (slaba topnost, dobra permeabilnost).

→ Laktoza monohidrat, FrieslandCampina DMV, Nizozemska

Laktoza je po svoji strukturi naravni disaharid glukoze in galaktoze. V farmacevtski industriji se uporablja predvsem kot polnilo v tabletah in kapsulah. Na trgu je več vrst laktoze monohidrat z različno velikimi delci, mi smo uporabili vrsto laktoze 200 mesh (75 μm). Pri vlažni granulaciji se navadno uporablja laktoza z manjšimi delci, saj omogoča boljše mešanje s preostalimi sestavinami. Na ta način dosežemo boljšo porazdelitev veziva (28).

→ Hidroksipropilceluloza SL, Nippon Soda Co., Japonska

Hidroksipropilceluloza (HPC) je delno substituiran poli(hidroksipropilni) eter celuloze. Komercialno je na voljo več vrst HPC, z različno velikimi delci, ki dajejo raztopine različnih viskoznosti. Stopnja substituiranosti predstavlja povprečno število substituiranih hidroksilnih skupin na posameznem glukoznem obroču. Molekulske mase imajo širok razpon od 50 000 do 1 250 000 Da. Običajno se uporablja kot vezivo v koncentraciji 2–6 ut/ut %, tako pri granulaciji kot pri direktnem tabletiranju. V višjih koncentracijah (15–35 ut/ut %) se uporablja pri izdelavi farmacevtskih oblik s podaljšanim sproščanjem. HPC je bel do rahlo rumenkast prah brez vonja ali okusa, ki se prosto raztoplja v vodi pri temperaturah nižjih od 38 °C, pri višjih (med 40 in 45 °C) se ne raztoplja, ampak se obarja. Z izbiro vrste HPC kot veziva lahko vplivamo tudi na razpadnost tablet, saj manj viskozna veziva omogočajo hitrejšo razpadnost tablet. Ker je HPC v vodi pri sobnih temperaturah dobro topen, ga lahko dodamo kot suho vezivo med prahove, ki vstopajo v granulacijo (28, 29).

→ Nizko substituirana hidroksipropilceluloza LH-21, Shin-Etsu Chemical, Japonska

Komercialno je na voljo tako več različnih velikosti delcev kot tudi več različnih stopenj substitucije. Primarno se uporablja kot razgrajevalo, lahko pa se uporabi tudi kot vezivo pri vlažnem ali suhem granuliranju. Manjši delci in višja stopnja substitucije pospešijo hitrost sproščanja. LH-21 je v primerjavi z LH-11 manj vlaknat in se uporablja pri vlažnem granuliranju, medtem ko se LH-11 uporablja za direktno tabletiranje. Obstaja kot bel do

rumenkast prah z značilnim vonjem. Zaradi manjše stopnje substituiranosti je nizko substituiran HPC netopen v vodi, vodo absorbira in na ta način nabreka in deluje kot razgrajevalo. Stopnja nabrekanja je odvisna od velikosti delcev in hidroksipropilnega deleža. Večji delci, z večjim deležem hidroksipropilnih skupin bolj in hitreje nabrekajo (28, 30).

→ Natrijev lauril sulfat, Texapon K12, BASF, Nemčija

Natrijev lauril sulfat je anionska površinsko aktivna snov in je zmes natrijevih alkilnih sulfatov, od katerih je v največjem deležu (najmanj 85 %) prisoten natrijev lauril sulfat. Je prosto topen v vodi, pri čemer nastane opalescentna raztopina. Po navadi se uporablja v FO, v katerih imamo velik delež slabo topne učinkovine, saj s svojimi površinsko aktivnimi lastnostmi pospeši oziroma izboljša raztapljanje učinkovine (28).

→ Magnezijev stearat, Peter Greven, Nemčija

Magnezijev stearat je sestavljen iz magnezija in organskih kislin, večinoma iz magnezijevega palmitata in magnezijevega stearata v različnih razmerjih. Primarno ga uporabljamo kot lubrikant pri izdelavi tablet ali kapsul v koncentracijah od 0,25 do 5,0 ut/ut%. Magnezijev stearat je zelo droben bel prah z nizko nasipno gostoto. Je hidrofoben in lahko upočasni sproščanje učinkovine iz FO, zato ga uporabljamo v čim nižjih koncentracijah. Po dodatku magnezijevega stearata uporabljamo le kratke čase mešanja zmesi za tabletiranje. Magnezijev stearat obstaja v različnih kristalnih oblikah – trihidrat, dihidrat in anhidrid. Komercialno dostopni magnezijevi stearati so navadno zmesi vseh treh kristalnih oblik (28).

3.2 LABORATORIJSKA OPREMA IN NAPRAVE

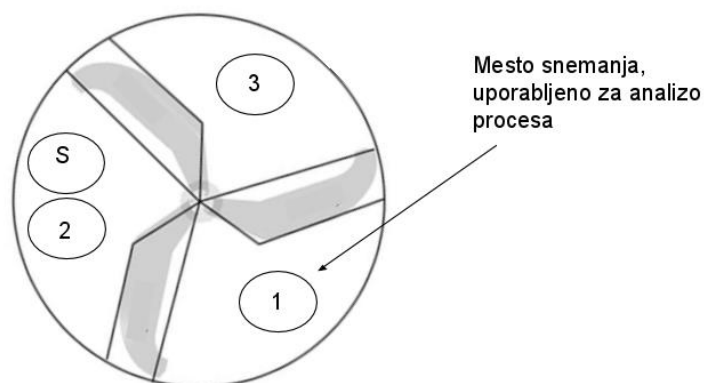
- tehtnica Radwag PS 4500/Y, Radwag, Poljska
- hitro vrteči granulator, Collette Gral 10, GEA, Belgija
- vrtnično slojni sušilnik Glatt GPCG2, Glatt GmbH, Nemčija
- sejalnik Frewitt Gla-ov, Švica
- mlin kladivar Frewitt HammerWitt, Fitzpatrick, ZDA
- sušilna omara Kambič SP-190, Kambič, Slovenija
- naprava za določanje velikosti delcev, Camsizer XT, Retch technology GmbH, Nemčija
- fotoaparat Canon 5D Mk III, Canon, Japonska
- leča za fotoaparat Canon EF 100 mm 2.8 L macro, Japonska
- analitska tehtnica Sartorius AX224, Sartorius mechatronics, Nemčija
- helijev piknomet, AccuPyc 1330 Pycnometer, Micromeritics, ZDA
- hidravlična tabletirka na udarec, Killian SP 3000, IMA, Nemčija
- naprava za določanje trdnosti tablet, Tablet hardness tester VK 200, Vanderkamp, ZDA
- naprava za določanje pretočnosti prahov, Pharmatest PTG 2, Nemčija
- kljunasto merilo MIB Messzeuge GmbH, Nemčija
- kamera Basler ACE acA2040-25gm, Basler, Nemčija
- objektiv Fujinon CF25HA-1, Fujifilm, Japonska

3.3 METODE

3.3.1 Izdelava granulata v hitro vrtečem granulatorju

Proces granuliranja smo izvedli v hitro vrtečem granulatorju GRAL 10 z uporabo 10 L posode. Najprej smo vse surovine (razen magnezijevega stearata), ki so vstopale v proces granuliranja, natehtali. Pomožne snovi smo pomešali v vrečki ter jih presejali skozi ročno sito velikosti 0,71 mm. Modelno učinkovino in presejane pomožne snovi smo prenesli v hitro vrteči granulator. Predhodno smo natehtali tudi vodo, ki smo jo uporabili kot granulacijsko tekočino. Količino vode smo preračunali glede na velikost delcev modelne učinkovine, ki je vstopala v posamezni proces. Enačbo za preračun so razvili med razvojem dotične FO. Procesni parametri, ki smo jih nastavili na kontrolni plošči, so predstavljeni v Preglednici I. Proces smo ob vnaprej določenih točkah ustavljali in granulat vzorčili za

naknadne analize velikosti delcev, ki smo jih izvajali s kombinacijo dinamične (Camsizer XT) in statične slikovne analize. Pri prvi laboratorijski seriji smo vzorčili na treh različnih mestih, ki so predstavljena na Sliki 7. Naslednje laboratorijske serije smo vzorčili samo na mestu 1, kamor je bila usmerjena tudi kamera. Na ta način smo dobili najbolj realne rezultate korelacije med rezultati dinamične in statične analize odvzetih vzorcev ter rezultati slikovne analize zajetih slik.



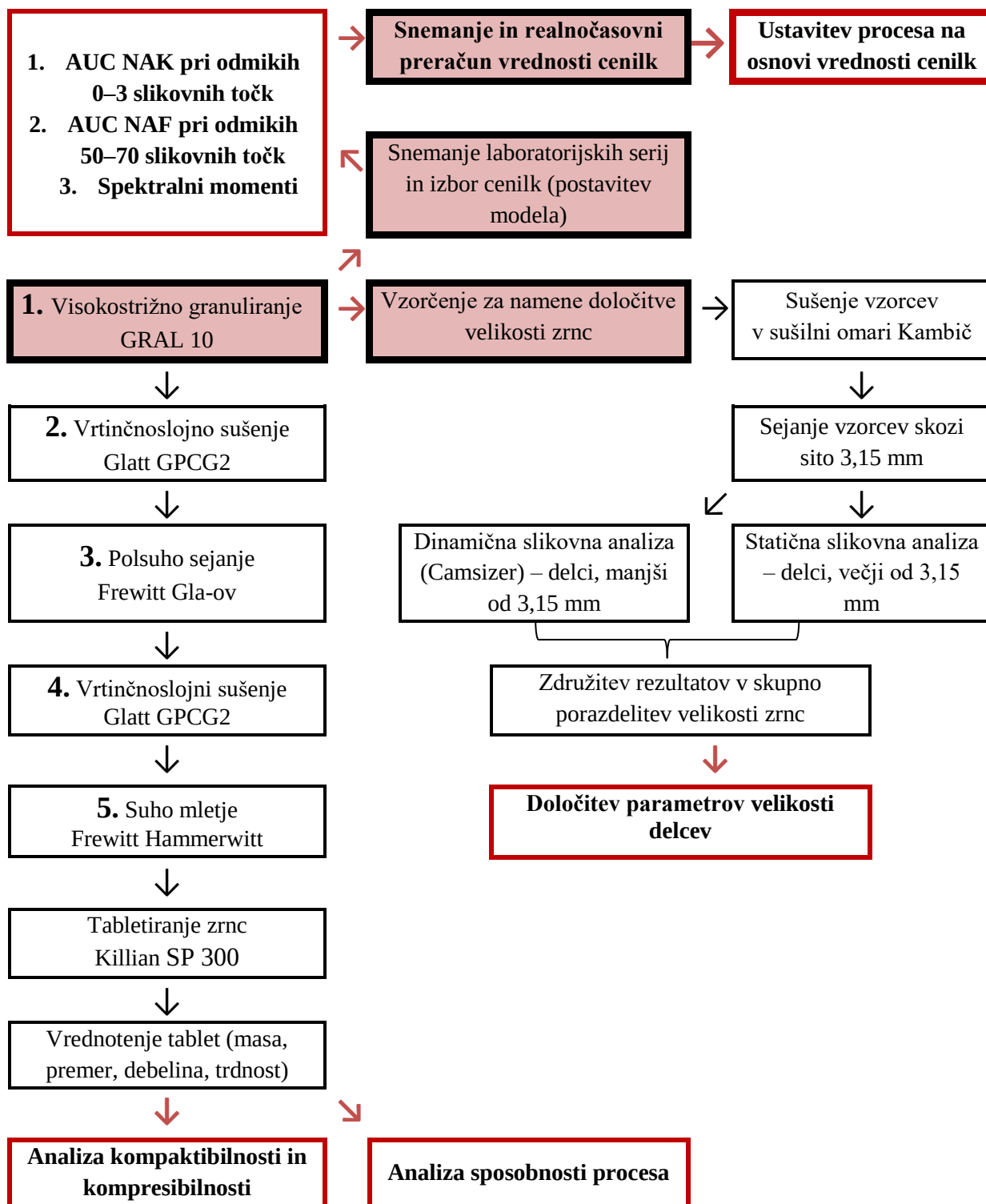
Slika 7: Prikaz mest odvzema, oznaka S predstavlja postavitev sekala v napravi

Po končanem granuliranju smo granulat posušili v vrtnično slojnim sušilniku Glatt GPCG2 – parametri, ki smo jih uporabili, so predstavljeni v Preglednici I. Pretok zraka smo uravnavali tako, da smo zagotovili ustrezno fluidizacijo. Po 8 minutah sušenja smo granulat polsuho presejali na napravi Frewitt Gla-ov in nadaljevali sušenje zrn v vrtnično slojnim sušilniku Glatt GPCG2 pri istih parametrih, dokler vlaga izhodnega zraka ni padla na **6,0 g H₂O/kg zraka**. Končni korak je bil mletje suhega granulata na napravi Frewitt Hammerwitt. Vzorce granulatov, ki smo jih vzeli med granuliranjem, smo sušili v sušilni omari Kambič 2 uri pri 60 °C.

Preglednica I: Parametri, ki smo jih uporabili pri izdelavi vseh laboratorijskih serij

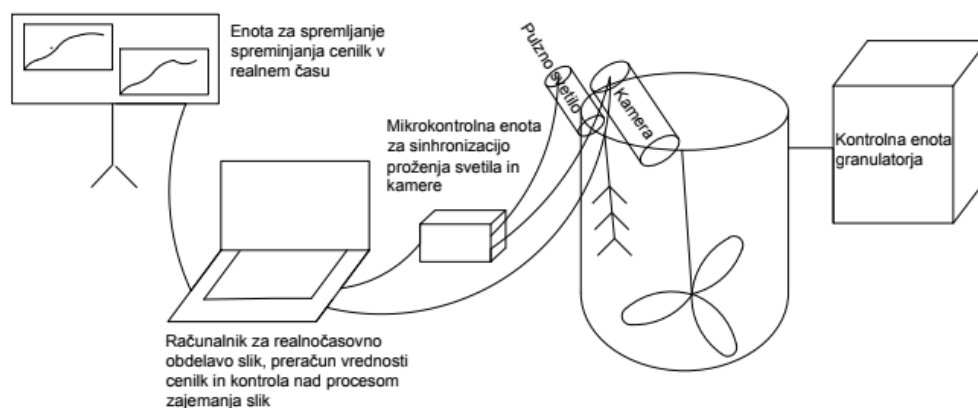
1. Hitro vrteča granulacija		2. in 4. Vrtinčnoslojno sušenje	
Hitrost mešala	300 obr/min	Temperatura vstopnega zraka	60 °C
Hitrost sekala	nizko	Vlaga vstopnega zraka	nizka
Hitrost črpalke (dodajanja gran. tekočine)	75 obr/min (72 g/min)	Trajanje prve faze sušenja (do polsuhega sejanja)	8 min
3. Polsuho sejanje		5. Suho mletje	
Velikost mreže	1,5 mm	Velikost mreže	0,8 mm

Celoten potek dela in analiz je predstavljen na Sliki 8. Začetna faza, iz katere izhajajo vse naslednje stopnje, je visokostrižno granuliranje.



Slika 8: Shema poteka dela

Najprej smo na treh serijah za postavitev modela izbrali cenilke z najboljšo napovedno vrednostjo (glej 3.3.8). Na treh potrditvenih serijah smo s kamero snemali proces in izvajali realnočasovno analizo ter preračun vrednosti cenilk. Shema merilne proge, ki smo jo v ta namen uporabili, je predstavljena na Sliki 9. Pri tem smo uporabili kamero in pulzno svetilo, ki smo ju povezali z mikrokontrolno enoto, s katero smo sinhronizirali proženje svetila in kamere. Ethernet povezava med kamero in računalnikom je služila upravljanju s kamero in pretakanju video podatkov. Z računalnikom smo obdelali slike v realnem času in preračunali vrednosti cenilk. Na osnovi teh vrednosti smo ustavili proces, ko je prva cenilka presegla predhodno postavljeno mejo.



Slika 9: Shema, uporabljena za realnočasovno ustavljanje procesa

3.3.2 Vrednotenje velikosti delcev granulata

→ Sejanje odvzetih vzorcev

Vzorci, ki smo jih med granuliranjem odvzeli in posušili, smo ročno presejali s sitom 3,15 mm, saj naprava Camsizer XT omogoča meritve velikosti le do zgornje meje 3 mm. Sito smo predhodno stehtali, nato smo stehtali celoten vzorec in ga prenesli na sito. Vzorec smo ročno presejali in sito skupaj z ostankom na njem stehtali, da smo dobili masni delež obeh frakcij. Masna deleža (w) smo izračunali po spodnjih enačbah.

$$w(\text{frakcije} > 3,15 \text{ mm}) = \frac{m(\text{polnega sita}) - m(\text{praznega sita})}{m(\text{vzorca})} \quad \text{Enačba 3}$$

$$w(\text{frakcije} < 3,15 \text{ mm}) = 1 - w(\text{frakcije} > 3,15 \text{ mm}) \quad \text{Enačba 4}$$

→ Camsizer XT

V farmacevtski industriji se pogosto določa velikost delcev. Tradicionalno se v ta namen uporabljata sejalna analiza in laserska difrakcija, vendar imata določene slabosti.

Naprava Camsizer XT deluje na principu dinamične slikovne analize in predstavlja alternativo zgoraj omenjenima metodama. Prednosti naprave Camsizer XT so večja zanesljivost podatkov, boljša ponovljivost meritev, boljša statistika zaradi velikega števila analiziranih delcev in podajanje tako številčne kot volumske porazdelitve velikosti delcev. Naprava nam poleg velikosti delcev poda tudi analizo oblike delca (širina in dolžina delca). Princip delovanja naprave je dokaj preprost. Delci potujejo mimo dveh svetlobnih virov in sence delcev, ki na ta način nastanejo, ujameta dve digitalni kameri. Ena od kamer (zoom kamera) z visoko ločljivostjo analizira manjše delce, druga (osnovna kamera) pa zazna večje delce in zaradi velikega števila analiziranih delcev omogoča zelo dobro statistično analizo (31, 32).

Analiza vzorca je preprosta in hitra, programska oprema pa omogoča različne možnosti vrednotenja podatkov. Najpogosteje se uporabljata načina podajanja velikosti delcev na principu, podobnemu sejalni analizi (podaja se dimenzija delca, ki bi preprečila prehod delca skozi določeno sito, glej Sliko 10) in principu površine projekcije delca. Pri popolnoma sferičnih delcih sta vrednosti enaki, pri delcih drugačnih oblik pa pride do razlik med obema načinoma vrednotenja. Merimo lahko velikost granulotov oziroma prahov v območju 1 μm –3000 μm . Mi smo uporabili princip, podoben sejalni analizi. Camsizer s svojo programsko opremo delce vrednoti in kot rezultat poda delež delcev v posameznem razredu, kumulativno porazdelitev in parametre velikosti (d_{10} , d_{50} in d_{90}). Za meritve na napravi Camsizer XT

je najpomembneje, da so delci ločeni med sabo in ne prihaja do agregacije delcev med meritvijo.

Delce smo nasuli na drčo, ki se je ob zagonu meritve začela tresti. Delci zaradi tresenja drče potujejo do konca te in padejo skozi odprtino v področje, ki ga snemata obe kameri. Prednost je, da metoda ni destruktivna, saj vzorec zbiramo v posodi pod napravo.



