

Univerza v Ljubljani
Fakulteta za farmacijo



BARBARA KOSMAČ

**PREUČEVANJE SPROŠČANJA MODELNE UČINKOVINE IZ TRDNIH
DISPERZIJ S POROZNIM SILICIJEVIM DIOKSIDOM**

**STUDY OF A MODEL DRUG RELEASE FROM SOLID DISPERSIONS WITH
POROUS SILICA**

LJUBLJANA, 2009

Diplomsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom izr. prof. dr. Odonu Planinška, mag. farm.

Na prvem mestu bi se rada zahvalila mentorju izr. prof. dr Odonu Planinšku, ki si je vedno vzel čas za reševanje problemov in mi pomagal z dobrimi nasveti. Poleg tega gre zahvala tudi Borutu Kovačiču in ostalim sodelavcem na Katedri za farmacevtsko tehnologijo, ki so mi pogosto priskočili na pomoč.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko delo samostojno izdelala pod vodstvom mentorja izr. prof. dr. Odonu Planinška, mag. farm..

Barbara Kosmač

VSEBINA

POVZETEK.....	IV
SEZNAM OKRAJŠAV	V
1. UVOD.....	1
1.1. TRDNE DISPERZIJE.....	1
<i>Mehanizmi povečanja topnosti in hitrosti raztapljanja učinkovin iz trdnih disperzij</i>	<i>2</i>
1.2. POROZNE POMOŽNE SNOVI ZA IZDELAVO TRDNIH DISPREZIJ	3
<i>Mezoporozni nosilci.....</i>	<i>3</i>
<i>Izboljšanje sproščanja učinkovin iz trdnih disperzij s silicijevim dioksidom.....</i>	<i>6</i>
1.3. MODELNA UČINKOVINA	8
2. NAMEN DELA	10
3. EKSPERIMENTALNO DELO	11
3.1. MATERIALI.....	11
3.2. APARATURE	11
3.3. METODE.....	12
<i>Izdelave trdnih disperzij.....</i>	<i>12</i>
<i>Vrednotenje trdnih disperzij</i>	<i>14</i>
4. REZULTATI IN RAZPRAVA	17
4.1. FIZIKALNO-KEMIJSKE LASTNOSTI SYLISIA 350	17
<i>Morfologija delcev.....</i>	<i>17</i>
<i>Določitev specifične površine in porazdelitev velikosti por.....</i>	<i>17</i>
<i>Velikost delcev</i>	<i>18</i>
<i>Določanje močljivosti</i>	<i>18</i>
4.2. FIZIKALNO-KEMIJSKE LASTNOSTI ZDRAVILNE UČINKOVINE	18
<i>Morfologija delcev.....</i>	<i>18</i>
<i>Velikost delcev</i>	<i>19</i>
<i>Določanje močljivosti</i>	<i>20</i>
<i>Preskus raztapljanja</i>	<i>20</i>
<i>Termična analiza kristalne in amorfne oblike učinkovine (DSC)</i>	<i>22</i>
4.3. FIZIKALNO-KEMIJSKE LASTNOSTI TRDNE DISPERZIJE IZDELANE Z VZPOSTAVITVIJO RAVNOTEŽJA IZ RAZTOPINE ACETONA	22
<i>Preskus sproščanja</i>	<i>23</i>
<i>Termična analiza trdnih disperzij izdelanih z vzpostavitvijo ravnotežja</i>	<i>26</i>
<i>Določitev specifične površine in velikosti por</i>	<i>27</i>
<i>Določanje močljivosti</i>	<i>28</i>

4.4.	FIZIKALNO-KEMIJSKE LASTNOSTI TRDNE DISPERZIJE IZDELANE Z ODPAREVANJEM TOPILA PRI ZNIŽANEM TLAKU	29
	<i>Preskus sproščanja</i>	29
	<i>Termična analiza trdnih disperzij izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku.....</i>	31
	<i>Določitev specifične površine in velikosti por</i>	33
	<i>Določanje močljivosti</i>	33
4.5.	FIZIKALNO-KEMIJSKE LASTNOSTI TRDNE DISPERZIJE IZDELANE Z ODPAREVANJEM TOPILA PRI ZNIŽANEM TLAKU Z DODATKOM POVRŠINSKO AKTIVNE SNOVI (SDS) IN SYLISIA	34
	<i>Preskus sproščanja</i>	34
	<i>Termična analiza trdnih disperzij izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku z dodatkom SDS</i>	38
	<i>Določitev specifične površine in velikosti por</i>	40
	<i>Določanje močljivosti</i>	42
4.6.	PRIMERJAVA TRDNIH DISPERZIJ Z NAJBOLJŠIM SPROŠČANJEM UČINKOVINE GLEDE NA SAMO KRISTALNO IN AMORFNO OBLIKO UČINKOVINE	44
5.	ZAKLJUČEK.....	46
6.	LITERATURA.....	47

Povzetek

Velik delež novih zdravilnih učinkovin je v vodi slabo topnih. Posledica slabe vodotopnosti učinkovine je pogosto nizka biološka uporabnost. Da bi izboljšali topnost slabo topnih učinkovin, uporabljamo različne tehnike kot je na primer zmanjšanje velikosti delcev ali tvorba soli ki pa ne dajejo vedno zadovoljivih rezultatov. Zato raziskujemo tudi druge formulacijske pristope, kot je priprava trdnih disperzij, ki lahko bistveno izboljšajo raztapljanje in absorpcijo takih učinkovin.

Namen našega dela je bil izboljšati topnost in hitrosti raztapljanja v vodi slabo topne modelne učinkovine z vgraditvijo le te v pore poroznega hidrofilnega silicijevega dioksida z imenom Sylisia 350. Z različnimi metodami smo izdelali trdne disperzije. Uporabili smo metodo vzpostavitve ravnotežja raztopine učinkovine v acetonu z delci Sylisia, ter odparevanje raztopine učinkovine iz acetona v kombinaciji s Sylisia pri znižanem tlaku brez in z dodano površinsko aktivno snovjo.

Trdne disperzije smo analizirali z diferenčno dinamično kalorimetrijo (DSC), s katero smo ugotavljali amorfnost oziroma kristaliničnost učinkovine. Z BET analizo pa smo določali specifične površine por, na podlagi česar smo sklepali o napolnjenosti por Sylisia z učinkovino. Iz rezultatov izboljšanja močenja smo predvidevali, tudi izboljšanje sproščanja učinkovine iz trdnih disperzij. Vse izdelane disperzije smo nato analizirali s testi sproščanja.

Ugotovili smo, da izdelava trdnih disperzij v vseh primerih izboljša hitrost raztapljanja glede na samo kristalno in amorfno učinkovino. Ugotovili smo tudi, da se pri izdelavi trdne disperzije z odparevanjem topila pri znižanju tlaku, kjer smo pore najprej napolnili z natrijevim dodecilsulfatom (SDS), nato z učinkovino, in z vzpostavitvijo ravnotežja iz raztopine acetona hitrost sproščanja učinkovine najbolj poveča.

Seznam okrajšav

ATP – adenzin trifosfat

BCS - biopharmaceutical classification system (biofarmacevtski sistem klasifikacije)

DSA - drop shape analysis

DSC - diferenčna dinamična kalorimetrija

GMP – gvanidin monofosfat

MCM - Mobil Composition of Matter

PDDA – poli dimetildialilamonijev klorid

SBA - Santa Barbara Amorphous type material

SDS - natrijev dodecilsulfat

SEM - vrstični elektronski mikroskop

TUNA - tioundecil-tetraetilenglikolester-o-nitrobenziletildimetilamonijev bromid

1. Uvod

V razvoju zdravil se pojavlja vse več novih, v vodi slabo topnih, učinkovin. Glede na topnost in permeabilnost delimo učinkovine po BCS klasifikaciji (biopharmaceutical classification system - biofarmacevtski sistem klasifikacije). Pri spojinah z nizko topnostjo in dobro permeabilnostjo (razred II po BCS klasifikaciji) lahko z izboljšanjem raztapljanja povečamo tudi biološko uporabnost. Za slabo topno učinkovino navadno definiramo učinkovino, kjer se raztopi manj kot 1 del na 10000 delov vode (100 µg/mL). Vendar pa jih ima veliko še precej slabšo topnost – manjšo od 1 µg/mL. V zadnjem času pa kot slabo topno učinkovino obravnavamo tisto, ki v gastrointestinalni tekočini porabi več časa za raztapljanje, kot za absorpcijo (1,2).

Za izboljšanje topnosti slabo topnih učinkovin, uporabljamo različne tehnike na primer zmanjšanje velikosti delcev ali izdelavo soli, ki pa ne dajejo vedno zadovoljivih rezultatov. Učinkovino lahko kemijsko modificiramo in pripravimo predzdravilo, ki je bolje topno in prehaja v aktivno obliko med metabolizmom v telesu. Med mehanske metode izboljšanja topnosti prištevamo različne črpalke, ki zagotavljajo stalno dostavo učinkovine v telo (na primer mehanske, osmotske črpalke). Med fizikalno-kemijske metode pa lahko prištevamo uporabo liposomov, nanodelcev in drugih koloidnih nosilcev učinkovin. Raziskujejo tudi druge formulacijske pristope, kot na primer priprava trdnih disperzij, ki lahko bistveno izboljšajo absorpcijo takih učinkovin (1,3).

1.1. Trdne disperzije

Trdna disperzija je disperzija ene ali več aktivnih komponent v trdnem inertnem nosilcu. Pripravimo jo lahko s taljenjem, raztapljanjem ali s kombinacijo obeh metod. S trdnimi disperzijami želimo najpogosteje povečati hitrost raztapljanja in s tem doseči prenasičeno koncentracijo raztopine učinkovine na mestu absorpcije. Nastanejo lahko različne strukture: enostavne evtektične zmesi, trdne raztopine, steklaste raztopine in suspenzije, amorfni precipitati v oziroma na kristalnem nosilcu, kompleksne spojine ali kombinacije zgoraj naštetih struktur (4,5).

Trdne disperzije omogočajo ob stiku z vodnim medijem hitro sprostitev pomožnih snovi, težko topna učinkovina pa se sprosti v obliki koloidnih delcev, ki imajo veliko specifično površino. S tem se povečata topnost in posledično biološka uporabnost zdravilne učinkovine. To je velika prednost trdnih disperzij, vendar njihovo uporabo omejujejo

problemi pri izdelavi, kot na primer neustrezna topnost učinkovine in pomožne snovi v istem topilu pri metodi raztapljanja. Problem je tudi neponovljivost fizikalno-kemijskih lastnosti (delež kristaliničnosti oziroma amorfnosti), ki lahko nastane npr. zaradi različnega razmerja učinkovina-topilo ali pomožna snov-topilo. Težave se pojavijo tudi v povezavi z razvojem farmacevtske oblike, kot na primer lepljivost, slabe pretočne lastnosti, kar je pomemben omejitveni faktor pri tabletiranju ali kapsuliranju trdne disperzije. Najpogostejši primer fizikalne nestabilnosti trdnih disperzij pa je kristalizacija učinkovine in pomožne snovi (4,5,6).

Kljub vsemu pa poznamo izboljšave, ki omogočajo industrijsko proizvodnjo trdnih disperzij. Kot takšne uporabljamo polnjenje želatinskih kapsul s talino, ki jo nato ohladimo pri sobni temperaturi. Druge možnosti so uporaba površinsko aktivnih snovi, oblaganje jeder z raztopino učinkovine in pomožne snovi v zvrtnih plasteh, ekstruzija taline, tehnologija s superkritičnimi fluidi in druge tehnike (npr. granuliranje s talinami, evaporacijsko obarjanje v vodno raztopino, elektrostatska metoda s taljenjem, metoda odparevanja topila - adsorpcija učinkovine na porozen silicijev dioksid). Trdne disperzije izdelane z metodo odparevanja topila (kjer ostane pomožna snov neraztopljena, učinkovina pa se obori v porah oziroma adsorbira na površini) imajo boljše pretočne lastnosti in boljšo stisljivost kot tiste izdelane s taljenjem, zaradi česar je izdelava tablet iz njih lahko dokaj enostavna. Uporabimo lahko namreč relativno majhen delež polnila in razgrajevala, dobimo pa tablete, iz katerih se učinkovina zelo hitro popolnoma sprosti (6).

Mehanizmi povečanja topnosti in hitrosti raztapljanja učinkovin iz trdnih disperzij

Mehanizmov, ki vplivajo na povečanje topnosti in hitrosti raztapljanja učinkovin iz trdnih disperzij je več.

Kadar učinkovina in pomožna snov tvorita evtektično zmes, kristalizirata v obliki zelo majhnih delcev. Posledica zmanjšanja delcev je povečanje specifične površine, kar poveča hitrost raztapljanja in neravnotežno topnost, ter tako posredno pospeši peroralno absorpcijo v vodi težko topnih spojin. Pri trdnih raztopinah je učinkovina molekularno dispergirana v nosilcu zaradi česar se poveča specifična površina, kar poveča topnost. Nadaljnji možni mehanizem je solubilizacijski učinek nosilca v mikrookolju (difuzijska plast), ki se v okolici učinkovine hitro in popolnoma raztopi, kar poveča njeno hitrost raztapljanja. Odsotnost agregacije in aglomeracije med kristali čiste hidrofobne zdravilne učinkovine

ima ravno tako pomembno vlogo pri povečevanju hitrosti raztapljanja. Dobro močenje in dispergirano zdravilne učinkovine iz evtektične zmesi z lahko topnim nosilcem omogoča povečanje hitrosti raztapljanja zdravilne učinkovine v vodnem mediju. Do povečanja hitrosti raztapljanja pa lahko pride tudi, kadar pri ohlajanju iz taline zdravilna učinkovina kristalizira v manj stabilni kristalni obliki oziroma se nahaja v amorfni obliki (4).

1.2. Porozne pomožne snovi za izdelavo trdnih disprezij

Hitrost raztapljanja in s tem biološko uporabnost učinkovin lahko povečamo z uporabo adsorbentov z veliko specifično površino, kot so: silikagel, mikrokristalna celuloza ali laktoza. Učinkovina se iz topila na nosilec v več slojih adsorbira v amorfni ali kristalni obliki. Na ta način povečana specifična površina učinkovine poveča njeno hitrost raztapljanja. Z adsorpcijo polarnih učinkovin iz nepolarnega topila lahko učinkovino na nosilec nanese v obliki monosloja. Ko damo takšen adsorbat v vodo, pride do izpodrivanja molekul učinkovine z bolj polarnimi molekulami vode (4).

Mezoporozni nosilci

Mezoporozni nosilci imajo periodično geometrijsko ureditev por velikosti od 2 do 50 nm. Sem štejemo tudi silikate, ki v vodi ne nabrekajo in omogočajo funkcionalizacijo površine ter notranjosti por. Porozna struktura je lahko urejena, tako da pogosto izkazujejo nekatere kristalom podobne lastnosti (npr. visoka trdnost) (7, 8). Na profil sproščanja učinkovin vpliva arhitektura (9) ter velikost por ogrodja (10), specifične interakcije med učinkovino in steno por (11) ter struktura vgrajene učinkovine (12). Ker ta ogrodja ne nabrekajo, je sproščanje običajno regulirano difuzijsko, razen pri funkcionaliziranih mezopornih ogroddih, kjer nad difuzijsko kontrolo prevlada kinetika tvorbe ali razpada kompleksov med funkcionalnimi skupinami v stenah por in učinkovino (12, 13).

Sylisia

Sylisia je bel mikroniziran amorfni prašek, ki je porozen, kemijsko inerten ter brez vonja in okusa. Sylisia je izdelana iz kemijsko inertnega amorfnega silikagela visoke čistosti (ne manj kot 99,7% silicijev dioksid) (14).

Sylisia se uporablja kot pomožna snov za pretvorbo tekočin v praške oziroma kot nosilec za tekoče učinkovine, dišave in vitaminska olja. Druge uporabe vključujejo izboljšanje pretočnosti praškov, tabletiranje, oblaganje, kot dodatek mazilom in losjonom ter v

kozmetiki. Sylisia ima dobre lastnosti uporabe saj stabilizira vonj (v kozmetičnih izdelkih) in izboljša pretočne lastnosti zmesi za tabletiranje (15).

