

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

TINA BRODNIK

DIPLOMSKA NALOGA

UNIVERZITETNI PROGRAM FARMACIJE

LJUBLJANA, 2008

Univerza v Ljubljani
Fakulteta za **farmacijo**



TINA BRODNIK

DIPLOMSKA NALOGA

Univerzitetni program farmacije

**PREUČEVANJE NEKATERIH FIZIKALNO - KEMIJSKIH
LASTNOSTI IOTA, KAPPA IN LAMBDA KARAGENANOV**

**STUDY OF SOME PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS
OF IOTA, KAPPA AND LAMBDA CARRAGEENANS**

Ljubljana, 2008

Diplomsko delo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom izr. prof. dr. Odonu Planinška.

Zahvala

Iskreno se zahvaljujem vsem, ki ste mi kakorkoli pomagali pri izdelavi moje diplomske naloge. Za strokovno pomoč in prijaznost pri izdelavi se še posebej zahvaljujem mentorju izr. prof. dr. Odonu Planinšku.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko delo opravila samostojno pod mentorstvom izr. prof. dr. Odonu Planinška.

Tina Brodnik

Predsednik diplomske komisije:

prof. dr. Slavko Pečar

Član diplomske komisije:

doc. dr. Andrej Umek

Ljubljana, 2008

VSEBINA

1. POVZETEK.....	1
2. SEZNAM OKRAJŠAV.....	2
3. UVOD.....	3
3.1. Ogrodna tableta.....	4
3.2. Polimeri.....	6
3.3. Hidrogeli.....	7
3.4. Vrstična elektronska mikroskopija.....	9
3.5. Določanje površinskih lastnosti z adsorpcijo kapljevin.....	10
3.6. Inverzna plinska kromatografija.....	12
3.6.1. Izračun parametrov površinske energije.....	13
3.6.2. Prednosti in omejitve IGC.....	19
3.7. Močenje.....	21
3.8. Merjenje prave gostote s helijevim piknometrom.....	23
4. NAMEN DELA.....	25
5. MATERIALI IN APARATURE.....	26
5.1. Materiali.....	26
5.2. Aparature.....	27
5.3. Lastnosti merjenih polimernih vzorcev-karagenanov.....	28
6. EKSPERIMENTALNO DELO.....	34
6.1. Vrstična elektronska mikroskopija.....	34
6.2. Določanje površinske energije z IGC.....	34
6.3. Merjenje močenja.....	34
6.4. Določanje gostote praškov s helijevim piknometrom in poroznost tablet.....	35
7. REZULTATI IN RAZPRAVA.....	35
7.1. Slike vrstičnega elektronskega mikroskopa.....	35
7.2. Inverzna plinska kromatografija.....	37
7.3. Rezultati merjenja močenja, gostote in poroznosti.....	41
8. SKLEPI.....	43
9. LITERATURA.....	44

1. POVZETEK

V farmacevtski tehnologiji naravne, hidrofilne polimere uporabljajo tudi pri oblikovanju farmacevtskih ogrodnih tablet z nadzorovanim sproščanjem. Namen našega dela je bil preučiti nekatere fizikalno-kemijske lastnosti treh osnovnih tipov karagenenov, ki so naravni polisaharidi iz rdečih morskih alg. Zanimalo nas je v katerih lastnostih se med seboj razlikujejo.

Z metodo inverzne plinske kromatografije smo določili parametre površinske energije; nepolarne (γ_{sd}) in polarne (kisle- K_A in bazične- K_D) pri štirih različnih temperaturah (40, 50, 60 in 70°C). Polarni parametri izraženi kot specifična komponenta entalpije adsorpcije (ΔH_a^{sp}), sprememba Gibbsove proste energije adsorpcije (ΔG_a^{sp}) in iz njiju preračunani kislo-bazični parametri (K_A in K_D) kažejo na razlike med vzorci. Oba načina izračuna kažeta, da je najbolj polarna površina kappa karagenana. IGC metoda je primerna za razlikovanje čistih karagenanov, pri zmesih pa so razlike premajhne.

Pri merjenju močenja smo opazili, da se vzorci med seboj zelo razlikujejo. Najnižja vrednost stičnega kota je pri kappa karagenanu, ki ima največjo polarnost, in se ujema z rezultati dobljenimi pri IGC. Najhitrejša pronicanje vode v ploščico (tableto) kappa karagenana je v povezavi z največjo vrednostjo K_A in K_D parametrov površinske energije. Potrdili smo, da je hitrost pronicanja povezana s kemijsko strukturo polimerov ne pa s poroznostjo izdelanih tablet, ki smo jo določili s pomočjo helijevega piknometra.

Iz dobljenih rezultatov bi lahko sklepali oz. napovedovali obnašanje naših vzorcev karagenanov pri interakcijah z vodo. Pri najpolarnejšem karagenanu kappa je interakcija z vodnimi molekulami največja, kar bo imelo za posledico najhitrejšo nabrekanje, lažjo relaksacijo polimernih verig in hitrejšo sproščanje v vodi topne učinkovine. Ravno nasprotno pa bo pri najmanj polarnem karagenanu iota. Ti rezultati se ujemajo z literaturnimi vrednostmi za hitrost nabrekanja kappa in iota karagenana ter z hitrostjo sproščanja v vodi topne modelne učinkovine.

Na osnovi naših rezultatov lahko zaključimo da se čisti vzorci polimerov med seboj razlikujejo in da je IGC v kombinaciji z ostalimi analiznimi metodami primerna za napovedovanje obnašanja preiskovanih polimerov v vodnih medijih, medtem ko za razlikovanje njihovih zmesi razlike niso dovolj velike.

2. SEZNAM OKRAJŠAV

a - površina adsorbirane molekule

ACET - aceton

AN - akceptorsko število

AN*- korigirana AN vrednost

c₁ - metan

c₆- heksan

c₇ - heptan

c₈- oktan

c₉ - nonan

c₁₀ - dekan

DN- donorsko število

ε - poroznost

ETAC - etilacetat

FID- plamensko ionizacijski detektor (*Flame Ionization Detector*)

ρ - gostota

γ_s^d -nepolarni prispevek k površinski energiji trdne snovi

γ_l^d -nepolarni prispevek k površinski napetosti tekočine

H - entalpija

IGC- inverzna plinska kromatografija

K_A, K_D - kislinski in bazični parameter

m - masa

T_g - temperatura steklastega prehoda

THF - tetrahidrofuran

T_t - temperatura tališča

Θ - (theta) kot močenja oz. stični kot

V- volumen

W_a - adhezijsko delo

3. UVOD

Preučevanje naravnih, hidrofilnih polimerov je pritegnilo pozornost pri razvoju tehnologije nadzorovanega sproščanja, pri oblikovanju farmacevtskih ogrodnih tablet. Ogrodne tablete v stiku z vodo ali fiziološko raztopino nabrekajo in na površini tvorijo gel. Sproščanje učinkovine je odvisno od interakcij med vodo, polimerom in učinkovino. Gelska plast upočasni nadaljnje prodiranje vode, jedro tablete ostaja suho in predstavlja rezervoar učinkovine in polimera.

Sproščanje učinkovine poteka po dveh mehanizmih:

- z raztapljanjem učinkovine v hidrogelu ter difuzijo le-te skozi hidratirano bariero
- z erozijo na površini tablete in raztapljanjem učinkovine v mediju ali
- kombinacijo obeh.

Kateri proces prevladuje, določajo naslednji dejavniki: lastnosti gelskega sloja, topnost učinkovine in mehanski vplivi, katerim je tableta izpostavljena. Če je učinkovina v vodi težko topna, je sproščanje v večji meri odvisno od erozije, drugače pa poteka sproščanje z difuzijo(1).

Površinska energija farmacevtskih trdnih snovi in ostale fizikalno-kemijske lastnosti vplivajo na število procesov, ki se pojavljajo pri proizvodnji in oblikovanju farmacevtskih oblik. Ti procesi vključujejo predvsem stike med trdno-tekočo in trdno-trdno fazo. Primer trdno-tekočega stika je vlažno granuliranje, izdelava suspenzij, raztapljanje in filmsko oblaganje. Trdno-trdni stiki pa so prisotni pri mešanju prahov in interakciji učinkovine s pomožnimi snovmi. Poznamo številne tehnike za merjenje energij površine farmacevtskih sistemov vendar imajo vse določene omejitve. Več raziskav kaže na to, da je inverzna plinska kromatografija primerna za analizo površinskih lastnosti in sprememb v površinski energiji številnih farmacevtskih prahov. Pri tej metodi se praškast vzorec polni v stekleno kolono in njegove površinske lastnosti se izmerijo s časom retencije znanih plinskih prob. Te se injicirajo pri neskončnem razredčenju z namenom določitve kislih, bazičnih in disperznih (nepolarnih) interakcij s trdno površino (2). Za vrednotenje površinskih lastnosti polimerov lahko uporabimo različne analizne metode. Ena od njih je inverzna plinska kromatografija.

Vse snovi stopajo v interakcije z okoljem s svojimi površinami, zato je njihovo pravilno vrednotenje (posebej pri praških) lahko v pomoč pri reševanju težav v farmacevtski tehnologiji. V tehnoloških procesih proizvodnje zdravil ugotavljamo, da se praški obnašajo zelo različno, odvisno od njihovih fizikalno-kemijskih lastnosti (kemijske strukture, oblike kristalov, polimorfizma, stopnje hidratacije..). Pri mehanski obdelavi trdnih površin lahko pride do spremembe orientacije molekul v prostoru samo na površini delcev, ne pa tudi v njihovi notranjosti. Zato je poznavanje površine in fizikalno-kemijskih lastnosti pomembno.

3.1. OGRODNA TABLETA

Ogrodna tableta je vrsta tablete z nadzorovanim sproščanjem. Z nadzorovanim sproščanjem uravnavamo hitrost in obseg sproščanja zdravilne učinkovine iz farmacevtske oblike v določenem časovnem intervalu. Na ta način poizkušamo doseči ustrezno biološko uporabnost ter s tem terapevtsko učinkovitost. V raziskavah farmacevtskih oblik z nadzorovanim sproščanjem različnih zdravilnih učinkovin je postala pomembna uporaba polimernih ogrodnih sistemov za podaljšano sproščanje.

V ogrodnem sistemu je zdravilna učinkovina dispergirana v ogrodju hidrofilnega polimera, ki v vodi nabreka. Ob stiku z vodo, ker se tableta raztaplja, začne polimer prehajati iz steklastega v zmehčano stanje, pri čemer postane učinkovina v polimeru mobilna in se začne po različnih mehanizmih sproščati iz ogrodne tablete. Nabrekajoča ogrodja se imenujejo tudi gel-nastajajoča ogrodja, saj je obnašanje sproščanja učinkovine povezano z oblikovanjem zunanjega gelskega sloja na ogrodni površini. Če polimeri gelirajo počasi, topilo prodira globoko v steklasto polimerno ogrodje tablete in tako raztaplja učinkovino ter razgrajuje ogrodje. Gelska plast deluje kot zaščitna plast ogrodja in njena stabilnost je pomembna prav tako kot njen hitri nastanek. Pomembna je tudi čvrstost gela, ki se jo kontrolira s kemijsko strukturo, koncentracijo in viskoznostjo polimera. Ta lastnost omejuje uporabnost nekaterih polimerov pri pripravi nabrekajočih ogrodi saj nekateri polimeri ne tvorijo gelske plasti dovolj hitro (karboksimetilceluloza, hidroksipropilceluloza, tragakant..), zato jih uporabljamo v zmesih z drugimi polimeri, da uravnavamo nabrekanje.

Med sproščanjem učinkovine je gelska plast izpostavljena neprestanim spremembam v strukturi in gostoti. Gelska plast kot hidrofilna bariera nadzoruje prodiranje vode in difuzijo učinkovine. Polimerne verige so v tableti močno prepletene in gelska plast je lahko visoko odporna na erozijo. Vendar pa se ob nadaljnji hidrataciji in prodiranju ter adsorpciji

vode verige polimera v zunanji gelski plasti razpletejo in v končni fazi se polimer raztopi (3).