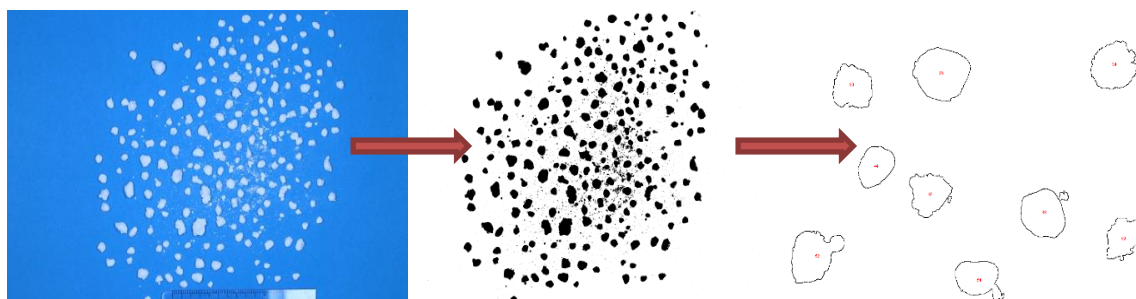
Slika 10: Omejujoča dolžina delca za prehod skozi sito

→ Statična slikovna analiza

Zaradi omejitve velikosti delcev, ki jih lahko merimo na napravi Camsizer XT, smo delce, ki so večji od 3 mm, vrednotili s statično slikovno analizo. Vse vzorce smo predhodno presejali na sito 3,15 mm. Ostanek na situ smo fotografirali s fotoaparatom Canon 5D Mk III na podlagi, ki je zagotovila dovolj kontrasta, da smo lahko fotografije analizirali s programom Image J (Fiji).

Pri tovrstni analizi je ključnega pomena, da zagotovimo ločenost posameznih delcev; delci se med seboj ne smejo stikati, saj jih v nasprotnem primeru program zazna kot en delec. Za vsako sliko moramo določiti razdaljo v mm, pretvorjeno v slikovne točke, zato mora biti na vsaki sliki prisotno merilo. V našem primeru smo vedno uporabili 5 mm in jih pretvorili v razdaljo, izraženo v slikovnih točkah. Le na ta način nam lahko program rezultate pretvori v obratni smeri, torej iz slikovnih točk v mm. Slika, ki vstopa v analizo, mora biti binarna oziroma črno-bela. Da zagotovimo ustrezno binarno sliko, mora biti med podlago in delci dovolj kontrasta. Določimo prag (angl.: »threshold«) in s tem meje oziroma robove posameznega delca. Vrednosti pod oziroma nad pragom spremenimo v črno oziroma v belo. Sledi uporaba funkcije »analiziraj delce«, pri čemer lahko program omejimo glede velikosti delcev, ki naj jih analizira. Mi smo spodnjo mejo postavili na 7 mm² (površina kroga s premerom 3 mm); 3 mm je največja dimenzija, ki jo zaznamo z dinamično analizo. Program omogoča izračun različnih parametrov. Mi smo se osredotočili na površino delcev in premer,

ki je omejujoč dejavnik za prehod skozi sito (Slika 10). Program poda vse te vrednosti za vsak posamezni delec, rezultate oštevilči in hkrati izriše oštevilčeno skico, da lahko izberemo delec na sliki in s pomočjo njegove številke pogledamo, kakšne so posamezne vrednosti zanj. Princip analize je predstavljen na Sliki 11 (33, 34).



Slika 11: Postopek analize fotografije: najprej ustvarimo binarno fotografijo, ki jo analiziramo in dobimo oštevilčen obris vsakega posameznega delca (slika na desni je približana)

Rezultati slikovne analize so številčne porazdelitve, kar pomeni, da vemo, kakšno število delcev je v nekem velikostnem razredu. Ker izmerimo in imamo podatke za vsak posamezni delec, nam to omogoča veliko večjo prilagodljivost pri podajanju in računanju rezultatov. Številčne porazdelitve pogosto spremenimo v volumske, kar je sprejemljiva pretvorba, saj so volumske porazdelitve bolj realne in primerljive s sejalno analizo. Večji delci imajo večji volumen in predstavljajo večji masni delež, čeprav jih je številčno gledano lahko enako kot manjših delcev. Na osnovi premera, ki bi omejeval prehod delca skozi sito, smo izračunali volumen vseh delcev. To je bila osnova za pretvorbo številčne porazdelitve v volumsko. Volumen delcev smo sešteli in preračunali, kakšen odstotek tega volumna predstavlja določen delec (35).

Velikostne razrede smo postavili tako, da smo nadaljevali logaritemsko porazdelitev, ki jo je določila naprava Camsizer. Naprava je določila razrede do 3 mm, mi pa smo velikostne razrede nadaljevali. Na osnovi meril za premer delca smo sešteli volumske deleže v posameznih razredih in dobili podatke o tem, kakšen je delež volumna vseh delcev znotraj posameznega razreda. Ker smo želeli podatke velikosti delcev podajati kot celoto, smo podatke dinamične (Camsizer XT) in statične slikovne analize združili. Porazdelitvi za obe metodi smo množili z masnim odstotkom posamezne frakcije, ki smo ga dobili z uporabo enačb 3 in 4.

→ Določanje parametrov velikosti

Parametre velikosti (d_{10} , d_{50} in d_{90}) smo določili iz kumulativnih volumskih deležev združene porazdelitve delcev (dinamične in statične slikovne analize). Parametre smo določili s pomočjo linearne regresije tako, da smo uporabili tiste točke, ki so nam dale najvišji determinacijski koeficient. Pri vseh vzorcih smo z linearnim delom prišli v območje 80–90 % kumulativnega deleža. S pomočjo linearne regresije smo dobili enačbo, ki smo jo zapisali v obliki $y = \beta_0 + \beta x$, v kateri β_0 predstavlja odsek na osi y , β naklon premice, y kumulativni masni delež (odvisna spremenljivka) in x velikost delcev (neodvisna spremenljivka). Parametre smo preračunali po naslednjih enačbah:

$$d_{10} = \frac{(10-\beta_0)}{\beta} d_{10} - \text{velikost delcev, pod katero je 10 \% kumulativne distribucije } [\mu\text{m}] \quad \text{Enačba 5}$$

$$d_{50} = \frac{(50-\beta_0)}{\beta} d_{50} - \text{srednja velikost delcev } [\mu\text{m}] \quad \text{Enačba 6}$$

$$d_{90} = \frac{(90-\beta_0)}{\beta} d_{90} - \text{velikost delcev, pod katero je 90 \% kumulativne distribucije } [\mu\text{m}] \quad \text{Enačba 7}$$

3.3.3 Vrednotenje lastnosti granulata

Pred tabletiranjem smo granulatu dodali ustrezno količino magnezijevega stearata, ki smo jo preračunali glede na maso izdelanega granulata. Masni delež magnezijevega stearata v tej FO je 0,5 %, tako da smo glede na izkoristek granuliranja preračunali ustrezno količino magnezijevega stearata. Po dodatku magnezijevega stearata smo zmes ročno mešali v vrečki 2 min.

→ Meritve pretočnosti

Po farmakopejskem predpisu se za določanje pretočnega časa uporablja lij s točno določenimi dimenzijami. Mi smo meritve pretočnosti izvedli z napravo Pharmatest PTG 2, ki izmeri čas sipanja, ima pa tudi možnost določitve nasipnega kota vzorca. Vključili smo mešalo. Ko se je loputa odprla in se je prah začel vsipati, smo s štoparico izmerili čas, ki je bil potreben, da je skozi loputo stekel ves material. Nato smo material, ki se je vsul na podstavek, stehali in preračunali pretok mase na enoto časa (g/s).

→ Meritev prave gostote pripravljenih tabletnih zmesi

Za meritev prave gostote smo uporabili helijev piknometer AccuPys 1330. Vsebnik merilne celice smo starirali na tehtnici in ga napolnili z vzorcem do približno $\frac{3}{4}$ volumna ter si zapisali maso. Maso smo potem vnesli v napravo, ki je na podlagi vnesene mase in

izpodrinjenega volumna izračunala pravo gostoto materiala. Naprava nam poda končni rezultat kot povprečje treh meritev.

3.3.4 Tabletiranje pripravljenih zmesi

S tabletirko na udarec Killian SP300 smo za namene vrednotenja kompaktilnosti in kompresibilnosti stisnili tablete pripravljenih zmesi vzorcev zrnč. Pečati, ki smo jih pri tabletiranju uporabili, so bili ravni s premerom 12 mm. Ciljna masa tablete je bila 500 mg. Hitrost tabletiranja smo nastavili na 35 tablet na minuto. Pripravljeno zmes smo vsuli v gravitacijski polnilni čolniček in volumen polnjenja matrice definirali z odmikom spodnjega pečata. Odmik zgornjega pečata smo spreminjali, s čimer smo spreminjali silo stiskanja. Odmike zgornjega pečata smo določili tako, da smo najprej določili približno območje, v katerem smo pričakovali linearno naraščanje trdnosti tablet (sila stiskanja 2–11 kN) ter potem odmike zgornjega pečata preračunali tako, da smo znotraj dotičnega območja dobili 20 točk. Ker nas je zanimal tudi plato, smo nad tem območjem stisnili tablete še pri 10 različnih odmikih zgornjega pečata. Pri vsakem odmiku smo stisnili samo eno tableto. Za obe zgoraj navedeni analizi (kompresibilnosti in kompaktilnosti) so bile uporabljene iste tablete.

Stabilnost procesa tabletiranja smo ovrednotili pri hitrosti tabletiranja 35 tbl/min.

3.3.5 Vrednotenje izdelanih tablet

→ Hecklova analiza in analiza kompaktilnosti

Tabletam smo eno uro po zaključku tabletiranja s kljunastim merilom izmerili premer in debelino na 0,01 mm natančno. Izmerili smo tudi maso posameznih tablet na tehtnici Sartorius in trdnost tablet z napravo Tablet hardness tester VK 200. Za Hecklovo analizo smo uporabili enačbe, podane v Preglednici II.

Preglednica II: Pregled enačb, uporabljenih za preračun kompresibilnosti tabletnih zmesi (Hecklova analiza)

Gostota tablete		ρ_{tbl} – gostota tablete (g/cm ³)
Enačba 8	$\rho_{tbl} = \frac{m_{tbl}}{h \cdot \pi \cdot r^2}$	m_{tbl} – masa tablete (mg)
		h – debelina tablete (mm)
		r – polmer tablete (mm)

Poroznost tablet Enačba 9	$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_{tbl}}{\rho_{prava}}$	ε – poroznost (%) ρ_{prava} – prava gostota zmesi za tabletiranje (g/cm ³)
Tlak stiskanja tablet Enačba 10	$P = \frac{F_{zg}}{S_{peč}}$	P – tlak stiskanja tablete (MPa) F_{zg} – sila stiskanja na zgornjem pečatu $S_{peč}$ – površina pečata (mm ²)
Hecklova enačba Enačba 1	$-\ln(\varepsilon) = -\ln\left(1 - \frac{\rho_{tableta}}{\rho_{prava}}\right) = K \cdot P + A$	K – Hecklova konstanta, dobljena iz naklona premice A – konstanta, ki ponazarja preurejanje delcev
Mejni tlak stiskanja Enačba 11	$P_y = \frac{1}{K}$	P_y – mejni tlak stiskanja

Natezno trdnost tablet pri analizi kompaktilnosti smo računali po spodnji enačbi:

$$\sigma = \frac{2 \cdot H}{\pi \cdot d \cdot h} \quad \text{Enačba 12}$$

σ – natezna trdnost tablete

H – trdnost tablete

d – premer tablete

h – debelina tablete

Tlak stiskanja pa smo preračunali enako kot pri Hecklovi analizi (Enačba 10).

→ Analiza sposobnosti procesa

Sposobnost procesa, da zagotavlja izdelek znotraj specifikacijskih mej, lahko kvantitativno ovrednotimo z indeksi sposobnosti procesa. Največkrat se uporablja indeks, imenovan C_p , ki ga izračunamo po Enačbi 13.

$$C_p = \frac{ZSM - SSM}{6\sigma} \quad \text{Enačba 13}$$

ZSM – zgornja specifikacijska meja

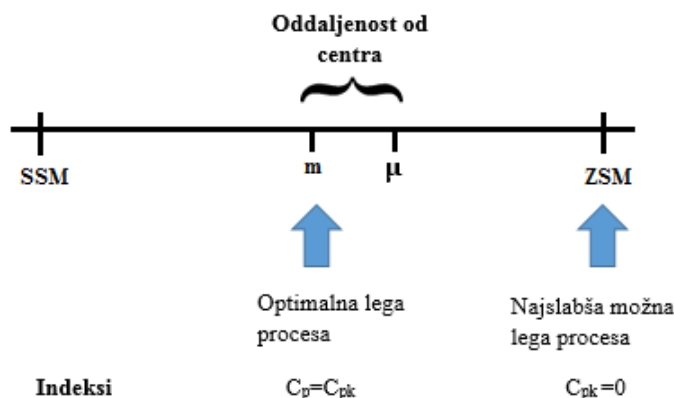
SSM – spodnja specifikacijska meja

σ - standardna deviacija

Pri vpeljavi novih procesov si želimo, da je vrednost C_p najmanj 1,33, s čimer zagotovimo, da bo ob manjših spremembah in nihanjih procesa indeks C_p še vedno enak 1,0, kar je meja, da je naš proces sposoben zagotavljati izdelek znotraj specifikacijskih meja. C_p je primerno merilo za sposobnost procesa, če je proces v bližini tarčnih vrednosti. Če je proces bližje eni ali drugi specifikacijski meji, je C_p lahko zavajajoč in je bolje uporabiti indeks C_{pk} (Enačba 14), ki upošteva tudi lego procesa glede na specifikacijske meje (36, 37).

$$C_{pk} = \min \left\{ \frac{ZSM - \mu}{3\sigma}, \frac{\mu - SSM}{3\sigma} \right\} \quad \text{Enačba 14}$$

Če imamo proces, pri katerem so vrednosti v bližini tarčnih, je C_p enak C_{pk} , če je proces bližje kateri od specifikacijskih meja, velja, da je $C_p > C_{pk}$. Vpliv lege procesa na oba indeksa je predstavljen na Sliki 12.



Slika 12: Vpliv lege procesa na indekse sposobnosti procesa (prirejeno po (37))

Za namene analize sposobnosti procesa smo 50 tabletam vsakega granulata izmerili maso na tehtnici Sartorius in trdnost z napravo Tablet hardness tester VK 200. Potem smo na osnovi teh rezultatov izračunali standardno deviacijo (SD) in z uporabo enačb 13 in 14 preračunali indeksa sposobnosti procesa C_p in C_{pk} za maso. Za trdnost smo podali kar vrednosti SD, saj nismo določili spodnje specifikacijske meje. Kako proces niha, pa lahko ocenimo tudi iz vrednosti standardne deviacije.

ZSM in SSM za maso smo postavili glede na farmakopejske zahteve – 500 g ± 5 %.

3.3.6 Postavitev modela z uporabo metode avtokorelacije

Za vrednotenje rezultatov avtokorelacije smo uporabili dve različni metodi – normirano avtokorelacijsko funkcijo in normiran avtokorelacijski koeficient. Pri metodi avtokorelacije iščemo korelacijo slike same s sabo pri poljubnih krajevnih zamikih. Primerjamo vrednosti enako ležečih slikovnih točk na obeh slikah (sliki sta sicer identični), pri čemer eno od slik premikamo, druga pa je statična. Analizirali smo črno-bele 8-bitne slike, pri čemer so imele posamezne slikovne točke določene vrednosti (popolnoma bela slikovna točka ima vrednost 0, popolnoma črna pa 255). Zmnožke vrednosti vseh enako ležečih slikovnih točk seštejemo in delimo s celokupnim številom točk, s čimer dobimo navadno avtokorelacijo.

→ Normirana avtokorelacijska funkcija

Pri normirani avtokorelacijski funkciji (NAF) seštevek zmnožkov, ki smo ga dobili, delimo s standardno deviacijo celotnega vzorca. Na ta način obvladamo spremenljivost vrednosti nenormirane funkcije, ki se lahko pojavi ob spremembi osvetlitve, saj se takrat za enak faktor spremeni vrednost vseh slikovnih točk na področju opazovanja.

$$NAF(x, y) = \frac{\sum_{x', y'} (T(x', y') \cdot I(x+x', y+y'))}{\sqrt{\sum_{x', y'} T(x', y')^2 \sum_{x', y'} I(x+x', y+y')^2}} \quad \text{Enačba 15}$$

T – template (naša izhodiščna slika)

T(x', y') – vrednost slikovne pike v krajevni koordinati (x', y')

I – image (identična slika, ki jo premikamo)

x, y – vrednosti krajevnega zamika

I(x+x', y+y') – vrednost slikovne pike T v krajevni koordinati (x + x', y + y')

Če je korelacija popolna, kar se zgodi pri odmiku 0, ko slikovne točke primerjamo same s sabo, je vrednost normirane avtokorelacijske funkcije maksimalna, to je 1. Ko korelacija začne upadati, se vrednost NAF zmanjšuje. Ker pri NAF od vrednosti posamezne slikovne točke ne odštejemo povprečne vrednosti vseh slikovnih točk na sliki, kot to naredimo pri NAK, smo sklepali, da je ta metoda bolj občutljiva na prisotnost prahu.

→ Normiran avtokorelacijski koeficient

Pri normiranem avtokorelacijskem koeficientu (NAK) se od vrednosti vsake slikovne točke najprej odšteje povprečna vrednost vseh slikovnih točk. Nato zmnožimo enako ležeče slikovne točke in zmnožke seštejemo. Na koncu to vrednost delimo s standardno deviacijo. Normiran avtokorelacijski koeficient (NAK) je manj občutljiv kot normirana avtokorelacijska funkcija, saj nanj ne vplivata ne multiplikativnost in tudi ne aditivnost.

$$NAK(x, y) = \frac{\sum_{x', y'} (T'(x', y') \cdot I'(x+x', y+y'))}{\sqrt{\sum_{x', y'} T'(x', y')^2 \sum_{x', y'} I'(x+x', y+y')^2}} \quad \text{Enačba 16}$$

Pri čemer je:

$$T'(x', y') = T(x', y') - \frac{\sum_{x'', y''} T(x'', y'')}{(w \cdot h)} \quad \text{Enačba 17}$$

$$I'(x+x', y+y') = I(x+x', y+y') - \frac{\sum_{x'', y''} I(x+x'', y+y'')}{(w \cdot h)} \quad \text{Enačba 18}$$

T – template (naša izhodiščna slika)

$T(x', y')$ – vrednost slikovne pike v krajevni koordinati (x', y')

$T(x'', y'')$ – vrednost slikovne pike v krajevni koordinati (x'', y'')

I – image (identična slika, ki jo premikamo)

$I(x+x', y+y')$ – vrednost slikovne pike T v krajevni koordinati $(x+x', y+y')$

$I(x+x'', y+y'')$ – vrednost slikovne pike T v krajevni koordinati $(x+x'', y+y'')$

$w \cdot h$ – velikost matrike opazovalnega okna (w – število slikovnih točk v širino in h – višino)

Pri odmiku 0, pri katerem sliki koreliramo popolnoma samo nase, je vrednost NAK 1, z večanjem premika začne vrednost NAK upadati. Hitrost upadanja oziroma naklon začetnega dela je odvisen od velikosti delcev, ki so prisotni na sliki. Glede na literaturne podatke se površina pod krivuljo (AUC) za $NAK = f(\text{zamika})$ z rastjo delcev povečuje, kar drži, če imamo homogeno zmes (20). Obnašanje pri večjih odmikih je pri heterogenih vzorcih, kot so bili v našem primeru, veliko bolj kompleksno in ne sledi več tipičnim primerom, opisanim v literaturi.