Sylisia ima na površini veliko silanolnih skupin, ki lahko z drugimi molekulami tvorijo vodikove vezi. Različne oblike silicijevega dioksida, ki imajo različne lastnosti, se razlikujejo v velikosti delcev, stopnji hidrofilnosti in strukturi por. Obstaja več oblik silicijevega dioksida, ki ga kot pomožno snov uporabljamo v farmaciji, glede na poroznost in hidrofilnost na primer ločimo neporozna Aerosil 200, ki je hidrofilen, in Aerosil R972, ki je hidrofoben. Porozni pa sta obliki Sylisia 350, ki je hidrofilna in Sylophobic 200, ki je hidrofoben. Za izboljšanje topnosti v vodi slabo topne učinkovine je smiselna uporaba hidrofilnih oblik silicijevega dioksida. Interakcija med učinkovino in Sylisia lahko zavre kristalizacijo učinkovine zaradi vezave učinkovine na njeno površino (14,16).

Nefunkcionalizirana mezoporozna ogrodja

Pri slabo topnih učinkovinah lahko kinetiko raztapljanja pospešimo tako, da se izognemo raztapljanju delcev učinkovine, s čimer preprečimo prekinitev hidrofobnih vezi med molekulami učinkovine. To lahko dosežemo tako, da pripravimo monosloj oz. molekularno disperzijo učinkovine v ustreznem ogrodju. Hitrost sproščanja učinkovine do optimalne vsebnosti narašča. Vendar pa je hitrost sproščanja bistveno večja od hitrosti raztapljanja nevgrajene kristalne učinkovine. Razlog je v majhni velikosti delcev vgrajene učinkovine in morebitnega obstoja amorfnih oblik tudi v primeru, ko je vsebnost učinkovine večja od kapacitete za tvorbo molekularne disperzije (12).

Funkcionalizirana mezoporozna ogrodja

Z načrtno funkcionalizacijo površine mezoporoznih ogrodij lahko dosežemo selektivno odzivnost na specifične zunanje stimuluse (npr. določen pH, prisotnost specifičnih ionov, reducentov, magnetnega polja ali UV svetlobe).

Tudi na tem področju je bilo narejenih več raziskav. Bernardos in sodelavci so preučevali dostavo vitamina B₂ z ogrodjem s poliamini funkcioanaliziranega MCM-41 (Mobil Composition of Matter No. 41 (17)) mezoporoznega ogrodja. S pripenjanjem poliaminskega prekursorja na površino ogrodja je bilo doseženo na pH in vrsto aniona občutljivo sproščanje vitamina B₂. Ugotovili so, da pri pH 2 nastane odboj med poliaminskimi verigami zaradi protonacije aaminskih skupin, zaradi česar se le te razprejo in zaprejo pore ter tako preprečujejo sproščanje vitamina. Pri pH 7 pa se vitamin sprošča le

v prisotnosti sulfata in gvanidin monofosfata (GMP-ja), ob prisotnosti fosfata in adenozin trifosfata (ATP-ja) pa ostanejo pore zaprte. To so pojasnili s tvorbo kompleksov poliamin-anion, ki tudi v nevtralnem pH-ju preprečuje odpiranje por. Tak sistem je uporaben predvsem za dostavo, v kislem nestabilnih, učinkovin (18).

Yang in sodelavci pa so izvedli študijo na učinkovinah občutljivih na bazičen pH oz. učinkovinah, pri katerih je zaželeno sproščanje le v kislem mediju. Pripravili so heksagonalni SBA-15 (Santa Barbara Amorphous type material 15 (17)) funkcionaliziran s karboksilnimi kislinami, na katerega so vezali poli (dimetildialilamonijev klorid)-PDDA. Pri nizkih pH-jih se $-\text{COO}-$ skupine protonirajo, ionske interakcije izginejo, makromolekule PDDA pa posledično oddifundirajo, odprejo pore ter tako omogočajo sproščanje učinkovine (19).

Lai in sodelavci so pripravili mezoporozne silikatne nanodelce na osnovi MCM-41 in jih funkcionalizirali z molekulo, ki je v svoji strukturi vsebovala disulfidni mostiček s terminalno amino skupino. Nato so vgradili učinkovino, čemur je sledilo kovalentno pripenjanje s COOH funkcionaliziranih CdS nanodelcev preko amidne vezi z disulfidnim mostičkom. Sproščanje učinkovine so sprožili z redukcijo disulfidne vezi po dodatku ditiotreitola ali merkaptetanola. Pokazali so, da je hitrost sproščanja regulirana s kinetiko redukcije disulfidne vezi, ki je odvisna od koncentracije reducenta (20).

Za usmerjeno dostavo učinkovin pa so Giri in sodelavci namesto CdS nanodelcev uporabili superparamagnetne Fe_3O_4 nanodelce. Usmerjanje so tako dosegli preko interakcije z zunanjim magnetnim poljem, sproščanje pa so ravno tako sprožili z uporabo reducenta (21).

Narejena je bila tudi raziskava v kateri so Vivero-Escoto in sodelavci pripravili foto-občutljiv dostavni sistem za intracelularno sproščanje paklitaksela. Nanodelce MCM-41 velikosti 100 nm so funkcionalizirali s foto-občutljivim mostičkom tioundecil-tetraetilenglikolester-o-nitrobenziletildimetilamonijevega bromida (TUNA). Na 5nm zlate nanodelce so pripeli TUNA in tako dobili organsko modificirane zlate nanodelce s pozitivnim površinskim nabojem. Le ti so se nato vezali z elektrostatskimi interakcijami na negativno nabito površino MCM-41. Po aplikaciji svetlobe z valovno dolžino približno 365nm se mostiček TUNA razcepi, kar povzroči nastanek negativnega naboja na zlatih nanodelcih. Zaradi nastanka elektrostatskih odbojev pride do odcepitev zlatih nanodelcev, kar omogoči sproščanje učinkovine (22).

Izboljšanje sproščanja učinkovin iz trdnih disperzij s silicijevim dioksidom

Na področju izboljšanja sproščanja učinkovine je v literaturi objavljenih nekaj rezultatov raziskav, kjer so ugotavljali topnost učinkovin indometacina in tolbutamida vgrajenega v trdno disperzijo s poroznim (Sylisia 350) in neporoznim silicijevim dioksidom (Sylisia 200).

Pri eksperimentu z indometacinom so Takeuchi in sodelavci trdne disperzije pripravili z metodo sušenja z razprševanjem topila. Ugotovili so, da se topnost učinkovine najbolj poveča v primeru izdelave trdne disperzije s poroznim silicijevim dioksidom, manj v primeru neporoznega silicijevega dioksida, še manj v primeru samega indometacina pripravljenega z metodo sušenja z razprševanjem. Najslabša topnost pa je v primeru originalne učinkovine. Razloge za takšne rezultate so iskali v boljšem močenju, dispergiranju, zmanjšanju velikosti delcev in razliki v kristaliničnosti. Nadaljnje so ugotavljali odvisnost kristaliničnosti oziroma amorfности učinkovine vgrajene v trdne disperzije od razmerja količine učinkovine glede na silicijev dioksid. Ugotovili so, da je pri večjih količinah učinkovine v disperziji le ta v amorfni obliki ne glede na to ali se obori v porah ali zunaj njih. Bistveno razliko so ugotovili tudi v stabilnosti amorfne oblike učinkovine v trdnih disperzijah pri povišani relativni vlagi in temperaturi. Z uporabo porozne Sylisia 350 so dobili bolj stabilne disperzije kot v primeru Aerosil (23).

Takeuchi in sodelavci so pri eksperimentu s tolbutamidom pripravili trdne disperzije z neporoznim silicijevim dioksidom (hidrofilnim in hidrofobnim) in poroznim silicijevim dioksidom (hidrofilnim in hidrofobnim). Za pripravo so uporabili sušenje z razprševanjem ali evaporacijsko metodo. Ugotovili so, da se je topnost učinkovine, pripravljene v obliki trdne disperzije s hidrofilnim silicijevim dioksidom povečala glede na originalne kristale učinkovine ali učinkovino pridobljeno s sušenjem z razprševanjem brez uporabe silicijevega dioksida. Pri uporabi hidrofobnega silicijevega dioksida, pa je bilo sproščanje slabše kot pri uporabi originalne kristalne učinkovine. Ugotovili pa so tudi, da se trdna disperzija, pripravljena z evaporacijsko metodo hitreje raztaplja kot tista pripravljena z metodo sušenja z razprševanjem. Izboljšanje sproščanja učinkovine iz trdnih disperzij so pripisali izboljšanemu močenju, izboljšani disperzibilnosti delcev v mediju za raztapljanje, zmanjšanju velikosti delcev in znižanju kristaliničnosti učinkovine (16).

Mellaerts in sodelavci so na tem področju naredili študijo na hidrofobni učinkovini itrakonazol vezani v mezoporozen heksagonalen nosilec SBA-15 z velikostjo por 4,5 do 9

nm. V nosilec so vgradili naraščajoče količine učinkovin, njihove strukturne lastnosti pa so preučevali na podlagi DSC analize. Ugotovili so, da se do 24,6% vgrajene učinkovine vsa nahaja v amorfní obliki, nad to koncentracijo, pa sta prisotni tako kristalna kot amorfná oblika. BET analiza pa je pokazala, da ima ogrodje kapaciteto za tvorbo monosloja do približno 22,9%. Ob upoštevanju napake pri oceni kapacitete ogrodja lahko rečemo, da je učinkovina pod vsebnostjo 24,6% molekularno dispergirana v ogrodju. Ugotovili so tudi, da hitrost sproščanja narašča do neke maksimalne vrednosti (pri 32,1%), nato pa pada. Zaradi hidrofilnosti ogrodja je fizisorpcija (adsorpcija, kjer so pri vezavi molekule na ogrodje pomembne šibke Van der Waalsove vezi) hidrofozne učinkovine šibkejša od fizisorpcije z vodo, zato voda izpodriva učinkovino iz vezavnih mest. Pri večjih vsebnostih učinkovine, kjer tvorba monosloja ni več mogoča, pa je sproščanje nadzorovano z raztapljanjem kristaliničnega oz. amorfnega itakonazola v porah. Preučevali so tudi vpliv velikosti por na hitrost sproščanja kjer so ugotovili, da je difuzija v manjših porah sterično ovirana, medtem ko z večanjem velikosti por hitrost sproščanja narašča (13).

Van Speybroeck in sodelavci pa so preučevali izboljšanje raztapljanja desetih v vodi slabo topnih učinkovin, ki so jih vgradili z inkapsulacijo v urejen mezoporozen silicijev dioksid SBA-15. Ugotovili so, da se pri vseh desetih slabo topnih učinkovinah hitrost raztapljanja bistveno poveča glede na samo kristalno učinkovino. V vseh primerih je bila učinkovina prisotna v amorfní obliki, kar so dokazali z DSC analizo. Hitro sproščanje je posledica hitrega raztapljanja učinkovine, ki ji sledi hitra difuzija v »bulk medij«. Ugotovili so tudi, da ne pride do razlik v hitrosti sproščanja učinkovine glede na velikost same molekule, ker so pore v SBA-15 dovolj široke, da omogočajo relativno neovirano difuzijo učinkovin. Vgraditev učinkovine v pore SBA-15 zavre kristalizacijo učinkovine. Pri staranju vzorca pa so ugotovili fizikalno stabilnost oblike, kjer učinkovine niso kristalizirale. Glede na primerljiv profil sproščanja vseh modelnih učinkovin, so sklepali, da na sproščanje učinkovine interakcije med hidrofobnim delom molekule in silanolnimi skupinami na površini SBA-15 nimajo velikega vpliva. Na hitrost sproščanja učinkovine vpliva čas potreben za difuzijo iz por nosilca, na kar vpliva velikost delcev SBA-15 in premer por. Prišli so tudi do zanimive ugotovitve, da se karbamazepin iz fizikalne zmesi sprošča hitreje kot iz formulacije z SBA-15. Razlog za to je v tvorbi vodikovih vezi med amidno skupino karbamazepinom in silanolno skupino SBA-15 na površini SBA-15. Molekule učinkovine s površine se takoj sprostijo, medtem ko je za difuzijo učinkovine iz por potreben čas (12).

Charnay in sodelavci so naredili študije na mezoporoznem silicijevem dioksidu MCM 41, ki ima heksagonalno organizirane kanale, ozko distribucijo nanopor in veliko specifično površino. MCM 41 predstavlja alternativo nanodelcem kot dostavnem sistemu. V študiji so preučevali adsorpcijo na mezoporozen silicijev dioksid MCM 41 in neporozen aerosil. Pri polnjenju por so uporabili dve metodi. Pri prvi so pripravili raztopine učinkovine v različnih topilih (dimetilsulfoksid, dimetilacetamid, dimetilformamid, etanol in heksan), dodali MCM 41 in pustili 24 ur, da se je vzpostavilo ravnotežje. Pri drugi pa so MCM 41 večkrat impregnirali z raztopino ibuprofena v etanolu. Ugotovili so, da se je adsorbiralo več ibuprofena na MCM 41 kot na aerosil. Iz tega so sklepali, da se je pri adsorpciji na MCM 41 učinkovina vezala tudi v pore. Pore so namreč dovolj velike, da lahko ibuprofen pride v notranjost le teh, poleg tega pa tudi ne omejujejo difuzije učinkovine. Vendar pa relativen prispevek na adsorpcijo učinkovine na zunanjo površino in v notranjost por ni ocenjen, saj poteka adsorpcija spontano in enakomerno. Ugotovili so, da pri metodi z vzpostavitvijo ravnotežja, le dve najmanj polarni topili (heksan in etanol) omogočata adsorpcijo ibuprofena na MCM 41 v zadostnih količinah. Molekule učinkovine difundirajo zaradi kapilarnosti skupaj s topilom v pore, kjer po odstranitvi topila tudi ostanejo. Na koncu so vzorec na hitro sprali, da so odstranili ibuprofen vezan na zunanjo površino MCM 41. Tako so zagotovili, da je v porah prisotna le amorfna oblika ibuprofena, kar so ugotovili z rentgensko praškovno analizo. Za preučevanje sproščanja učinkovine so uporabili simulirano biološko tekočino in ugotovili 100% sprostitve učinkovine na koncu in vitro eksperimenta (24).

1.3. Modelna učinkovina

Modelna učinkovina spada v farmakoterapevtsko skupino zaviralcev adrenergičnih receptorjev alfa in beta (25).

Največji dovoljeni odmerek modelne učinkovine je 25 mg 2-krat na dan (25).

Diagram 1 prikazuje topnost modelne učinkovine pri različnih pH-jih. Določena je bila s stresanjem nasičene raztopine 72 ur na stresalniku pri sobni temperaturi. Vidimo, da je spojina najboljše topna pri pH okrog 5,5, medtem ko je topnost pri pH 1,2 bistveno slabša, še slabša pa pri pH 6,8.