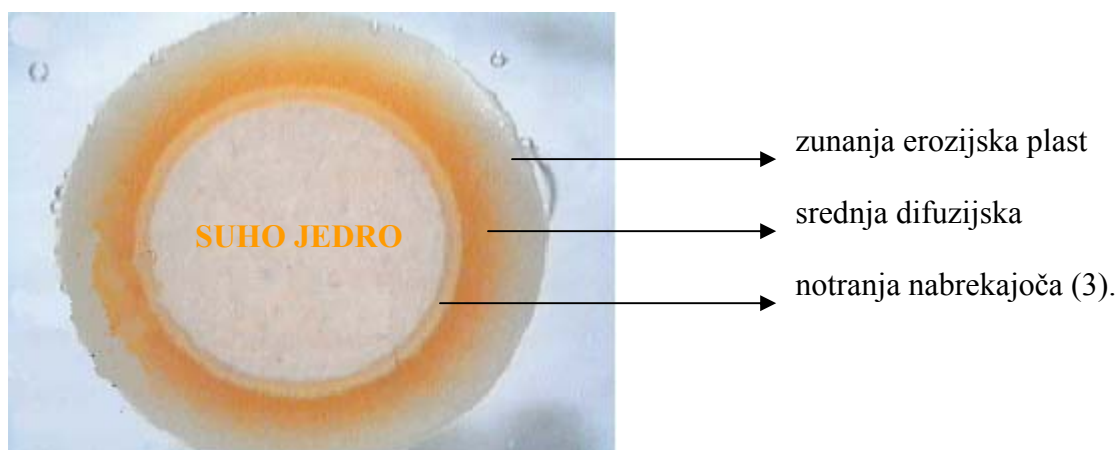
Na sproščanje učinkovine iz hidrofilnih ogrodnih tablet tako vpliva več procesov:

- močenje polimernega ogrodja s toplom
- nabrekanje polimera
- difuzija učinkovine skozi hidratiran polimer
- raztapljanje učinkovine v mediju
- erozija oz. raztapljanje polimera (4).

Obnašanje nabrekanja heterogenih nabrekajočih ogrodi je mehanično opisano z lego plasti (slika 1), pri čemer plast v ogrodju predstavlja mesto, kjer se fizikalni pogoji izrazito spremenijo:

- Prva plast (zunanja) je erozijska in ločuje ogrodje od topila. Polimer tu erodira, se raztaplja in zapušča tableto.
- Druga difuzijska plast (na sredini) je meja med nabrekajočo in erozijsko plastjo in ločuje trdno od raztopljene učinkovine. Učinkovina se raztopi v gelu in se z difuzijo premika proti zunanosti. Med sproščanjem učinkovine je mesto difuzijske plasti v gelski plasti odvisno od topnosti učinkovine in njene količine kot tudi od stopnje raztapljanja učinkovine v gelu.
- Tretja nabrekajoča (notranja) plast pa je tista, ki jasno ločuje zmehčano območje z zadostno količino vode (srednjo difuzijsko plast), od steklastega območja (suho jedro)(3).

Plasti z različnimi fizikalnimi lastnostmi



Slika 1. Nabrekajoča hidrofilna ogrodna tableta z različnimi plastmi (3).

3.2. POLIMERI

Polimere delimo na naravne in sintezne. So velike molekule sestavljene iz ponavljajočih se majhnih kemijskih enot ali monomerov. Ponavadi so ponavljajoče enote linearno razporejene, pa tudi razvejane ali med seboj povezane in tvorijo tridimenzionalno mrežo. Večina uporabnih polimerov ima molekulsko maso večjo kot 10.000. Kadar je polimer sestavljen iz enega tipa monomerov ga imenujemo homopolimer. Če sta vključena dva ali več različnih monomerov v isti polimerni verigi se polimer imenuje kopolimer. Spremembe v monomernih enotah in sestavi vplivajo na spremembe lastnosti polimera kot so temperatura tališča, temperatura steklastega prehoda, mehanske lastnosti itd. (5).

Naravni polimeri so kompleksne molekule, ki se nahajajo v živih organizmih, v rastlinah in živalih, na kopnem in v morju. Opravljajo funkcijo gradnikov v vezivnih tkivih, membranah in mukoznih membranah, pri ljudeh in živalih. Tvorijo tudi zaščitne plasti v krvnih žilah in gastrointestinalni steni.

Uporabljajo se ne samo za pridelovanje hrane, ampak tudi v farmacevtski industriji oziroma v medicinske namene (6). Pojav, ki ga izkazujejo hidrofilne polimerne substance je nabrekanje. Polimer lahko veže večje količine nizkomolekularnega topila, ne da bi se pri tem makromolekula kemično spremenila. Rezultat nabrekanja je gel. Kadar nastane po dodatku topila k makromolekulam raztopina polimera govorimo o neomejenem nabrekanju, kadar pa tega ni je govora o omejenem nabrekanju.

Vsako nabrekanje je povezano z zniževanjem entropije sistema (ΔS). Ko v polimerne verige vstopi topilo se te raztegnejo in s tem se zmanjša število konformacij, ki jih v iztegnjeni obliki lahko zavzamejo. Najnižje entropijsko stanje je ob popolni raztegnitvi verige. S prenehanjem delovanja raztegnitvene sile na polimerne verige pride do kontrakcije zaradi naravne entropijske težnje k večjemu neredu - entropija se zviša. Pri hidrataciji polimera prihaja do adsorpcije molekul vode, pri čemer se energija sprošča, zato je entalpijska sprememba negativna. Sprememba entropije sistema (ΔS) je povezana z entalpijsko spremembo (ΔH) in spremembo Gibbsove proste energije (ΔG), kot to opisuje Gibbs-Helmholtzova enačba (enačba 1):

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S \quad (1)$$

Struktura in kemizem makromolekule zelo pomembno vplivata na proces nabrekanja. Molekule verjetno nikoli niso v linearni (reztegnjeni) obliki, ampak v tako imenovanem statističnem klobčiču določene gostote. Če je razlika med obema gostotama (topila in makromolekule) velika do nabrekanja ne pride. V nasprotnem primeru, ko sta obe gostoti enaki je nabrekanje neomejeno. Rezultat je raztopina oziroma sol oblika molekularnega koloidnega sistema. Kadar je stopnja nabrekanja vmes je njen rezultat gel. Pogoji, da je sistem gel je koherentnost obeh faz- makromolekularne in nizkomolekularne (7) .

Proces nabrekanja je zelo kompleksen saj je odvisen od več dejavnikov: količine vode, ki jo adsorbirajo polimeri, njihove hidrofilnosti, mrežne strukture in števila polarnih skupin v polimeru.

3.3. HIDROGELI

Hidrogeli so tridimenzionalne in hidrofilne polimerne mreže sposobne nabrekanja v vodi in fizioloških tekočinah. Vsebnost vode v ravnovesju pri nabrekanju vpliva na različne lastnosti hidrogelov: prepustnost, mehanske in površinske lastnosti ter biokompatibilnost. Uporabnost hidrogelov kot biomateriala je v podobnosti fizikalnih lastnosti s tistimi v živih organizmih. Ta podobnost temelji na njihovi vsebnosti vode, mehkobi in nizki površinski napetosti z vodo ali biološkimi tekočinami.

Pripravimo jih lahko iz širokega spektra materialov naravnega izvora, iz rastlin in živali, kot tudi iz materialov pripravljenih z modifikacijo naravnih in sintetičnih polimernih materialov. Med naravnimi polimeri se uporabljajo proteini (npr. kolagen) in polisaharidi (npr. hitosan, karagenan in hialuronska kislina).

Hidrogeli imajo v dehidriranem stanju kristaliničen videz. Imenujejo se kserogeli in izkazujejo posebne značilnosti. So hidrofilni, nabrekajo v prisotnosti vode ali katere druge vodne tekočine, poveča se jim volumen. Postanejo mehki ter elastični vendar ohranijo obliko do vzpostavitve fizikalno-kemijskega ravnotežja.

Te lastnosti so posledica različnih dejavnikov:

- Njihove hidrofilne narave zaradi prisotnosti različnih polarnih skupin v polimerni verigi kot so: $-OH$, $-CONH_2$, $-COOH$, $-HSO_3$.
- V vodi tvorijo tridimenzionalno prepleteno mrežo zaradi šibkih kohezivnih sil (Van der Waalsove sile in vodikove vezi) ali pa so posledica močnih kovalentnih oz. ionskih vezi.
- Elastična konsistenca je posledica uporabljenih monomerov in nizke gostote povezav znotraj polimera.
- Ohranitev oblike je rezultat ravnotežja med osmoznimi silami, ki nastanejo, ko voda vstopi v polimer in med kohezijskimi silami, ki se upirajo raztegnitvi polimera (5).

3.4. VRSTIČNA ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA

Vrstična elektronska mikroskopija (SEM) omogoča preučevanje morfologije površine trdnih materialov in prahov z ločljivostjo pod $0,1\ \mu\text{m}$. V elektronskem mikroskopu (slika 2) uporabljamo namesto vidne svetlobe snop elektronov, ki imajo zaradi svoje velike kinetične energije podobne lastnosti kot svetloba s kratko valovno dolžino. Elektroni nato potujejo skozi kondenzorske in objektivne leče in na koncu zadenejo vzorec. Skozi mikroskop potujejo v vakumu, ki je potreben zato, da ohranimo snop elektronov čimbolj homogen. Pri interakciji med pospešenim primarnim snopom elektronov in površino vzorca dobimo odbite elektrone, sekundarne elektrone, Augerjeve elektrone, rentgenske žarke različnih energij. Odbiti in izbiti elektroni se gibljejo po komori, v kateri je nameščen detektor. Elektroni, ki zadenejo detektor, izzovejo signal. Elektronska vezja ga prevedejo v sliko, ki jo opazujemo na zaslonu. Nosilec vzorca je vrtljiv za 360° , poleg tega se ga da tudi nagniti, tako da lahko vzorec opazujemo z vseh strani. Za opazovanje površine vzorcev najpogosteje uporabimo sekundarne emitirane elektrone. Njihova smer in intenziteta sta odvisni od topografije vzorcev, zato na zaslonu različno orientirane ploskve vidimo kontrastno, kar daje globinsko ostrino in realno sliko površine. Elektronsko slabo prevodne vzorce moramo napršiti ali naporiti s tankim filmom prevodnega materiala, na primer z zlatom. S tem preprečimo električno nabijanje pri izpostavitvi vzorca elektronskemu snopu. Če vzorec ni prevoden, se poškoduje (toplotno in radiacijsko), kar pripelje do odnašanja snovi z vzorca (8).



Slika 2. Vrstični elektronski mikroskop

3.5. DOLOČANJE POVRŠINSKIH LASTNOSTI Z ADSORPCIJO KAPLJEVIN

Površinske lastnosti trdnih snovi so odvisne od njihove zgodovine, kemijske narave, pogojev izdelave, skladiščenja, možnih manjših navidezno nepomembnih kemijskih reakcij (površinske oksidacije), prisotnosti navidezno nepomembnih potencialnih kontaminantov, ravnanja v času priprave vzorca in drugih dejavnikov. Zato je za proces adsorpcije na trdne površine potrebno poznati njihovo zgodovino.

Sveže oblikovana, čista površina trdne snovi bo pogosto imela visoko površinsko energijo (z izjemo večine polimernih površin). Prisotne bodo tudi močne tendence za interakcije z namenom zmanjšanja površinske energije. Pri tekočinah se ta proces dogaja spontano tako, da lahko zavzamejo obliko kapljice. Trdne snovi pa te možnosti nimajo zato imajo tendenco adsorpcije različnih materialov npr. plinov kot so dušik, kisik in ogljikov monoksid. Adsorpcija se pojavi zaradi zmanjševanja delovanja neuravnoveženih sil na površino molekul trdne ali tekoče snovi. Pri tem bo trdna površina heterogena v smislu porazdelitve njene odvečne površinske energije, kar pomeni da adsorpcija ne bo enoten proces, kar se pričakuje za tekočine (9). Po površini trdne snovi tako pride do različne porazdelitve površinske energije. To je opazno na robovih in hrapavih delih kristalnih struktur, ki imajo višjo površinsko energijo kot ravne površine. Zato bodo stiki trdno-trdno potekali med zelo majhnimi deli z relativno visoko energijo (10). Površinska prosta energija materialov bo vsebovala polarne in disperzne komponente. Polarni prispevki so razdeljeni na elektron donorske in elektron akceptorske (11).

Ko govorimo o trdno-plinasti medfazi je potrebno razumeti procese adsorpcije in absorpcije. Adsorpcija je proces vezave ene ali več substanc na površino trdne snovi. Gre za prisotnost večje koncentracije materiala na površini, kot v notranjosti. Trdna snov, ki veže molekule iz sosednje faze imenujemo adsorbent, snov, ki se veže pa adsorbat. Pri adsorpciji lahko pride do fizikalnih vezi med adsorbentom in adsorbatom. Govorimo o fizisorpciji, ki je lahko enoslojna do več slojna. Vezi, ki se tu pojavljajo so šibke npr. vodikove, Van der Waalove, kapilarne in elektrostatske sile. Adsorpcija je reverzibilna in pri njej ni potrebna aktivacijska energija.