3.3.7 Postavitev modela z uporabo metodo spektralnih momentov

Pri tej metodi je za meritev povprečne velikosti delcev najprej treba izračunati spekter moči prostorskih frekvenc, ki jih dobimo pri analizi posamezne slike oziroma področja opazovanja. Spekter moči predstavljajo moči signala po posameznih frekvenčnih razredih (Slika 13) in ga dobimo z uporabo enodimenzionalne Fast Fourier transformacije. Spekter

se spreminja v odvisnosti od spreminjanja velikosti delcev, ki so prisotne na sliki, ki jo analiziramo. Za analizo uporabimo binarne (črno-bele) slike, s čimer izboljšamo občutljivost metode. Povprečno velikost delcev izračunamo iz razmerja dveh momentov, ki sta različnega reda (21).

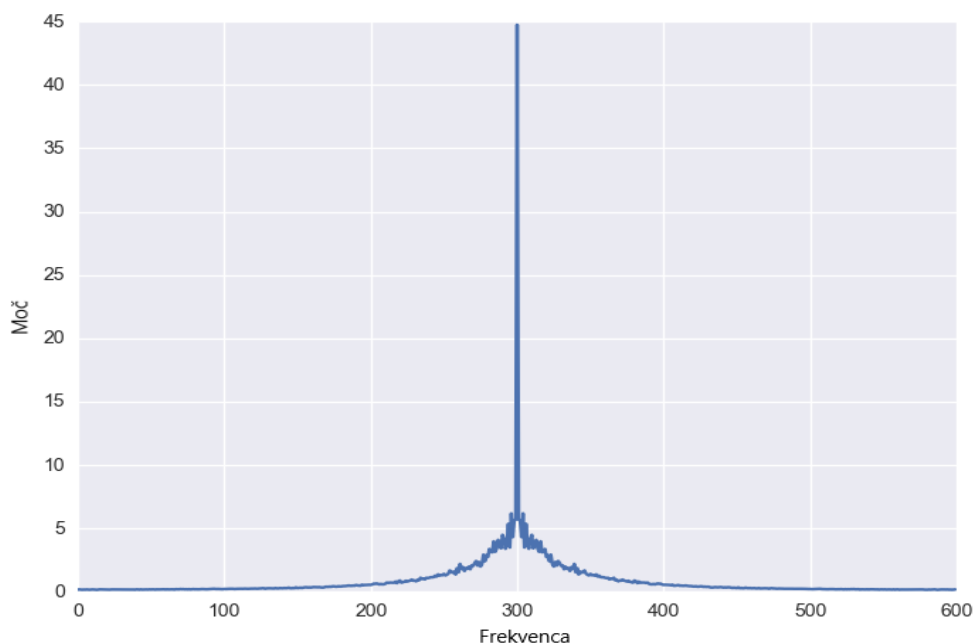
Oceno razpona spektra dobimo iz spektralnih momentov n-reda. Pri preračunu teh predpostavimo, da je spekter simetričen preko sredinske vzdolžnice. Po tej predpostavki lahko spektralni moment n-reda izračunamo po enačbi 19. Zgornja meja integracije v enačbi 19 je v praksi določena z velikostjo slike, dejansko pa integriramo samo do meje simetrije spektra.

$$M_n = \int_0^\infty u^n P(u) du \quad \text{Enačba 19}$$

u – frekvenca

$P(u)$ –spekter moči pri frekvenci u

n – red momenta



Slika 13: Primer spektra moči prostorskih frekvenc, ki ga dobimo pri analizi slik

Z nadaljnjo izpeljavo (21) lahko zapišemo enačbo 20, s katero lahko z uporabo momenta n-reda spektra moči določimo povprečno velikost zrn.

$$\tilde{a} = A M_n^{\frac{1}{3-n}}$$

Enačba 20

$\tilde{a}$ – povprečna velikost delcev

M_n – spektralni moment n-reda

A – konstanta proporcionalnosti

Spremembe v svetlosti slike so lahko posledica sprememb v povprečni velikosti delcev ali sprememb v osvetlitvi. Če za izračun povprečne vrednosti uporabimo razmerje med spektralnima momentoma različnih redov (enačba 21), se na ta način izognemo vplivu svetlosti slike ali drugih motenj. Mi smo uporabili razmerje med ničtim in drugim momentom, pri čemer nismo uporabili konstante proporcionalnosti (B), ki je pomembna zgolj, če želimo izvajati dejanske meritve velikost delcev. Naš cilj je bil zgolj spremljanje trenda, zato smo za izračun uporabili sorazmernost (enačba 22) (21).

$$\tilde{a} = B \cdot \sqrt[k]{M_l/M_{l+k}}$$

Enačba 21

$$\tilde{a} \propto \sqrt{M_0/M_2}$$

Enačba 22

$$l = 0, 1, 2 \quad k = 1, 2, 3$$

$\tilde{a}$ – povprečna velikost delcev

M – spektralni moment

B – konstanta proporcionalnosti

3.3.8 Določitev cenilk z najboljšo napovedno vrednostjo

Za vsako izmed zgoraj opisanih metod smo določili cenilko, ki je imela glede na rezultate laboratorijskih serij od 2* do 4* najboljše napovedne vrednosti.

Pri metodi NAF smo za najboljšo cenilko procesa granuliranja določili površino pod krivuljo (AUC) pri premikih slike 50–70 slikovnih točk. Pri večjih zamikih, kot je na primer 50–70 slikovnih točk, bi morala biti vrednost NAF blizu 0, vendar se zaradi periodičnosti strukture ustali na neki vrednosti. V primeru, ko je prisoten prah, vidimo le večjo belo površino in je med dvema belima površinama še vedno prisotna relativno visoka korelacija. Ta cenilka (t. j. AUC NAF pri odmikih od 50 do 70 slikovnih točk) ima padajočo vrednost, saj imamo z zmanjševanjem deleža prahov (povečevanjem zrn) na sliki vedno slabšo korelacijo.

Metoda NAK je opisana v literaturi (20) in zanjo je značilno, da se pri homogenih vzorcih z večanjem velikosti delcev začetni naklon spremembe NAK s krajevnih zamikov zmanjšuje, zaradi česar se poveča lokalni AUC NAK. Enako obnašanje smo opazili v našem primeru pri krajevnih zamikih 0–3 slikovnih točk, zato smo ta odmik tudi izbrali kot cenilko rasti delcev tekom granuliranja.

Pri metodi spektralnih momentov je cenilka razmerje spektralnih momentov, saj je to opisano tudi v literaturi (21) in se je na laboratorijskih serijah za postavitev modela izkazalo za obetavno.

4 REZULTATI IN DISKUSIJA

V prvem delu smo izvedli štiri laboratorijske poskuse granuliranja, pri katerih smo uporabili enake kontrolne številke vseh vstopajočih surovin. Pred izvedbo začetnih laboratorijskih serij smo izdelali eno placebo laboratorijsko serijo zrn, da bi preverili primernost osvetlitve in spreminjanja nasutja granulata med procesom granuliranja. Ugotovili smo, da luč, ki je del opreme hitro vrtečega granulatorja, ne zadostuje potrebam eksperimenta vizualnega sledenja dinamične površine zmesi. Sledili sta zasnova in izdelava namenskega pulznega svetila. Placebo zmes se je sicer obnašala drugače kot kasnejše zmesi z učinkovino, saj zrnca sploh niso nastala, tako da smo zmožnost spremljanja rasti zrn preverili šele na prvi laboratorijski seriji zrn z modelno učinkovino.

4.1 PRVA LABORATORIJSKA SERIJA ZRNC (1*)

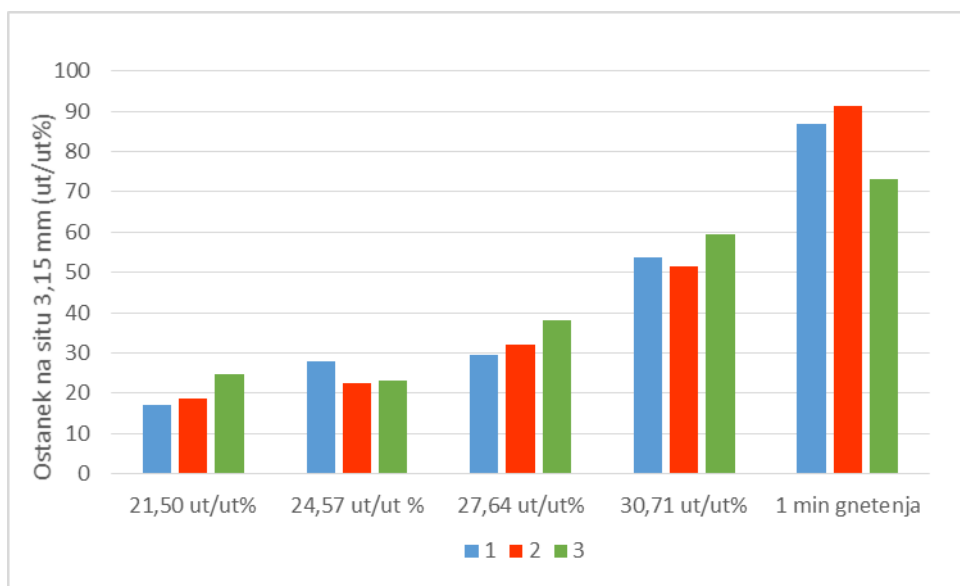
Prva laboratorijska serija izdelave zrn je bila namenjena temu, da ovrednotimo, ali je z zajemom slik procesa granuliranja mogoče zaznati spremembe v strukturi prahov oziroma velikosti zrn in tako določiti končno točko granuliranja.

Preglednica III: Pregled odvzetih vzorcev ter rezultati ročnega sejanja s sitom 3,15 mm

Oznaka vzorca	Mesto odvzema	ut/ut% vode na suhe snovi	% dodane vode glede na celotno planirano	Delež na situ 3,15 mm [%]
1*-001	1	21,50	70	17,19
1*-002	2	21,50	70	18,70
1*-003	3	21,50	70	24,59
1*-004	1	24,57	80	27,88
1*-005	2	24,57	80	22,57
1*-006	3	24,57	80	22,99
1*-007	1	27,64	90	29,60
1*-008	2	27,64	90	31,91
1*-009	3	27,64	90	37,98
1*-010	1	30,71	100	53,67
1*-011	2	30,71	100	51,48
1*-012	3	30,71	100	59,59
1*-013	1	Po 1 min gnetenja	/	86,81
1*-014	2	Po 1 min gnetenja	/	91,21
1*-015	3	Po 1 min gnetenja	/	73,21

V tej laboratorijski seriji zrnč smo se odločili za obsežno vzorčenje med granuliranjem. Vzorčili smo pri 21,50; 24,57; 27,64 in 30,71 ut/ut% vode glede na suho snov, kar ustreza 70, 80, 90 in 100 % dodane vode, ter po eni minuti gnetenja, ko smo zaključili proces. Celokupna količina vode, ki jo je bilo treba dodati, je bila preračunana s predhodno postavljenim modelom, glede na velikost delcev modelne učinkovine. S pogostejšim vzorčenjem smo dobili več podatkov o tem, kako se velikost delcev spreminja med procesom granuliranja. Vzorce smo pri tej laboratorijski seriji jemali na treh različnih mestih v hitro vrtečem granulatorju, ki so predstavljena na Sliki 7. Podatki o odvzetih vzorcih so predstavljeni v Preglednici III.

Kot lahko opazimo iz Slike 14, zaostanek zrnč na situ 3,15 mm (ut/ut %) narašča skupaj s količino dodane vode. Večja razlika v zaostankih na situ 3,15 mm je opazna samo po eni minuti gnetenja, kjer odstopa vzorec 1*-015. Na tem mestu (mesto 3) je nastala velika kepa materiala, ki je ni bilo mogoče vzorčiti. Tam smo odvzeli nekoliko manjše delce, ki so bili prisotni v okolici te kepe, kar se odraža v rezultatu.

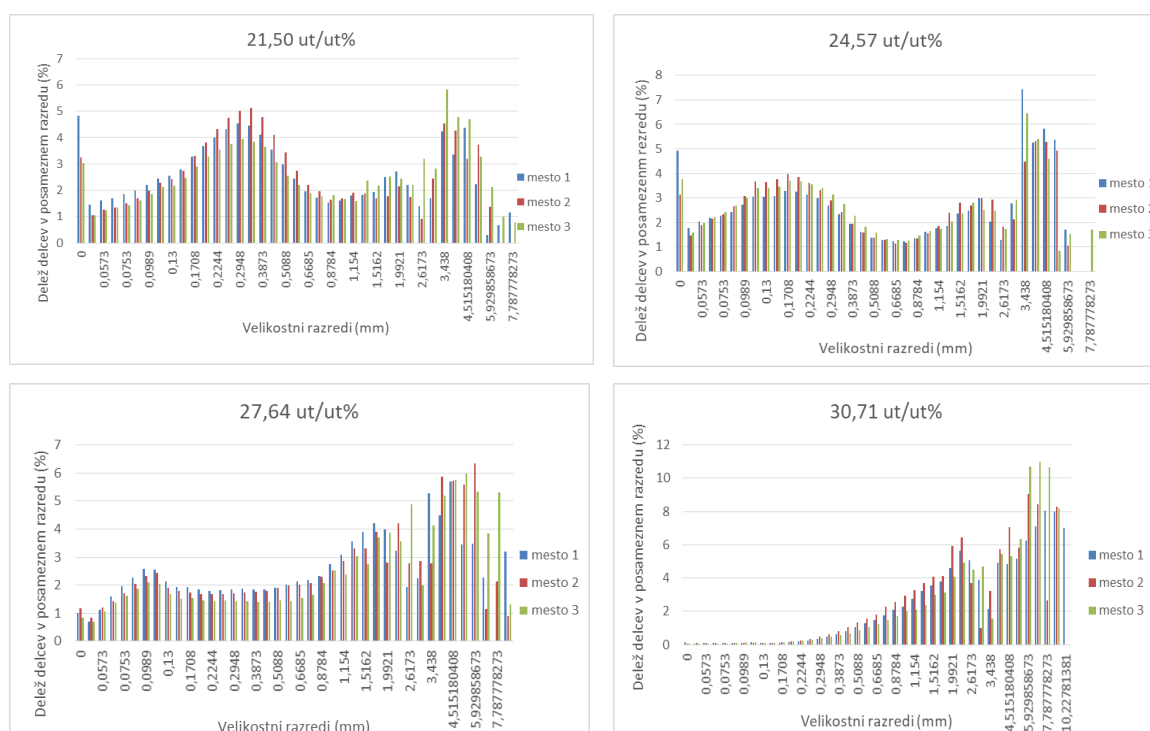


Slika 14: Ostanke na situ 3,15 mm na različnih odzemnih mestih

Med posameznimi odzemnimi mesti, glede na združene rezultate statične in dinamične slikovne analize (Slika 15), ne opazimo večjih razlik. Nekoliko večja sipanja deležev pri delcih, ki so ostali na situ 3,15 mm in smo jih vrednotili s statično slikovno analizo, so posledica tega, da je v primerjavi z dinamično analizo (Camsizer) analizirano veliko manjše število delcev (nekaj milijonov proti nekaj sto).

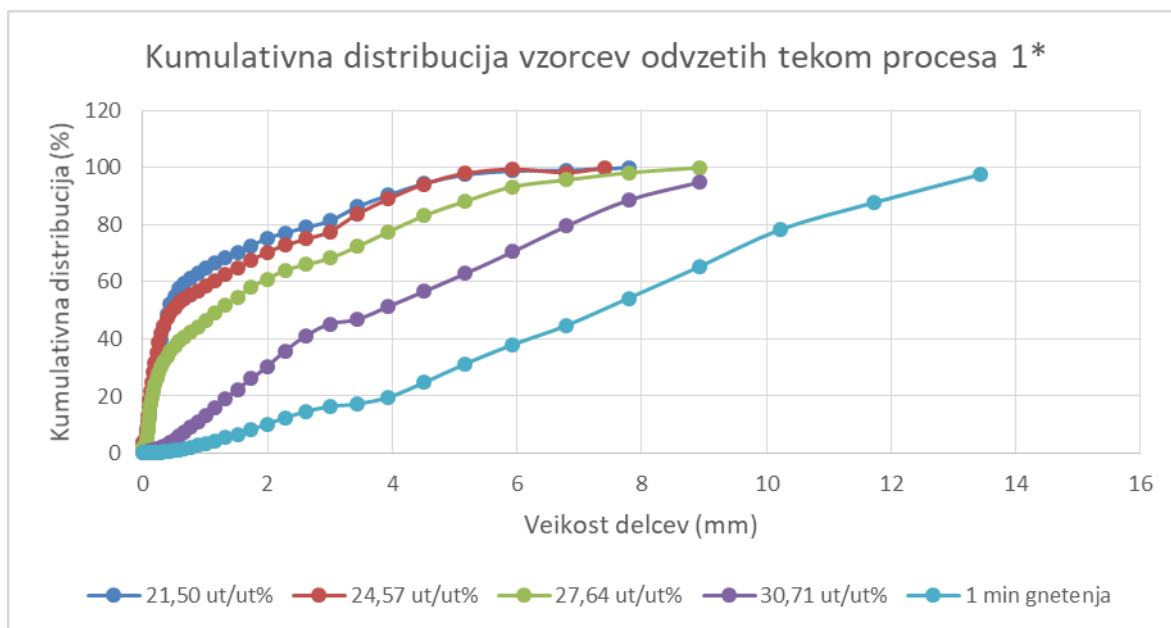
Pri prvi laboratorijski seriji smo jemali več vzorcev, da smo videli, kako se porazdelitev velikosti spreminja med procesom. Opazimo lahko (Slika 15), da imamo na začetku

bimodalno porazdelitev velikosti delcev, ki se med trajanjem procesa spreminja v unimodalno. Rezultati po 1 min gnetenja niso vključeni, saj je oblika porazdelitve zelo primerljiva s tisto pri 30,71 ut/ut% vode glede na suho snov (100 % glede na preračun). To je lahko posledica tega, da je v našem primeru granulacijska tekočina v posodo z materialom kapljala in je nismo razprševali. Zaradi tega je pri nižjih odstotkih dodane vode najverjetneje nastalo več velikih zrn kot posledica tega, da posamezna kapljica vode omoči prahove, v nadaljevanju procesa pa se voda vedno bolj enakomerno porazdeljuje, zato večja jedra razpadajo na manjša, kar je v skladu z literaturnimi izsledki (7).