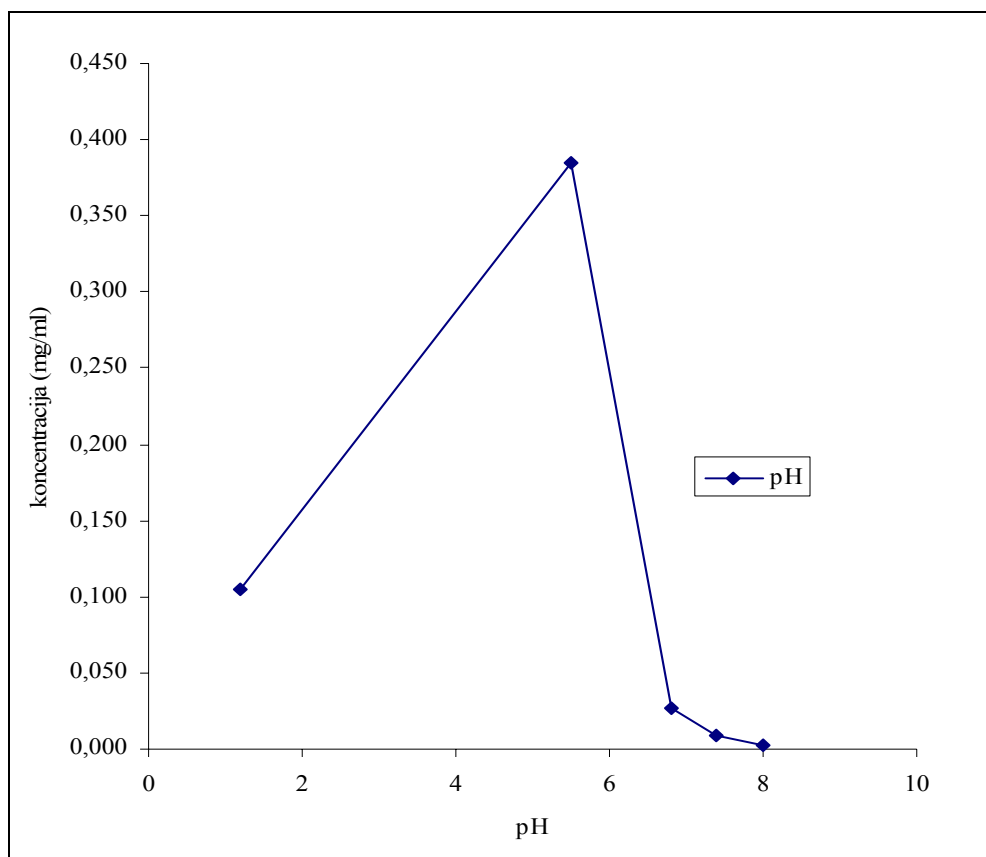


Diagram 1: Topnost modelne učinkovine pri različnih pH-jih

2. Namen dela

Namen dela je izboljšanje topnosti v vodi slabo topne modelne učinkovine, katere topnost pri pH 6,8 znaša 0,027 mg/mL. Omejitev učinkovin z nizko topnostjo in dobro permeabilnostjo je nizka biološka uporabnost. Našo modelno učinkovino bomo vgrajevali v porozno hidrofilno ogrodje Syllisia 350. To je porozni silicijev dioksid s povprečno velikostjo por 25 nm in velikostjo delcev 3,1 do 20,0 μm . Za izdelavo trdnih disperzij bomo uporabili različne tehnike in preučevali spremembe v hitrosti sproščanja učinkovine. Trdne disperzije bomo pripravili z vzpostavitvijo ravnotežja iz raztopine učinkovine v organskem topilu in z odparevanjem topila pri znižanem tlaku brez dodatka ali z dodatkom površinsko aktivne snovi natrijevega dodecilsulfata. Učinkovino, pomožno snovi in izdelane trdne disperzije bomo vrednotili glede na nekatere fizikalno-kemijske lastnosti kot so specifična površina, velikost in morfologija delcev ter močljivost. Izvedli bomo tudi teste raztapljanja v različnih biorelevantnih medijih. Profile sproščanja učinkovine iz teh trdnih disperzij bomo primerjali z raztapljanjem same amorfne in kristalne oblike učinkovine. Opazovali bomo prisotnost amorfne oziroma kristalne oblike učinkovine v trdnih disperzijah s preučevanjem termičnih lastnosti. Določili bomo tudi specifično površino por in močljivost Syllisia, učinkovine in izdelanih trdnih disperzij pred in po polnjenju z učinkovino in ugotavljali povezavo med napolnjenostjo por oziroma vsebnostjo učinkovine v pomožni snovi in hitrostjo sproščanja učinkovine.

3. Eksperimentalno delo

3.1. Materiali

Učinkovina

Uporabili smo modelno učinkovino podjetja Krka d.d.

Sylisia 350

Kot porozno pomožno snov smo uporabili porozen silicijev dioksid (99,7%) proizvajalca Fuji.

Natrijev dodecilsulfat (SDS)

Kot površinsko aktivno pomožno snov smo uporabili natrijev dodecilsulfat proizvajalca J.T. Baker.

Topili uporabljeni pri izdelavi trdnih disperzij

- Prečiščena voda
- Aceton CH_3COCH_3 (Merck, Nemčija)

Reagenti za pripravo medijev za raztapljanje

- Prečiščena voda
- Natrijev dihidrogenfosfat dihidrat; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck, Nemčija)
- Natrijev hidroksid; NaOH (Merck, Nemčija)
- Klorovodikova kislina; HCl , 37 % (Merck, Nemčija)

Filtri

Minisart® SRP 15 0,2 μm [politetra-fluoroetilen (PTFE) membrana, hidrofoben]

3.2. Aparature

Pri eksperimentalnem delu smo uporabljali naslednje aparature:

- Analizna tehnica, A-150-sx, Cobos, Španija
- Tehnica Exacta 300 EB, Železniki, Slovenija
- Aparat za odparevanje topila pri znižanem tlaku: RV 05-ST, Ika Labortechnik, Nemčija
- Vodna kopel: Ika TE 2 Temperierbad, Ika Labortechnik, Nemčija

- Merilnik tlaka: IKAVAC VC1 Vacuumcontroller, Ika Labortechnik, Nemčija
- Ultrazvočna kadička: Sonis 4, Iskra, Slovenija
- Naprava za merjenje pH raztopin: pH METER, Mettler Toledo MA235, Švica
- Magnetno mešalo MM-531, Železniki, Slovenija
- Naprava z vesli za spremljanje sproščanja: VANKEL VK 7000, ZDA
- Spektrofotometer: Hewlett Packard, HP 8453, UV-Visible spectroscopy system, Nemčija
- Diferenčni dinamični kalorimeter: Mettler-Toledo Differential Scanning Calorimeter DSC1, opremljen s programsko opremo STARe Software v9.10, Švica
- Naprava za določanje velikosti delcev z lasersko difrakcijo: Malvern Mastersizer S, Velika Britanija
- Ročna hidravlična stiskalnica za stiskanje praškov v ploščice, Graseby Specac, Velika Britanija
- Naprava za merjenje stičnega kota: Drop Shape Analysis System - DSA100, Krüss, Nemčija
- Osebni računalnik, povezan z DSA100, z nameščenim računalniškim programom Krüss Drop Shape Analysis 1.90.0.14
- Naprava za določitev specifične površine in poroznosti: Tristar 3000, Micromeritics, ZDA
- Vrstični elektronski mikroskop (SEM): FE-SEM, Supra 35 VP, Carl Zeiss, Nemčija

3.3. Metode

Izdelave trdnih disperzij

Pri izdelavi vzorcev smo uporabili učinkovino, porozen silicijev dioksid Sylisia 350 in topilo aceton. Pri pripravi določenih vzorcev pa smo uporabili tudi pomožno snov SDS (natrijev dodecilsulfat) raztopljen v vodi.

Ker je učinkovina v vodi slabo topna, smo jo raztopili v acetonu. Izbrali smo topilo, v katerem je učinkovina dobro topna, medtem ko se Sylisia v vseh uporabljenih topilih ne raztaplja.

Pomožna snov SDS je površinsko aktivna snov, od katere smo pričakovali, da se bo s svojim hidrofilnim delom vezala na porozen hidrofilen silicijev dioksid, s hidrofobnim pa bo nase adsorbirala zdravilno učinkovino. Raztopili smo jo v prečiščeni vodi.

Sylisia 350 je nefunkcionalizirano mezoporozno hidrofilno ogrodje, v porah katerega prihaja do obarjanja učinkovine.

Izdelava trdnih disperzij z vzpostavitvijo ravnotežja

Trdne disperzije smo pripravili z vzpostavitvijo ravnotežja med površino Sylisia in raztopino učinkovine v acetonu. Pripravili smo štiri različne koncentracije raztopin (5, 20, 30 in 100 g/L, volumen raztopin-100 ml), jim dodali 2 g Sylisia® in pustili mešati 24 ur, da se je vzpostavilo ravnotežje. Suspenzijo smo nato filtrirali skozi filter (SRP 15, 0,2 µm) in sušili v vakuumskem sušilniku pri sobni temperaturi 2 uri. Vsebnost učinkovine v disperziji smo določili tako, da smo natančno natehtano maso disperzije suspendirali v acetonu. Učinkovina se je raztopila, njeno koncentracijo pa smo po filtriranju skozi filter (SRP 15, 0,2 µm) določali spektrofotometrično z merjenjem absorbance pri 332 nm in računanjem na osnovi umeritvene premice. Absorbanco vzorcev smo pomerili s kiveto iz kvarčnega stekla in potjo žarka 1,0 cm.

Izdelava trdnih disperzij z odparevanjem topila pri znižanem tlaku

Pripravili smo 100 ml raztopine učinkovine v acetonu, dodali 2 g Sylisia in topilo odparevali pri znižanem tlaku do suhega (50 obratov na minuto; 10 mbar nad parnim tlakom vode, znižanje tlaka smo dosegli z vodno črpalko; vodna kopel je bila termostatisirana na 50°C). Spreminjali smo razmerja med učinkovino in Sylisia (dodali smo 1, 2 in 4 g učinkovine). Masna razmerja učinkovina proti Sylisia so bila: 0,5:1, 1:1, 2:1.

Izdelava trdnih disperzij z odparevanjem topila pri znižanem tlaku z dodatkom površinsko aktivne snovi (SDS)

Pripravili smo 100 ml raztopine učinkovine v acetonu in SDS (0,01 g) v vodi, dodali 2 g Sylisia in topilo odparili do suhega pri znižanem tlaku (50 obratov na minuto; 10 mbar nad parnim tlakom vode, znižanje tlaka smo dosegli z vodno črpalko; vodna kopel je bila termostatisirana na 50°C). Spreminjali smo vrstni red odparevanja topila pri znižanem tlaku raztopin in razmerje učinkovina proti Sylisia, katere količina se ni spreminjala. S spreminjanjem vrstnega reda dodajanja snovi, smo poskusili potrditi predpostavko, da se površinsko aktivna snov adsorbira v porah Sylisia, nanjo pa se s hidrofobnimi vezmi veže hidrofobna učinkovina. S spreminjanjem razmerja učinkovina proti Sylisia pa smo poskusili ugotoviti, ali se pri kateri od uporabljenih koncentracij učinkovine ogrodi prenasiti, kar bi lahko bistveno spremenilo sproščanje.

Pri prvem sklopu vzorcev smo Sylisia (2 g) najprej dodali vodno fazo (100 ml) z raztopljenim SDS (0,01 g), odparili topilo pri znižanem tlaku (10 mbar nad parnim tlakom

vode), nato pa dodali še aceton (100 ml) z raztopljeno učinkovino (1, 2 in 4 g) in ponovno odparili topilo pri znižanem tlaku. Masna razmerja učinkovina proti Sylisia so bila: 0,5:1, 1:1, 2:1.

Pri naslednjem sklopu smo Sylisia (2 g) najprej dodali aceton z raztopljeno učinkovino (1, 2 in 4 g v 100 ml acetona), odparili topilo pri znižanem tlaku (10 mbar nad parnim tlakom vode), nato pa dodali še vodno fazo z raztopljenim SDS (0,01 g v 100 ml vode). Masna razmerja učinkovina proti Sylisia so bila: 0,5:1, 1:1, 2:1.

V zadnjem sklopu pa smo najprej zmešali vodno raztopino z SDS (0,01 g v 100 ml) in aceton z učinkovino (1, 2 in 4 g v 100 ml), nato pa zmesi te raztopine dodali Sylisia (2 g) in odparili topilo pri znižanem tlaku (10 mbar nad parnim tlakom vode). Masna razmerja učinkovina proti Sylisia so bila: 0,5:1, 1:1, 2:1.

Vrednotenje trdnih disperzij

Preskus raztapljanja

Preskus raztapljanja smo izvedli po Ph. Eur. 7th Ed., pri čemer smo uporabili napravo z vesli. Raztapljali smo maso trdne disperzije, ki je vsebovala 25 mg učinkovine, kar ustreza enkratnemu odmerku te učinkovine. Uporabili smo dva različna medija: fosfatni pufer (pH=6,8) in HCl (pH=1,2). V fosfatnem pufru sicer niso zagotovljeni »sink« pogoji, vendar smo ga uporabili, ker smo ugotovili, da je bolj diskriminatoren medij v primerjavi s HCl in smo na ta način videli večje razlike med sproščanjem učinkovine iz posameznih vzorcev. »Sink« pogoji pomenijo, da v mediju za sproščanje končna koncentracija učinkovine ne sme presegati ene tretjine nasičene topnosti učinkovine v tem mediju. S tem dosežemo, da raztapljanje ni omejeno s topnostjo (Ph. Eur. 7th Ed.).

Ob določenih časovnih intervalih (2,5, 5, 10, 15, 30, 45, 60 in 120 min) smo ročno odvzeli 10 ml vzorca iz raztopine. Volumna odvzetega vzorca nismo nadomeščali, zato smo pri računanju upoštevali izgubo volumna. Koncentracijo učinkovine v odvzetih vzorcih smo določili spektrofotometrično z merjenjem absorbance pri 241 nm in računanjem na osnovi umeritvene premice. Absorbanco vzorcev smo pomerili s kiveto iz kvarčnega stekla in potjo žarka 1,0 cm. Študije raztapljanja smo izvedli v dveh paralelkah. Temperatura medija je bila $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, hitrost mešanja 50 obratov na minuto.

Priprava medijev za sproščanje

- Klorovodikova kislina pH=1,2

V 1000 ml bučo smo zlili 900 ml prečiščene vode in v digestoriju dodali 8,5 ml 37 % HCl. Bučo smo nato dopolnili s prečiščeno vodo do oznake.

- Fosfatni pufer pH=6,8

6,8 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ in 0,9 g NaOH smo natehtali v 1000 ml bučko in dopolnili s prečiščeno vodo do oznake. Nato smo preverili pH.

Diferenčna dinamična kalorimetrija (DSC)

Termično analizo vzorcev smo izvedli z instrumentom Mettler-Toledo Differential Scanning Calorimeter DSC1, opremljenim s programsko opremo STARe Software v9.10. Vzorce smo segrevali od -10 do 150°C. Hitrost segrevanja je bila 20 K/min. Meritve pa so bile izvedene v dušikovi atmosferi (s pretokom dušika 40 ml/min). Za umerjanje aparata smo uporabili indij.

Določitev specifične površine por

Pred analizo smo vzorce vakuumirali dve uri pri sobni temperaturi. Specifično površino por v vzorcih smo določili z BET analizo, ki temelji na adsorpciji plina (dušika). Uporabili smo napravo za določitev specifične površine in poroznosti Tristar 3000, Micromeritics, ZDA.

Velikost delcev

Velikost delcev smo določali z lasersko difrakcijo na Malvern Mastersizer S, pri čemer smo uporabili medij vodo (približno 100 ml) z dodatkom površinsko aktivne snovi, da so se delci lepše dispergirali v mediju. Pri meritvi smo uporabili lečo 300 RF, ki omogoča merjenje delcev od 0,05 do 1000 μm .

Določanje močljivosti

Pripravili smo ploščice stisnjenih praškov. Natehtali smo približno 200 mg praška in ga 10 sekund stiskali z ročno hidravlično stiskalnico s silo 20 kN. Dobili smo ploščice stisnjenih vzorcev, na katerih smo nato merili močenje.

Stični kot fosfatnega pufra (ki smo ga uporabili že pri preskusu raztapljanja) na preiskovanih vzorcih smo določali z metodo sedeče kapljice s pomočjo aparature Krüss Drop Shape Analysis – DSA 100 povezano z osebnim računalnikom in ob uporabi

računalniškega programa Krüss Drop Shape Analysis. Volumen injicirane kapljice na preiskovano površino je bil 2 μ l. Stični kot smo določili takoj po stiku kapljice s površino ploščice. Pronicanje kapljice smo snemali s kamero. Na dobljenem videu smo nato s pomočjo računalniškega programa z metodo sedeče kapljice določili začetni stični kot in čas pronicanja kapljice pufra.