Lahko pa pride do kemisorpcije, kjer nastanejo kovalentne kemijske vezi (nad 80 kJ/mol), nastane le enoslojna vezava molekul na površino in je ireverzibilna. Zanj pa je potrebna majhna do velika aktivacijska energija. Na splošno je povsod bolj prisotna fizisorpcija (10). Obraten pojav adsorpcije je desorpcija, kjer se adsorbat zaradi spremembe pogojev odstrani z adsorbenta. Do tega lahko pride zaradi dodatka močnejšega adsorbenta ali adsorbanta oz. zaradi spremembe tlaka ali temperature (12). Za razliko od adsorpcije je absorpcija prodiranje snovi v notranjost druge faze. Pogosto ne moremo ločiti za kateri pojav gre in takrat govorimo o sorpciji, sorbentu in sorbatu (10).

Osnove adsorpcije:

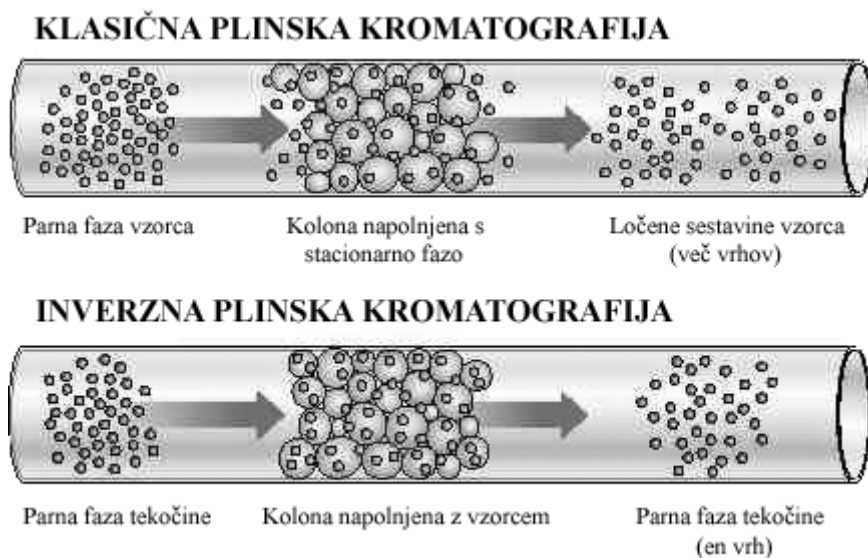
Adsorpcija plina na trdno snov je nujna, da se zmanjša medpovršinska prosta energija saj ima trdna površina malo možnosti za gibanje v primerjavi s tekočinami, ki se reorientirajo spontano, da optimirajo površinsko energijo.

Entalpijske spremembe (ΔH) so povezane z procesi med površinami v skladnosti s prvim termodinamskim zakonom, ki pravi, da se energija ne more uničiti ampak se lahko le pretvori iz ene v drugo obliko. Spremembe v entalpiji, ki so spremembe v energiji, so ponavadi povezane s spremembami v toploti, ki se absorbira ali odda, ko sistem spremeni svoje termodinamsko stanje pri konstantnem tlaku. Skoraj vsi fizikalni in kemijski procesi povzročijo spremembo entalpije. To vključuje tudi medpovršinske pojave med drugim spremembe trdnih snovi v tekočine in adsorpcijo plina na trdno snov.

Drugi termodinamski zakon opisuje stopnjo neurejenosti sistema (entropija) in pravi, da bodo vsi sistemi spontano težili k neurejenosti. Sprememba entropije sistema (ΔS) je povezana s spremembo entalpije in Gibbsovo prosto energijo, kot jo opisuje enačba (1). Za spontan proces velja, da je sprememba proste energije negativna. Adsorpcija plina na trdno snov je spontan proces, ki vsili red v sistem, ki ga prej ni bilo, zato mora entropija pasti. To pa vodi v spremembo entalpije, ki kompenzira spremembo entropije. Adsorpcija je ponavadi (entalpija se spremeni in je negativna), kot smo že omenili eksotermen proces vendar pa mora biti sprememba entalpija pri adsorpciji plina na trdno snov vedno eksotermna. Pri adsorpciji plina bo namreč vedno prišlo do izgube entropije (10).

3.6. INVERZNA PLINSKA KROMATOGRAFIJA

Inverzna plinska kromatografija (IGC – Inverse Gas Chromatography) je metoda za določanje lastnosti površin trdnih snovi, ki jih uporabljamo v farmaciji. Uporaba plinske kromatografije pri študijah polimerov in drugih nehlapnih materialov je bila dolgo omejena zaradi njihove nahlapljivosti. Pri nehlapnih materialih sta jo vpeljala *Smidsrod* in *Guillet* pri čemer sta polimere uporabila kot stacionarno fazo in interakcije z znanimi hlapnimi topili so dale meritve fizikalnega in kemijskega stanja preiskovanega materiala. Tako je bilo tej tehniki dano ime inverzna plinska kromatografija (12). Princip inverzne plinske kromatografije je podoben klasični plinski kromatografiji. Pri klasični plinski kromatografiji uplinjen vzorec injiciramo v kolono, napolnjeno z znano stacionarno fazo. Pri inverzni plinski kromatografiji je položaj obrnjen. Vzorec napolnimo v kolono, nato pa v to kolono injiciramo parne faze dobro definiranih tekočin (slika 3) (13). Klasična plinska kromatografija nam omogoča ločevanje sestavin vzorca, inverzna plinska kromatografija pa, na osnovi različnih retencijskih časov standardov, določevanje lastnosti površine vzorca.



Slika 3: Shema klasične in inverzne plinske kromatografije

Za merjenje uporabljamo plinski kromatograf, v katerega namestimo stekleno ali kovinsko kolono z znano dolžino in notranjim premerom, napolnjeno s praškastim vzorcem, skozi katerega potuje nosilni plin (dušik ali helij). Notranjo površino kolone pred polnjenjem s praškom deaktiviramo s silanizacijo, s čimer postane hidrofobna in nereaktivna. S pomočjo injektorja injiciramo v kolono z vzorcem majhne množine parnih faz standarda z znanimi lastnostmi (14).

Retencijski čas standardov nam pove, kolikšna je interakcija s stacionarno fazo in na tej osnovi lahko določimo lastnosti preiskovanega materiala: kislost in bazičnost po Lewisu, polarni in nepolarni del površinske proste energije itd.

Merjenje pri tako imenovanem neskončnem razredčenju standarda, ki ustreza meji detekcije aparata, nam omogoča proučevanje interakcij med molekulami plinaste in trdne faze, ob odsotnosti medsebojnih interakcij med molekulami plinaste faze.

Detektor (FID - *Flame Ionization Detector* ali TCD - *Thermal Conductivity Detector*) na izhodu kolone nam poda izpis odvisnosti spremembe električnega toka ali napetosti od časa injiciranja. Na izpisu iz simetričnih vrhov določimo retencijski čas (čas od injiciranja do elucije) injiciranih par (14)

3. 6.1. IZRAČUN PARAMETROV POVRŠINSKE ENERGIJE

Iz izmerjenih retencijskih časov izračunamo retencijski volumen nosilnega plina za posamezen standard (enačba 2). Retencijski volumen V_n predstavlja razliko med volumnom mobilne faze (nosilnega plina), ki je potreben za elucijo standarda iz kolone in ničelnim volumnom plina; t.j. volumnom nosilnega plina, ki je potreben za elucijo standarda, ki ne vstopa v interakcije z vzorcem (običajno metan) (14):

$$V_n = jF(t_r - t_0) \quad (2)$$

V_n = retencijski volumen

j = korekcijski parameter, ki upošteva stisljivost nosilnega plina

F = volumski pretok nosilnega plina

t_r = retencijski čas injicirane parne faze standarda

t_0 = retencijski čas plina, ki ne vstopa v interakcije z vzorcem (običajno metan)

Zaradi stisljivosti nosilnega plina moramo upoštevati korekcijski parameter, katerega izračunamo ob poznavanju tlaka na vходу plina v kolono P_{in} , pri čemer predpostavimo, da je tlak na izhodu kolone, P_{out} enak atmosferskemu.

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

Termodinamsko lahko pri tehniki neskončnega razredčenja opišemo naslednje ravnotežje (14):

$$\Delta G_a^0 = -\Delta G_d^0 = RT \ln \frac{V_n P_{sg}}{S m \pi_0} \quad (4)$$

ΔG_a^0 = standardna prosta energija adsorpcije (a)

ΔG_d^0 = standardna prosta energija desorpcije (d)

P_{sg} = standardni tlak plina

π_0 = standardni površinski tlak adsorbiranega filma, ko so razdalje med molekulami adsorbiranega plina enake razdaljam med molekulami v plinski fazi

S = specifična površina preiskovane snovi

m = masa preiskovane snovi

Za dani sistem so P_{sg} , π_0 , S in m konstante, zato lahko standardno prosto energijo adsorpcije ΔG_a^0 izračunamo z naslednjo enačbo:

$$\Delta G_a^0 = RT \ln V_n + C \quad (5)$$

V_n = retencijski volumen

C = konstanta odvisna od izbranega standardnega stanja

V literaturi srečamo dve standardni stanji:

Standardno stanje *Kemballa* in *Rideal*

$$P_{sg} = 1.013 \times 10^5 \text{ Pa}, \pi_0 = 6.08 \times 10^{-5} \text{ Nm}^{-1}$$

Standardno stanje *De Boera*

$$P_{sg} = 1.013 \times 10^5 \text{ Pa}, \pi_0 = 3.38 \times 10^{-4} \text{ Nm}^{-1}$$

Sprememba standardne proste energije adsorpcije je v sorazmerju z adhezijskim delom in površino adsorbiranih molekul. Zapišemo lahko naslednjo enačbo:

$$\Delta G_a^0 = N_a a W_a \quad (6)$$

N_a = Avogadrovo število

a = delna površina adsorbirane molekule

W_a = adhezijsko delo

Z uporabo opisanih enačb nam tako inverzna plinska kromatografija omogoča določitev nepolarnih in polarnih lastnosti trdnih površin.

Izračun nepolarnega dela površinske energije praškastega vzorca

Izračun temelji na Fowkesovi (13) predpostavki, da je nepolarni prispevek k adhezijskemu delu med dvema površinama geometrijska sredina nepolarnih sil posameznih površin (7). Nepolarni prispevek k prosti površinski energiji trdne snovi določimo z uporabo alkanov, ki vstopajo v interakcije s trdno površino le z Londonovimi disperzijskimi silami.

$$W_a = 2\sqrt{\gamma_s^d \gamma_l^d} \quad (7)$$

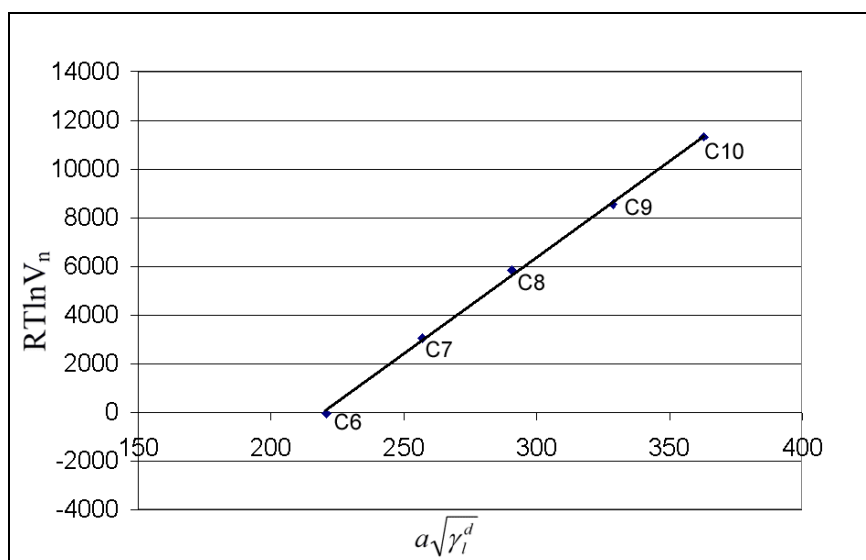
γ_s^d = nepolarni prispevek k površinski energiji trdne snovi

γ_l^d = nepolarni prispevek k površinski napetosti tekočine

S kombinacijo enačb 5, 6 in 7 tako dobimo enačbo 8, ki nam omogoča izračun nepolarnega dela površinske proste energije trdne snovi.

$$RT \ln V_n = 2N_a \sqrt{\gamma_s^d} a \sqrt{\gamma_l^d} + C \quad (8)$$

Merimo retencijski čas alkanov z različno dolžino verige (heksan, heptan, oktan, nonan, dekan ...). V diagramu odvisnosti $RT \ln V_n$ od produkta med površino molekule standarda in kvadratnim korenem nepolarnega prispevka k površinski napetosti tekočine ($a\sqrt{\gamma_l^d}$) narišemo premico, katere naklon ($2N_a \sqrt{\gamma_s^d}$) nam da vrednost nepolarnega dela površinske proste energije trdne snovi (γ_s^d).