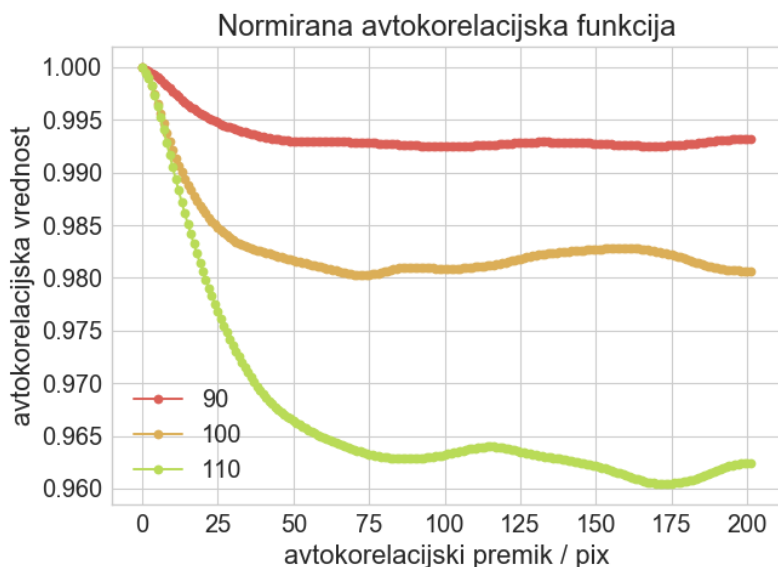
Slika 15: Spreminjanje porazdelitve delcev med procesom granuliranja (združeni rezultati dinamične in statično slikovno analizo)

Razlike v rasti zrn so opazne pri nadaljnjem dodajanju vode in gnetenju; kumulativne distribucije so podane na Sliki 16. Če se osredotočimo na spreminjanje velikosti zrn med procesom granuliranja, opazimo, da med 21,50 in 24,57 ut/ut% dodane vode na suho snov ne opazimo bistvenih razlik v velikosti zrn. Pri naslednjih odvzemih vidimo razlike, ki so posledica rasti zrn. Iz tega sklepamo, da moramo najprej dodati določeno količino vode, da sploh pride do indukcije intenzivne rasti zrn, kar se zopet sklada z opažanji (7). V našem primeru je prišlo do hitre rasti zrn po dodatku 27,64 ut/ut% vode glede na suho snov (90 % dodane vode).



Slika 16: Kumulativne porazdelitve vzorcev odvzetih med procesom granuliranja 1*

Potek procesa prve laboratorijske serije izdelave zrnč smo spremljali s pogostim in periodičnim zajemom slik in nato preizkusili primernost pristopa metode normirane avtokorelacijske funkcije. Na Sliki 17 so prikazane vrednosti normirane avtokorelacijske funkcije v odvisnosti od avtokorelacijskega premika. Avtokorelacijske funkcije smo dobili z analizo statičnih slik, posnetih ob ustavitvah procesa v točkah po dodatku 90 in 100 % vode in ob koncu gnetenja (oznaka 110).



Slika 17: Krivulje normirane avtokorelacijske funkcije ob točkah 90 % dodane vode, 100 % dodane vode in 1 min gnetenja (oznaka 110)

V časovnih točkah, ki smo jih analizirali, opazimo spreminjanje avtokorelacijske funkcije skladno in v sosledju s tem, kar smo opazili pri meritvah velikosti delcev, odvzetih med procesom (Slika 16).

Opazili smo smiselni trend spreminjanja krivulj (hitro spreminjanje po dodatku 27,64 ut/ut% oziroma 90 %), kar je nakazovalo, da lahko s to metodo spremljamo rast zrnč v hitro vrtečem granulatorju. Ocenili smo, da metoda avtokorelacijske funkcije predstavlja dobro osnovo za nadaljnji razvoj.

4.2 LABORATORIJSKE SERIJE ZA POSTAVITEV MODELA (2*-4*)

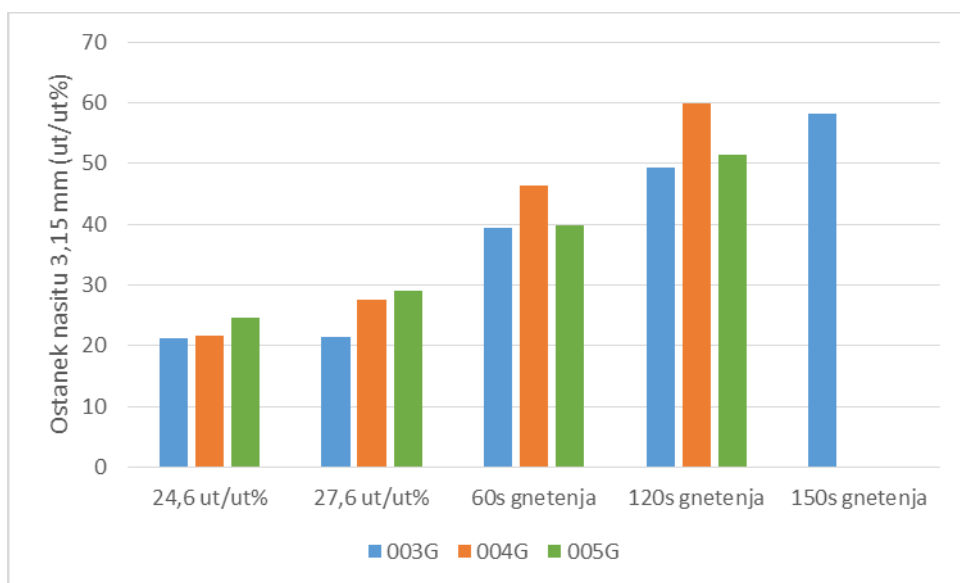
S prvo laboratorijsko serijo smo pokazali, da z metodo normirane avtokorelacijske funkcije lahko zaznamo spremembe v velikosti/distribuciji velikosti zrnč. Nadaljevali smo s tremi laboratorijskimi serijami izdelave zrnč, ki so služile postavitvi modela oz. mejnih vrednosti cenilk procesa za določanje končne točke granuliranja. Tudi pri teh treh laboratorijskih serijah izdelave zrnč smo uporabili enake kontrolne številke vhodnih materialov kot pri prvi. Velikost delcev modelne učinkovine (d90) je bila 44 µm. Odločili smo se, da bomo dodali manj vode kot pri prvi laboratorijski seriji, kjer je bil material po eni minuti gnetenja preveč zgranuliran. Vodo smo tako dodajali do 24,57 ut/ut% vode glede na suho snov (oziroma do 90 % glede na količino vode dodane pri prvi laboratorijski seriji zrnč).

Preglednica IV: Pregled vzorcev, odvzetih med procesom granuliranja pri laboratorijskih serijah za postavitev modela (mesto odvzema št. 1)

Oznaka vzorca	ut/ut% vode na suhe snovi	% dodane vode glede na celotno planirano	Delež na situ 3,15 [%]
2*-001	21,50	80	21,13
2*-002	24,57	90	21,50
2*-003	60 s gnetenja	/	39,34
2*-004	120 s gnetenja	/	49,34
2*-005	150 s gnetenja (končni)	/	58,14
3*-001	21,50	80	21,71
3*-002	24,57	90	27,54
3*-003	60 s gnetenja	/	46,29
3*-004	120 s gnetenja (končni)	/	60,00
4*-001	21,50	80	24,57
4*-002	24,57	90	29,03
4*-003	60 s gnetenja	/	39,79
4*-004	120 s gnetenja (končni)	/	51,39

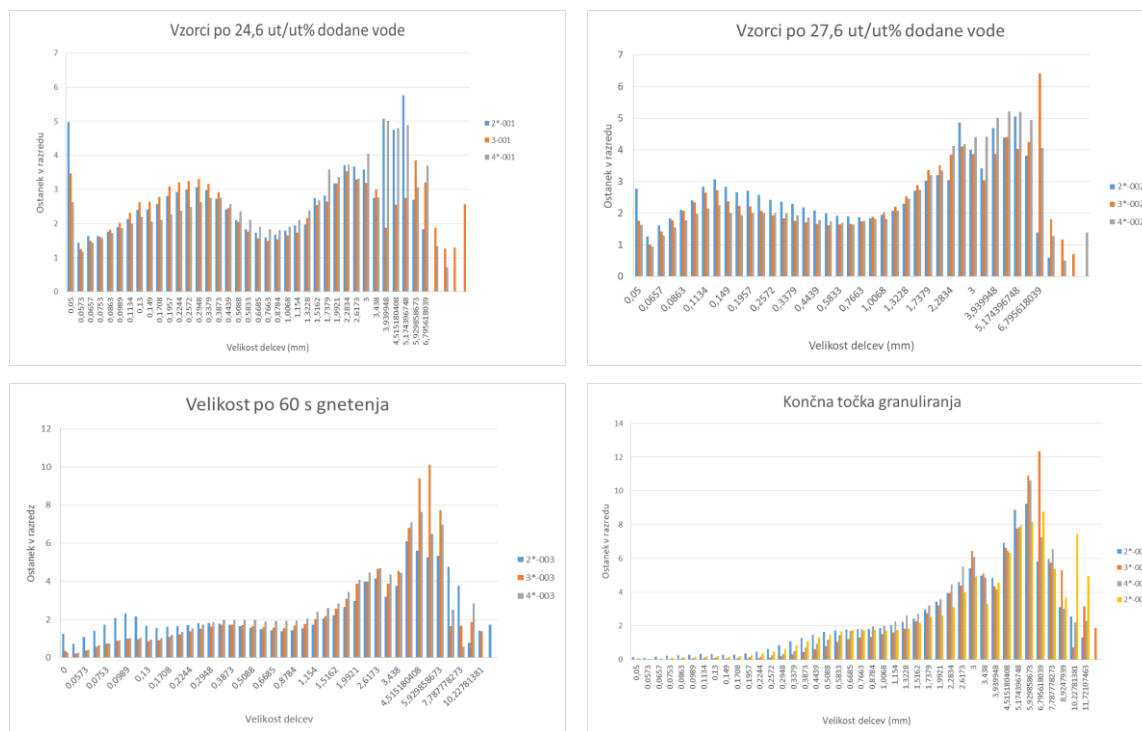
Potek procesa in časovne točke odvzema vzorcev smo predhodno določili. Ker smo dodali manjšo količino vode, smo pričakovali, da bodo potrebni daljši časi gnetenja kot pri prvi laboratorijski seriji. Končno točko granuliranja smo, glede na predhodne izkušnje izdelave serij zrn z učinkovino, določili vizualno – torej subjektivno. Cilj je bil, da bi bili procesni časi dodajanja vode in gnetenja enaki, hkrati pa smo predvsem želeli dobiti enak videz in karakteristike granulata. Dejanske vrednosti in odvzeti vzorci so navedeni v Preglednici IV. Vzorčili smo na mestu 1, kjer smo tudi zajemali slike površine nasutja (Slika 7).

Iz Preglednice IV in Slike 18 lahko opazimo, da smo pri laboratorijski seriji 3* po sušenju dobili nekoliko večje delce kot pri ostalih dveh (po 60 in 120 s gnetenja). Zaostanek na situ po 120 s gnetenja je bil pri laboratorijski seriji 3* primerljiv s tistim po 150 s gnetenja pri laboratorijski seriji 2*, kar je optimalen videz granulata.



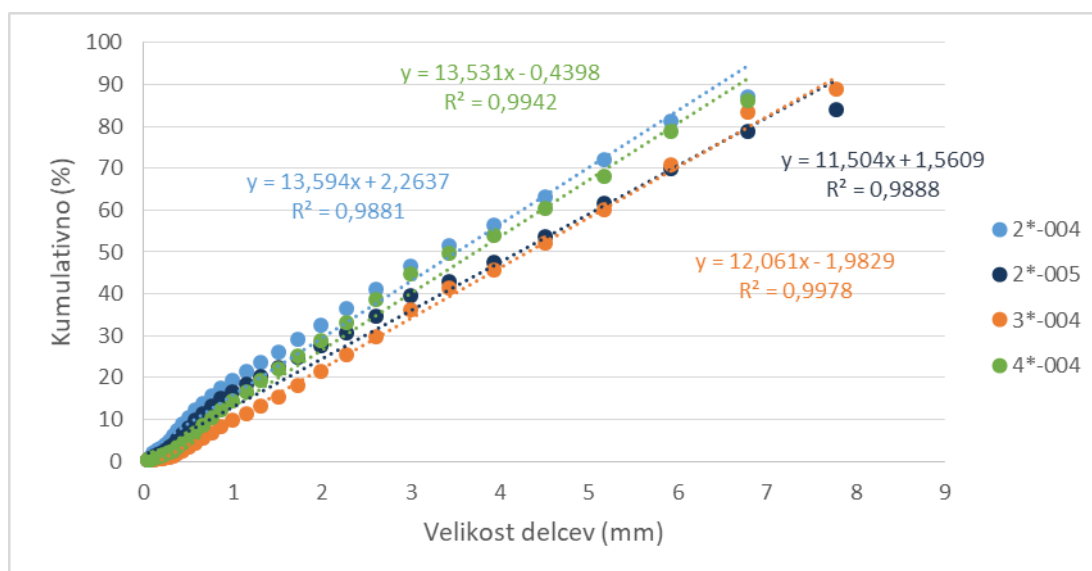
Slika 18: Primerjava ostankov po ročnem sejanju skozi sito 3,15 mm

Če primerjamo končne granulate – laboratorijsko serijo 2* po 150 s gnetenja ter laboratorijski seriji 3* in 4* po 120 s gnetenja, lahko vidimo, da se je masni delež ostanka na situ 3,15 mm pri laboratorijski seriji 2* po dodatnih 30 s gnetenja zelo približal laboratorijski seriji 3*, medtem ko je masni delež pri seriji 4* 8–9 % nižji. Na Sliki 19 so predstavljeni deleži prahov v posameznih velikostnih razredih, ki smo jih dobili z združitvijo rezultatov dinamične in statične slikovne analize. Opazimo lahko, da se je delež praškaste frakcije (pod 50 μm) za vse tri serije bistveno znižal šele okoli končne točke granuliranja, kar je primarni cilj tega procesa, saj želimo, da je večina prahov v obliki zrn.



Slika 19: Primerjava deleža delcev v posameznem velikostnem razredu za vse tri laboratorijske serije, ki smo jih uporabili za postavitev mejnih vrednosti cenilk procesa

Delce blizu končne točke granuliranja smo po izvedbi obeh analiz, dinamične (Camsizer XT) in statične slikovne analize, ovrednotili tako, da smo glede na volumski delež določili vrednosti parametrov velikosti d10, d50 in d90. S pomočjo prileganih enačb premic na diagramu (Slika 20) smo izračunali parametre velikosti, ki so navedeni v Preglednici V.



Slika 20: Kumulativna porazdelitev velikosti delcev v bližini končne točke granuliranja pri laboratorijskih serijah za postavitev metode objektivnega določanja končne točke

Pri laboratorijskih serijah 3* in 4* smo izračunali vrednosti samo pri končnem vzorcu, pri laboratorijski seriji 2*, pri kateri smo material gnetili 30 s dlje, pa smo določili velikosti tako v končni točki granuliranja kot po 120 s gnetenja.

Preglednica V: Parametri velikosti delcev in delež prahov za posamezno laboratorijsko serijo

	2*-004 [#]	2*-005	3*-004	4*-004
d10 (mm)	0,569	0,734	0,994	0,772
d50 (mm)	3,512	4,211	4,310	3,728
d90 (mm)	6,454	7,688	7,626	6,684
< 50 µm (%)	0,29	0,17	0,07	0,16

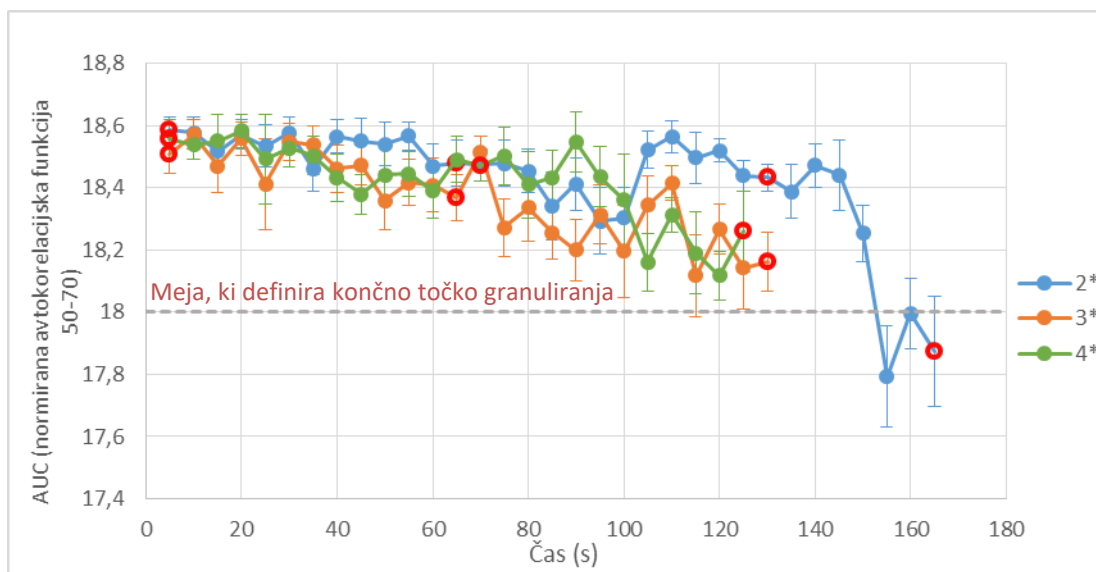
[#]ni končna točka granuliranja

V Preglednici V so navedeni tudi deleži prahov (< 50 µm) za posamezne vzorce. Opazimo lahko, da je po 120 s gnetenja pri laboratorijski seriji 2* (2*-004) prisotnega nekoliko več prahu kot pri ostalih dveh. Odločitev, da po 120 s nadaljujemo z gnetenjem, je bila pravilna. Enako potrjujejo tudi parametri velikosti delcev, saj lahko vidimo, da so po 120 s gnetenja percentili manjši kot pri laboratorijskih serijah 2* in 3* v končni točki granuliranja (2*-005 in 3*-004). Pri laboratorijski seriji 4* imamo nižje vrednosti parametrov velikosti v končni točki granuliranja (4*-004). Od teh rezultatov odstopa le delež prašne frakcije, saj je pri laboratorijski seriji 4* nižji, kot bi pričakovali glede na ostale parametre porazdelitve velikosti. Iz cenilk procesa (AUC NAK, spektralni momenti, glej poglavji 4.2.2 in 4.2.3) opazimo, da je bila laboratorijska serija 4* dejansko premalo granulirana.

Dinamične posnetke procesa smo ovrednotili s tremi različnimi cenilkami: cenilko AUC NAF pri odmikih 50–70 slikovnih točk, cenilko AUC NAK pri odmikih 0–3 slikovnih točk in cenilko spektralnih momentov.

4.2.1 AUC NAF pri odmikih 50–70 slikovnih točk

Pri prvi laboratorijski seriji smo videli, da se krivulja NAF spreminja podobno kot krivulje kumulativne porazdelitve velikosti delcev. Cenilka AUC NAF pri avtokorelacijskih premikih od 50 do 70 slikovnih točk je izkazala trend, ki bi lahko koreliral s spreminjanjem velikosti zrn med granuliranjem. V primerjavi z drugima dvema cenilkama, opisanima v nadaljevanju, je ta edina, ki ima padajoč trend (Slika 21), kar pomeni, da mora vrednost pasti pod določeno mejo, da dosežemo končno točko procesa granuliranja.