Morfologija delcev

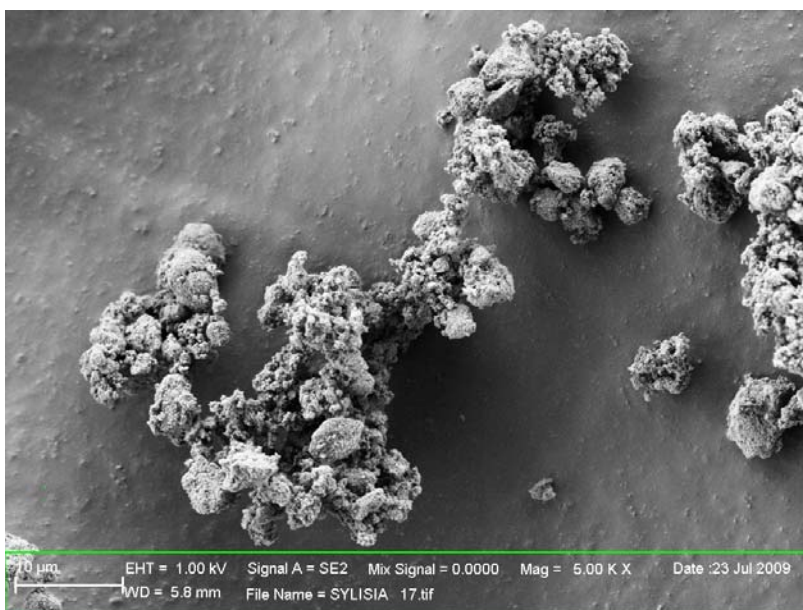
Morfologijo delcev smo preučevali z vrstično elektronsko mikroskopijo (SEM). Posušene vzorce smo nalepili na dvostranski ogljikov lepilni trak in jih nato preučevali z vrstičnim elektronskim mikroskopom SEM Supra 35 VP (Carl Zeiss, Nemčija).

4. Rezultati in razprava

4.1. Fizikalno-kemijske lastnosti Sylisia 350

Morfologija delcev

Slika 1 prikazuje elektronsko mikroskopsko sliko hidrofilne Sylisia 350. Opazimo aglomerate delcev nepravilnih oblik, ki so veliki približno 5 μm .



Slika 1: Elektronsko mikroskopska slika Sylisia 350

Določitev specifične površine in porazdelitev velikosti por

S pomočjo BET analize smo izmerili površino Sylisia, volumen in premer por, kar prikazuje preglednica I.

Preglednica I: Rezultati BET analize Sylisia 350

Vzorec	BET površina (m^2/g)	Celokupni volumen por (za pore manjše od 160 nm), premer pri P/P_0 0,99 (cm^3/g)	Povprečni premer por (4V/A pri BET) (nm)
Sylisia	277,50	1,76	25,34

Kasneje smo na enak način te parametre izmerili tudi pri Sylisia polnjeni z učinkovino, tako, da smo jih lahko primerjali pred in po polnjenju.

Velikost delcev

S pomočjo laserskega difraktometra (Malvern Mastersizer S) smo določili mediano velikosti delcev Sylisia, ki znaša 7 μm . Izmerjena vrednost se ujema z deklarirano vrednostjo proizvajalca, ki znaša med 3,1 in 20,0 μm .

Določanje močljivosti

Preglednica II prikazuje začetni stični kot in čas pronicanja pufru v stisnjeno ploščico Sylisia. Ne prvega ne drugega v tem primeru ni možno določiti, saj je Sylisia preveč porozen in hidrofilen material in kapljica takoj ponikne.

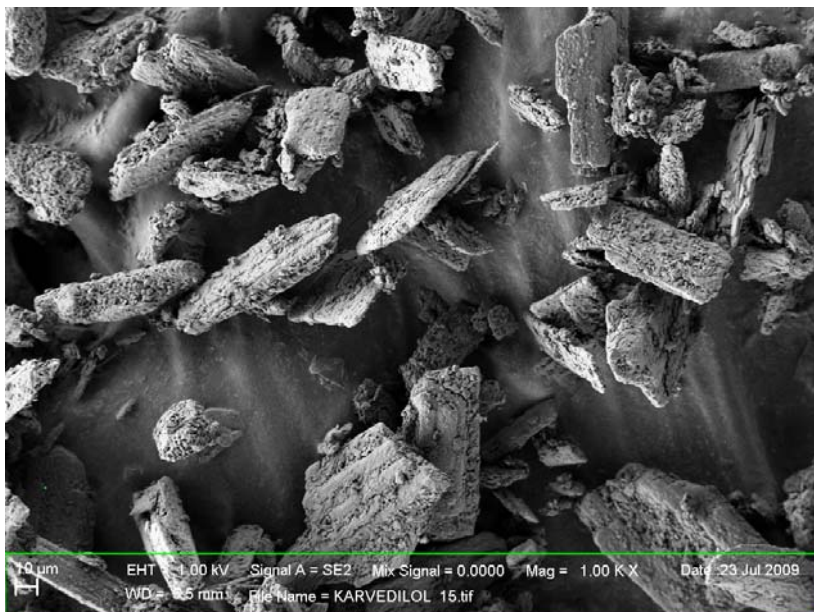
Preglednica II: Rezultati določanja stičnega kota Sylisia 350

Vzorec	Začetni stični kot ($^{\circ}$)	Čas pronicanja kapljice pufru v vzorec (sek)
Sylisia	Nedoločljivo (0)	Nedoločljivo (0)

4.2. Fizikalno-kemijske lastnosti zdravilne učinkovine

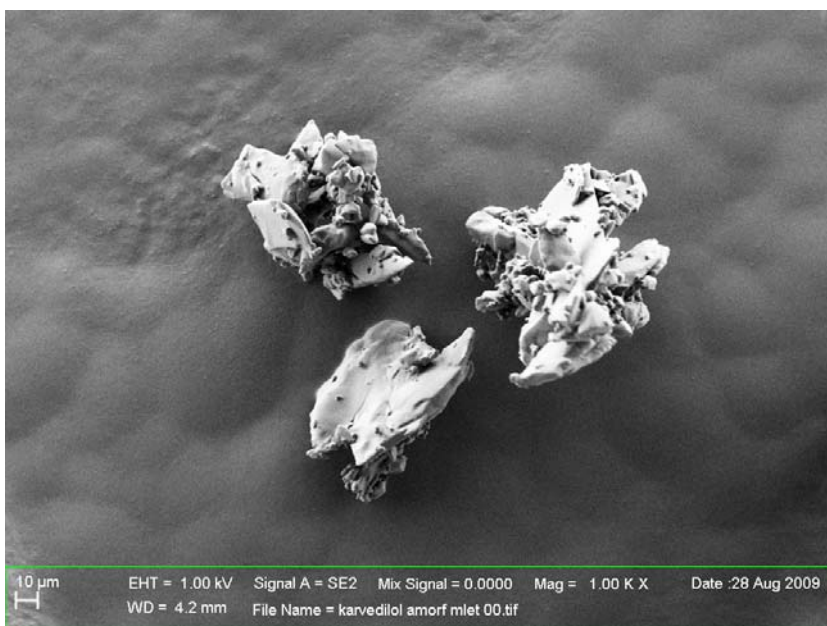
Morfologija delcev

Na sliki 2 vidimo kristalno obliko učinkovine pod vrstičnim elektronskim mikroskopom.



Slika 2: Elektronsko mikroskopska slika kristalne oblike učinkovine

Slika 3 pa prikazuje amorfno obliko učinkovine, na kateri ni vidnih gladkih robov.



Slika 3: Elektronsko mikroskopska slika amorfne oblike učinkovine

Velikost delcev

Z uporabo laserskega difraktometra (Malvern Mastersizer S) smo določili mediano velikosti delcev kristalne in amorfne učinkovine. Mediana velikosti kristalne oblike učinkovine znaša 30 µm, amorfne pred mletjem pa 150-300 µm. Z mletjem smo zmanjšali velikost delcev na 30 µm.

Določanje močljivosti

Preglednica III prikazuje začetni stični kot in čas pronicanja pufra (pH 6,8) v stisnjeni ploščici kristalne in amorfne oblike učinkovine. Začetna stična kota sta za kristalno in amorfno učinkovino precej podobna, čas pronicanja pufra v vzorec pa je pri obeh predolg, da bi ga kamera na napravi lahko posnela.

Preglednica III: Rezultati določanja stičnega kota kristalne in amorfne oblike učinkovine

Vzorec	Začetni stični kot (°)	Čas pronicanja kapljice pufra v vzorec (sek)
Kristalna učinkovina	75	Nedoločljivo (neskončno)
Amorfna učinkovina	71	Nedoločljivo (neskončno)

Preskus raztapljanja

Diagram 2 prikazuje raztapljanje kristalne in amorfne oblike učinkovine v pufru s pH 1,2. Presenetljivo je, da se kristalna oblika raztaplja hitreje kot amorfna. Razlog za to bi lahko bil predvsem v tvorbi aglomeratov ter nizki temperaturi steklastega prehoda naše modelne učinkovine, ki je praktično enaka temperaturi medija pri raztapljanju. Zaradi podobne temperature steklastega prehoda in temperature medija pri raztapljanju lahko pride do nastanka lepljivih delcev, ki se v mediju za raztapljanje slabo dispergirajo (26).

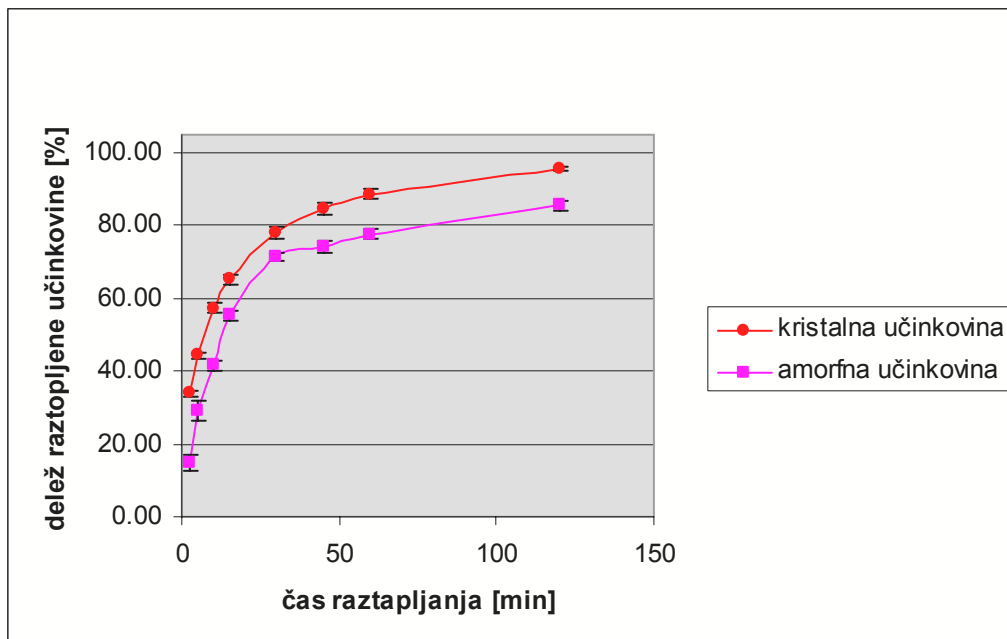


Diagram 2: Raztapljanje 25 mg kristalne in amorfne oblike učinkovine v pufru s pH 1,2

Diagram 3 prikazuje hitrost raztapljanja kristalne in amorfne oblike učinkovine v pufru s pH 6,8. Tudi tu pride do zmanjšanja hitrosti raztapljanja amorfne oblike učinkovine glede na kristalno, verjetno zaradi enakega razloga kot pri raztapljanju v pH 1,2.

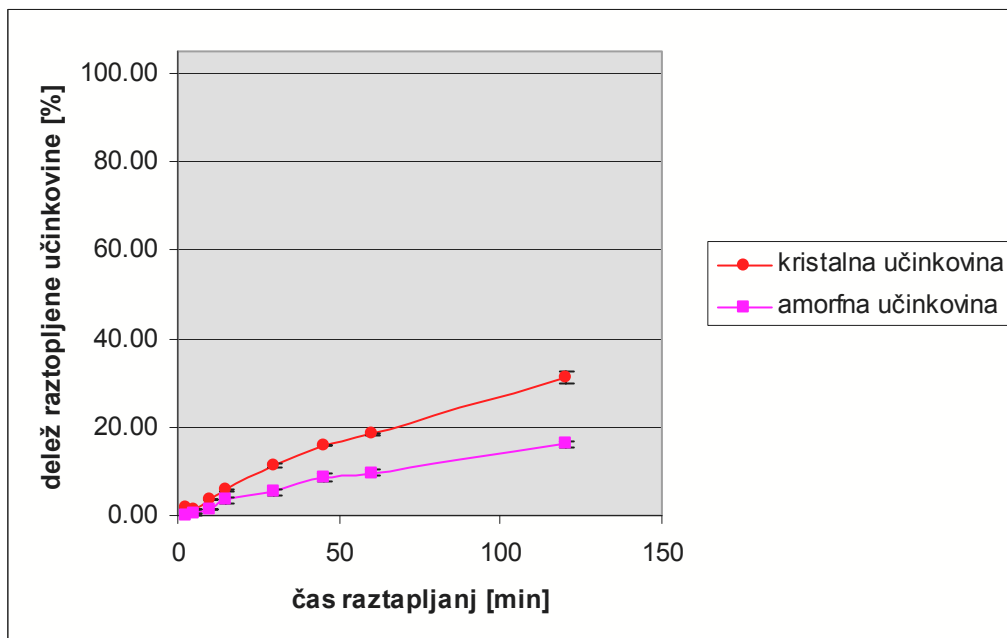


Diagram 3: Raztapljanje 25 mg kristalne in amorfne oblike učinkovine v pufru s pH 6,8

Tako pri kristalni kot pri amorfni obliki učinkovine opazimo bistveno nižjo hitrost raztapljanja v pufru s pH 6,8 kot s pH 1,2. Razlog je v bistveno slabši topnosti učinkovine pri pH 6,8 (0,027 mg/ml) kot pri 1,2 (0,105 mg/ml).

Termična analiza kristalne in amorfne oblike učinkovine (DSC)

Diagram 4 prikazuje DSC krivulje kristalne in amorfne oblike učinkovine. Pri kristalni obliki učinkovine (rdeča krivulja) vidimo taljenje, ki je prisotno pri približno 120°C. Pri amorfni obliki (modra krivulja) pa je prisoten le steklast prehod pri 40°C.

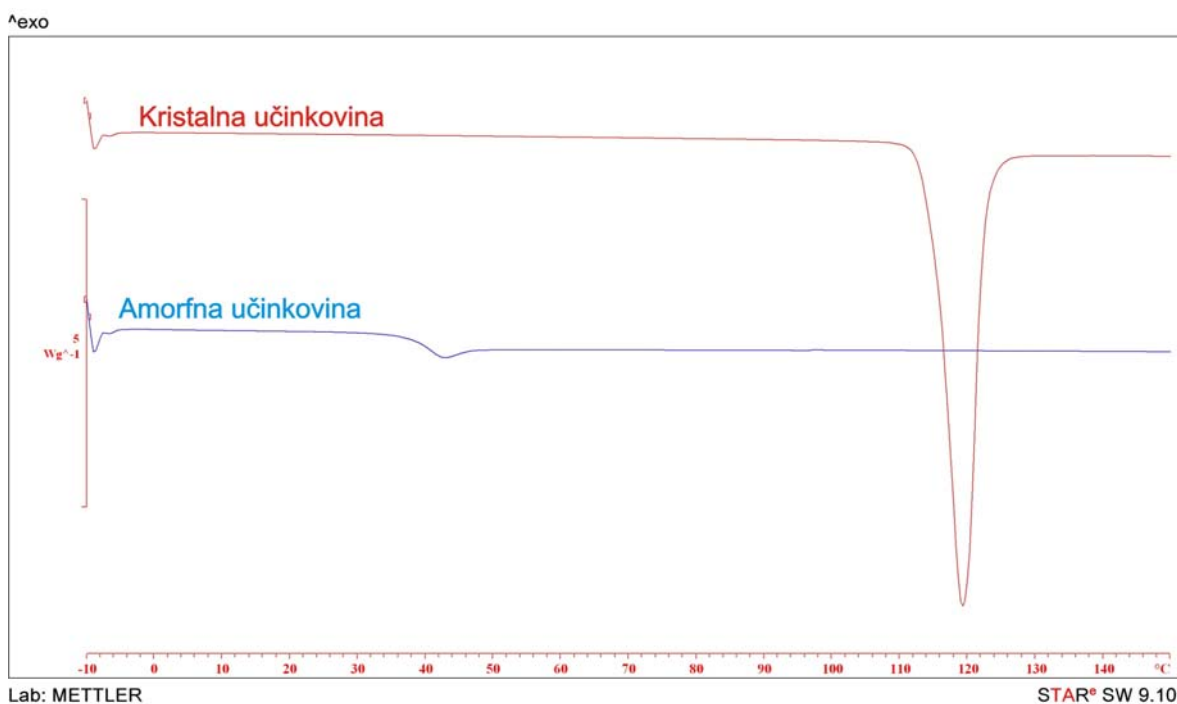


Diagram 4: DSC krivulje kristalne (rdeča krivulja) in amorfne (modra krivulja) oblike učinkovine

4.3. Fizikalno-kemijske lastnosti trdne disperzije izdelane z vzpostavitvijo ravnotežja iz raztopine acetona

Rezultati vsebnosti učinkovine v trdnih disperzijah izdelanih z vzpostavitvijo ravnotežja iz raztopine acetona s koncentracijo raztopine učinkovine v acetonu (5, 20, 30 in 100 g/L) so prikazani na diagramu 5. Vidimo, da delež učinkovine z višanjem koncentracije raztopine, iz katerih so bile izdelane trdne disperzije, narašča. Razlog je v tem, da je pri večji koncentraciji večja adsorpcija molekul učinkovine na monosloj. Poleg tega pa tudi del raztopine učinkovine po filtriranju (odstranitvi topila oziroma prebitne raztopine) ostane v

porah Syllisia in se obori med sušenjem, kar tudi poveča delež učinkovine v porah. Bolj kot je raztopina učinkovine koncentrirana, večja masa učinkovine se dodatno obori v porah Syllisia. Dodatno k temu prispeva tudi izhlapevanje topila med filtriranjem, ki traja približno eno uro.