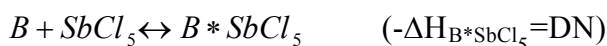


Slika 4: Diagram linearne odvisnosti $RT\ln V_n$ od $a\sqrt{\gamma_i^d}$ pri uporabi alkanov.

Izračun polarnih lastnosti površine praškastega vzorca

Polarne interakcije imenujemo tudi specifične. Na osnovi raziskav Draga, Gutmanna in Fowkesa opredeljujemo polarne interakcije kot Lewisove kisló-bazične ali kot elektron donor-elektron akceptor interakcije. Tako lahko pride do interakcij le med kislino in bazo. Kljub veliki polarnosti kisline oziroma baze med seboj ne vstopajo v interakcije.

Po Gutmannu lahko tekočine opredelimo glede na donorsko ali akceptorsko število. Donorsko število DN, ki označuje bazičnost oziroma elektron donorske lastnosti, je enako spremembi entalpije reakcije elektron donorja B z referenčno elektron akceptorsko spojino $SbCl_5$ v 10^{-3} M raztopini 1,2 dikloroetana:



Akceptorsko število AN označuje kislost oziroma elektron akceptorske lastnosti in je definirano na drugi osnovi. Predstavlja relativno spremembo kemijskega NMR premika $^{15}_{31}P$ v trietil fosfin oksidu $((C_2H_5)_3PO)$, ko reagira z akceptorskim topilom.

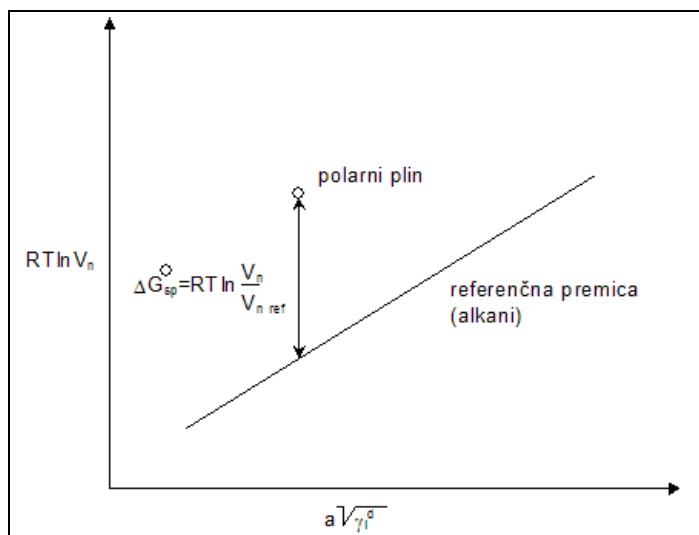
Za ničelno vrednost je izbran kemijski premik, ki ga povzroči heksan in za vrednost 100 premik, ki ga povzroči $SbCl_5$ v razredčeni raztopini 1,2 dikloroetana.

Riddle in Fowkes sta ugotovila, da nepolarne tekočine prav tako povzročijo kemijski premik ^{15}P v $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{PO}$ v NMR spektru. Predlagala sta korekcije parametra AN. Ugotovila sta tudi, da se korigirane AN vrednosti dobro ujemajo z entalpijo tvorbe produktov med $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{PO}$ in proučevano kislino. Predlagala sta uporabo teh vrednosti za merilo Lewisove kislosti, kar omogoča izražanje vrednosti DN in AN^* (AN^* – korigirana AN vrednost) v istih enotah.

$$\text{AN}^* = -\Delta H[A \leftarrow (\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{PO}] = 0,288(\text{AN} - \text{AN}^*)$$

A = elektron akceptor

Eksperimentalne točke v diagramu $RT \ln V_n = f(a\sqrt{\gamma_l^d})$, ki ustrezajo polarnemu standardu, ležijo nad referenčno premico, ki ustreza n-alkanom, saj potekajo med njim in stacionarno fazo tudi specifične – polarne interakcije (slika 5). Pri določeni vrednosti ($a\sqrt{\gamma_l^d}$) predstavlja razlika med točko, ki ustreza polarnemu standardu in referenčno premico specifični del spremembe standardne proste energije desorpcije, $-\Delta G_a^{\text{sp}}$.



Slika 5: Grafični prikaz določitve polarne komponente proste površinske energije.

Ta je v sorazmerju s specifičnimi kislno-bazičnimi interakcijami. S pomočjo le-teh lahko izračunamo kislinske (K_A) in bazične (K_D) parametre, ki predstavljajo semi kvantitativne vrednosti kislosti oziroma bazičnosti površine:

$$-\Delta G_{SP}^0 = K_A DN + K_D AN^* \quad (9)$$

S preureditvijo enačbe 9 lahko kisle in bazične parametre določimo grafično z Gutmannovo enačbo:

$$\frac{-\Delta G_{SP}^0}{AN^*} = K_A \frac{DN}{AN^*} + K_D \quad (10)$$

Naklon premice nam predstavlja vrednosti K_A , odsek na ordinati pa vrednosti K_D .

S poznavanjem kislinskih in bazičnih parametrov lahko izračunamo interakcijski parameter, ki opisuje velikost kisle in bazične interakcije med različnimi površinami.

Entalpijo absorbcije ΔH_a in entropijo absorbcije ΔS_a izračunamo s pomočjo enačbe, ki jo uporabimo pri metodi grafičnega določanja (15).

$$\Delta G_a = \Delta H_a - T \Delta S_a \quad (11)$$

Pri procesu adsorpcije polarnih kapljev in prihaja do specifičnih interakcij. Zato lahko enačbo 11 zapišemo kot :

$$-\Delta G_a^{SP} = -\Delta H_a^{SP} + T \Delta S_a^{SP} \quad (12)$$

Kadar določamo vrednosti $-\Delta G_a^{SP}$ pri različnih temperaturah lahko določimo vrednosti specifične komponente entalpije ΔH_a^{SP} in entropije ΔS_a^{SP} .

Če celotno enačbo procesa absorbcije delimo z $1/T$, potem lahko narišemo graf $\Delta G_a^{SP}/T$ v odvisnosti od $1/T$ (Gibbs Helmholtz-ova analiza). V primeru specifičnih interakcij dobimo enačbo:

$$-\Delta G_a^{SP}/T = -\Delta H_a^{SP}/T + \Delta S_a^{SP} \quad (13)$$

Naklon dobljene premice predstavlja entalpijo adsorpcije, presek premice z ordinato pa vrednost entropije adsorpcije polarnih topil na površini preiskovanih vzorcev (15).

3.6.2. PREDNOSTI IN OMEJITVE IGC

Prednosti :

1. Pri določanju lastnosti površin z uporabo IGC vzorca ni potrebno predhodno obdelati . S tem se izognemo spremembam lastnosti površine delcev.
2. Vzorec se pri meritvah ohrani, ker tehnika ni destruktivna in material lahko uporabimo tudi za druge meritve.
3. Meritve lahko izvajamo pri širokem temperaturnem intervalu.
4. Kot visoko občutljiva tehnika omogoča vpogled v spremembe, ki se lahko pojavijo na farmacevtskem področju :
 - spremembe v serijah iste substance (16)
 - vpliv mehanske obdelave na vpliv površinske proste energije trdnih pomožnih substanc (17)
 - razlike v prosti površinski energiji med dvema izomerama (18)
 - vpliv vlažnosti na prosto površinsko energijo prahov (19)
 - vpliv različnih pogojev na temperaturo steklastega prehoda praškastih substanc (20)
 - in lahko pojasni zakaj pride do inkompatibilnosti med dvema različnima trdnima snovema (21).
5. Je prijazna do uporabnika in enostavna.
6. Omogoča nam popoln nadzor nad okoljem vzorca (20).
7. Na voljo imamo širok izbor hlapnih standardov različnih koncentracij in lastnosti (22).
8. Ne potrebujemo predhodnih informacij o polimeru.

Slabosti :

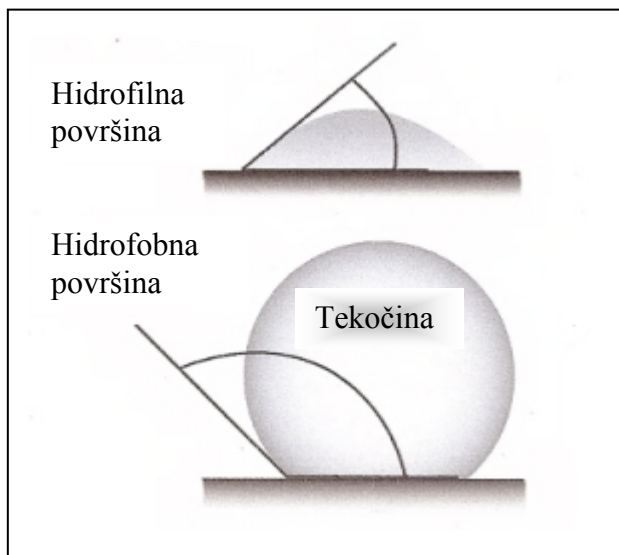
1. Čas analize enega vzorca, ki lahko v skrajnem primeru traja več dni (vzorec pred pričetkom prepihujemo z nosilnim plinom, injiciranja parnih faz topil večkrat ponovimo tudi pri različnih temperaturah).
2. Potencialna omejitev je ta , da se ponavadi pri analizi uporabljajo zelo majhne količine plinskega standarda (neskončno razredčen), ki se pri tem razredčenju raje veže na mesta z višjo energijo (ta so najreaktivnejša) in ne z celotno površino, ki je na voljo. Pri tem so prispevki proste površinske energije odsev le visoko energetskih delov površine, ki predstavljajo njen manjši del. Ker pa se lahko pojavlja veliko interakcij na višjih energetskih mestih trdne površine, je to lahko celo prednost te tehnike (16) .
3. V primerih ko pride do kemisorpcije elucije ni in na detektorju ne dobimo odziva (14) .
4. Kadar v kolono injiciramo prevelike količine parne faze standarda lahko pride do prenasíčenja kolone. Dobimo nižje vrednosti retencijskih časov.

3.7. MOČENJE

Ko kapljica tekočine pade na trdno površino, se ali razleze po površini in tvori tanek enakomeren film, ali pa se razširi omejeno in še obdrži obliko kapljice na površini. Voda, ki jo kapnemo na čisto stekleno ploskev, se razleze in razmaže v tanek sloj. Ob steni steklene cevi pa se gladina vode zakrivi navzgor in voda spleza po steni. Pravimo, da voda moči čisto stekleno površino. Drugače je, če je steklo mastno. Voda se ne razlije, ampak se naredijo kapljice. Ob mastni steni steklene cevi se vodna gladina zakrivi navzdol. Voda ne moči mastnega stekla.

Kvantitativno proces močenja opišemo z merjenjem stičnega kota. Ko se kapljevina na vodoravni ploskvi trdnine umiri, oklepa tangenta na gladino kapljevine ob stiku s trdnino kot Θ (theta) tako imenovani kot močenja oz. stični kot (slika 6). Ta kot je odvisen od medfaznih napetosti med kapljevino in zrakom (γ_l), kapljevino in trdnino (γ_{sl}) ter trdnino in zrakom (γ_s). Ker se rob kapljevine ne premika v vodoravni smeri, je vsota vseh površinskih sil, ki delujejo nanj, enaka nič (23).

Na spodnji sliki je prikazan kot močenja za kapljevino, ki moči trdnino in za kapljevino, ki trdnine ne moči.



Slika 6: Kot močenja theta (Θ) oz. stični kot.

Zato velja:

$$\gamma_s - \gamma_{sl} = \gamma_l \cos \Theta \quad (14)$$

Kapljevina moči trdnino, če je kot močenja $< 90^\circ$ oz. $\cos \Theta > 0$ (slika 6). Mejna primera sta, ko je $\Theta = 0^\circ$ in kapljevina absolutno moči trdnino, ter ko je $\Theta = 180^\circ$ in kapljevina ne moči trdnine. Takrat se med kapljevino in trdnino vrine zrak, kapljevina se pri tem ne dotika trdnine.

Neposredno lahko stični kot tekočine merimo z metodo sedeče kapljice, kadar ima trdna snov gladko površino. Pri praških je to nemogoče zato pripravimo stisnjene ploščice. Pri stiskanju pride do plastične deformacije ali lomov, kar lahko spremeni njihovo površino. Metoda je primerna predvsem, ko nas zanima površina tablet (23).

Enostavna in tudi neposredna metoda je fotografiranje kapljice in določitev višine (h) ter polmera (r). S pomočjo enačbe izračunamo stični kot:

$$\tan \Theta/2 = h/r \quad (15)$$

Omejitev metode je, da se pri neravni površini stični kot s časom spreminja. Volumen kapljice ne sme biti prevelik zaradi gravitacijske sile, stiskanje ploščic spremeni površino in pride do plastične deformacije. S povečanjem sile stiskanja ploščice stični kot pada do neke minimalne vrednosti, ki je v sorazmerju z minimalno površinsko energijo deformirane stisnjene površine in pogosto pride tudi do prodiranja tekočine v vzorec, s tem pa do spremembe stičnega kota. Odčitani kot se razlikuje od pravega, ki je pod površino trdnega vzorca (23).