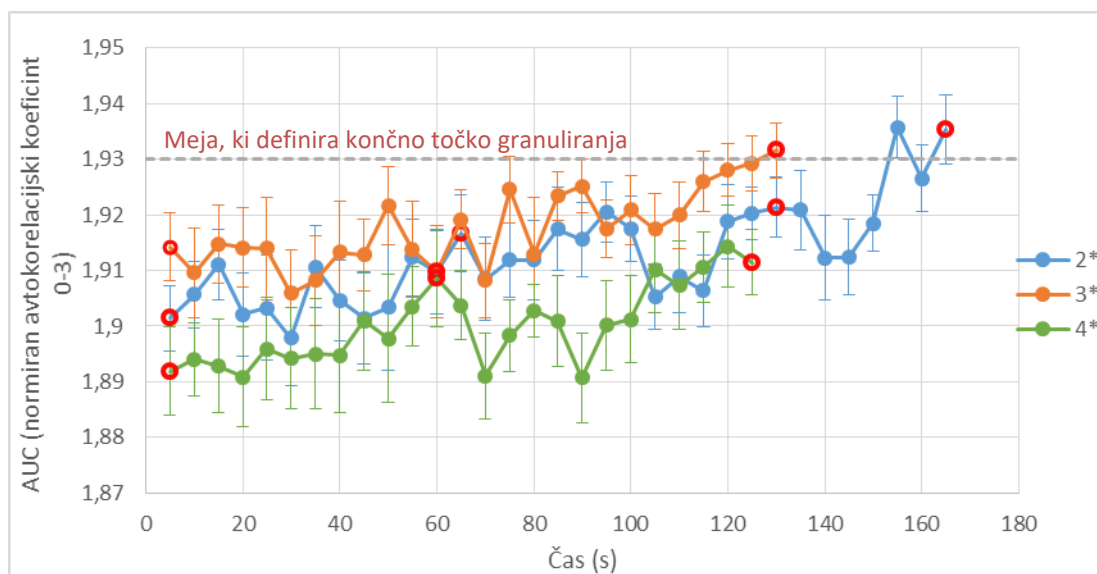
Slika 21: Spreminjanje površine pod krivuljo normirane avtokorelacijske funkcije pri zamikih od 50 do 70 slikovnih točk pri treh laboratorijskih serijah za postavitev metode

Z rdečimi krogi so na krivuljah ponazorjene časovne značke odvzema vzorcev, na katerih je bila izvedena analiza velikosti delcev. Manjka sicer odvzem vzorca pri 21,50 ut/ut% (80 % dodane vode), saj je na diagramu prikazana samo faza gnetenja po dodatku planirane količine vode. Prvi krog, takoj na začetku, predstavlja tako odvzem pri 24,57 ut/ut% (90 % dodane vode), ko smo dodali vso načrtovano vodo in začeli fazo gnetenja. Z intervali napake smo ponazorili 95 % interval zaupanja cenilke v posamezni časovni točki. Pri tej cenilki smo imeli največje težave glede postavitve meje, ki definira končno točko granuliranja. Vrednosti cenilk za laboratorijski seriji 3* in 4*, ki sta bili dejansko najbolj in najmanj granulirani (parametri velikosti delcev), sta se namreč ustavili na podobnih vrednostih AUC NAF pri zamikih od 50 do 70 slikovnih točk, kar je bilo v nasprotju z našimi pričakovanji. Mejo smo zato konservativno glede na laboratorijsko serijo 2* postavili na vrednost 18,0.

Glede na rezultate velikosti delcev in pretočne lastnosti končnih granulatov, ki bodo opisane v naslednjih poglavjih, smo ugotovili, da laboratorijska serija 4* ni bila dovolj granulirana, kar smo tudi upoštevali pri postavitvi mej za cenilke AUC NAK pri zamikih od 0 do 3 slikovnih točk in spektralnih momentov. Meje, ki definirajo končno točko granuliranja, smo postavili na najbližjo vrednost, ki sta jo presegli tako laboratorijska serija 2* kot 3*.

4.2.2 AUC NAK pri zamikih od 0 do 3 slikovnih točk

Pri avtokorelacijskem koeficientu smo pri odmikih od 0 do 3 slikovnih točk opazili, da naši rezultati izkazujejo enak trend, kot je opisan v literaturi (20). Na osnovi krivulj normiranih avtokorelacijskih koeficientov smo zato izračunali površino pod krivuljo med mejami zamika 0 in 3 slikovnih točk.

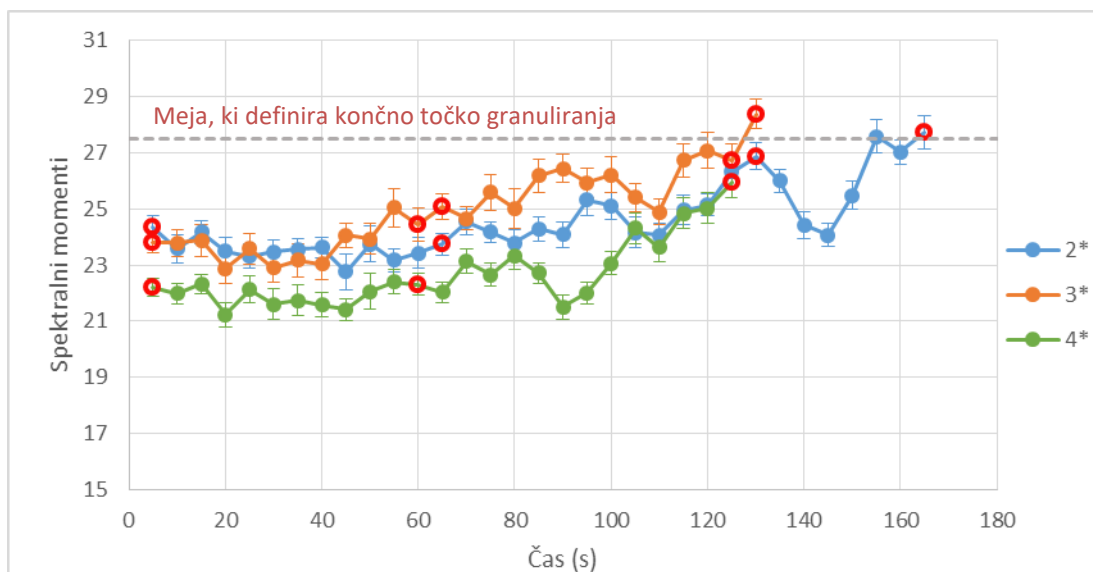


Slika 22: Spreminjanje površine pod krivuljo normiranega avtokorelacijskega koeficienta pri zamikih od 0 do 3 slikovnih točk pri treh laboratorijskih serijah za določitev meje cenilke

Iz spreminjanja AUC NAK pri zamikih od 0 do 3 slikovnih točk (Slika 22) lahko med procesom opazimo naraščajoč trend. Meja **1,93** predstavlja naknadno postavljeno mejo vrednosti cenilke, ki jo moramo preseči, da dosežemo končno točko granuliranja.

4.2.3 Spektralni momenti

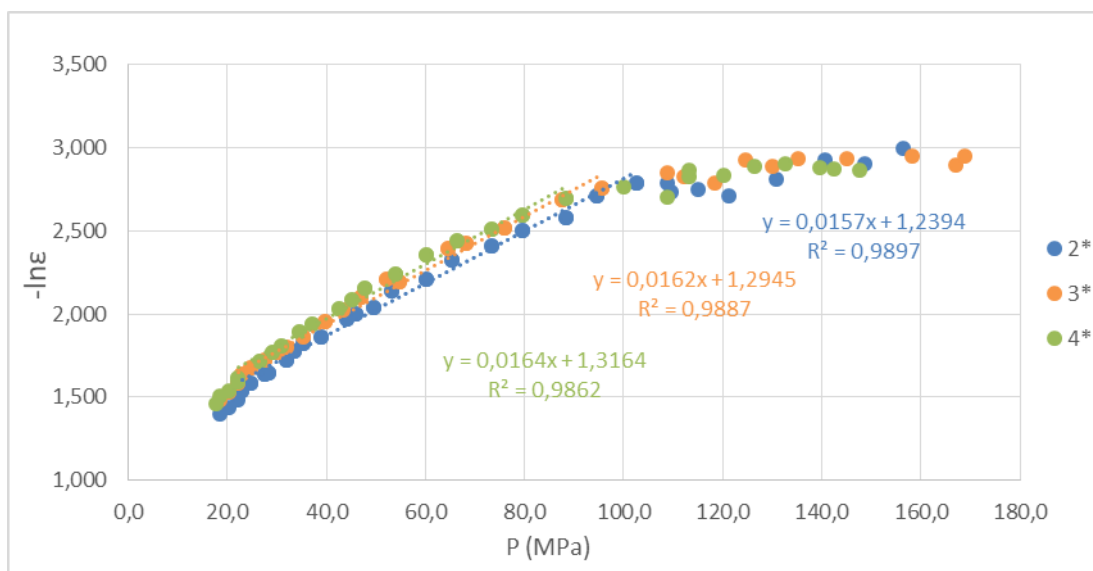
Zadnja cenilka, ki smo jo preizkusili, je bilo razmerje spektralnih momentov (Slika 23). Metoda je opisana v literaturi in je bila uporabljena za določevanje velikosti granuliranega materiala (21). Meja vrednosti cenilke **27,5** je bila tudi v tem primeru postavljena naknadno, in sicer tako, da jo presegata dovolj granulirani laboratorijski seriji (2* in 3*).



Slika 23: Spreminjanje spektralnih momentov pri treh laboratorijskih serijah za določitev meje cenilke

4.2.4 Vrednotenje lastnosti končnega granulata – pretočnost, kompaktilnost, kompresibilnost in sposobnost procesa

→ Kompresibilnost (Hecklova analiza)



Slika 24: Hecklov diagram laboratorijskih serij za postavitev metode določanja končne točke granuliranja

Kot vidimo na Sliki 24, se z višanjem tlaka stiskanja znižuje poroznost tablete. Odvisnost je na začetku dokaj linearna in pri višjih silah stiskanja preide v plato. Za določitev Hecklove konstante (K) in mejnega tlaka stiskanja (P_y) smo uporabili začetni, linearni del. Vključili

smo toliko točk, da je bil determinacijski koeficient blizu vrednosti 0,98, kar v povprečju pomeni področje med 20 in 100 MPa.

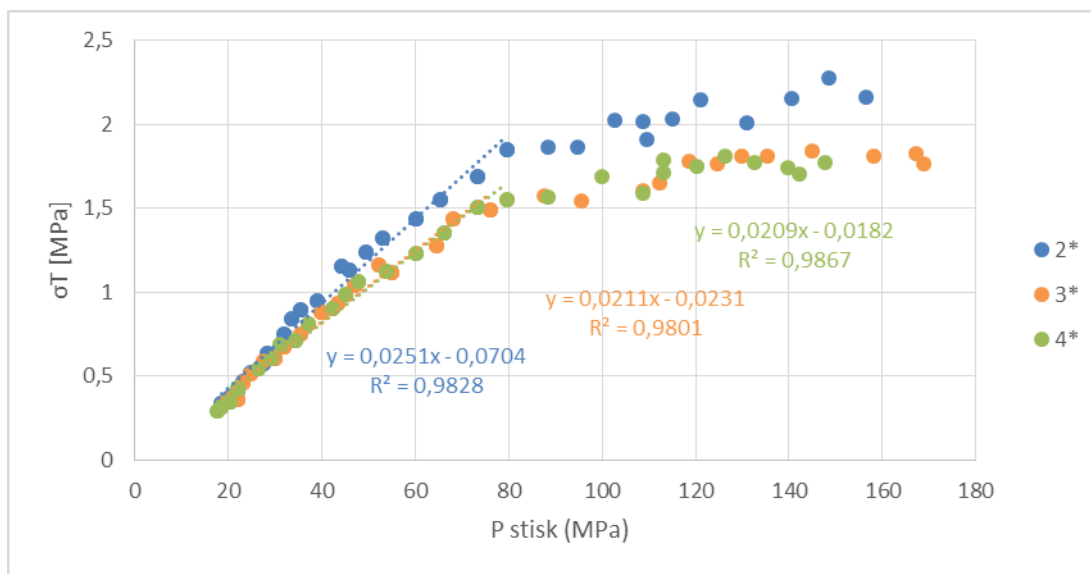
V Preglednici VI so predstavljene vrednosti Hecklove konstante (K) in mejnih tlakov plastične deformacije (P_y) za vzorce, namenjene za postavitev metode določanja končne točke granuliranja. Med rezultati vseh treh laboratorijskih serij ni opaziti bistvenih razlik. Najbolj stisljiva je zmes z najnižjo vrednostjo P_y . Glede na parameter stisljivosti smo torej izdelali enake granulate.

Preglednica VI: Parametri kompresibilnosti laboratorijskih serij za postavitev modela

Tabletna zmes	K (MPa ⁻¹)	P_y (MPa)	R^2
2*	0,0157	63,69	0,990
3*	0,0162	61,73	0,989
4*	0,0164	60,98	0,986

K – Hecklova konstanta, P_y – mejni tlak stiskanja; R^2 – determinacijski koeficient

→ Kompaktibilnost



Slika 25: Kompaktibilnostni diagram laboratorijskih serij za postavitev modela

V Preglednici VII so podani kompaktibilnostni koeficienti (C) za zmesi, ki smo jih izdelali pri laboratorijskih serijah za postavitev metode določanja končne točke (2*-4*). Najbolj kompaktibilna je zmes z največjim naklonom oziroma kompaktibilnostnim indeksom (Slika 25). Granulat, ki smo ga izdelali med laboratorijsko serijo 2*, pri kateri smo gnetenje izvajali 30 s dlje, ima nekoliko višjo vrednost, medtem ko sta preostali vrednosti praktično enaki. To pomeni, da pri granulatu laboratorijske serije 2* pri enaki sili stiskanja dobimo tablete z višjo

natezno trdnostjo kot pri granulatih, izdelanih med laboratorijskima serijama 3* in 4*, še vedno pa gre za zrnca primerljivih lastnosti.

Preglednica VII: Parametri kompaktilnosti laboratorijskih serij za postavitev metode

Tabletna zmes	C	R ²
2*	0,0251	0,983
3*	0,0211	0,980
4*	0,0209	0,987

→ Vrednotenje sposobnosti procesa

V Preglednici VIII so navedeni indeksi sposobnosti procesa in pretočnosti za tabletne zmesi, izdelane med laboratorijskimi serijami 2*–4*. Z vidika sposobnosti procesa je najboljši granulati, ki smo ga izdelali med laboratorijsko serijo 2*, saj ima najvišja C_p in C_{pk} indeksa za maso in najnižjo standardno deviacijo za trdnost. Za primerjavo granulotov je bolj primeren indeks C_p , saj ni odvisen od ustreznosti nastavitve spodnjega pečata oziroma volumna polnjenja. Med indeksi sposobnosti procesa za maso in pretočnostjo nismo opazili povezave, saj ima tabletna zmes laboratorijske serije 4*, ki ima najslabšo pretočnost, boljše indekse sposobnosti procesa kot tabletna zmes laboratorijske serije 3*, ki ima najboljšo pretočnost.

Preglednica VIII: Indeksi sposobnosti procesa laboratorijskih serij za postavitev metode

Tabletna zmes	C_p (masa)	C_{pk} (masa)	SD (trdnost)	Pretočnost [g/s]
2*	4,59	2,05	2,97	5,02
3*	1,56	0,87	7,76	5,96
4*	1,61	1,00	5,25	4,57

4.3 POTRDNITVENE LABORATORIJSKE SERIJE IZDELAVE ZRNC (5*–7*) – USTAVITEV PROCESA NA PODLAGI MEJ CENILK

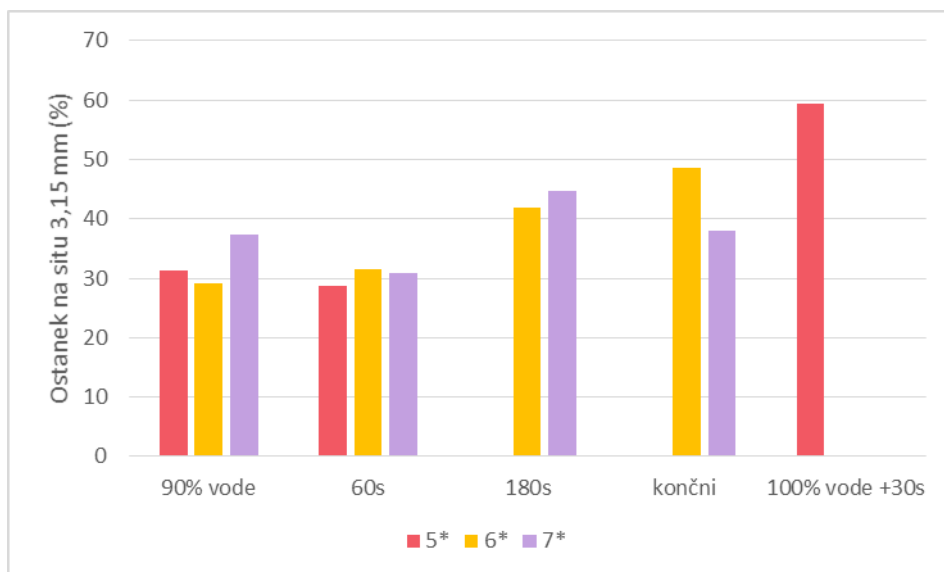
Po tem, ko smo izdelali laboratorijske serije zrnca za postavitev metode za določitev končne točke granuliranja (2*–4*), smo jih analizirali in za posamezne cenilke določili vrednosti, ki določajo končno točko granuliranja. Nadaljevali smo s tremi laboratorijskimi serijami (5*–7*), s katerimi smo želeli potrditi ustreznost izbranih cenilk in postavljenih mej ter potrditi koncept avtomatiziranega pristopa določanja končne točke granuliranja. Pri vsaki od teh laboratorijskih serij smo uporabili različno velikost delcev modelne učinkovine, ki vstopa v zrnca (vrednosti so podane v Preglednici X). Količino vode, potrebno za granulacijo, smo priredili glede na velikost delcev. Ker smo pri laboratorijskih serijah za postavitev metod

dodali samo 90 % preračunane vode, je bil načrt, da enako postopamo tudi pri teh laboratorijskih serijah zrnč. Na osnovi realnočasovnega spremljanja treh različnih cenilk smo proces granuliranja ustavili, ko smo presegli mejo za prvo cenilko. Pri laboratorijski seriji 7* smo pri realnočasovnem spremljanju minimalno presegli mejo za AUC NAK, pri laboratorijski seriji 6* pa tudi mejo spektralnih momentov. Pri laboratorijski seriji 5* smo morali dodati še dodatnih 10 % vode. Skupaj smo pri tej laboratorijski seriji dodali 100 % preračunane količine vode. Tako smo se odločili, ker po treh minutah gnetenja nismo bili blizu meje za nobeno cenilko in se vrednosti postavljenim mejam tudi niso približevale. Po dodatnih 30 sekundah gnetenja smo ustavili proces malo pred dosegom meje za AUC NAK (to je vzorec 5*-003, ki ga navajamo za primerjavo laboratorijskima serijama 6* in 7* v končni točki granuliranja (sliki 26 in 27)). Ker je bilo veliko materiala prilepljenega na stene posode, smo ta material postrgali s sten in nadaljevali gnetenje do točke, ko smo presegli mejo za AUC NAK. To smo presegli po skupno 95 s gnetenja od trenutka, ko smo dodali 100 % vode. Ko smo ustavili proces, smo vizualno ocenili, da je material pregranuliran in se nam ni zdelo smiselno odvzeti končnega vzorca. Pri tej laboratorijski seriji smo odvzeli samo tri vzorce. Vsi vzorci, ki smo jih odvzeli, so navedeni v Preglednici IX.