Poskusili smo določiti tudi deleže učinkovine v raztopini po filtriranju. S tem bi lahko namreč dobili seštevek deležev učinkovine v trdni disperziji in v raztopini. Vendar smo zaradi zgoraj omenjenih razlogov vedno dobili vsoto mnogo večjo od 100%.

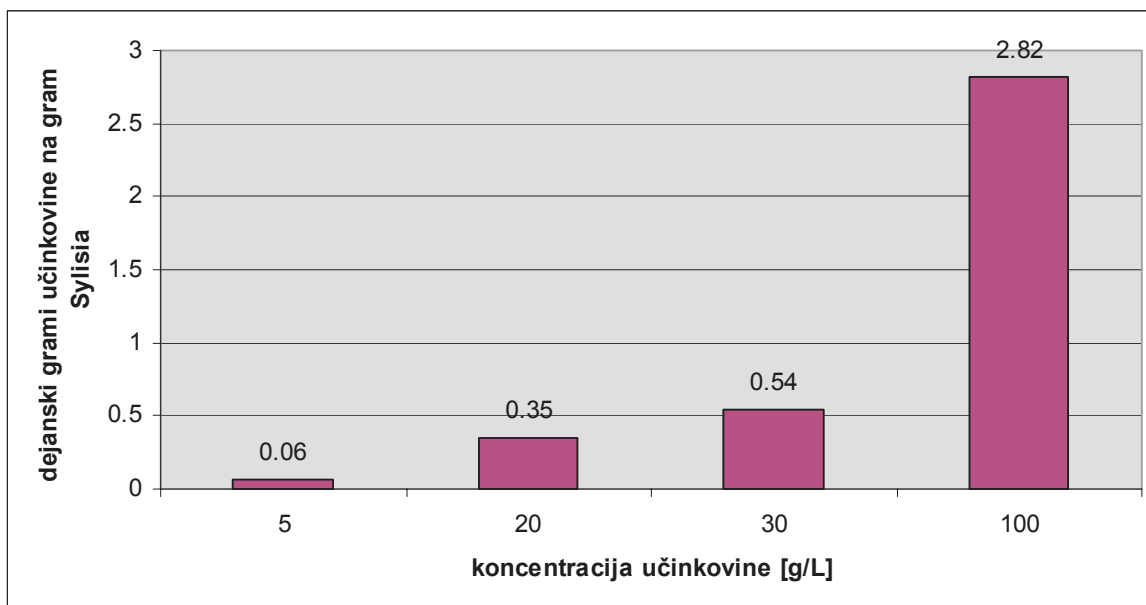


Diagram 5: Deleži učinkovine v posušeni trdni disperziji izdelanih z vzpostavitvijo ravnotežja iz raztopin acetona na gram Syllisia

Iz diagrama 5 je razvidno, da v primeru koncentracije učinkovine 5 g/L izdelamo trdno disperzijo z razmerjem učinkovina proti Syllisia 0,06:1, v primeru 20 g/L 0,35:1, v primeru 30 g/L 0,54:1, v zadnjem primeru 100 g/L pa 2,82:1.

Preskus sproščanja

Pri sproščanju učinkovine iz trdnih disperzij izdelanih s postopkom vzpostavitve ravnotežja iz raztopine acetona v pufru s pH 1,2 (diagram 6) smo ugotovili, da se učinkovina hitreje sprošča iz trdnih disperzij kot sama kristalna oblika učinkovine. Vidimo tudi, da so razlike v sproščanju učinkovine iz izdelanih trdnih disperzij majhne. Pufer pH 1,2 je premalo diskriminatoren, da bi lahko opazili razlike v sproščanju učinkovine iz različnih trdnih disperzij.

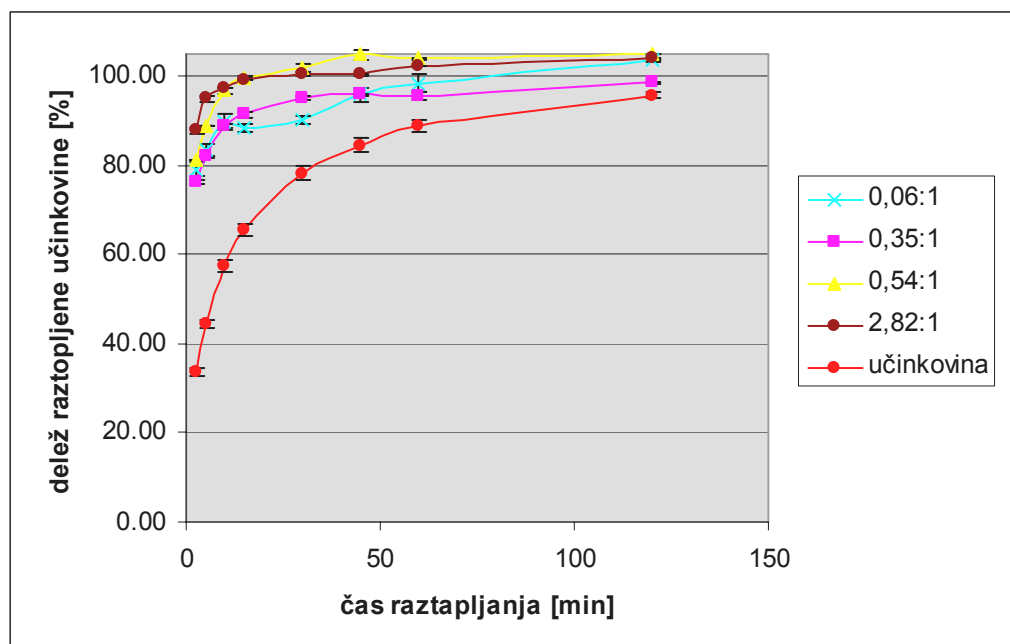


Diagram 6: Sproščanje 25 mg učinkovine iz trdnih disperzij izdelanih z vzpostavitvijo ravnotežja iz raztopin acetona v pufru s pH 1,2

Večje razlike v sproščanju vidimo na diagramu 7 pri uporabi pufra s pH 6,8. Tako vidimo, da se najhitreje sproščata učinkovini iz trdnih disperzij z razmerjem učinkovina proti Syllisia 0,06:1 in 0,35:1, počasneje iz trdnih disperzij z razmerjem učinkovina proti Syllisia 0,54:1, najpočasneje pa iz trdnih disperzij z razmerjem učinkovina proti Syllisia 2,82:1. Učinkovina se iz vseh trdnih disperzij sprošča bistveno hitreje kot sama kristalna oblika učinkovine.

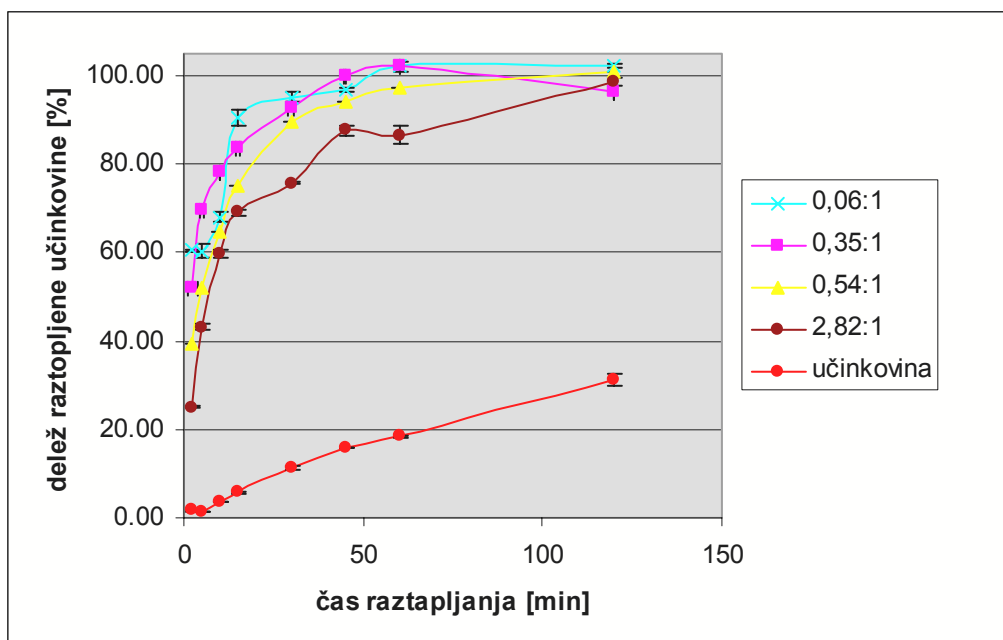


Diagram 7: Sproščanje 25 mg učinkovine iz trdnih disperzij izdelanih z vzpostavitvijo ravnotežja v pufru s pH 6,8

Razlog za to je lahko v tvorbi monosloja pri 0,215 g učinkovine na 1 g Sylisia. Količino učinkovine v monosloju smo izračunali tako, da smo najprej izračunali volumen ene molekule (enačba 1):

$$V_m = \frac{Mr}{\rho \cdot N_A}, \quad (1)$$

kjer je: V_mvolumen ene molekule učinkovine (cm^3),

Mrmolska masa učinkovine (g/mol),

ρprava gostota učinkovine (g/cm^3),

N_AAvogadrovo število (mol^{-1}).

Iz volumna ene molekule smo nato izračunali polmer molekule učinkovine, ob predpostavki, da je molekula krogelne oblike (enačba 2):

$$r = \sqrt[3]{\frac{3 \cdot V_m}{4 \cdot \pi}}, \quad (2)$$

kjer je: V_mvolumen ene molekule učinkovine (m^3),
 rpolmer molekule učinkovine (m).

Nato pa smo uporabili enačbi za izračun monosloja, kot jo je uporabil Ohta in sodelavci (enačbi 3 in 4) (27):

$$S_{uč} = 2 \cdot \sqrt{3} \cdot r^2, \quad (3)$$

$$W = \frac{S_{Sylisia} \cdot Mr}{S_{uč} \cdot N_A} \cdot 10^3, \quad (4)$$

kjer je: $S_{uč}$površina prereza molekul učinkovine (m^2),
 rpolmer molekule učinkovine (m),
 Wkoličina učinkovine v monosloju (g učinkovine / g Sylisia),
 $S_{Sylisia}$specifična površina Sylisia (m^2/g),
 Mrmolska masa učinkovine (g/mol),
 N_AAvogadrovo število (mol^{-1}).

Pri dovolj nizkih vsebnostih se lahko učinkovina v trdni disperziji obori v obliki monosloja. Pri sproščanju pride do izpodrivanja hidrofobnih molekul učinkovine iz hidrofilnega ogrodja z bolj hidrofilnimi molekulami topila. V primeru večplastne adsorpcije pa je to izpodrivanje čedalje bolj oteženo z večanjem debeline adsorbirane plasti, saj mora topilo izpodriniti molekule, ki z ostalimi molekulami tvorijo hidrofobne interakcije (4).

Termična analiza trdnih disperzij izdelanih z vzpostavitvijo ravnotežja

Rezultate DSC analize učinkovine v trdnih disperzijah izdelanih z vzpostavitvijo ravnotežja prikazuje diagram 8. Vidimo lahko, da je učinkovina v vseh trdnih disperzijah izdelanih iz različnih koncentracij raztopine učinkovine, prisotna le v amorfni obliki, saj talilnega vrha ne opazimo.

Na splošno velja, da ima amorfna oblika spojine boljšo topnost od kristalne, vendar pa je termodinamično nestabilna in kristalizira, kar predstavlja problem pri stabilnosti zdravilne učinkovine. Amorfna oblika učinkovine je še posebej zaželena pri v vodi težko topnih

učinkovinah, ki jim želimo povečati neravnotežno topnost in s tem biološko uporabnost. V večini primerov je temperatura, pri kateri je treba hraniti amorfen vzorec, da ostane stabilen, mnogo nižja od sobne in je s stališča stabilnosti zdravila neuporabna. Tako je lahko izdelava trdnih disperzij uporabna metoda za stabilizacijo amorfnе učinkovine. V porah ogrodja lahko pride namreč do tvorbe vezi med amorfnо učinkovino in ogrođjem, ki na ta način stabilizira učinkovino (28).

Čeprav stabilnosti trdnih disperzij nismo testirali, predpostavimo, da je amorfnа oblika učinkovina v porozni Sylisia stabilizirana.

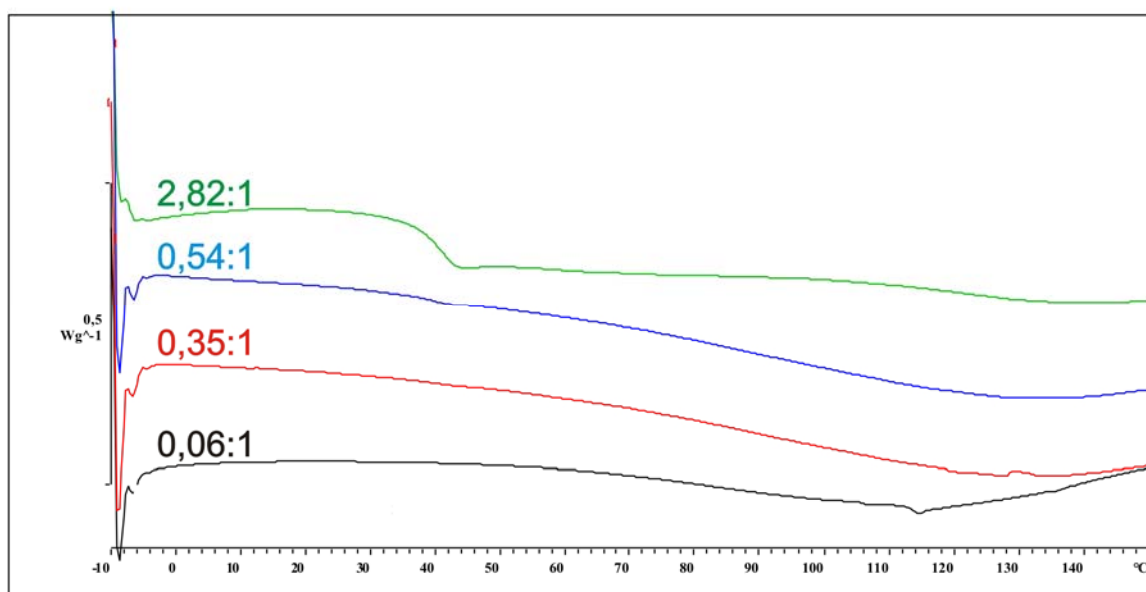


Diagram 8: DSC krivulje učinkovine v trdnih disperzijah izdelanih z vzpostavitvijo ravnotežja iz raztopine acetona z razmerji učinkovina proti Sylisia 0,06:1 (črna krivulja), 0,35:1 (rdeča krivulja), 0,54:1 (modra krivulja) in 2,82:1 (zelena krivulja)

Določitev specifične površine in velikosti por

Preglednica IV prikazuje specifično površino Sylisia in izdelanih trdnih disperzij z vzpostavitvijo ravnotežja iz raztopine acetona. Predpostavko, da pride do vgraditve učinkovine v pore Sylisia, lahko potrdimo tudi s primerjavo rezultatov BET analize, ki jih prikazuje preglednica IV. Vidimo, da ima sama Sylisia večjo BET površino kot trdne disperzije. Celokupni volumen por se je zmanjšal pri trdnih disperzijah glede na Sylisia. Opazen je trend zmanjševanja BET površine in volumna por z večanjem količine vgrajene učinkovine v trdne disperzije. Iz tega lahko sklepamo, da se je učinkovina vgradila v pore

Sylisia. Povprečni premer por se s povečevanjem koncentracije učinkovine v disperziji ne spreminja.