3.8. MERJENJE PRAVE GOSTOTE TRDNIH SNOVI S HELIJEVIM PIKNOMETROM

V farmaciji srečamo gostoto predvsem pri obravnavi prahov v kombinaciji s poroznostjo, velikostjo, porazdelitvijo velikosti in kristalne strukture delcev. Sestavine delcev niso skoraj nikoli enakih oblik in velikosti. Poznavanje gostote je pomembno pri preučevanju raztapljanja učinkovine in pri izdelavi farmacevtskih oblik, kot so na primer tablete ali kapsule.

Gostota je definirana kot razmerje med maso (m) in volumnom (V) :

$$\rho = m / V \quad (16)$$

Izrazi se v gramih na kubični centimeter (g/cm^3).

Pri plinih in tekočinah je gostota odvisna le od temperature in tlaka, pri trdnih snoveh pa tudi od molekularne razporeditve in zato varira z kristalno strukturo in stopnjo kristaliničnosti. Ko so trdni delci v amorfni obliki je lahko njihova gostota odvisna tudi od zgodovine (izdelave in obdelave). Zato je lahko, drugače kot pri tekočinah, gostota dveh kemijsko enakih trdnih vzorcev različna (serije praškov).

Gostota je pomembna fizikalna lastnost farmacevtskih prahov in pomemben parameter pri napovedovanju obnašanja praškastih trdnih snovi v različnih tehnoloških procesih. Splošno lahko rečemo, da je določanje gostote tudi preprost pristop za ugotavljanje vrste snovi in njihove čistosti. Lahko je primerna za kvalitativno analizo zmesi dveh komponent (23).

S helijevim piknometrom (slika7) določamo volumen vzorca po spremembi tlaka helija v celici z določenim volumnom. Iz podatka za maso, ki ga dobimo s tehtanjem, piknometer izračuna gostoto. Pri tej metodi dobimo podatke o pravi gostoti, saj so atomi helija dovolj majhni ($r = 0,318 \text{ \AA}$), da prodrejo tudi v najmanjše pore. Helij je primeren zato, ker je inerten in izključuje adsorpcijo ne trdne površine. Metoda je nedestruktivna in vzorec lahko ponovno uporabimo. Uporabna je pri vseh trdnih snoveh. Mogoče jo je uporabiti še pri poltrdnih sistemih na primer pri gelih in mazilih. Ni pa uporabna pri tekočinah, ker je pri njih parni tlak previsok in meritve moti (23).



Slika 7: Helijev piknometer

Naprava deluje na osnovi plinskega zakona ($pV = nRT$). Njen bistveni del sta celica za vzorec (V_c) in ekspanzijska celica (V_e). Delovna enačba helijevega piknometra je:

$$V_s = V_c - \frac{V_e}{((P_1)/(P_2)) - 1} \quad (17)$$

Kjer je V_s neznan volumen vzorca,

V_c volumen celice za vzorec,

V_e volumen ekspanzijske celice,

P_1 tlak v celici z vzorcem,

P_2 ravnotežni tlak, ki nastane po ekspanziji helija, v drugo (ekspanzijsko) celico (23).

Prisotnost zraka med in znotraj trdnih delcev je za nekatere tehnološke procese izredno pomembna, lahko celo bolj kot sama trdna snov: na primer kapilarni preplet v tableti, ki omogoča njen razpad.

Razmerje med volumenom zraka in celotnim volumenom trdne snovi imenujemo poroznost (ε). Volumen zraka v celotnem volumnu trdne snovi pa je razlika med nasipnim (skupnim) in praviim volumenom. Zato lahko poroznost zapišemo:

$$\varepsilon = 1 - V_t/V_b \quad (18)$$

V_t je pravi volumen

V_b je nasipni volumen (23).

4. NAMEN DELA

Namen našega dela je preučiti nekatere fizikalno-kemijske lastnosti treh osnovnih tipov karagenenov, ki se uporabljajo kot pomožna snov pri izdelavi ogrodnih tablet. Zanima nas v čem se med seboj razlikujejo.

- Z metodo inverzne plinske kromatografije bomo določili parametre površinske energije (nepolarne in polarne).
- Izmerili bomo retencijske čase plinskih faz nepolarnih in polarnih standardov topil pri štirih različnih temperaturah (40, 50, 60 in 70°C). S pomočjo retencijskih časov adsorpcije nepolarnih topil bomo določili vrednost nepolarnega dela proste površinske energij γ_{sd} , z adsorpcijo polarnih topil na površino vzorcev pa vrednosti specifične komponente proste energije adsorpcije, s pomočjo katere bomo grafično določili kisle (K_a) in bazične lastnosti (K_d). Merjenje karagenanov pri različnih temperaturah nam bo omogočilo izračun vrednosti specifične komponente entalpije adsorpcije ΔH_a^{sp} polarnih topil.
- S helijevim piknometrom bomo določili pravo gostoto.
- Z vrstičnim elektronskim mikroskopom bomo pogledali kakšna je morfologija delcev vzorca.
- Z merilnikom stičnega kota bomo določili kot močenja (Θ) in čas v katerem kapljica vode ponikne v tableto karagenana.

Te podatke bodo lahko uporabili pri izdelavi ogrodnih tablet narejenih iz naših vzorcev- v povezavi z nabrekanjem in sproščanjem učinkovine. Ugotovljeno je bilo, da večja polarost površine pomeni lažjo interakcijo z vodo, kar pripomore k hitrejšemu nabrekanju polimera, lažji relaksaciji verig in hitrejšemu sproščanju učinkovine iz ogrodne strukture (24). Rezultate bomo primerjali z literaturnimi in poskusili ugotoviti ali lahko na osnovi vrednosti površinske energije in močenja napovedujemo nabrekanje teh polimerov in sproščanje učinkovine.

Za vsako meritev posameznega vzorca bomo pripravili dve paralelni meritvi.

5. MATERIALI IN APARATURE

5.1. MATERIALI

Preiskovani vzorci

- KARAGENAN IOTA (Gelcarin GP 379 NF) proizvajalec FMC BioPolymer, ZDA
- KARAGENAN KAPPA (Gelcarin GF 911 NF) proizvajalec FMC BioPolymer, ZDA
- KARAGENAN LAMBDA (Viscarin GP 209 NF) proizvajalec FMC BioPolymer, ZDA

Topila

Topila oziroma plinske faze topil injiciranih v kolono:

- METAN, Messer, Slovenija
- n-HEKSAN, Kemika, Hrvaška
- n-HEPTAN, Kemika, Hrvaška
- n-OKTAN, Ridel de Haen AG, Nemčija
- n-NONAN, Ridel de Haen AG, Nemčija
- n-DEKAN, Ridel de Haen AG, Nemčija
- ACETON, MERCK, Nemčija
- KLOROFORM-TRIKLOROMETAN (CHCl_3), Kemika, Hrvaška
- ETILACETAT, Kemika, Hrvaška
- TETRAHIDROFURAN (THF), Kemika, Hrvaška
- Vodik, Messer, Slovenija

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

5. 2. APARATURE

- Plinski kromatograf Agilent Technologies 6890N Network GC System z avtomatskim injektorjem Agilent 7683 Series in FID (flame ionization detektor)
- Osebni računalnik HP, povezan s plinskim kromatografom in računalniškim programom Chemstation, Hewlett Packard, ZDA
- Plinotesne brizge za injiciranje parnih faz tekočin, 10 µl, Aglient, Avstralija
- Aparatura za polnjenje vzorca v kolono pri IGC (VanKel Industries, Inc., New Yersey), ZDA
- Steklena kolona dolžine 0,2 m in notranjim premerom 3,0 mm
- Za zatesnitev kolone: Glass Woll, Silane Treated, Supleco, Inc., Supleco park, Bellefonte, Pensilvanija, ZDA
- Tehnica EB 1200 C, Železniki, Slovenija
- Analizna tehnika, A-150-SX, Cobos, Španija
- Helijev piknometar AccPyc 1330, Micrometrics (ZDA)
- Vrstični elektronski mikroskop Supra 32 VP, Zeiss (Nemčija)
- Merilnik stičnega kota DSA 100 Krüss
- Stiskalnica Specac (VB)

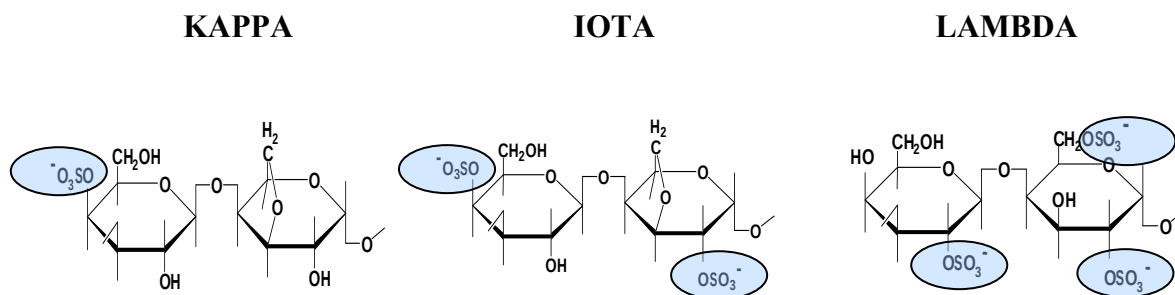
5. 3. LASTNOSTI MERJENIH POLIMERNIH VZORCEV-KARAGENANOV

Karagenani so iz družine naravnih polisaharidov, ki se pridobivajo iz rdečih morskih alg (*Rhodophyta*) predvsem treh tipov: *Eucheuma*, *Chondrus* in *Gigartina*. So galaktani sestavljen iz ponavljajočih se galaktoznih in 3,6 dehidrogalaktoznih enot, katerih posamezne OH skupine so zaestrene s sulfatno skupino. Enote so med seboj povezane z alfa 1-3 in beta 1-4 glikozidnimi vezmi (slika 9) (25).



Slika 8: Rdeča morska alga

Poznamo tri osnovne tipe karagenanov: kappa, iota in lambda. Vsi trije imajo isto polisaharidno ogrodje razlikujejo pa se po številu in poziciji sulfatnih skupin, kar daje vsakemu tipu specifične lastnosti. Večje število sulfatnih skupin zniža temperaturo tališča in vodi do nastanka šibkejših gelov, lahko pa geliranje celo inhibira (lambda karagenan) (25) .



Slika 9: Kemijska struktura treh tipov karagenanov.

Preglednica 1: Lastnosti karagenanov

Topnost	Kappa	Iota	Lambda
80°C voda	DA	DA	DA
20°C voda	Na ⁺ sol	Na ⁺ sol	DA
	K ⁺ , Ca ⁺⁺ in NH ₄ ⁺ soli nabrekajo	Ca ⁺⁺ sol nabreka in tvori tiksotropno disperzijo	
5% raztopina soli			
-vroče	nabreka	nabreka	se topi
-hladno	NE	NE	se topi

Geliranje –segreti na 80°C in ohladiti na <50°C

Najmočnejši gel	z K ⁺ ioni	z Ca ⁺⁺ ioni	ne tvori gela
Tekstura gela	lomljiva	elastična	ne tvori gela
Regeliranje po strigu	NE	DA	NE
Sinereza	DA	NE	NE
Stabilnost pri zamrzovanju, taljenju	NE	DA	DA
Sinergizem z ostalimi gumiji	DA	NE	NE

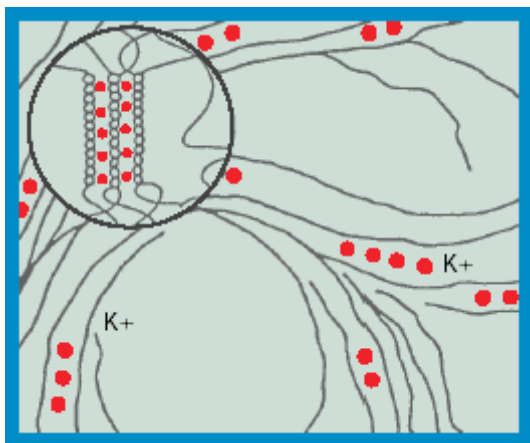
**Stabilnost v
Kislem***

Vroči sol	NE	NE	NE
Geli	stabilen nad pH 3,8	stabilen nad pH 3,8	ni primeren za uporabo

*Hidroliza pri nizkem pH povzročena s segrevanjem.