Preglednica IX: Pregled odvzetih vzorcev med potrditvenimi laboratorijskimi serijami

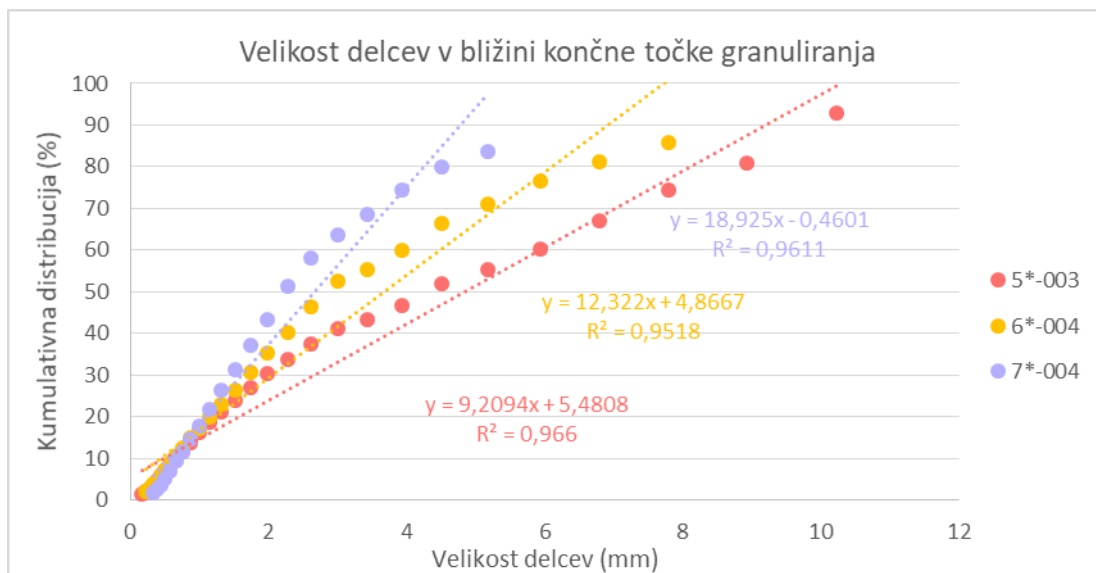
Oznaka vzorca	Opis vzorca	Ostanek na situ 3,15 mm
5*-001	90 % vode	31,22
5*-002	60 s gnetenja	28,66
5*-003	100 % + 30 s gnetenja	59,40
6*-001	90 % vode	29,20
6*-002	60 s gnetenja	31,51
6*-003	180 s gnetenja	41,81
6*-004	245 s gnetenja (končni)	48,69
7*-001	90 % vode	37,43
7*-002	60 s gnetenja	30,79
7*-003	180 s gnetenja	44,78
7*-004	235 s gnetenja (končni)	38,04

Iz Preglednice IX in Slike 26 vidimo, da med ostanki na situ na začetku procesa ni razlik, v bližini končne točke pa je največji ostanek na situ pri laboratorijski seriji 5*, sledi 6*, najmanjši je ostanek na situ pri laboratorijski seriji 7*.



Slika 26: Primerjava ostankov na situ 3,15 mm pri potrditvenih laboratorijskih serij

Tudi pri teh laboratorijskih serijah smo iz kumulativnih distribucij v bližini končne točke (Slika 27) preračunali parametre velikosti delcev (d_{10} , d_{50} in d_{90}).



Slika 27: Kumulativna distribucija delcev v bližini končne točke granuliranja pri potrditvenih laboratorijskih serijah

Velikost nastalih zrnč je odvisna od količine dodane vode (7). Količino dodane vode smo preračunali glede na velikost delcev (d_{90}) vstopajoče modelne učinkovine. Glede na predhoden model je pri večjih delcih treba dodati večjo količino vode, da dobimo ustrezen

granulat. Iz rezultatov, podanih v Preglednici X, pa lahko vidimo, da je velikost zrn (parametra d50 in d90) odvisna od količine dodane vode. Rezultati parametrov velikosti (d50 in d90), ki jih dobimo iz kumulativne porazdelitve (Slika 27), se ujemajo z rezultati sejanja na situ 3,15 mm. V laboratorijsko serijo 5* so vstopali največji delci učinkovine, zato smo dodali največ vode, kar je vodilo k nastanku največjih delcev. To smo potrdili pri preračunu parametrov velikosti in sejanju na situ 3,15 mm, čeprav pri vzorcu 5*-003 še nismo dosegli končne točke granuliranja. Pri laboratorijski seriji 7* smo dodali najmanjšo količino vode, saj so vanjo vstopali najmanjši delci učinkovine. To je vodilo do nastanka najmanjših zrn, kar vidimo iz parametrov velikosti delcev in ostanka na situ 3,15 mm.

Preglednica X: Parametri velikosti delcev in delež prahov za posamezno laboratorijsko serijo in velikosti uporabljene učinkovine

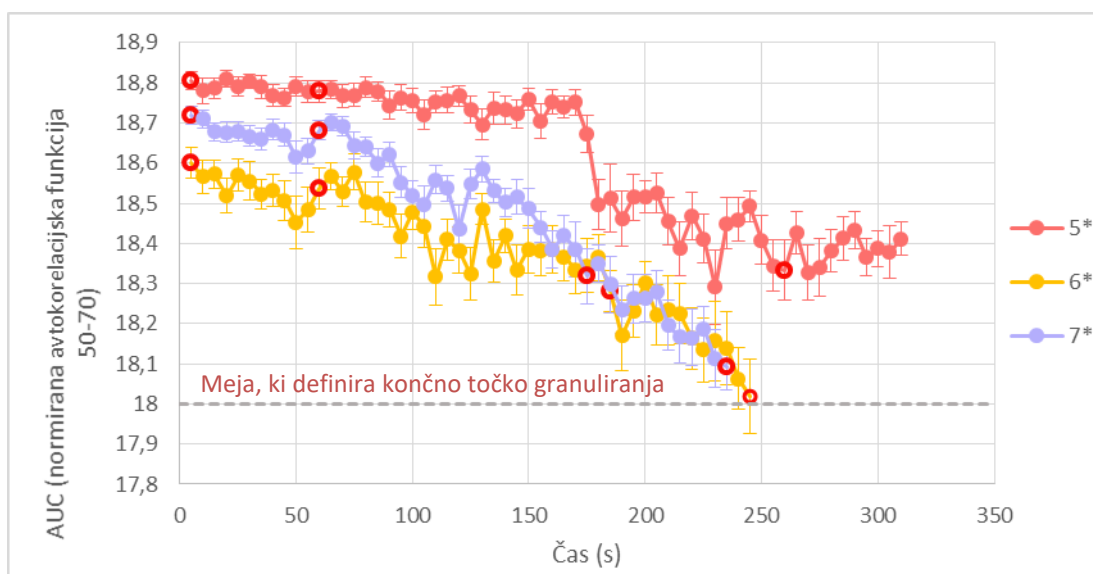
	5*-003 [#]	6*-004	7*-004
Velikost delcev uporabljene učinkovine (d.09)	36 µm	30 µm	18 µm
Količina dodane vode	422 g	357 g	326 g
d10 (mm)	0,491	0,417	0,553
d50 (mm)	4,834	3,663	2,666
d90 (mm)	9,177	6,909	4,780
< 50 µm (%)	0,48	0,17	0,11

[#]Vzorec 5*-003 ni bil odvzet v končni točki granuliranja

Iz rezultatov parametrov velikosti delcev bi lahko sklepali, da smo pri laboratorijski seriji 5* že pri 100 % dodane vode in dodatnih 30 sekund gnetenja dosegli končno točko granuliranja, vendar, če pogledamo delež prahov (< 50 µm), lahko vidimo, da je te frakcije več kot pri laboratorijskih serijah 6* in 7*, pri katerih smo dejansko že dosegli končno točko granuliranja. Za končno točko granuliranja je zelo pomembno, da se nam ustrezno zmanjša prašna frakcija.

Pri realnočasovnem spremljanju laboratorijskih serij smo za analizo uporabljali dinamične slike. Proces granuliranja smo v vseh treh primerih ustavili, ko smo presegli prvo mejo cenilke, kar je bilo v vseh primerih za AUC NAK.

4.3.1 AUC NAF pri odmikih 50–70 slikovnih točk

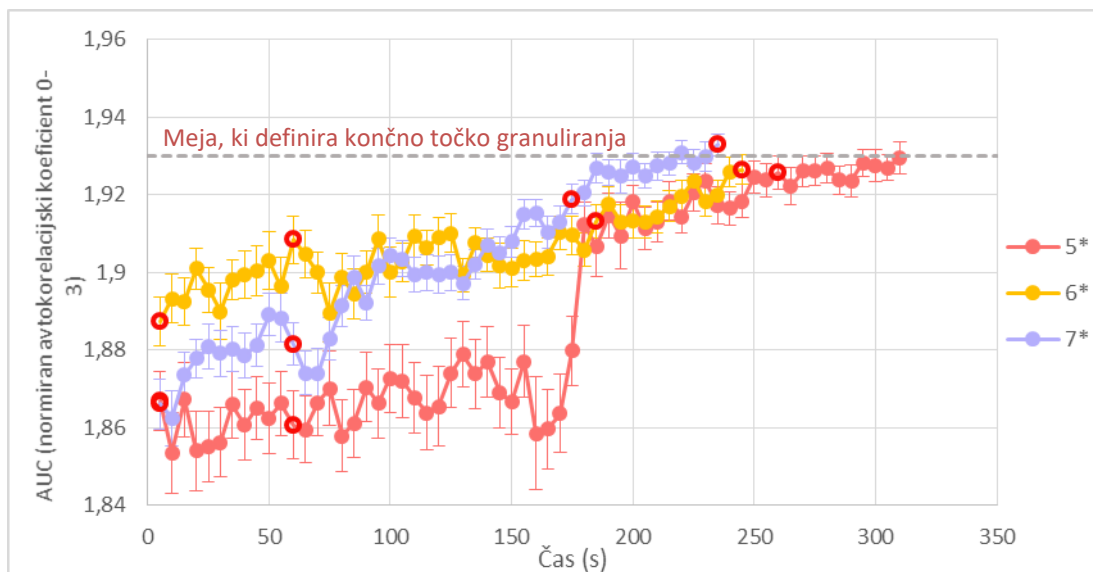


Slika 28: Spreminjanje površine pod krivuljo normirane avtokorelacijske funkcije pri zamikih od 50 do 70 slikovnih točk pri treh potrditvenih laboratorijskih poskusih

Iz Slike 28 je razvidno, da pri nobeni laboratorijskih seriji nismo presegli postavljene meje za AUC NAF pri odmikih 50–70 slikovnih točk. Z rdečimi krogi so ponazorjena mesta odvzema vzorcev, ki so bili uporabljeni za analizo velikost granulatov. Pri potrditvenih laboratorijskih serijah smo v vsaki podani točki izvedli 100 meritev in preračunov. Kot interval napake smo v vsaki točki podali 95 % interval zaupanja. Pri laboratorijski seriji 6* smo prišli zelo blizu postavljene meje oziroma smo jo z intervalom zaupanja celo presegli. Iz tega bi lahko sklepali, da je bila laboratorijska serija 6* najbolj zgranulirana, kar pa se ne ujema z rezultati deleža prašne frakcije (Preglednica X). Neobičajno pri tej cenilki je tudi to, da vrednosti AUC NAF pri zamikih od 50 do 70 slikovnih točk pri laboratorijski seriji 5*, ki smo jo dejansko pregranulirali, niso blizu postavljene meje.

4.3.2 AUC NAK pri odmikih 0–3 slikovnih točk

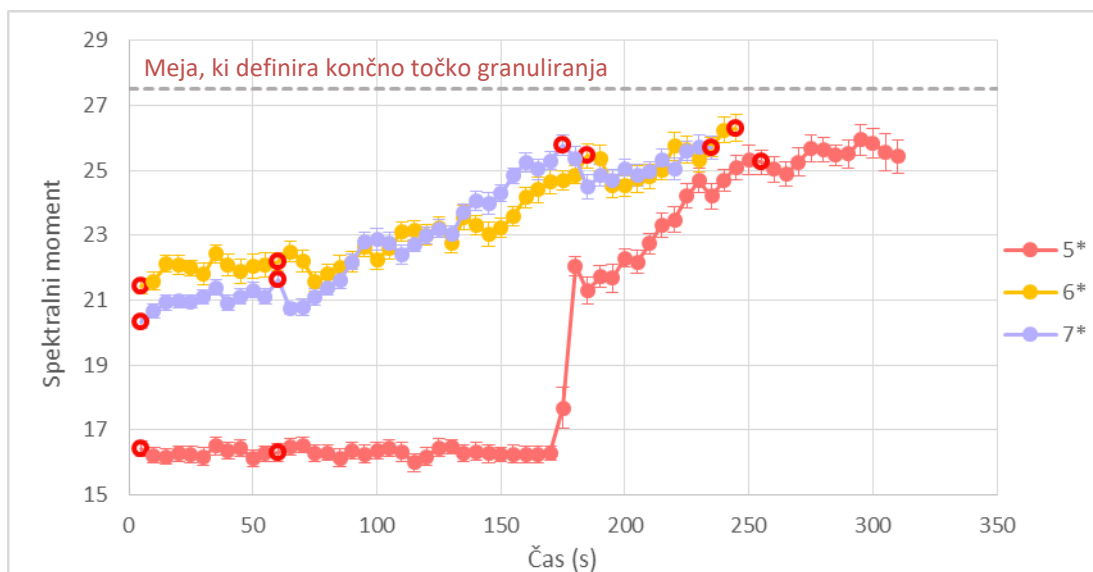
Cenilka AUC NAK (Slika 29) izkazuje boljšo napovedno moč, saj smo pri laboratorijskih serijah 5* in 7* presegli mejo. Pri laboratorijski seriji 6* smo obstali malo pod mejo 1,93, a smo jo z intervalom zaupanja ravno presegli. Laboratorijska serija 6* je glede na cenilko najmanj granulirana, kar deloma potrjuje tudi delež prahov, ki je nekoliko višji kot pri laboratorijskih seriji 7*. S to cenilko nismo zaznali, da smo pri laboratorijski seriji 5* material pregranulirali, saj smo v končni točki ravno dosegli postavljeno mejo.



Slika 29: Spreminjanje površine pod krivuljo normiranega avtokorelacijskega koeficienta pri zamikih od 0 do 3 slikovnih točk pri treh potrditvenih laboratorijskih poskusih

4.3.3 Spektralni momenti

Tudi pri cenilki spektralnih momentov (Slika 30) nismo presegli postavljene meje, ki določa končno točko granuliranja, pri nobeni od laboratorijskih serij. Ta cenilka izraža podoben trend spreminjanja kot cenilka AUC NAK pri zamikih od 0 do 3 slikovnih točk, saj ima naraščajoč trend. Rezultati kažejo na to, da naj bi bila najbolj zgranulirana laboratorijska serija 6* (enako kot kaže cenilka AUC NAF pri odmikih 50–70 slikovnih točk). Pri laboratorijski seriji 5* smo granulat glede na videz ocenili kot pregranuliran.

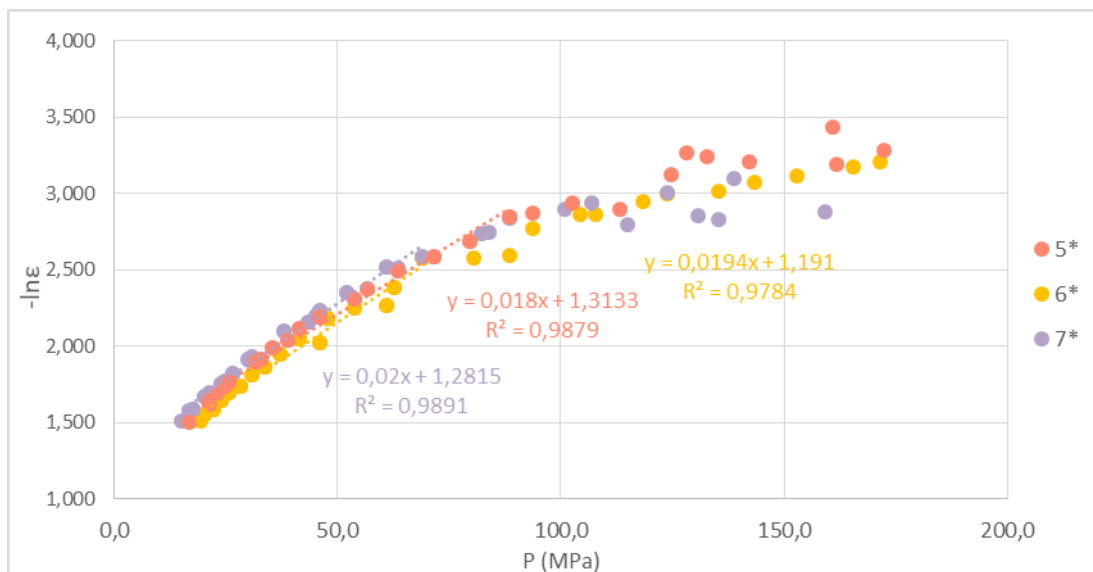


Slika 30: Spreminjanje spektralnih momentov pri treh potrditvenih laboratorijskih serijah

Nobena od cenilk pri tem opazovalnem oknu ni bila občutljiva na pregranuliranost vzorca, saj laboratorijska serija 5* glede na nobeno cenilko občutno ne odstopa od preostalih dveh oziroma pri cenilki AUC NAF pri odmikih 50–70 slikovnih točk odstopa celo v nasprotno smer, torej bi glede na to cenilko moral biti granulati najmanj zgranuliran. Pri vseh treh cenilkah se lepo vidi, da je bilo pri laboratorijski seriji 5* res treba dodati vodo, saj smo bili pred dodatkom vode daleč od meje, hkrati pa ni mogoče opaziti rasti cenilk (NAK in spektralni momenti) oziroma padanja (NAF). Zaključimo lahko, da je potrebo po dodatku vode izrazil naš model določanja končne točke granularanja. Cenilki AUC NAK pri zamikih od 0 do 3 slikovnih točk in spektralni momenti sta se glede na oceno granularnosti izkazali boljše kot cenilka AUC NAF pri odmikih 50–70 slikovnih točk. Ti dve cenilki sta bili tudi v preteklosti že uporabljeni in njuna uporabnost je bila dokazana v literaturi (20, 21).