Preglednica IV: Specifične površine Sylisia in izdelanih trdnih disperzij z vzpostavitvijo ravnotežja iz raztopine acetona

Vzorec	BET površina (m ² /g)	Celokupni volumen por (za pore manjše od 160 nm), premer pri P/Po 0,99 (cm ³ /g)	Povprečni premer por (4V/A pri BET) (nm)
Sylisia	277,50	1,76	25,34
Trdna disperzija učinkovina:Sylisia 0,06:1	248,85	1,65	26,47
Trdna disperzija učinkovina:Sylisia 0,34:1	217,78	1,52	27,95
Trdna disperzija učinkovina:Sylisia 0,54:1	198,70	1,31	26,32
Trdna disperzija učinkovina:Sylisia 2,82:1	76,80	0,52	27,09

Določanje močljivosti

Preglednica V prikazuje začetni stični kot in čas pronicanja pufra (pH 6,8) v stisnjene ploščice Sylisia, učinkovine in trdnih disperzij izdelanih z vzpostavitvijo ravnotežja iz acetona. Iz podatkov v tabeli sklepamo, da se pore z večanjem koncentracije bolj napolnijo z učinkovino, zaradi česar postane trdna disperzija manj porozna in bolj hidrofobna. Začetni stični kot postane večji, čas pronicanja pa daljši. Vidimo lahko, da je pri zelo nizki vsebnosti učinkovine (učinkovina proti Sylisia 0,06:1), začetni stični kot in čas pronicanja pufra v vzorec enak kot pri Sylisia. To potrjuje tudi specifična površina, ki je v primeru učinkovine proti Sylisia 0,06:1 le malo manjša od same Sylisia. Rezultati kažejo dobro povezavo med močenjem in hitrostjo sproščanja učinkovine iz trdnih disperzij.

Preglednica V: Rezultati določanja stičnega kota trdnih disperzij izdelanih z vzpostavitvijo ravnotežja iz acetona in primerjava s Sylisia in učinkovino

Vzorec	Začetni stični kot (°)	Čas pronicanja kapljice pufra v vzorec (sek)
Sylisia	Nedoločljivo (0)	Nedoločljivo (0)
Učinkovina	71-75	Nedoločljivo (neskončno)
Trdna disperzija učinkovina:Sylisia 0,06:1	Nedoločljivo (0)	Nedoločljivo (0)
Trdna disperzija učinkovina:Sylisia 0,34:1	46	6
Trdna disperzija učinkovina:Sylisia 0,54:1	48,5	8,5
Trdna disperzija učinkovina:Sylisia 2,82:1	57	84

4.4. Fizikalno-kemijske lastnosti trdne disperzije izdelane z odparevanjem topila pri znižanem tlaku

Preskus sproščanja

Diagram 9 prikazuje sproščanje učinkovine iz trdnih disperzij izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku brez dodatka površinsko aktivne snovi v pufru s pH 1,2. Ugotovili smo, da se učinkovina hitreje sprošča iz trdnih disperzij, kot v čisti kristalni obliki. Vendar pa so razlike v hitrosti sproščanja iz trdnih disperzij majhne, predvsem zaradi malo diskriminatornega medija.

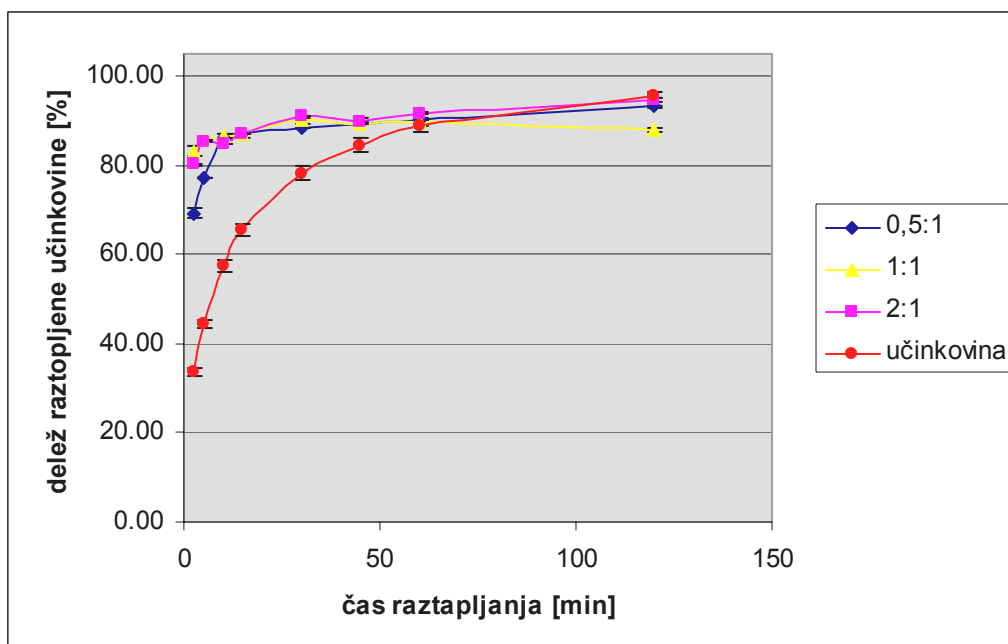


Diagram 9: Sproščanje 25 mg učinkovine iz trdnih disperzij izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku (razmerja učinkovina proti Syllisia 0,5:1, 1:1, in 2:1) ter učinkovine v pufru s pH 1,2

Pri sproščanju v pH 6,8 pa lahko vidimo, da se najhitreje sprošča učinkovina iz trdne disperzije z najmanj učinkovine (učinkovina proti Syllisia 0,5:1), najpočasneje pa tista iz trdne disperzije z največ učinkovine (učinkovina proti Syllisia 2:1) (diagram 10). To lahko razložimo s tem, da se pri večji količini učinkovine, kjer je že presežena kapaciteta monosloja, hitrost sproščanja upočasnjuje. Poleg tega pa pri večji koncentraciji učinkovine verjetno pride v porah do obarjanja večjih delcev učinkovine.

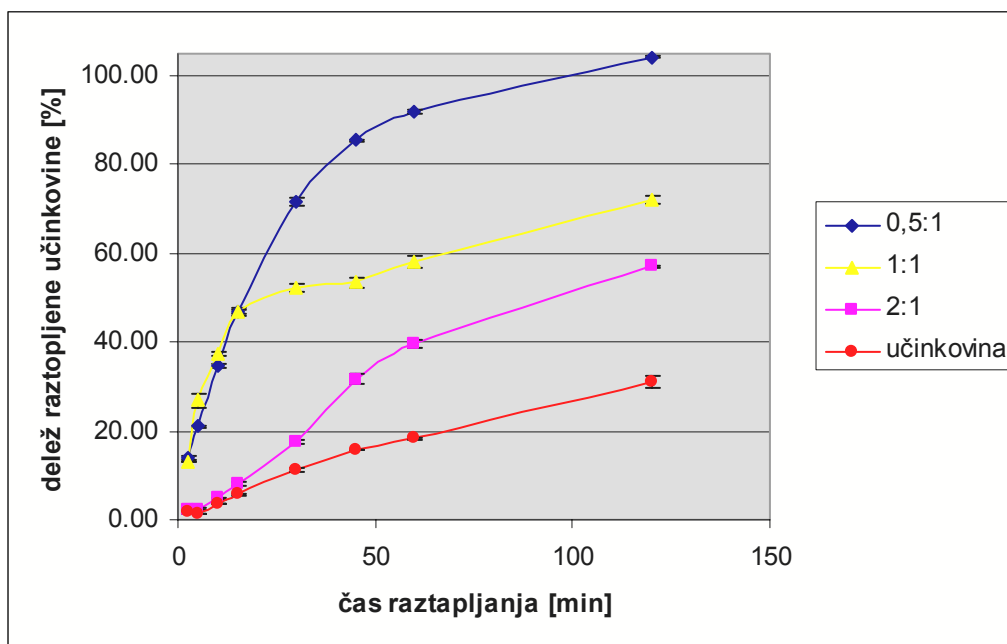


Diagram 10: Sproščanje 25 mg učinkovine iz trdnih disperzij izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku v pufru s pH 6,8

Termična analiza trdnih disperzij izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku

Diagram 11 prikazuje DSC krivulje trdnih disperzij pripravljenih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku. Vidimo, da je pri vseh razmerjih učinkovina proti Syllisia, učinkovina prisotna le v amorfni obliki. To bi tudi lahko bil razlog za zelo hitro sproščanje učinkovine iz trdnih disperzij.

Sklepamo lahko, da vgraditev učinkovine v pore Syllisia stabilizira amorfno obliko učinkovine. Rezultat je zanimiv glede na dejstvo, da smo polnjenje por izvajali pri temperaturi 50°C, kar je višje od temperature steklastega prehoda učinkovine. Obarjanje čiste učinkovine iz acetona povzroči odparevanje acetona, zaradi česar pride do presežene topnosti učinkovine.

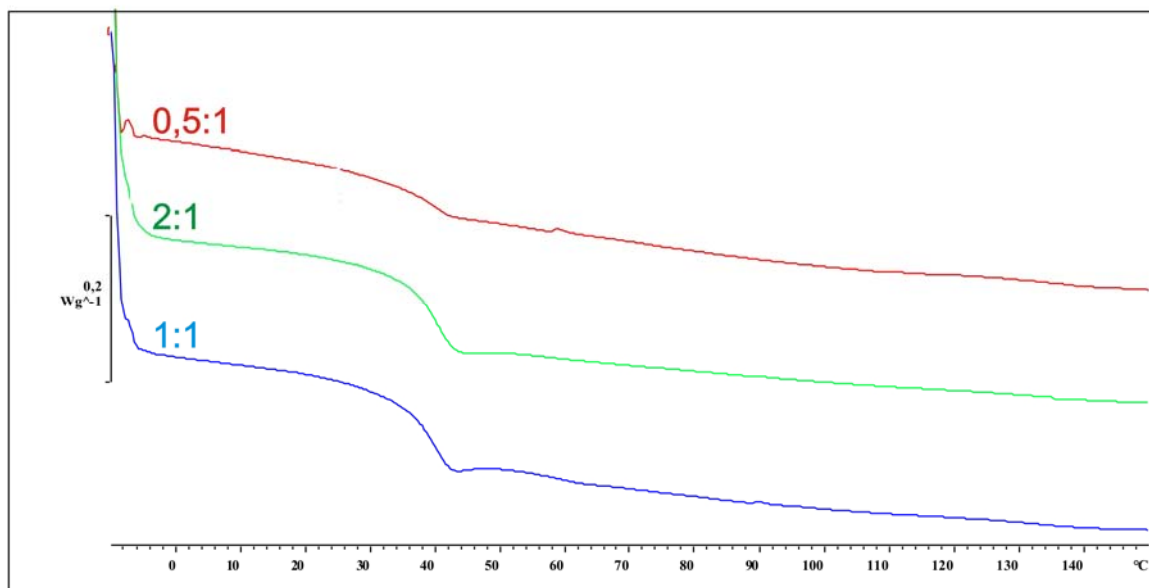


Diagram 11: DSC krivulje učinkovine v trdnih disperzijah v razmerjih učinkovina proti Sylisia 0,5:1 (rdeča krivulja), 1:1 (modra krivulja) in 2:1 (zelena krivulja)

Diagram 12 pa prikazuje krivulje učinkovine v fizikalnih zmesih. Tu lahko vidimo, da je vsa učinkovina prisotna v kristalni obliki.

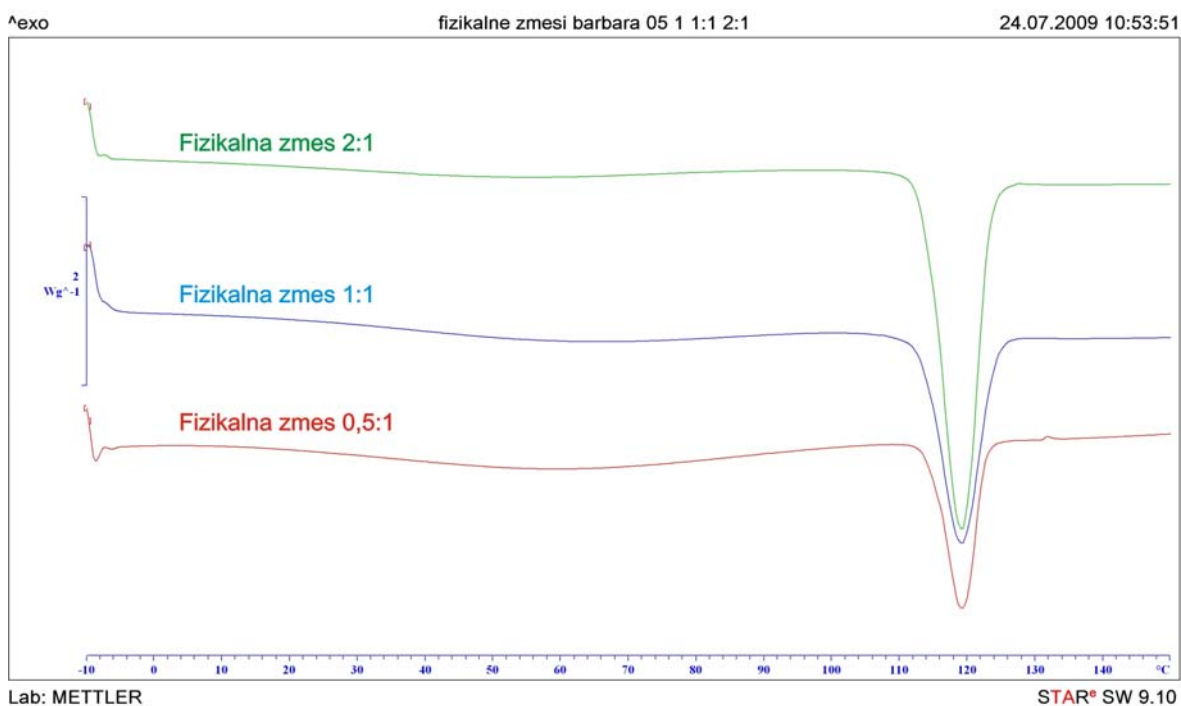


Diagram 12: DSC krivulje učinkovine v fizikalnih zmesih v razmerjih učinkovina proti Sylisia 0,5:1 (rdeča krivulja), 1:1 (modra krivulja) in 2:1 (zelena krivulja)

Določitev specifične površine in velikosti por

Predpostavko, da pride do obarjanja učinkovine v porah Sylisia, lahko potrdimo s primerjavo rezultatov BET analize, ki jih prikazuje preglednica VI. Vidimo, da ima sama Sylisia bistveno večjo specifično površino kot trdna disperzija. Tudi celokupni volumen por se je pri trdni disperziji glede na Sylisia bistveno zmanjšal. Iz tega lahko sklepamo, da se je učinkovina res vgradila v pore Sylisia.

Preglednica VI: Specifične površine Sylisia in trdne disperzije izdelane z odparevanjem topila pri znižanem tlaku (razmerje učinkovina proti Sylisia 1:1)

Vzorec	BET površina (m ² /g)	Celokupni volumen por (za pore manjše od 160 nm), premer pri P/Po 0,99 (cm ³ /g)	Povprečni premer por (4V/A pri BET) (nm)
Sylisia	277,50	1,76	25,34
Trdna disperzija učinkovina:Sylisia 1:1	120,95	0,86	28,68

Določanje močljivosti

Preglednica VII prikazuje začetni stični kot in čas pronicanja pufra (pH 6,8) v stisnjene ploščice Sylisia, učinkovine in trdnih disperzij izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku brez dodatka površinsko aktivne snovi. Iz podatkov v tabeli sklepamo, da se pore z večanjem razmerja učinkovina proti Sylisia bolj napolnijo z učinkovino, zaradi česar postane trdna disperzija manj porozna in bolj hidrofozna. Začetni stični kot postane večji, čas pronicanja pufra v vzorec pa daljši. Rezultati proučevanja močljivosti trdnih disperzij se ujemajo z rezultati sproščanja učinkovine.