TRIJE OSNOVNI TIPI KARAGENANOV

Karagenen kappa

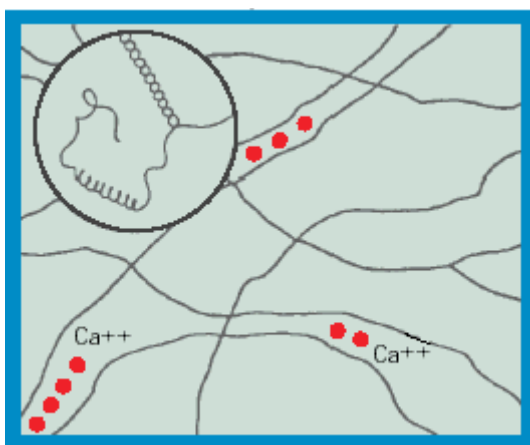


- **Močan rigiden gel**, nekaj sinereze, tvori vijačnico s K^+ ioni, Ca^{++} ioni povzročijo, da vijačnice agregirajo in gel se skrči, ter postane lomljiv .
- **Malo moten gel** se zbistri z dodatkom sladkorja.
- **Približno 25% sulfatnih skupin in 34% 3,6 AG** (dehidro galaktoze).

Slika 10: Kappa (25) .

Karagenen kappa veže vodo in tvori močne, trde, krhke gele. Kalijeve soli so nujne pri tej tvorbi čvrste gelske strukture. Z naraščanjem kalija gelska struktura postaja čvrsto agregirana in lahko privede do sinereze (vlage na gelni površini) (25).

Karagenan iota



- **Elastični geli**, z Ca^{++} tvorijo spiralo - helix. Omejeno agregiranje prispeva k elastičnosti , ne pride do sinereze.
- **Prozoren gel**
Odporen na zamrzovanje in taljenje.
- **Približno 32% sulfatnih skupin in 30% 3,6-AG** (dehidro galaktoze).

Slika 11: Iota (25) .

Karagenan iota veže vodo in tvori suhe elastične gele v prisotnosti kalcijevih soli. Divalentni kalcijevi ioni tvorijo vezi med karagenanskimi molekulami in tvorijo vijačnice. Negativni naboji povezani z dvema sulfatnima skupinama na molekuli iota karagenana preprečujeta vijačnicam, da agregirajo v enakih razsežnostih kot kappa karagenan. Geli so bolj elastični, suhi in zagotavljajo dobro stabilnost pri zamrzovanju in tajanju (25).

Karagenen lambda



- **Ne gelira**, polimerne verige so naključno razporejene.
- **Je visoko viskozen.**
- **Približno 35% sulfatnih skupin** in malo ali nič 3,6-AG(dehidro galaktoze).

Slika 12: Lambda (25) .

Lambda karagenan ima visoko število sulfatnih skupin in zato je verjetnost tvorbe gelske strukture manjša. Sulfatne skupine se ne vežejo z kalijevimi ioni in ne tvorijo vijačnic, tako da polimeri v vodi ohranijo naključno razporeditev. Po ohladitvi tvorijo viskozne raztopine. Zato se ga primarno uporablja za zgostitev tekočin, suspendiranje delcev in modificiranje okusa pri žvečilnih odmernih oblikah (25) .

Glavne razlike med njimi so, kot že omenjeno, predvsem posledica različnega števila sulfatnih skupin na monomerno enoto. Zaradi dodatne sulfatne skupine je iota bolj elastičen kot kappa in je zato bolj primeren za tabletiranje na tlak občutljivih substanc (»soft tableting«). Iota karagenan veže tudi več vode pri nizki relativni vlažnosti, ker sulfatna skupina omogoča večjo vezavo. Pri 80% relativni vlažnosti iota in kappa vežeta enako količino vlage. Karagenani izkazujejo relativno veliko sorptivnost za vodo, kar bi lahko bil razlog za to, da so pri sobni temperaturi v elastičnem-zmehčanem stanju. V literaturi zasledimo podatek, da je temperatura steklastega prehoda okoli 0°C (25). Povečana vezava vode in povečan obseg nabrekanja lahko pomenita upočasnjeno sproščanje. Kappa nabreka hitreje in v večjem obsegu kot iota v prvih urah. Po neskončnem času je nabrekanje obeh enako (učinkovina se sicer sprostí že prej). Vzrok za različno nabrekanje karagenanov je mobilnost molekul vode, ki je med polimernimi verigami kappa karagenana večja zaradi prisotnosti manjšega števila sulfatnih skupin, saj le-te lahko močno vežejo vodo v obliki solvatov (26).

Gele karagenanov se pri nevtralnem pH lahko segreva in ohlaja in vendar to zelo malo vpliva na gelsko strukturo. Sol in gel obliki sta stabilni pri sobni in nižjih temperaturah (v hladilniku). Pri višjih temperaturah sol oblika pri nizkem pH kaže izgubo viskoznosti in potencialni gelski moči (25).

Pri nizki koncentraciji imajo geli iz iota karagenanov tiksotropne reološke lastnosti, kar pomeni, da je viskoznost odvisna tudi od časa delovanja strižne sile. S časom in večanjem sile se viskoznost manjša. Razlog je porušenje sistema v obremenitveni fazi. V razbremenitveni fazi se po določenem času struktura ponovno zgradi. Te lastnosti so še posebno uporabne pri stabilizaciji suspendiranih netopnih delcev v tekočih sistemih, kot je na primer suspenzija antibiotika. Vodni geli kappa karagenanov nimajo teh lastnosti saj, ko se gel poruši se struktura ponovno ne vzpostavi (razen če se gel segreje in ponovno ohladi) (25).

UPORABA KARAGENANOV V FARMACIJI

Karagenani so že dolgo prisotni v prehrambeni (E 407) in kozmetični industriji, kjer so jih začeli uporabljati po drugi svetovni vojni, ko so potrebovali nadomestek za agar (27). Uporabljajo jih kot zgoščevala, sredstva za geliranje in povečanje stabilnosti. Najdemo jih predvsem v mlečnih izdelkih, omakah, zobnih pastah itd.

V farmaciji se uporabljajo v različnih neparenteralnih farmacevtskih oblikah. Proizvodi, ki vsebujejo karagenane so različne tablete, kapsule, sirupi proti kašlju, suspenzije antibiotikov, losjoni za topikalno uporabo, geli, kreme, kapljice za oči in medicinski šamponi. Uporabljajo se zaradi njihovih lastnosti: bioadhezivnosti v peroralnih tekočih proizvodih, imajo sposobnost ohranjanja oblike npr. pri ušesnih in vaginalnih svečkah. Omogočajo tudi izdelavo sistemov z nadzorovanim sproščanjem (25).

Funkcionalne lastnosti karagenanov so definirane z sulfatnimi substituentami, ki omogočajo potencialne aplikacije zaradi :

- **Tvorbe gela-** kappa in iota tvorita močno, trdno gelsko strukturo, kar je uporabno pri farmacevtskih oblikah, kjer je potrebno obdržati obliko (svečke, oblike z nadzorovanim sproščanjem). Iota geli so fleksibilni, elastični ter jih lahko uporabimo tudi za izdelavo filmskih oblog.
- **Suspendiranje in stabiliziranje delcev-** tridimenzionalna polimerna mreža, ki jo tvorijo določeni karagenani omogoča dolgoročno stabilnost suspenzij.
- **Kontrola pretočnih lastnosti-** lambda karagenan je visoko viskozen. Njegova viskoznost je odvisna od koncentracije kovinskih ionov.
- **Vezanje vode-** vsi karagenani imajo izjemno sposobnost vezanja vode. To je posebej uporabno pri topikalnih pripravkih, ker omogočajo prijeten občutek na koži brez lepljivosti (25) .

Kappa karagenan bi lahko bil potencialno uporaben tudi na drugih področjih- v medicini. Potekajo raziskave, ki naj bi potrdile potencialno antikoagulatorno, antitrombotično, protivnetno, protivirusno in protitumorno delovanje. Njihovi geli aplicirani lokalno na vaginalno sluznico naj bi preprečili migracijo virusa herpes simplex (HSV 2) iz sluznice v centralni krvni obtok in okužbo limfocitov (28,29).

6. EKSPERIMENTALNO DELO

6.1. VRSTIČNA ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA

Vzorci smo nanесли na dvostranski lepilni trak (širina 12 mm, Oxford instruments). Pripravljene vzorce smo opazovali z vrstičnim elektronskim mikroskopom (Supra 32VP, Zeiss, Germany) pri pospeševalni napetosti 0,8 kV in sekundarnim detektorjem.

6.2. DOLOČANJE POVRŠINSKE ENERGIJE Z IGC

Vzorec mase približno 100 mg smo natehtali v suho stekleno kolono, ki smo jo na obeh koncih zatesnili s silanizirano stekleno volno. Kolono smo nato stresali z mehanskim stresalnikom deset minut. S tem smo dosegli večjo homogenost vzorca, kjer ni bilo prisotnih praznih prostorov. Zaprtje kolone na obeh straneh je preprečilo odnašanje materiala z nosilnim plinom iz kolone.

Stekleno kolono dolžine 20 cm in premera 3 mm smo nato prepihovali z inertnim plinom-helijem pri temperaturi 70°C in s stalnim pretokom nosilnega plina 20 ml/min. Kot standardna nepolarna topila smo uporabili heksan, heptan, oktan, nonan, dekan in kot standardna polarna topila tetrahidrofuran, etilacetat, aceton in kloroform. V kolono smo avtomatsko injicirali 10 µl posameznega topila. S pomočjo računalniškega programa Chemstation smo določali čas potreben za elucijo injiciranih parnih faz od injektorja do plamensko ionizacijskega detektorja (FID-Flame ionization detector). Meritve smo izvajali pri različnih temperaturah: 70, 60, 50 in 40 °C. Vsako posamezno meritev smo ponovili najmanj dvakrat.

6.3. MERJENJE MOČENJA

Približno 200 mg vzorca smo stisnili v ploščico (premera 13 mm in višine približno 1 mm) s stiskalnico Specac (VB). Vzorec smo postavili pod mikroskop, nanj smo kapnili 5 µl vode in s pomočjo merilnika stičnega kota DSA 100 Krüss izmerili stični kot (Θ) in čas (t) v katerem je kapljica vode poniknila. Meritve smo ponovili trikrat za vsak vzorec.

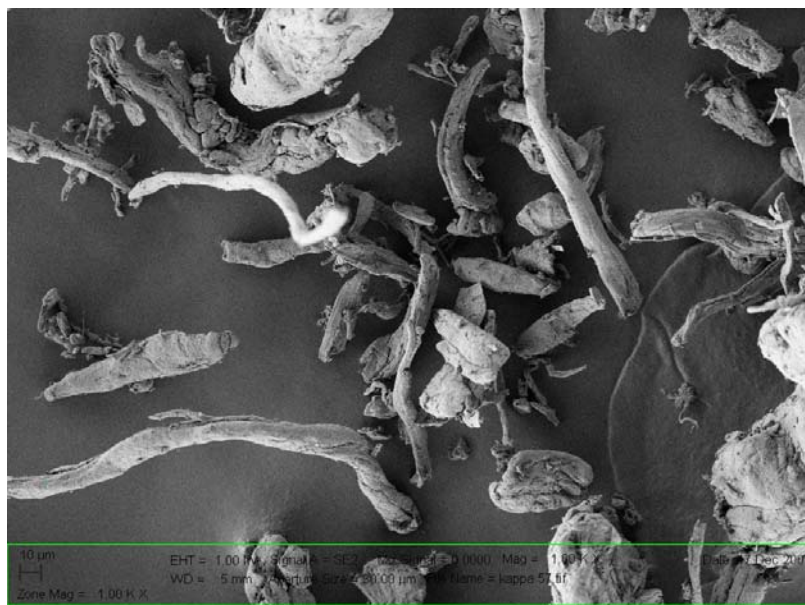
6.4. DOLOČANJE GOSTOTE PRAŠKOV S HELIJEVIM PIKNOMETROM IN POROZNOSTI TABLET

V celico smo vložili stehtan trden vzorec neznanega volumna. Ventil smo odprli in v celico spustili znano množino helija. Meritve smo izvedli trikrat in iz povprečne vrednosti določili pravo gostoto naših vzorcev. Iz dobljenih vrednosti volumna smo izračunali tudi poroznost vzorcev (po enečbi 18). Imeli smo določen pravi volumen s helijevim piknometrom, nasipni (navidezni) volumen pa smo izračunali iz dimenzij ploščice (tablete), ki smo jo stisnili iz praškov.