4.3.4 Vrednotenje lastnosti granulatov, izdelanih v ponovljivih poskusih – pretočnost, kompatibilnost, kompresibilnost, sposobnost procesa

→ Kompresibilnost (Hecklova analiza)



Slika 31: Hecklov diagram potrditvenih laboratorijskih serij zrn

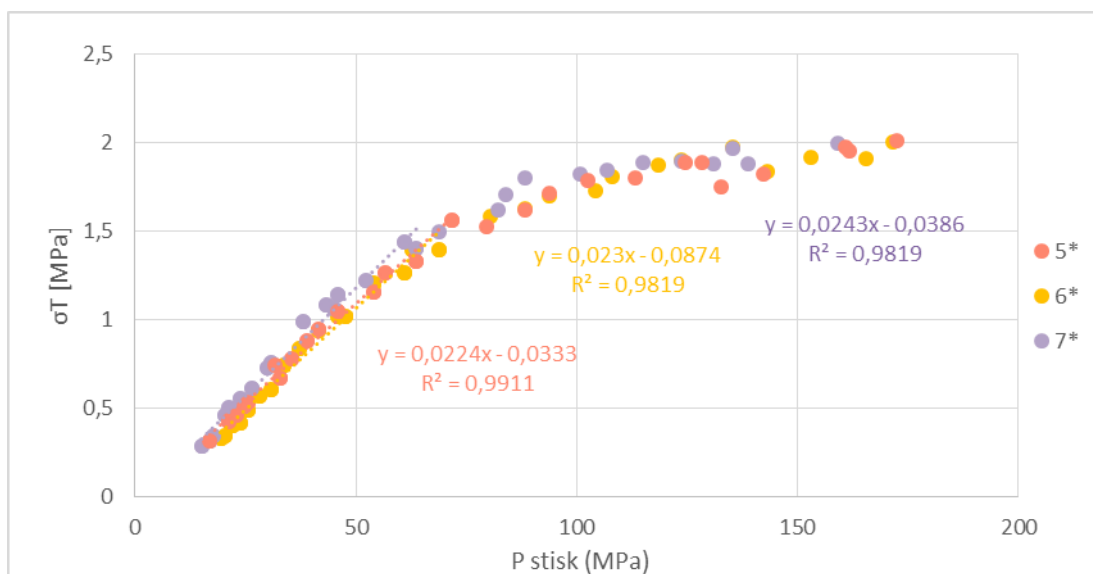
Na Sliki 31 so prikazani Hecklovi diagrami za potrditvene laboratorijske serije. V Preglednici XI so navedene vrednosti Hecklove konstante (K), mejnih tlakov plastične deformacije (P_y) in determinacijski koeficienti (R^2) za posamezne potrditvene laboratorijske serije. Vidimo, da med rezultati ni opaznih bistvenih razlik. Najslabše je stisljiv granulat, ki smo ga izdelali med laboratorijsko serijo 5* in smo ga pregranulirali. Vidimo, da so rezultati podobni tistim, ki smo jih dobili pri laboratorijskih serijah za postavitev modela in so navedeni v Preglednici VI. Vrednosti mejnih tlakov stikanja (P_y) so pri tabletnih zmesih, ki smo jih izdelali v sklopu potrditvenih laboratorijskih (5*–7*) serij, nekoliko nižje, kar nakazuje boljšo stisljivost. Da med posameznimi tabletnimi zmesmi ni opaznih večjih razlik, je najverjetneje posledica tega, da imamo v izdelavi granulata vmesno fazo polsuhega sejanja in končnega suhega mletja, saj na ta način razbijemo večja zrnca in poenotimo velikost delcev.

Preglednica XI: Parametri kompresibilnosti potrditvenih laboratorijskih serij zrn

Tabletna zmes	K (MPa ⁻¹)	P_y (MPa)	R^2
5*	0,0180	55,56	0,988
6*	0,0194	51,55	0,978
7*	0,0200	50,00	0,989

K – Hecklova konstanta, P_y – mejni tlak stikanja; R^2 – determinacijski koeficient

→ Kompaktibilnost



Slika 32: Kompaktibilnostni diagram potrditvenih laboratorijskih serij zrn

Na Sliki 32 so prikazani kompaktibilnostni diagrami potrditvenih laboratorijskih serij. V Preglednici XII so predstavljeni kompaktibilnostni indeksi in determinacijski koeficienti za potrditvene laboratorijske serije. Tudi tu lahko vidimo, da med vrednostmi ni bistvenih razlik. Najvišjo vrednost ima laboratorijska serija 7*, ki je bila zgranulirana bolj kot laboratorijska serija 6*. Tudi pri laboratorijski seriji 5*, ki smo jo pregranulirali, ne opazimo bistvenih razlik v primerjavi z ostalima dvema. Pregranuliranost zmesi bi se morala najbolj odraziti pri kompaktibilnosti zrn. Glede na to, da med rezultati ne opazimo bistvenih razlik, stopnja pregranuliranosti ni bila dovoljšna, da bi se dejansko izrazil njen vpliv na kompaktibilnost. Rezultati so podobni tistim, ki smo jih dobili pri laboratorijskih serijah za postavitev modela (Preglednica VII).

Preglednica XII: Parametri kompaktibilnosti potrditvenih laboratorijskih serij zrn

Tabletna zmes	C	R ²
5*	0,0224	0,983
6*	0,0230	0,989
7*	0,0243	0,978

→ Vrednotenje sposobnosti procesa

Za namene vrednotenja sposobnosti procesa tabletiranja za izdelane tabletne zmesi smo izvedli tabletiranje pri 35tbl/min in 50 tabletam pomerili maso in trdnost ter dobili rezultate, predstavljene v Preglednici XIII. Podane so C_p in C_{pk} vrednosti za maso in vrednosti standardne deviacije za trdnost. Za primerjavo tabletnih zmesi med sabo je bolj primeren

indeks C_p , ki ni odvisen od točnosti nastavitve tabletirke. Na indeks C_p vpliva samo nihanje mase, na indeks C_{pk} pa vpliva tudi to, kako točno na začetku nastavimo volumen polnjenja oziroma lego spodnjega pečata. V Preglednici XIII je podana tudi pretočnost posameznih granulotov, ki ima pomemben vpliv na indeksa sposobnosti.

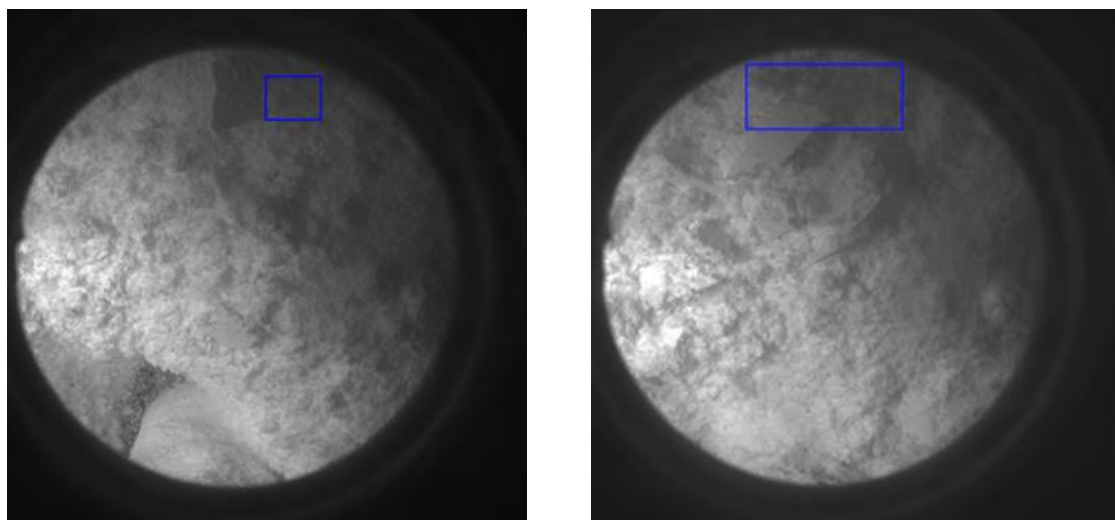
Preglednica XIII: Indeksi sposobnosti procesa za potrditvene laboratorijske serije

Tabletna zmes	C_p (masa)	C_{pk} (masa)	SD (trdnost)	Pretočnost [g/s]
5*	2,48	2,19	3,01	4,45
6*	4,46	3,31	2,36	5,41
7*	2,62	2,08	3,87	5,28

Iz rezultatov lahko opazimo, da imata tabletni zmesi, ki smo jih naredili med laboratorijskima serijama 6* in 7*, boljšo pretočnost kot tabletna zmes, izdelana med laboratorijsko serijo 5*, ki smo jo pregranulirali. Tabletna zmes laboratorijske serije 6*, ki smo ji izmerili najboljšo pretočnost, je imela višje indekse sposobnosti procesa za maso in nižje vrednosti standardne deviacije za trdnost. Meja, da je proces dovolj sposoben, je 1,33, kar smo dosegli pri vseh C_p in C_{pk} . Najboljšo sposobnost procesa za maso in najnižjo standardno deviacijo za trdnost smo dobili pri tabletni zmesi 6*, ki je bila glede na rezultate granuliranja po povečanju področja opazovalnega okna (obravnavano v nadaljevanju) najbolj optimalno granulirana (Slika 35 in Slika 37), saj smo, sicer popolnoma naključno, pri tem granulatu proces ustavili takoj, ko smo prečkali na novo postavljene meje za AUC NAK oziroma spektralnih momentov. Za boljše ovrednotenje korelacije med sposobnostjo procesa in granularnostjo materiala bi bilo treba izvesti večje število poskusov.

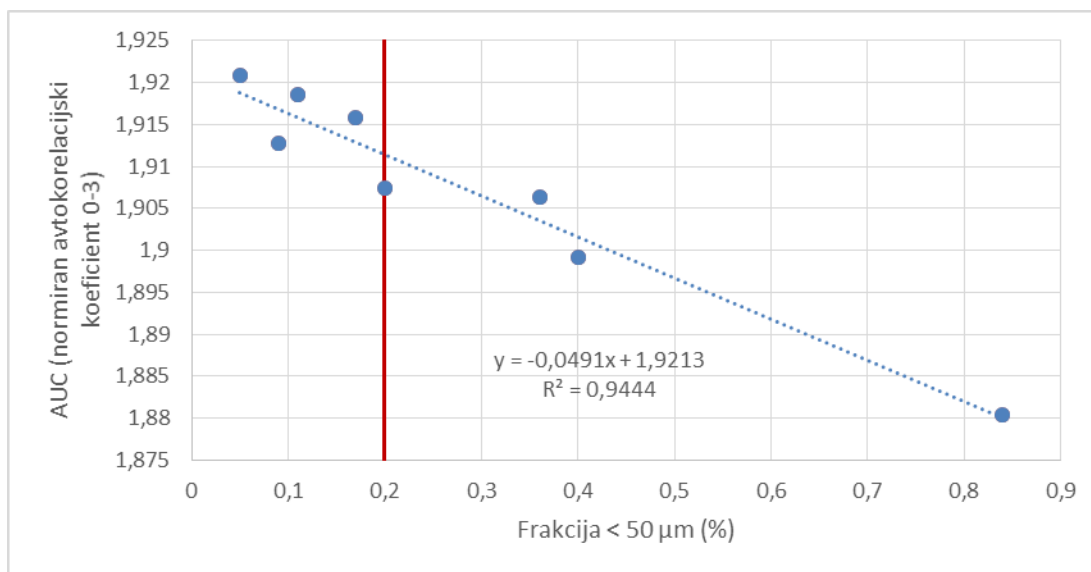
4.4 POVEČANJE PODROČJA OPAZOVALNEGA OKNA IN PONOVA ANALIZA ZAJETIH SLIK IN ODVZETIH VZORCEV ZA POSTAVITEV MEJE KONČNE TOČKE GRANULIRANJA

Med procesom granuliranja se zaradi povečanja zbitosti mase zmanjšuje nasipni volumen zmesi v napravi. Poleg tega se s procesom povečujeta velikost in masa posameznih delcev. V majhnih laboratorijskih hitro vrtečih granulatorjih to pomeni, da se material pomika vedno bolj na obod. Za realnočasovne analize je bilo ključnega pomena, da smo izbrali takšno okno oziroma področje zanimanja, kjer je bil material prisoten med celotnim procesom. Ko smo zaključili z vsemi laboratorijskimi serijami, smo na osnovi pregleda zajetih slik laboratorijskih serij, ki so služile za postavitev metod (2^* – 4^*), in potrditvenih laboratorijskih serij (5^* – 7^*) izbrali takšno opazovalno okno, ki je bilo čim večje, hkrati pa je bil pri vseh šestih laboratorijskih serijah tam prisoten tudi material (Slika 33).



Slika 33: Povečanje opazovalnega okna – začetno opazovalno okno (levo) in povečano opazovalno okno (desno)

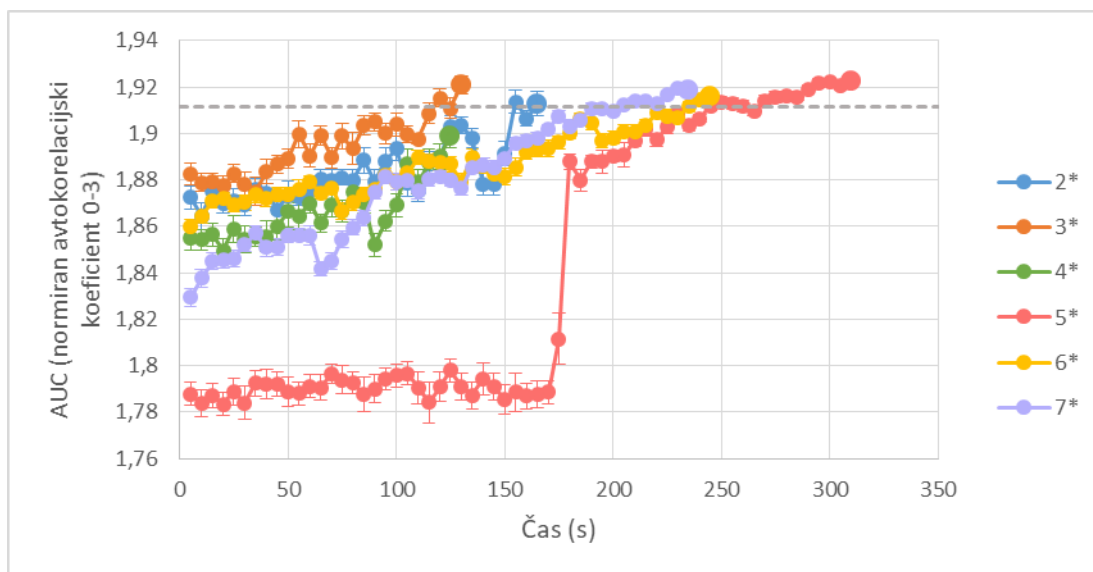
S tem, ko smo povečali površino opazovalnega okna (iz $35\,358\text{ px}^2$ na $150\,000\text{ px}^2$), smo lahko analizirali več delcev in posledično zmanjšali vpliv šuma vizualnega signala na rezultate. Na ta način smo dobili dobri korelaciji med frakcijo prahu v odvzetih vzorcih in cenilkama AUC NAK pri zamiku od 0 do 3 slikovnih točk ter spektralnih momentov, ki sta predstavljeni na Sliki 34 in na Sliki 36. Pred povečanjem opazovalnega okna je bila korelacija slabša – pri uporabi podatkov v enakih časovnih točkah je bil determinacijski koeficient za cenilko AUC NAK le 0,52.



Slika 34: Prikaz odvisnosti AUC normiranega avtokorelacijskega koeficienta od deleža prahov v granulatu

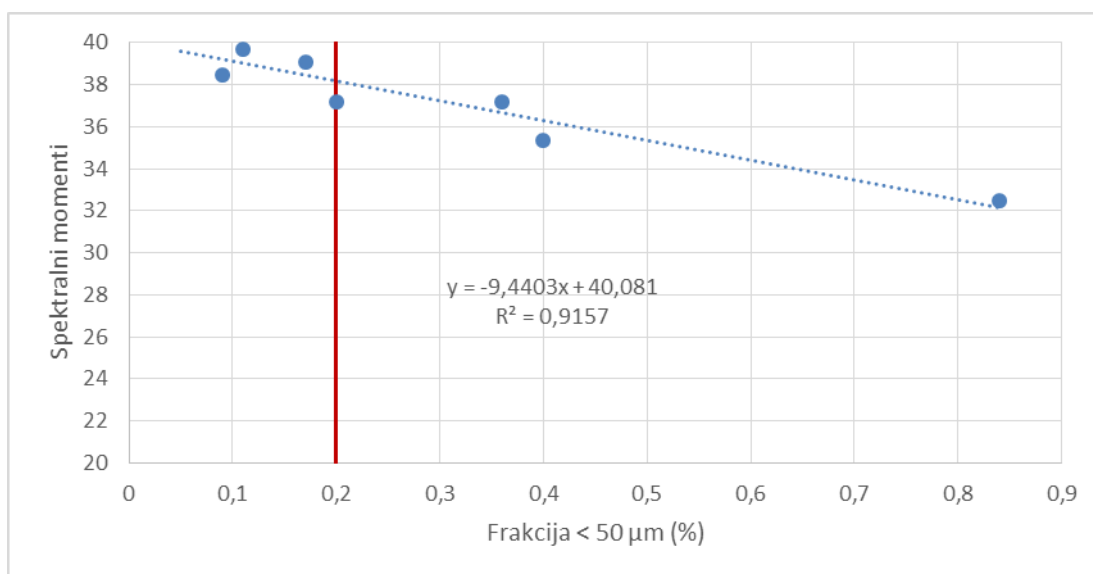
Uporabili smo samo odvzeme v bližini končne točke, po dve točki pri laboratorijskih serijah 2*, 3*, 6* in 7*, laboratorijske serije zrn 5*, pri kateri smo dodali več vode kot pri drugih in je bila pregranulirana, ter laboratorijske serije 4*, ki je bila premalo zgranulirana nismo upoštevali. Absolutne vrednosti AUC NAK se zaradi povečanja področja zanimanja nekoliko spremenijo. Iz enačbe linearne regresije smo izračunali, kakšen bi bil AUC NAK, ko prašna frakcija pade pod 0,2 %, kar razumemo kot zadostno granularan material. To izračunano vrednost smo postavili za novo mejo, ki objektivno definira končno točko granularanja.

Iz Slike 35 lahko vidimo, da se pri povečanem opazovalnem oknu občutljivost cenilke AUC NAK pri zamiku od 0 do 3 slikovnih točk bistveno izboljša. Laboratorijsko serijo 4* še vedno zaznamo kot premalo granularano in ne preide na novo postavljene meje. Pri ostalih laboratorijskih serijah smo presegli na novo postavljeno mejo. Cenilka v tem primeru tudi zazna, da sta bili laboratorijski seriji 2* in 6* manj granularani v primerjavi z laboratorijskima serijama 3* in 7*. Pri primerjavi laboratorijskih serij 2* in 3* razliko v granularnosti vidimo tako iz parametrov velikost kot tudi iz deleža prašne frakcije (Preglednica V). Če primerjamo laboratorijski seriji 6* in 7*, lahko to trdimo na podlagi prašne frakcije (Preglednica X), saj smo pri teh dveh laboratorijskih serijah uporabili različne velikosti delcev učinkovine in dodali različno količino vode, kar je posledično vplivalo na parametre velikosti – večja količina dodane vode privede do nastanka večjih zrn.



Slika 35: Spreminjanje površine pod krivuljo normiranega avtokorelacijskega koeficienta med procesom granuliranja pri povečanem opazovalnem oknu

Opazimo lahko tudi, da je ta cenilka po povečanju opazovalnega okna občutljiva na pregranuliranje, saj smo glede na te rezultate pri laboratorijski seriji 5* presegli mejo, ki določa končno točko granuliranja, že bistveno prej, kot so kazali rezultati pred povečanjem opazovalnega okna (Slika 29).