Preglednica VII: Rezultati določanja stičnega kota trdnih disperzij izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku z razmerji učinkovina proti Sylisia 0,5:1, 1:1 in 2:1 in primerjava s Sylisia in učinkovino

Vzorec	Začetni stični kot (°)	Čas pronicanja kapljice pufra v vzorec (sek)
Sylisia	Nedoločljivo	Nedoločljivo (0)
Učinkovina	71-75	Nedoločljivo (neskončno)
Trdna disperzija učinkovina:Sylisia 0,5:1	47	39,5
Trdna disperzija učinkovina:Sylisia 1:1	53	120
Trdna disperzija učinkovina:Sylisia 2:1	57	180

4.5. Fizikalno-kemijske lastnosti trdne disperzije izdelane z odparevanjem topila pri znižanem tlaku z dodatkom površinsko aktivne snovi (SDS) in Sylisia

Preskus sproščanja

Tu bomo predstavi le rezultate sproščanja v mediju s pH 6,8, saj je medij s pH 1,2 premalo diskriminatoren, da bi pokazal razlike med različnimi trdnimi disperzijami.

Diagram 13 prikazuje sproščanje učinkovine iz trdnih disperzij pripravljenih z različnim vrstnim redom dodajanja učinkovine in pomožne snovi pri odparevanju topila pri znižanem tlaku, fizikalne zmesi v razmerju učinkovina proti Sylisia 0,5:1 in učinkovine. Vidimo lahko, da se daleč najhitreje sprošča učinkovina v trdni disperziji, kjer smo pore najprej polnili s SDS, nato pa z učinkovino. Sledita ji trdna disperzija, kjer smo pore najprej napolnili z učinkovino, nato pa še z SDS in trdna disperzija, ki smo jo pripravili tako, da smo istočasno odparevali vodo in aceton SDS in učinkovino.

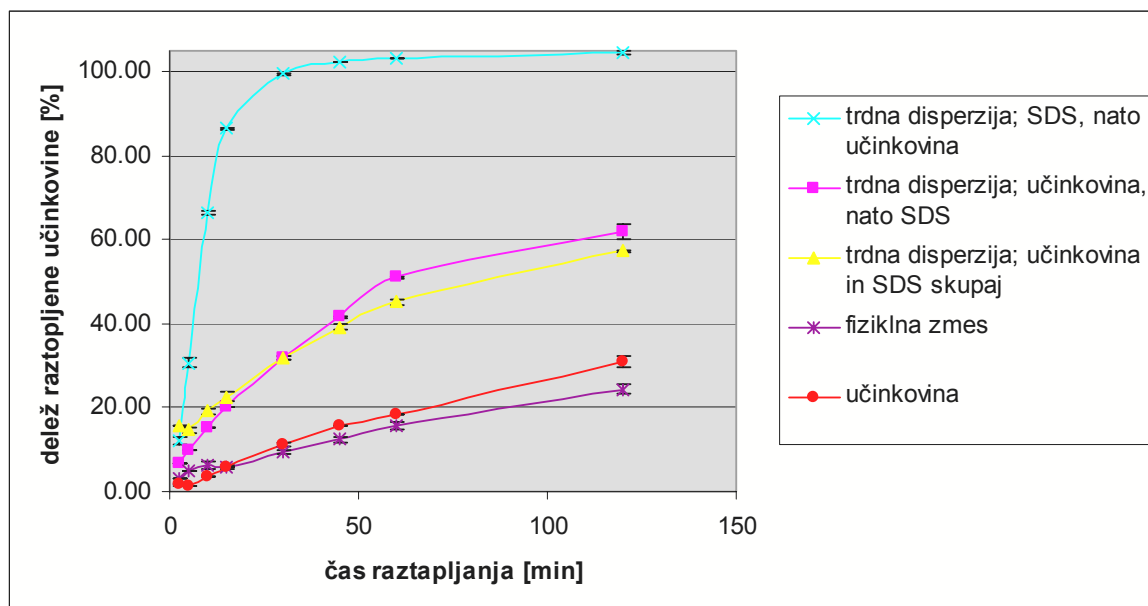


Diagram 13: Sproščanje 25 mg učinkovine iz trdnih disperzij pripravljenih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku z dodatkom SDS v razmerju učinkovina proti Sylisia 0,5:1 v pufur s pH 6,8

Diagram 14 kaže podobne oblike profilov sproščanja učinkovine iz trdnih disperzij pripravljenih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku z dodatkom SDS v razmerju učinkovina proti Sylisia 1:1 kot diagram 13. Spet se namreč učinkovina najhitreje sprošča iz trdne disperzije, kjer smo pore najprej napolnili z SDS, nato pa z učinkovino.

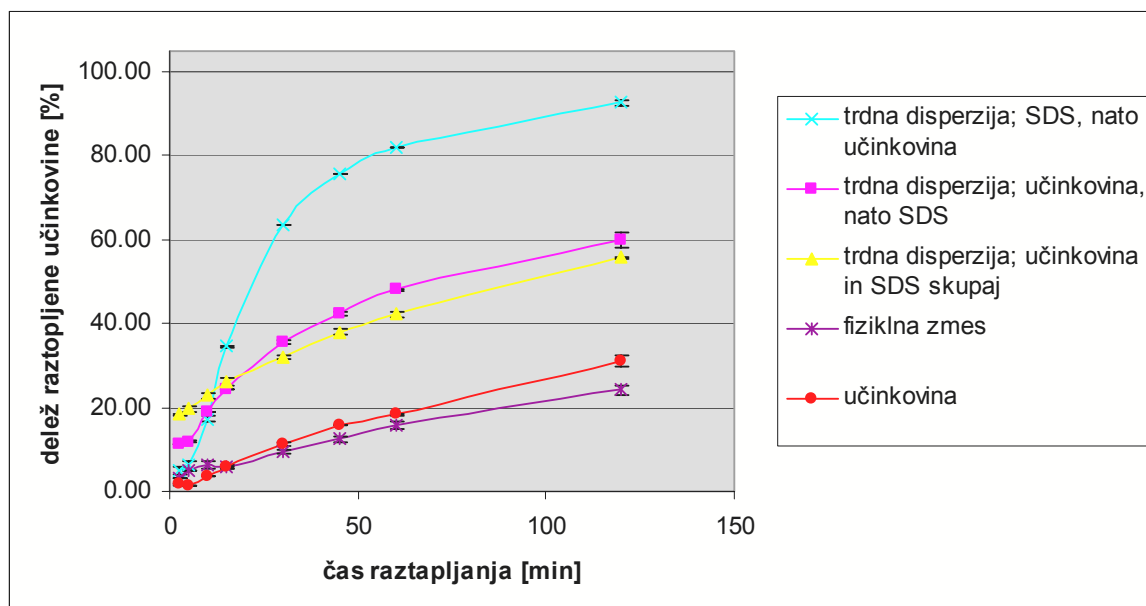


Diagram 14: Sproščanje 25 mg učinkovine iz trdnih disperzij pripravljenih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku z dodatkom SDS v razmerju učinkovina proti Sylisia 1:1 v pufur s pH 6,8

Na diagramu 15, ki prikazuje sproščanje učinkovine iz trdnih disperzij pripravljenih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku z dodatkom SDS v razmerju učinkovina proti Sylisia 2:1, glede na drugi dve razmerji izstopa hitrost sproščanja učinkovine iz trdne disperzije, kjer smo pore polnili najprej z SDS, nato z učinkovino. Ugotovimo, da ni več bistvene razlike med profili sproščanje učinkovine iz različnih trdnih disperzij.

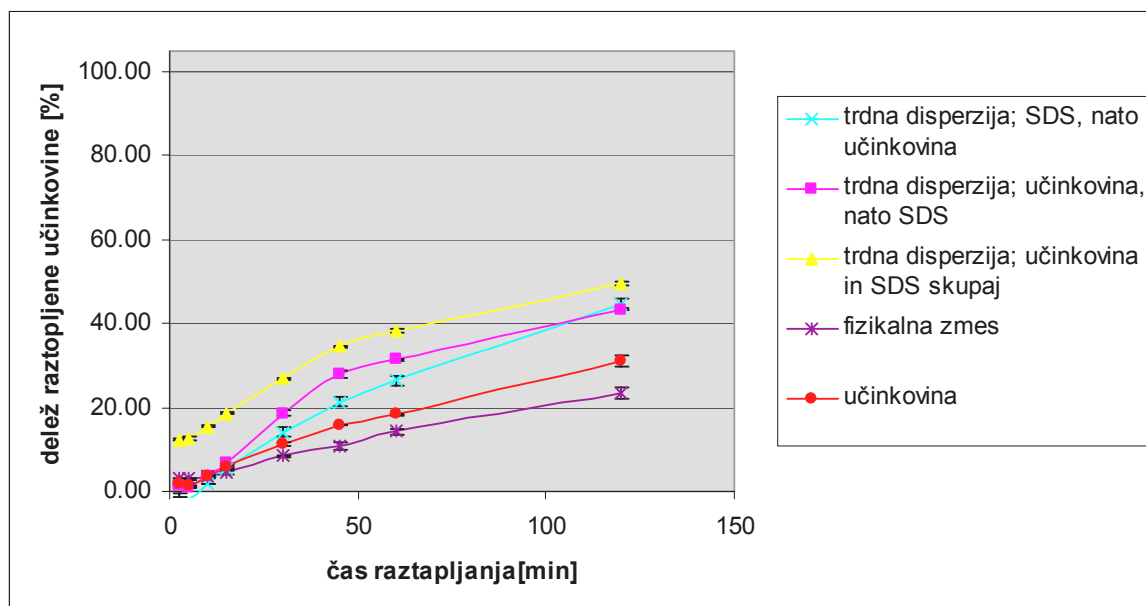


Diagram 15: Sproščanje 25 mg učinkovine iz trdnih disperzij pripravljenih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku z dodatkom SDS v razmerju učinkovina proti Sylisia 2:1 v pufru s pH 6,8

Iz predstavljenih diagramov vidimo, da se daleč najhitreje sprošča učinkovina iz trdne disperzije z razmerjem učinkovina proti Sylisia 0,5:1, sledi ji razmerje 1:1, razmerje 2:1 pa se sprošča najpočasneje.

V primeru, kjer smo pore polnili najprej z SDS, nato z učinkovino, se najpočasneje sprošča učinkovina iz trdne disperzije z razmerjem učinkovina proti Sylisia 2:1. Razlog bi lahko bil v tem, da se pri večji količini učinkovine ne more vsa vgraditi v pore Sylisia, zaradi česar lahko pride do lažje pretvorbe učinkovine iz amorfnе v kristalno obliko. Prisotnost kristalne oblike učinkovine kaže tudi DSC krivulja (diagram 16). Učinkovina se iz disperzije z razmerjem 1:1 lahko sprošča počasneje kot razmerje 0,5:1 zaradi zapolnitve monosloja sproščanje z dodatnim večanjem vsebnosti učinkovine v disperziji namreč upočasnjuje. Poleg tega pa pri večji koncentraciji učinkovine verjetno pride v porah do obarjanja večjih delcev učinkovine.

Pri trdnih disperzijah, kjer smo pore napolnili najprej z učinkovino, nato še z SDS je razlog za upočasnitev sproščanja z višanjem razmerja le v večji količini učinkovine glede na Sylisia, zaradi česar se zmanjša povečanje površine, kar zmanjša povečanje hitrosti sproščanja.

Pri trdnih disperzijah, kjer smo pore polnili sočasno z učinkovino in SDS, vidimo, da med različnimi razmerji učinkovina proti Sylisia praktično ni razlike v sproščanju. Sklepamo lahko, da se tu preseže topnost česa že ob mešanju acetona z učinkovino in vode z SDS, zaradi česar pride do obarjanja. Tako nastanejo preveliki delci, da bi sploh prišli v pore.

Termična analiza trdnih disperzij izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku z dodatkom SDS

Na diagramu 16 vidimo, da je pri trdni disperziji, kjer smo pore najprej napolnili z SDS nato z učinkovino, pri vseh razmerjih prisotna amorfnost učinkovina. Vendar pa je v primeru razmerja učinkovina proti Sylisia 2:1 prisotno tudi taljenje, kar pomeni, da je prisotna tudi učinkovina v kristalni obliki. Sklepamo lahko, da je tu presežena kapaciteta za vezavo učinkovine na Sylisia in tako ostane zunaj por, ali pa se v večjih porah obori v kristalni obliki.

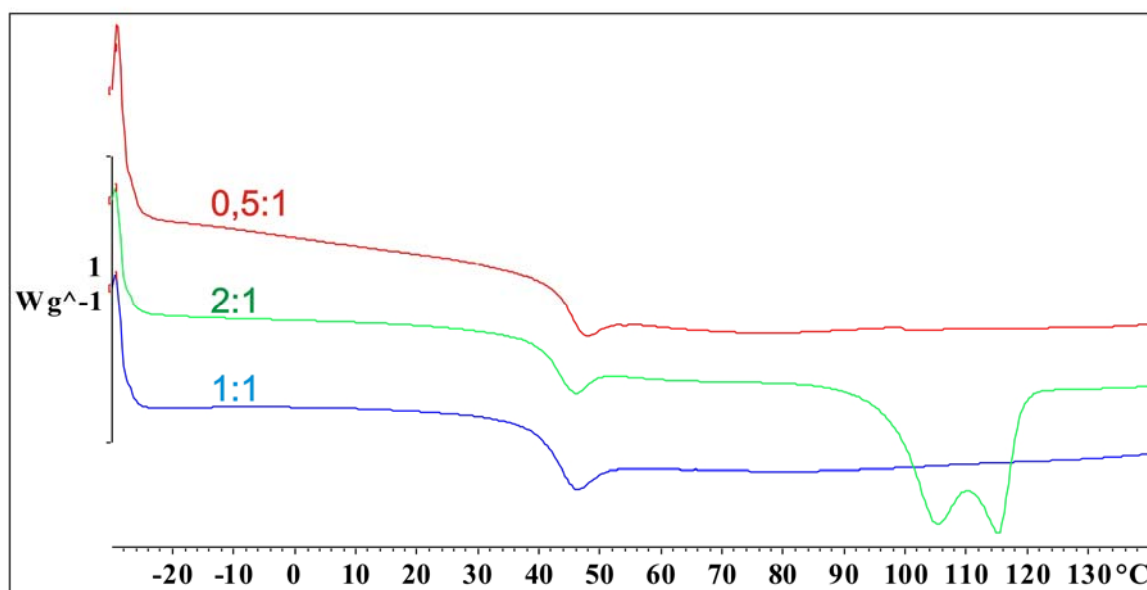


Diagram 16: DSC krivulje učinkovine v trdnih disperzijah pripravljenih s polnjenjem por najprej z SDS, nato z učinkovino z razmerji učinkovina proti Sylisia 0,5:1 (rdeča krivulja), 1:1 (modra krivulja) in 2:1 (zelena krivulja)

Pri sproščanju učinkovine iz trdnih disperzij, kjer smo pore najprej polnili z SDS, nato z učinkovino vidimo, da se učinkovina sprošča mnogo hitreje, kot iz drugih trdnih disperzij. Izjema je le pri razmerju učinkovina proti Sylisia 2:1, kjer ni vsa učinkovina prisotna v amorfnosti. V ostalih trdnih disperzijah izdelanih z dodatkom SDS je učinkovina

prisotna v kristalni obliki (diagrama 17 in 18) in se sprošča bistveno počasneje kot iz trdne disperzije, kjer smo pore najprej napolnili z SDS, nato z učinkovino (razen pri razmerju učinkovina proti Sylisia).

Pri trdni disperziji, kjer smo pore polnili najprej z učinkovino nato z SDS, DSC ni pokazal prisotnosti amorfne oblike učinkovine (diagram 17). Pri vseh treh razmerjih je prisotna le kristalna oblika. Ravno tako v trdni disperziji, kjer smo pore polnili sočasno z učinkovino in SDS, DSC analiza ni pokazala prisotnosti amorfne oblike učinkovine (diagram 18). Glede na to, da smo pri polnjenju por samo z učinkovino dobili amorfno obliko učinkovine lahko sklepamo, da pride med polnjenjem z SDS do kristalizacije učinkovine, kar pomeni, da vodna raztopina povzroči kristalizacijo učinkovine.