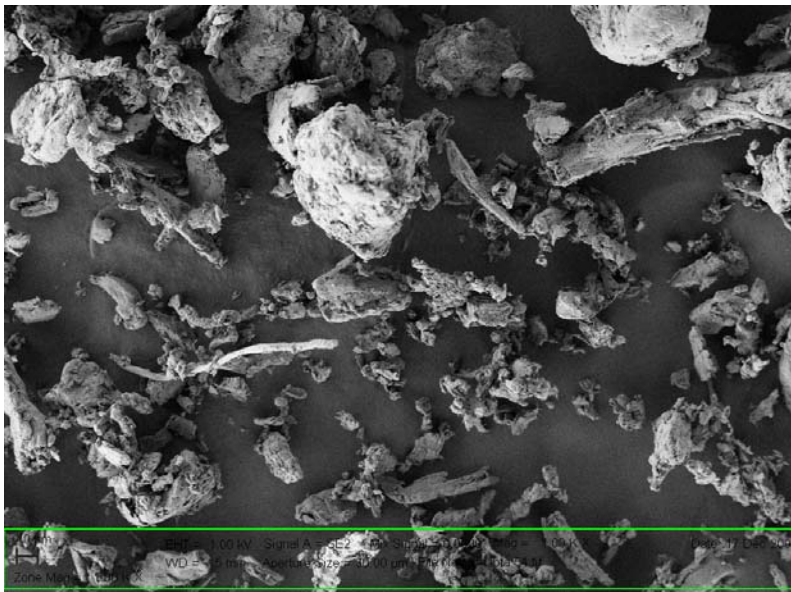
7. REZULTATI IN RAZPRAVA

7.1. SLIKE VRSTIČNEGA ELEKTRONSKEGA MIKROSKOPA

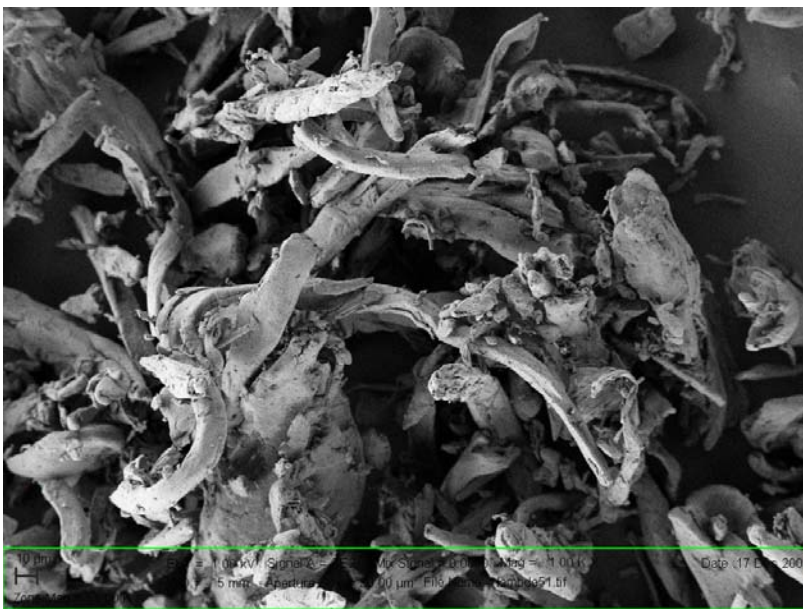
Na slikah 13, 14 in 15 vidimo, da sta si vzorca karagenen kappa in lambda po morfologiji podobna. Delci so podolgovate oblike, karagenan iota pa ima bolj okrogle delce.



Slika 13: Elektronska mikroskopska slika karagenana kappa (1000x povečava).



Slika 14: Elektronska mikroskopska slika karagenana iota (1000x povečava).



Slika 15: Elektronska mikroskopska slika karagenana lambda (1000x povečava).

7.2. INVERZNA PLINSKA KROMATOGRAFIJA

1. Nepolarni del površinske energije

Nepolarni del površinske energije smo izračunali iz izmerjenih retencijskih časov pri injiciranju heksana, heptana, oktana, nonana in dekana. V preglednici 3. so zbrani rezultati nepolarnega dela površinske energije vzorcev pri 40, 50, 60 in 70°C.

Preglednica 3. Disperzijske interakcije z n-alkani .

Vzorec	γ_{sd} (mN/m) 40°C	γ_{sd} (mN/m) 50°C	γ_{sd} (mN/m) 60°C	γ_{sd} (mN/m) 70°C
kappa	43,67	40,24	34,19	31,62
kappa	42,26	38,36	33,52	29,23
iota	35,49	31,62	28,42	24,07
iota	35,25	29,78	26,79	23,77
lambda	36,14	32,19	28,53	25,93
lambda	37,63	31,59	27,29	25,39
iota/kappa50/50	37,70	35,76	34,48	28,54
iota/kapp 50/50	38,85	35,97	33,50	27,60
iota/lambda50/50	37,96	30,70	27,29	25,06
iota/lambda50/50	35,68	31,80	27,71	25,56
iota/lambda75/25	34,41	29,26	27,16	24,60
iota/lambda75/25	34,28	30,33	25,30	23,65

γ_{sd} (mN/m): Nepolarna komponenta površinske energije vzorca.

Vrednost nepolarnega dela površinske energije vzorca pri 40°C je največja pri kappa karagenanu 42,96 mN/m, srednja pri lambda 36,88 mN/m in najmanjša pri karagenanu iota 35,37 mN/m. Po pričakovanju so vrednost zmesi iota/kappa50/50 med vrednostjo iote in kappa. Podobno velja za zmesi iota/lambda 50/50. Pri zmesi iota/lambda75/25, kjer delež iote naraste je vrednost zelo podobna čistemu vzorcu iota.

Vidimo tudi, da se nespecifične interakcije z višanjem temperature manjšajo. V literaturi lahko zasledimo, da pri naravnih polimerih ni vedno tako (30). Vrstni red naraščanja vrednosti pa je podoben kot pri 40°C.

2. Polarni del površinske energije

V preglednici 4. so podane vrednosti spremembe Gibbsove proste energije adsorpcije in kisle ter bazične konstante dobljene iz vrednosti ΔG_a^{sp} pri eni temperaturi (40°C). K_A predstavlja kisllost površine vzorca in K_D bazičnost.

Preglednica 4. Polarni del vrednosti Gibbsove energije adsorpcije tetrahidrofurana, acetona, etilacetata in kloroforma s površinami vzorcev ter kisllost in bazičnost površine karagenanov pri 40°C.

	ΔG_a^{sp}				K_A	K_D
vzorec	THF	ACET	ETAC	CHCl ₃		
kappa	14,39	18,49	17,67	3,33	0,160	0.567
kappa	13,68	17,41	17,21	2,99	0,152	0.534
iota	14,93	17,31	15,85	2,49	0,170	0,368
iota	13,76	16,78	14,79	2,37	0,156	0,378
lambda	12,71	16,35	15,34	2,13	0,142	0,458
lambda	13,82	18,33	16,93	2,49	0,164	0,479
Iota/kappa50/50	14,65	18,12	17,58	2,41	0,165	0,496
Iota/kappa50/50	13,80	16,14	17,59	2,61	0,155	0,491
Iota/lambda50/50	13,72	16,57	16,83	1,94	0,155	0,461
Iota/lambda50/50	13,02	15,87	15,67	1,29	0,147	0,414
Iota/lambda75/25	14,76	15,44	14,50	1,68	0.170	0.235
Iota/lambda75/25	13,92	16,18	15,95	2,00	0,152	0.404

G_a^{sp} (kJ/mol): Sprememba Gibbsove proste površinske energije pri 40°C, ki je podlaga za izračun K_A in K_D .

Vrednosti kisllosti se med vzorci malo razlikujejo. Vrednosti bazičnosti pa se bolj. K_D je najvišja pri kappa karagenanu 0,550, sledi mu lambda z 0,468 in iota z 0,373. Vrednosti K_A za zmesi se podobno kot pri čistih komponentah zelo malo razlikujejo. Vrednosti K_D za zmesi so med najvišjo, ki smo jo izmerili pri vzorcu kappa in najnižjo, ki smo jo izmerili pri vzorcu iota.

Rezultati kažejo, da z IGC lahko razlikujemo med čistimi vzorci karagenanov, tako z merjenjem nepolarne kot polarne komponente površinske energije. Razlike med vzorci so premajhne, da bi lahko razlikovali dvokomponentne zmesi karagenanov.

V preglednici 5. so podane vrednosti specifične komponente entalpije adsorpcije ΔH_a^{sp} in kisle ter bazične konstante dobljene iz vrednosti ΔH_a^{sp} pri štirih temperaturah (40, 50, 60, in 70°C). K_A predstavlja kislost površine vzorca in K_D bazičnost.

Preglednica 5: Specifična komponenta entalpije adsorpcije tetrahidrofurana, acetona, etilacetata in kloroforma s površinami vzorcev, ter kislost in bazičnost površine karagenanov.

	ΔH_a^{sp}					
Vzorec	THF	ACET	ETAC	CHCl ₃	K_A	K_D
Kappa	37,78	45,22	27,26	11,28	427	866
Kappa	33,55	45,86	36,24	9,46	373	1183
Iota	24,61	14,18	10,70	13,52	293	-437
Iota	32,24	29,66	12,30	12,43	387	-713
Lambda	56,68	52,18	42,22	5,10	607	-28
Lambda	62,81	47,86	41,18	5,38	751	-656
Iota/kappa50/50	45,11	58,26	41,15	10,81	509,66	1070
Iota/kappa50/50	28,15	36,28	32,38	12,55	319,5	841,17
Iota/lambda50/50	44,64	49,27	48,60	9,14	507,75	1104
Iota/lambda50/50	41,15	37,66	53,16	6,33	469	1160
Iota/lambda75/25	43,61	49,40	49,30	13,5	1071	-2227
Iota/lambda75/25	48,68	46,08	45,42	9,25	739	-391

ΔH_a^{sp} (kJ/mol) specifična komponenta entalpije adsorpcije.

Iz preglednice vidimo, da ja najvišja vrednost K_A pri lambdi 679, sledi kappa z 400 in nazadnje iota z 340. K_D je največja pri kappa 1024,5 nato je iota z -575 in lambda z -342. Negativne vrednosti za bazične komponente so nelogične in jih lahko razlagamo z nepravilnimi literaturnimi vrednosti za AN in DN oz. z napako pri merjenju retencijskih časov. Pri zmeseh so razlike večje kot pri čistih komponentah, kar zopet lahko razložimo z napako pri merjenju retencijskih časov. Težava pri analizi teh vzorcev je predvsem v razliki retencijskih časov za nepolarna in polarna topila. Retencijski časi za nepolarne vzorce so bili zelo kratki. Podaljšali bi jih lahko s povečanjem mase vzorca, vendar bi s tem postali retencijski časi za polarna topila predolgi.

Kljub temu, da je merjenje pri več temperaturah termodinamsko bolj pravilno, ugotavljamo, da je karagenane lažje analizirati in razlikovati z analizo le pri eni temperaturi.

Baumgartner in sodelavci so proučevali povezavo med površinskimi lastnostmi celuloznih etrov z metodo IGC in mehanizmom sproščanja učinkovine z namenom oblikovanja ogrodnih tablet (24). Povezali so rezultate specifične komponente entalpije adsorpcije polimerov s parametri sproščanja učinkovine. Prišli so do zaključkov, da rezultati dobljeni z IGC omogočajo napovedovanje obnašanja polimerov v vodi in sproščanja v vodi topne učinkovine. Višji vrednosti K_A in K_D predvidevata močnejše interakcije z vodo, kar ima za posledico večjo relaksacijo polimernih verig. Večja mobilnost vodnih molekul med verigami omogoča hitrejšo difuzijo učinkovine skozi oblikovani gel. Polarnost polimerov se je ujemala s hitrostjo vezave vode na polimer oziroma s stopnjo nabrekanja polimernega ogrodja. Stopnja sproščanja učinkovine iz ogrodja se je ujemala s polarnostjo polimerov, ki so jo določili z računanjem K_A in K_D iz specifične entalpije adsorpcije (ΔH_a^{sp}). Večja polarnost tako pomeni lažjo interakcijo z vodo, kar vodi v hitrejšo nabrekanje polimera, lažjo relaksacijo verig in hitrejšo sproščanje učinkovin iz ogrodne strukture.

Iz naših rezultatov bi tako napovedali, da ko uporabimo za izračun K_A in K_D iz ΔG_a^{sp} bo imel najmočnejše interakcije z vodo karagenan kappa nato lambda in najšibkejšo iota. Če pa uporabimo rezultate izračunane iz ΔH_a^{sp} iz vrednosti K_A ugotovimo, da je lambda najbolj kisel. Sledi mu kappa in nato iota. Če bi upoštevali še K_D je vrstni red drugačen; najpolarnejši je kappa sledi mu lambda in na koncu iota. Iz teh podatkov bi lahko sklepali oz. napovedovali obnašanje naših vzorcev karagenanov pri interakcijah z vodo. Tako bo verjetno pri najpolarnejšem karagenanu kappa interakcija z vodnimi molekulami največja, kar bo imelo za posledico najhitrejšo nabrekanje, lažjo relaksacijo polimernih verig in hitrejšo sproščanje v vodi topne učinkovine. Ravno nasprotno pa bo, po naših rezultatih, pri najmanj polarnem karagenanu iota.