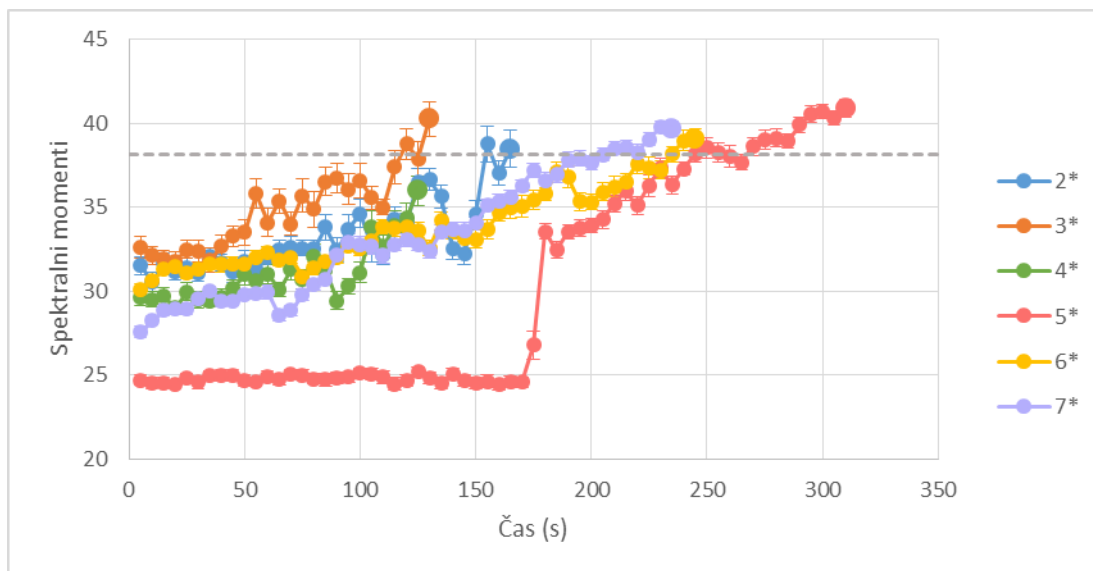


Slika 36: Prikaz odvisnosti spektralnega momenta od deleža prahov v granulatu

Podobno izboljšanje korelacije smo opazili pri odvisnosti vrednosti spektralnih momentov od deleža prahov v granulatu (Slika 36). Determinacijski koeficient (R^2) pri prvotnem področju zanimanja je bil nizek, in sicer 0,07; po povečanju področja zanimanja se je

bistveno izboljšal (0,9157). Pri obeh opazovalnih oknih smo uporabili enake točke odvzema kot pri analizi AUC NAK.

V primeru spektralnih momentov so se absolutne vrednosti, zaradi analizirane večje površine in zmanjšanja šuma, spremenile bistveno bolj kot pri AUC NAK. Mejo, ki določa končno točko granuliranja, smo preračunali na enak način kot pri AUC NAK, tako da smo izračunali, kdaj delež prahov pade pod 0,2 %.

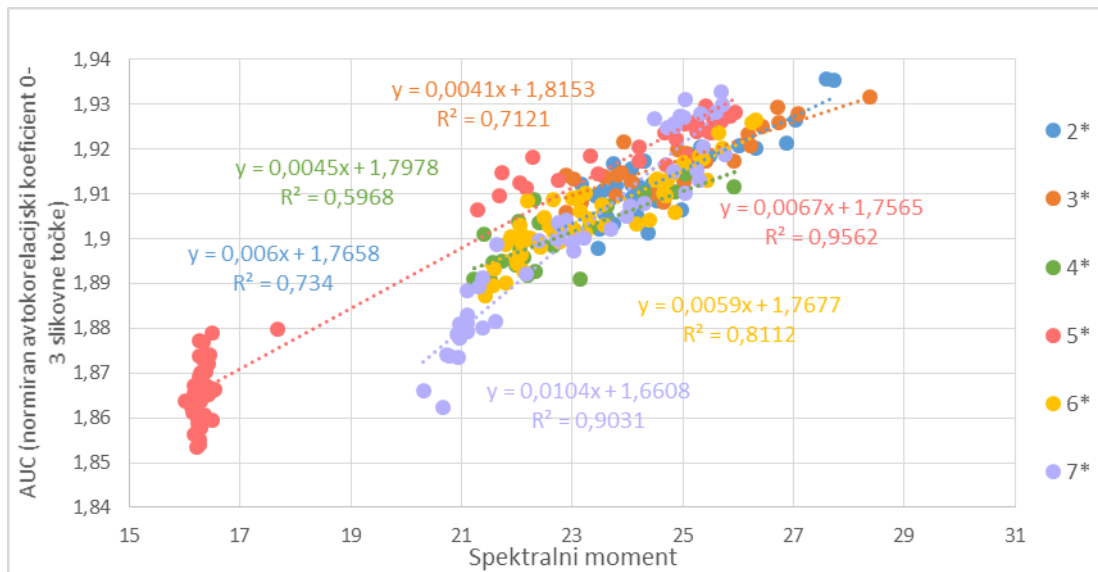


Slika 37: Spreminjanje spektralnih momentov med procesom granuliranja pri povečanem področju zanimanja

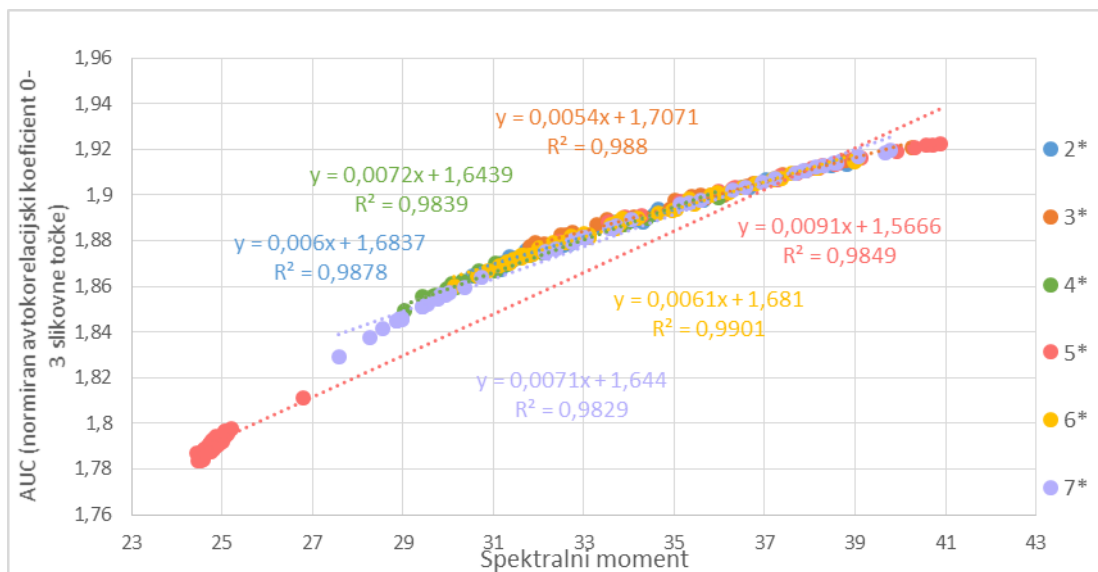
Pri povečanem področju zanimanja lahko vidimo, da se rezultati spreminjanja spektralnih momentov med procesom granuliranja (Slika 37) ujemajo z rezultati spreminjanja AUC NAK pri zamiku od 0 do 3 slikovnih točk. Obe cenilki sta občutljivi na pregranuliranost, saj pri laboratorijski seriji 5* že veliko pred zaključkom granuliranja presežemo na novo postavljeno mejo. Obe cenilki kažeta na to, da je bila laboratorijska serija 4* premalo granulirana in da sta bili laboratorijski seriji 2* in 6* granulirani manj kot 3* in 7*, kar se ujema z rezultati deleža prašne frakcije končnih vzorcev na napravi Camsizer XT (glej Preglednica V in Preglednica X).

Preverili smo korelacijo med cenilkama AUC NAK pri zamikih od 0 do 3 slikovnih točk in spektralnih momentov pred in po povečanju področja zanimanja za šest laboratorijskih serij in ugotovili, da se korelacija obeh cenilk s povečanjem opazovalnega okna bistveno izboljša. Pri prvotnem opazovalnem oknu (Slika 38) so bili determinacijski koeficienti vse od 0,60 do 0,96, medtem ko so po povečanju opazovalnega okna veliko bolj primerljivi med

laboratorijskimi serijami in so vrednosti determinacijskih koeficientov med 0,98 in 0,99 (Slika 39). To je posledica zmanjšanja šuma, zaradi večjega področja opazovanja in večjega števila delcev, ki jih posledično analiziramo med slikovno analizo.



Slika 38: Korelacija med cenilkama normiranega avtokorelacijskega koeficienta in spektralnih momentov pri prvotnem opazovalnem oknu



Slika 39: Korelacija med cenilkama normiranega avtokorelacijskega koeficienta in spektralnih momentov pri povečanem opazovalnem oknu

5 SKLEP

Namen magistrske naloge je bil na podlagi vizualne informacije, ki jo pridobimo s snemanjem procesa granuliranja, razviti metodo za določitev končne točke granuliranja. Preverili smo, kako te metode korelirajo z meritvami velikosti delcev in ovrednotili lastnosti granulata, v smislu pretočnosti, kompresibilnosti, kompaktilnosti in sposobnosti procesa tabletiranja.

Pri prvi laboratorijski seriji izdelave zrn (1*) smo pokazali, da je spreminjanje strukture granulata mogoče spremljati z analizo vizualne informacije. Ugotovili smo, da s cenilko AUC NAF opazimo spremembe krivulj, ki se skladajo s spremembami krivulj kumulativne porazdelitve velikosti delcev. Med različnimi odvzemnimi mesti, ki smo jih vrednotili, nismo opazili bistvenih razlik, zato smo pri naslednjih laboratorijskih serijah vzorčili le na mestu, ki smo ga tudi snemali.

V treh laboratorijskih serijah izdelave zrn (2*–4*), ki so sledile, smo uporabili enake kontrolne številke vhodnih materialov kot pri prvi laboratorijski seriji zrn. Z metodama avtokorelacije in spektralnih momentov smo analizirali dinamično zajete slike procesa granuliranja. Največ možnosti za uspešno spremljanje procesa so izkazovale tri cenilke procesa – AUC NAK, AUC NAF in spektralni momenti. Ob tem smo ugotovili naslednje:

- Cenilki AUC NAK in spektralni momenti imata med granuliranjem naraščajoč trend, medtem ko ima cenilka AUC NAF padajoč trend.
- Ena izmed laboratorijskih serij ni bila dovolj granulirana, kar smo lahko opazili iz dveh cenilk procesa (AUC NAK in spektralni momenti) ter še parametrov velikosti delcev iz odvzetih vzorcev.

Mejo za končno točko granuliranja smo postavili na osnovi dveh laboratorijskih serij, ki sta bili ustrezno granulirani.

Na treh potrditvenih laboratorijskih serijah izdelave zrn (5*–7*), pri katerih smo uporabili različno velikost delcev modelne učinkovine, smo spremljali realnočasovno spreminjanje treh, zgoraj omenjenih, cenilk. Pri vseh laboratorijskih serijah smo presegli mejo za AUC NAK, pri enem pa tudi mejo za spektralne momente. Glede na videz granulata smo ocenili, da smo pri eni laboratorijski seriji zmes preveč granulirali.

Cenilka AUC NAF ne daje najboljših rezultatov, saj se pri laboratorijski seriji, ki smo jo preveč zgranulirali, vrednosti cenilke niso približale predhodno postavljeni mejni vrednosti.

Po naknadnem povečanju opazovalnega okna, na katerem smo izvajali analizo vizualne informacije, smo opazili naslednje:

- za določitev končne točke granuliranja je primerna in objektivna količina delež preostanka prašne frakcije,
- po povečanju opazovalnega okna se je bistveno izboljšala korelacija med deležem prašne frakcije ($< 50 \mu\text{m}$) in AUC NAK ter spektralnimi momenti,
- spremenile so se absolutne vrednosti AUC NAK in spektralnih momentov, nove meje smo postavili na vrednost, pri kateri delež prašne frakcije pade pod 0,2 %,
- pri povečanjem opazovalnem oknu sta obe cenilki bolj občutljivi na pregranuliranost vsebine, saj smo v ključnih primerih pregranuliranja presegli na novo postavljeno mejo veliko prej, kot smo dejansko ustavili proces,
- najbolj optimalno granulirani sta bili laboratorijski seriji 2* in 6*, ki smo ju po naključju ustavili takoj po presegu na novo postavljene meje,
- intervali zaupanja cenilk so se zmanjšali, kar nakazuje večjo zanesljivost vrednosti v izbrani časovni točki.

Pokazali smo, da z realnočasovnim spremljanjem procesa in analizo dinamičnih slik lahko določimo končno točko granuliranja. Cenilki AUC NAK in spektralni momenti sta se izkazali za zelo obetavni, medtem ko cenilka AUC NAF ni dala najboljših rezultatov.

Granulate smo vrednotili še z vidika pretočnosti, kompresibilnosti, kompaktibilnosti in sposobnosti procesa. Med rezultati kompresibilnosti in kompaktibilnosti za posamezne serije nismo opazili večjih razlik, kar je najverjetneje posledica polsuhega sejanja in suhega metja, saj na ta način razbijemo večja zrnca.

V prihodnosti bi bilo smiselno delovanje cenilk preizkusiti na pilotni oziroma proizvodni ravni, kjer bi zaradi večje količine materiala v napravi lahko še bistveno povečali opazovalno okno. Z analizo večjega števila serij bi lahko dobro ocenili ponovljivost procesa. Zrnca, ki nastanejo pri granulaciji različnih zmesi, se lahko zelo razlikujejo, zato bi bilo zanimivo cenilke preizkusiti na različnih formulacijah, tudi takih, ki vsebujejo dobro topno učinkovino.

6 LITERATURA

1. Summers M,: **Granulation**. In: Aulton M: **The Science of Dosage Form Design**, 2nd ed., Churchill Livingstone, 2001: 364–378
2. Gokhale R, Trivedi N: **Wet granulation in low- and high shear mixers**. In: Parikh DM: **Handbook of Pharmaceutical Granulation Technology**, 3rd ed., CRC Press, 2009: 183–203
3. Iverson S, Litster J, Hapgood K, Ennis B: **Nucleation, growth and breakage phenomena in agitated wet granulation processes: A review**. Powder Technology 2001; 117: 3–39
4. He Y, Liu L. X., Lister JD: **Scale-Up Considerations in Granulation**. In: Parikh DM: **Handbook of Pharmaceutical Granulation Technology**, 2nd ed., CRC Press, 2005: 459–490
5. Reynolds GK, Fu JS, Cheong YS, Hounslow MJ, Salman AD: **Breakage in granulation: a review**. Chemical Engineering Science 2005; 60: 3969–3992
6. Faure A, York P, Rowe RC: **Process control and scale-up of pharmaceutical wet granulation process: a review**. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 2001; 52: 269–277
7. Badawy SIF, Narang AS, LeMarche K, Subramanian G, Varia SA: **Mechanistic basis for the effects of process parameters on quality attributes in high shear wet granulation**. International Journal of Pharmaceutics 2012; 439: 324–333
8. Pandey P, Tao J, Chaudhury A, Ramachandran R, Gao JZ, Bindra DS: **A combined experimental and modeling approach to study the effects of high shear wet granulation process parameters on granule characteristics**. Pharmaceutical Development and Technology 2013; 18: 210–224
9. Gokhale R, Sun J, Shukla AJ: **High shear granulation**. In: Parikh DM: **Handbook of Pharmaceutical Granulation Technology**, 2nd ed., CRC Press, 2005: 191–228
10. Logan R, Briens L: **Investigation of the effect of impeller speed on granules formed using a PMA-1 high shear granulator**. Drug Development and Industrial Pharmacy 2012; 3: 1394–1404

11. Levin M: **End-Point Determination and Scale-up**. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology 2006; 4078–4098
12. Parikh DM: **Formulation and Process development for oral dosage forms**. 8th annual PTI training program, 2012
13. Watano S, Numa T, Miyanami K, Osako Y: **On-line Monitoring of Granule Growth in High Shear Granulation by an Image Processing System**. Chemical and Pharmaceutical Bulletin 2000; 48: 1154–1159
14. Mettler Toledo. **Lasentec-FBRM-Method-of-Measurement**;
<http://www.mt.com/us/en/home/library/videos/automated-reactors/Lasentec-FBRM-Method-of-Measurement.html> (22. 8. 2017)
15. Mettler Toledo. **FBRM-PVM-Particle-System-Characterization**
https://www.mt.com/us/en/home/products/L1_AutochemProducts/FBRM-PVM-Particle-System-Characterization/PVM/ParticleView-V19-PVM-Technology.html
 (22. 8. 2017)
16. Daniher D, Briens L, Tallevi A: **End-point detection in high-shear granulation using sound**. Powder Technology 2008; 181: 130–136
17. De Beer T, Burggraeve A, Fontayne M, Saerens L, Remon JP, Vervaet C: **Near infrared and Raman spectroscopy for the in-process monitoring of pharmaceutical production processes**. International Journal of Pharmaceutics 2011; 417: 32–47
18. Vudathala G, Rodgers S, Simmons JE: **Quality by Design and Process Analytical Technology in Granulation**. In: Parikh DM: **Handbook of Pharmaceutical Granulation Technology**, 3rd ed., CRC Press, 2009: 617–636
19. Buscombe D: **Estimation of grain-size distributions and associated parameters from digital images of sediment**. Sedimentary Geology 2008; 210: 1–10
20. Rubin DM: **A simple autocorrelation algorithm for determining grain size from digital images of sediment**. Journal of Sedimentary Research 2004; 74: 160–165
21. Uesugi M, Harayama M, Kazumi O, Kawaguchi S, Shibuya H: **Method of measuring average particle size of granular material**. United States of America Patent 5,129,268 (14 July 1992)

22. Schaaf A, Hateren JH: **Modelling the Power Spectra of Natural Images: Statistics and Information**. Vision Research 1996; 36: 2759–2770
23. Dreu R: **Analiza procesa stiskanja trdnih delcev (praškov, granul)**. Vaje iz industrijske farmacije (EMŠF), Fakulteta za farmacijo, 2014
24. Alderborn G: **Tablets and compaction**. In: Aulton M: **The Science of Dosage Form Design**, 2nd ed., Churchill Livingstone, 2001: 397–438
25. Bunjevac M, Vrečer F, Baumgartner S: **Pomen Hecklove analize za proučevanje kompresibilnosti zmesi za tabletiranje**. Farmacevtski vestnik 2009; 60: 327–335
26. Govedarica B, Ilic I, Sibanc R, Dreu R, Srcic S: **The use of single particle mechanical properties for predicting the compressibility of pharmaceutical materials**. Powder Technology 2012; 225: 43–51
27. Nordstörn J: **Compression analysis as a tool for technical characterization and classification of pharmaceutical powders** (doktorska disertacija, 2008)
28. Rowe RC, Sheskey P J, Quinn ME: **Handbook of Pharmaceutical Excipients**, 6th ed., Pharmaceutical Press, 2009
29. **Nisso HPC for Pharmaceutical Applications**. Nippon soda co., 2013. [brošura]
30. **Low-Substituted Hydroxypropyl Cellulose NF**. Shin-Etsu Chemical Co. [brošura]
31. Pharmaceuticals: **CAMSIZER XT applications for the pharmaceutical industry**. Retsch Technology. [brošura]
32. **Particle Analyzer CAMSIZER XT**, Particle size and particle shape measurement with Dynamic Image Analysis. Retsch Technology, 2012. [brošura]
33. ImageJ. **Particle Analysis**. https://imagej.net/Particle_Analysis (30. 6. 2017)
34. Rasband W. **The ImageJ User Guide**:
<http://rsbweb.nih.gov/ij/docs/user-guide.pdf> (30. 6. 2017)
35. Horiba Scientific: **A Guidebook to Particle Size Analysis**:
https://www.horiba.com/fileadmin/uploads/Scientific/Documents/PSA/PSA_Guidebook.pdf (30. 6. 2017)
36. Wang JH: **Quality process improvement**. In: Cox Gad S: **Pharmaceutical manufacturing handbook**, Wiley, 2008: 287–309

37. Kane VE: **Process capability indices**. Journal of Quality Technology 1986, 18: 41–52