7.3. REZULTATI MERJENJA MOČENJA, GOSTOTE IN POROZNOSTI

Preglednica 6. Izmerjeni stični kot (Θ) in povprečni čas (t) v katerem ponikne kapljica vode (5 μ l) . Meritve so bile opravljene trikrat.

vzorec	Θ povprečni	t povprečni
kappa	36,1° $\pm$ 1,0	3,7s $\pm$ 0.6
iota	49,9° $\pm$ 0,3	48,6s $\pm$ 11.7
lambda	43,1° $\pm$ 3,0	355,3s $\pm$ 87,8
Iota/lambda 50/50	56,3 ° $\pm$ 4,5	198,2s $\pm$ 5,2
Iota/kappa 50/50	49,8 ° $\pm$ 2,7	11s $\pm$ 1,7
Iota/lambda 75/25	62,8 ° $\pm$ 2,0	183,3s $\pm$ 8,1

Preglednica 7. Rezultati prave gostote (ρ) izmerjene s helijevim piknometrom in poroznosti (ϵ).

vzorec	ρ gostota (g/cm ³)	ϵ poroznost
kappa	1,7442 $\pm$ 0,0261	21,91%
iota	1.7478 $\pm$ 0,0022	15,51%
lambda	1,7402 $\pm$ 0,0020	24,65%
Iota/lambda 50/50	1,7542 $\pm$ 0,0082	19,5%
Iota/kappa 50/50	1,7490 $\pm$ 0,0051	18,9%
Iota/lambda 75/25	1,7770 $\pm$ 0,0017	16,6%

Najmanjši kot močenja ima kappa karagenan 36,1 °, za njim lambda 43,1 ° in iota 49,9 ° (preglednica 6). Pri zmesih je najmanjši kot pri iota/kappa 50/50 in je podoben čisti iota, največji pa pri iota/lambda 75/25 62,8 °. Najnižja vrednost stičnega kota pri kappa, ki ima največjo polarnost, se ujema z rezultati dobljenimi pri IGC.

Pri meritvah stičnega kota smo vzorec stisnili v ploščico in opazovali kako hitro kapljica vode ponikne. Povprečni čas v katerem ponikne kapljica vode je najkrajši pri kappa 3,7s in najdalši 335s pri lambda karagenanu. Ti rezultati kažejo na to, da se vzorci med seboj zelo razlikujejo. Rezultati pronicanja za zmesi se ujemajo z rezultati čistih vzorcev. To pomeni, da je tam kjer je večja količina karagenana lambde čas ponikanja daljši in kjer je prisoten kappa precej krajši.

S helijevim piknometrom smo izmerili pravi volumen. Vidimo, da so gostote precej podobne, le zmes iota /lambda 75/25 malo odstopa z višjo vrednostjo (preglednica 7). Izračunali smo tudi poroznost vzorcev (enačba 18), s čimer smo ugotovili, ali ta vpliva na hitrost pronicanja kapljice. Vzorce smo stisnili v ploščice in iz njihovih dimenzij izračunali skupni volumen. Največja je bila poroznost pri lambdi, kar ni v povezavi z najpočasnejšim ponikanjem kapljice. Poroznost je manjša pri kappi, hitrost pronicanja kapljice pa je najhitrejša. Iz tega lahko sklepamo, da poroznost vzorca ne vpliva na pronikanje vode.

Picker K. je merila nabrekanje karagenanov kappa in iota. Ugotovila je, da je krajši čas nabrekanja pri kappi posledica manjših steričnih ovir, ker ima kappa najmanj sulfatnih skupin in zato molekule vode lažje in hitreje vstopijo v vzorec (26). K temu pripomorejo tudi kalijevi ioni, zaostali med proizvodnjo kappa karagenana, ki pa niso močno vezani na verige. So bolj mobilni in prav tako nase vežejo vodo (26). Lambda karagenan ima več sulfatnih skupin, ki v začetku močno vežejo vodo in so razlog za počasnejše nabrekanje. Ti rezultati se ujemajo z meritvami IGC in merjenjem časov pronicanja vodne kapljice.

8. SKLEPI

Pri preučevanju nekaterih fizikalno-kemijskih lastnosti iota, kappa in lambda karagenanov smo prišli do naslednjih sklepov:

- Z vrstičnim elektronskim mikroskopom smo ugotovili, da se po morfologiji iota karagenan razlikuje od kappe in lambde, katerih delci so si bolj podobni in so podolgovate oblike ter gladki. Iota ima manjše, bolj okrogle delce.
- Z metodo IGC smo določili površinske lastnosti karagenanov. Ugotovili smo, da so disperzijske interakcije z nepolarnimi topili največje pri tipu kappa in manjše pri ioti in lambdi. To je v skladu z polarnostjo oz. številu sulfatnih substituent na polimerni verigi, ki jih je najmanj pri kappi in več pri ioti ter lambdi.
- Disperzijska komponenta površinske energije (γ_{sd}) vzorcev karagenanov se z večanjem temperature manjša, kar pomeni, da so interakcije pri višjih temperaturah med vzorcem in standardi šibkejše.
- Polarni parametri izraženi kot specifična komponenta entalpije adsorpcije (ΔH_a^{sp}), sprememba Gibbsove proste energije adsorpcije (ΔG_a^{sp}) in iz njiju preračunani kisló-bazični parametri (K_A in K_D) kažejo na razlike med vzorci. Oba načina izračuna kažeta, da je najbolj polarna površina kappa karagenana. IGC metoda je primerna za razlikovanje čistih karagenanov, pri zmesih pa so razlike premajhne.
- Rezultati merjenja močenja se ujemajo z IGC rezultati. Najhitrejše pronicanje vode v ploščico (tableto) kappa karagenana je v povezavi z največjo vrednostjo K_A in K_D parametrov površinske energije. Potrdili smo, da je hitrost pronicanja povezana s kemijsko strukturo polimerov ne pa s poroznostjo izdelanih tablet. Ti rezultati se ujemajo z literaturnimi vrednostmi za hitrost nabrekanja kappa in iota karagenana (26) in s hitrostjo sproščanja v vodi topne modelne učinkovine iz tablet izdelanih iz kappa, iota in lambda karagenanov. Krajši čas nabrekanja pri kappi je posledica manjših steričnih ovir, ker ima kappa najmanj sulfatnih skupin in zato molekule vode lažje in hitreje vstopijo v vzorec (26). K temu pripomorejo tudi kalijeve ioni, zaostali med proizvodnjo kappa karagenana, ki niso močno vezani na verige. So bolj mobilni in prav tako nase vežejo vodo (26).

9. LITERATURA

1. Baumgartner S.,: Načrtovanje, oblikovanje in vrednotenje hidrodinamsko uravnoveženih ogrodnih tablet s prirejenim sproščanjem, Magistrsko delo, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, 1998.
2. Saxena A., Kendrick J., Grimsej I., Mackin L., Application of molecular modelling to determine the surface energy of mannitol. International Journal of Pharmaceuticals 343 (2007) 173-180.
3. Collombo P., Bettini R., Santi P., Peppas N.: Swellable matrices for controlled drug delivery: gel-layer behavior, mechanism and optimal preformance. Research focus PSTT Vol.3 No. 6 june 2000.
4. Gupta V.K., Hariharan M., Wheatley T.A., Price J.C.: Controlled release tablets from carrageenans: effect of formulation, storage and dissolution factors. Eur. J. Pharm. Biopharm 2001; 51: 241-248.
5. Swarbrick J.:Enciklopedija of Pharmaceutical Technology, Third Edition Vol. 3;USA 2007; str 2021- 2925.
6. Nobipol research Centre Professor Bjorn E. Christensen,
[http://www.ntnu.no/portal/page/portal/ekstern webEN/ research](http://www.ntnu.no/portal/page/portal/ekstern%20webEN/research).
7. J.Šmid-Korbar, S. Srčič, J. Kristl: Oblikovanje zdravil, Priročnik , 2.popravljena izdaja, Ljubljana 1986.
8. Goldstein J.I., Newbury D.E., Echlin P., Joy D.C., Fiori C., Lifshine E.: Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis, Plenum Press, New York, 1984. 479-483.
9. Drew Mayers, Surfaces, Interfaces, and Colloids; Principles and Applications; second edition 1999.
10. Buckton G: Interfacil Phenomena in drug delivery and targeting, 1995 : 27-114.
11. Stapley J., Buckton G., Merrifield D.: Investigation to find a suitable reference material for use as an inverse gas chromatography, 2006: 318 , 22-27
12. Swarbrick J., Boylan JC.: Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. Marcel Dekker, New York 1955; 1: 73-108 .
13. Kunaver M., Zadnik J., Planinšek O., Srčič S.:Inverse gas chromatography- a different approach to characterization of solids and liquids , Acta Chim. Slov. 2004, 51, 373-394.
14. Zadnik J, Planinšek O, Kunaver M, Srčič S. Uporaba inverzne plinske kromatografije v farmaciji. Farm Vestnik, 2003; 54: 207 – 218.

15. Santos, J.M.R.C.A., Fagelman K., Guthrie J.T.: Characterization of surface Lewis acid-base properties of poly (butylen tetraphthalate) by inverse gas chromatography. *Journal of Chromatography A* , 2002, 969 , 111-118.
16. Feeley J.C., York P., Soumby B.S., Dicks H., 1988: Determination of surface properties and flow characteristic of salbutamol sulphate, before and after micronisation. *Int. J. Pharm.* 172, 89-96.
17. Ticehurst M.D., York P., Rowe R.C., 1994: Determination of the surface properties of two batches of salbutamol sulphate by inverse gas chromatography. *Int. J. Pharm.* 111, 241-249.
18. Grimsey I.M., Sunkersett M., Osborn J.C., York P., Rowe R.C., 1999: Interpretation of the differences in the surface energetics of two optical forms of manitol by inverse gas chromatography and molecular modeling. *Int. J. Pharm.* 191, 43-50
19. Newell H. E., Buckton G., Butler D.A., Thielmann F., Williams D.R., 2001b: The use of inverse gas chromatography to study the change of surface energy of amorphous lactose as a function of relative humidity and the processes of collapse and crystallisation. *Int. J. Pharm.* 217, 45-46.
20. Surana R., Randall L., Pyne A., Vemuri N.M., Suryanarayanan R., 2003: Determination of glass transition temperature and in situ study of the plasticizing effect of water by inverse gas chromatography. *Pharm. Res.* 20, 1647- 1654.
21. Otha M., Buckton G., 2003: The use of inverse gas chromatography to assess the acid-base contributions to surface energies of cefditoren pivoxil and methacrylate copolymers and possible links to instability. *Int. J. Pharm.*, 272 , 121-128.
22. Kunaver M, Zadnik J., Planinšek O., Srčič S., 2004: IGC a different approach to characterisation of solids and liquids. *Acta chem. Slov.* 51, 373-394.
23. Planinšek O., Srčič S.: *Vaje iz Fizikalne farmacije* , Ljubljana 2001.
24. Baumgartner S., Planinšek O., Srčič S., Kristl J., 2005: Analysis of surface properties of cellulose ethers and drug release from their matrix tablets. *Int. J. Pharm.* 27 , 375-383.
25. FMC BioPolymer – Pharmaceuticals – Gelcarin , Viscarin , Prospekt proizvajalca.
<http://www.fmcbiopolymer.com/Pharmaceuticals/Products/Viscarin>
26. Picker K.M.: Matrix tablets of carrageenans II. Release behaviour and effect of added cations. *Drug development and Industrial Pharmacy* 1999, 25 (3): 339-346.
27. Picker K.M.: Matrix tablets of carrageenans. I. A compaction study. *Drug development and Industrial Pharmacy* 1999; 25 (3): 329-337.

28. Huamo Y., Weiwei Z., Xuegang L., Xiaoxia L., Ning L., Xuelu G., Jinming S.: Preparation and *in vitro* antioksidant activity of Kappa carrageenan oligosaccharides and their oversulfated, acetylated, and phosphorylated derivatives. Carbohydrate Research 2005; 340: 685-692.
29. Tischer S.F., Talarico L.C., Noseda M.D., Guimaraes S.M.P.B., Damonte E.B., Duarte M.E.R.: Chemical structure and antiviral activity of carrageenans from Meristiella gelidium against Herpes simplex and dengue virus. Carbohydrate Polymers 2006; 63: 459-465.
30. Shi B., Zhao S., Jia L., Wang L.: Surface characterization of chitin by inverse gas chromatography. Carbohydrate Polymers 67 (2007) 398-402.