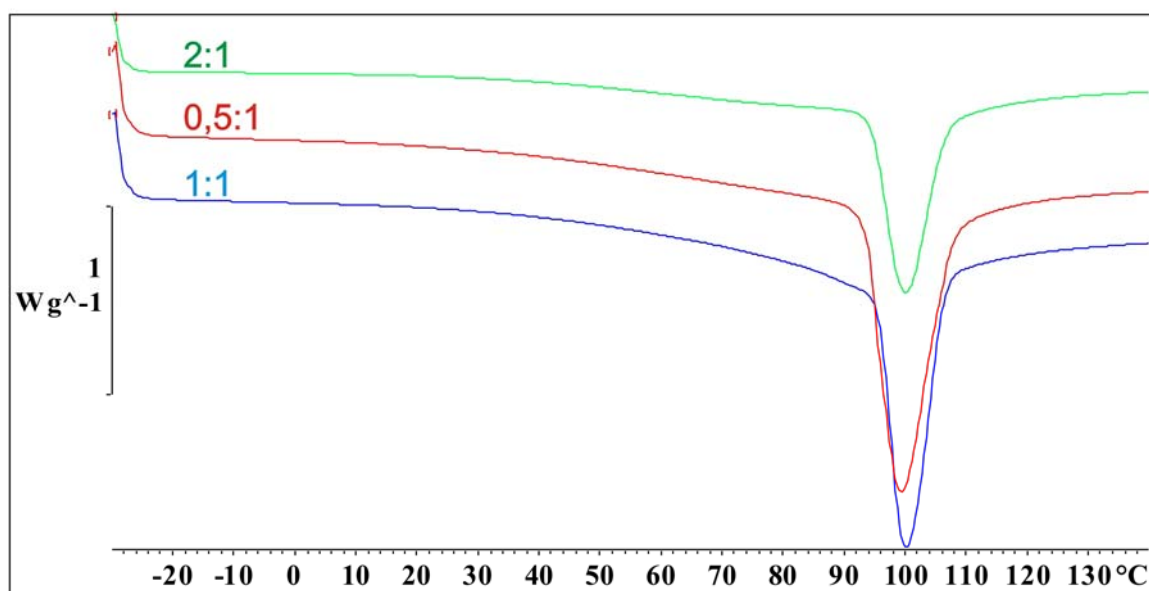


Diagram 17: DSC krivulje učinkovine v trdnih disperzijah pripravljenih s polnjenjem por najprej z učinkovino, nato z SDS z razmerji učinkovina proti Sylisia 0,5:1 (rdeča krivulja), 1:1 (modra krivulja) in 2:1 (zelena krivulja)

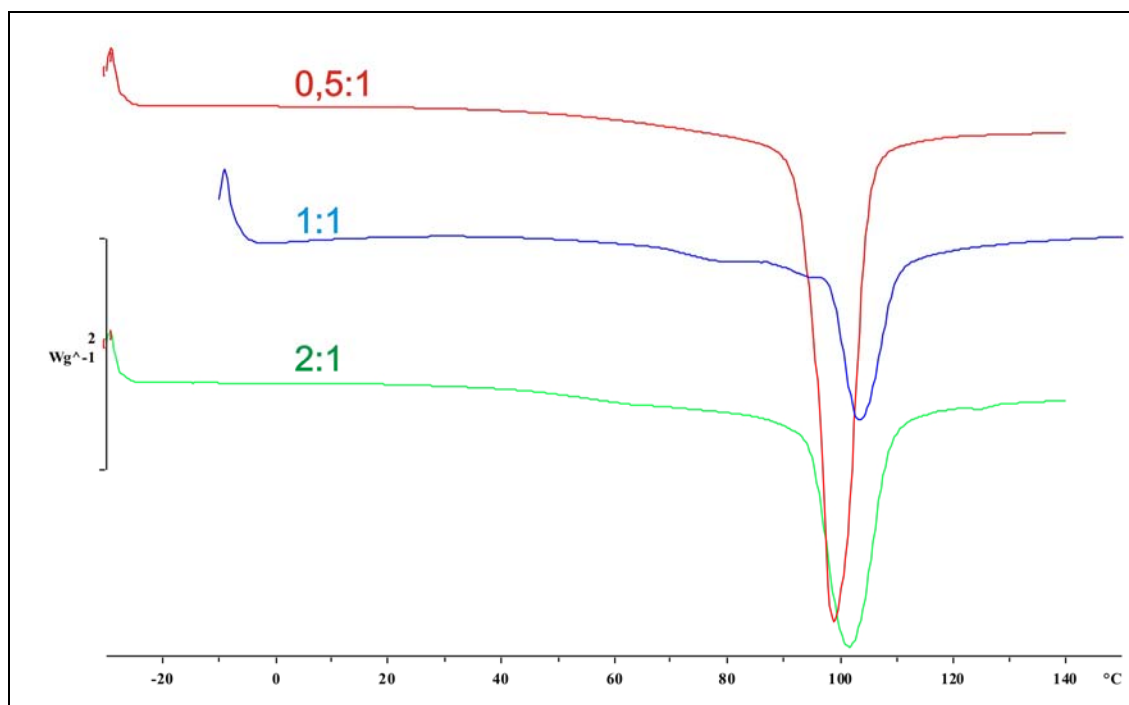


Diagram 18: DSC krivulje učinkovine v trdnih disperzijah pripravljenih s sočasnim polnjenjem por z SDS in učinkovino z razmerji učinkovina proti Sylisia 0,5:1 (rdeča krivulja), 1:1 (modra krivulja) in 2:1 (zeleni krivulja)

Druga možna razlaga rezultatov je naslednja: pri trdnih disperzijah, polnjenih najprej z SDS pomožna snov prekrije površino Sylisia, ki se s hidrofilnim delom orientira proti poram, hidrofobni del molekule pa je na voljo za interakcijo z učinkovino. Ob stiku z vodo pride do hitrega izpodrivanja molekul SDS s površine Sylisia.

Pri trdnih disperzijah, ki smo jih pripravili s polnjenjem por najprej z učinkovino nato z SDS, pa lahko sklepamo, da je pri drugem odparevanju topila pri znižanem tlaku (ko smo imeli učinkovino že v porah in smo dodali še vodo z SDS) voda izpodrinila učinkovino iz por. To je razlog, da je nato učinkovina prešla v kristalno obliko.

Pri trdnih disperzijah pripravljenih z istočasnim polnjenjem por z učinkovino in SDS je možno, da se delci učinkovine obarjajo zunaj por, ko raztopina med odparevanjem topila postane prenasočena.

Določitev specifične površine in velikosti por

Predpostavko, da pride do vgraditve učinkovine v pore Sylisia, lahko potrdimo tudi s primerjavo rezultatov BET analize, ki jih prikazuje preglednica VIII. Vidimo, da ima sama

Sylisia bistveno večjo BET površino od vseh trdnih disperzij. Tudi celokupni volumen por se je bistveno zmanjšal pri trdnih disperzijah glede na Sylisia. Največje zmanjšanje celokupnega volumna por vzorca opazimo pri vzorcu, kjer smo najprej polnili z SDS in nato z učinkovino. Iz tega lahko sklepamo, da so pore v tem primeru najbolj naponjene in da je najmanj učinkovine zunaj por. Ker je učinkovina v teh disperzijah v obliki majhnih delcev oziroma v tankem sloju oborjena v porah, se tudi najhitreje sprošča.

Rezultati BET analize se ujemajo z rezultati DSC analize. Tam smo ugotovili, da je učinkovina v trdnih disperzijah, kjer smo pore najprej polnili z SDS, nato pa še z učinkovino, prisotna v amorfni obliki. Predpostavili smo, da je do tega prišlo, ker se je vezala na površinsko aktivno snov SDS, ki je že bila vezana v porah Sylisia. Učinkovina v trdnih disperzijah, kjer smo pore najprej polnili z učinkovino in šele nato z SDS ter v trdnih disperzijah s hkratnim polnjenjem učinkovine in SDS v pore, je prisotna tudi v kristalni obliki. Predpostavili smo, da ni prišlo do dobre vezave učinkovine v pore Sylisia. BET analiza kaže na bistveno slabše polnjenje učinkovine v pore kot pri trdni disperziji, kjer smo najprej polnili pore z SDS, nato pa še z učinkovino. Ta ugotovitev sovпада tudi s hitrostjo sproščanja, saj se daleč najhitreje sprošča učinkovina iz trdne disperzije pripravljene s polnjenjem por najprej z SDS, nato pa z učinkovino.

Preglednica VIII: Specifične površine Sylisia in trdne disperzije izdelane z odparevanjem topila pri znižanem tlaku z dodatkom SDS (učinkovina proti Sylisia 1:1)

Vzorec	BET površina (m ² /g)	Celokupni volumen por (za pore manjše od 160 nm), premer pri P/Po 0,99 (cm ³ /g)	Povprečni premer por (4V/A pri BET) (nm)
Sylisia	277,50	1,758	25,34
Trdna disperzija; najprej SDS, nato učinkovina	60,00	0,45	29,95
Trdna disperzija; najprej učinkovina, nato SDS	122,03	0,78	25,56
Trdna disperzija; skupaj učinkovina in SDS	135,93	0,92	27,16

Določanje močljivosti

Preglednica IX prikazuje začetni stični kot in čas pronicanja pufra v stisnjene ploščice Sylisia, učinkovine in trdnih disperzij izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku z dodatkom SDS. Tudi ti rezultati se do neke mere skladajo z dosedanjimi ugotovitvami. Največje začetne stične kote in čase pronicanja kapljice pufra v vzorec imajo trdne disperzije izdelane s polnjenjem por najprej z SDS, nato pa še z učinkovino. Precej manjše vrednosti pa so pri ostalih dveh trdnih disperzijah. Tako kot pri odparevanju topila pri znižanem tlaku brez dodatka SDS, smo tudi tu ugotovili, da se pore z večanjem razmerja učinkovina proti Sylisia bolj napolnijo z učinkovino, zaradi česar postane trdna disperzija manj porozna in bolj hidrofobna. Začetni stični kot je večji, čas pronicanja pufra v vzorec pa daljši. K temu prispeva tudi plast površine, ki jo prekriva pomožna snov in zmanjšuje njeno hidrofilnost.

Zanimivo je, da je močenje trdne disperzije, ki smo jo izdelali najprej s polnjenjem z SDS in nato z učinkovino najslabše. Iz tega lahko sklepamo, da se SDS nahaja globlje v porah in da k izboljšanju sproščanja učinkovine prispeva predvsem povečanje specifične površine učinkovine, ki je oborjena v porah Sylisia.

Preglednica IX: Rezultati določanja stičnega kota trdnih disperzij izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku z dodatkom površinsko aktivne snovi SDS in primerjava s Sylisia in učinkovino

Vzorec	Začetni stični kot (°)	Čas pronicanja kapljice pufra v vzorec (sek)
Sylisia	Nedoločljivo	Nedoločljivo (0)
Učinkovina	71-75	Nedoločljivo (neskončno)
Trdna disperzija; najprej SDS, nato učinkovina (učinkovina: Sylisia 0,5:1)	65	76
Trdna disperzija; najprej SDS, nato učinkovina (učinkovina: Sylisia 1:1)	63,5	150
Trdna disperzija; najprej SDS, nato učinkovina (učinkovina: Sylisia 2:1)	70	Nedoločljivo (neskončno)
Trdna disperzija; najprej učinkovina, nato SDS (učinkovina: Sylisia 0,5:1)	50	16
Trdna disperzija; najprej učinkovina, nato SDS (učinkovina: Sylisia 1:1)	53	48
Trdna disperzija; najprej učinkovina, nato SDS (učinkovina: Sylisia 2:1)	71,5	82
Trdna disperzija; skupaj učinkovina in SDS (učinkovina: Sylisia 0,5:1)	36,5	11
Trdna disperzija; skupaj učinkovina in SDS (učinkovina: Sylisia 1:1)	50	20
Trdna disperzija; skupaj učinkovina in SDS (učinkovina: Sylisia 2:1)	54,5	75

4.6. Primerjava trdnih disperzij z najboljšim sproščanjem učinkovine glede na samo kristalno in amorfno obliko učinkovine

Naredili smo primerjavo različnih trdnih disperzij, iz katerih se učinkovina najhitreje sprošča. Kot smo ugotovili v prejšnjih poglavjih so to trdne disperzije z razmerjem učinkovina proti Syllisia 0,5:1 pri trdnih disperzijah izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku. Iz trdnih disperzij izdelanih z vzpostavitvijo ravnotežja pa se učinkovina iz majhnih razmerjih učinkovina proti Syllisia sprošča precej podobno, zato smo v tej primerjavi uporabili razmerje 0,54:1.

Diagram 19 prikazuje sproščanje učinkovine iz trdnih disperzij in same kristalne oblike učinkovine v pufru s pH 6,8. Na tem diagramu lahko vidimo, da se najhitreje sprošča učinkovina iz trdne disperzije izdelane z odparevanjem topila pri znižanem tlaku s polnjenjem por z SDS in nato z učinkovino, nato iz trdne disperzije izdelane z vzpostavitvijo ravnotežja. Sledi učinkovina iz trdne disperzije izdelane z odparevanjem topila pri znižanem tlaku brez dodatka SDS. Najpočasneje se raztaplja sama učinkovina.

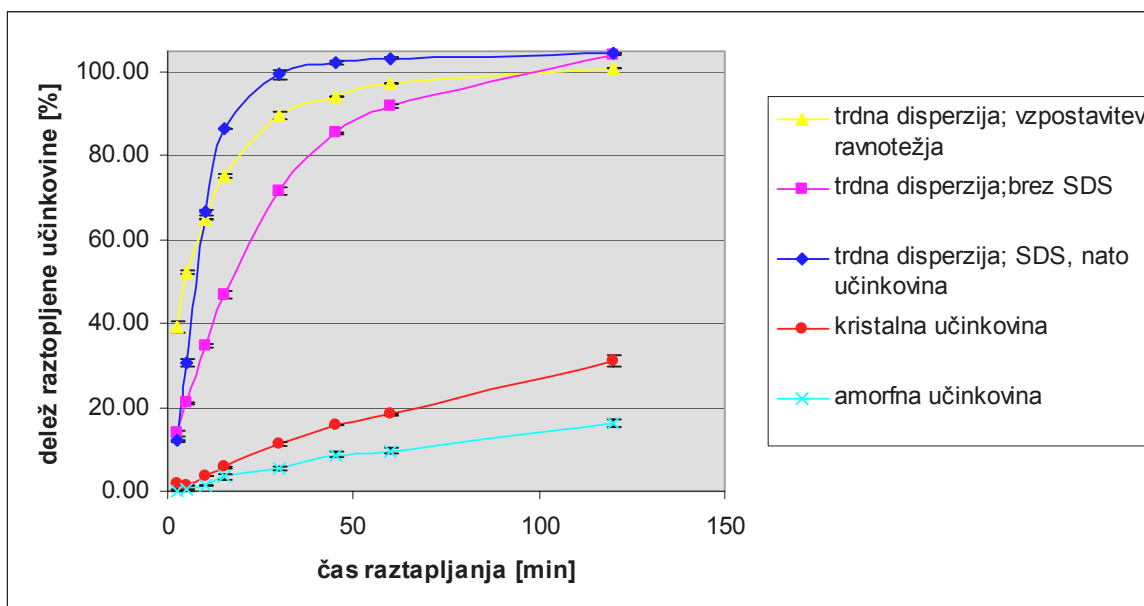


Diagram 19: Sproščanje 25 mg učinkovine iz trdnih disperzij iz katerih se učinkovina najhitreje sprošča (vse imajo razmerje učinkovina proti Syllisia 0,5:1) v pufru s pH 6,8

Iz diagrama 19 lahko sklepamo, da je sama metoda za izdelavo trdne disperzije z vzpostavitvijo ravnotežja zelo uspešna. Pri metodi odparevanja topila pri znižanem tlaku, pa bistveno pospeši hitrost sproščanja polnjenje por najprej z SDS, nato z učinkovino.

Hitrost sproščanja je precej visoka tudi v primeru, ko trdne disperzije izdelamo z metodo odparevanja topila pri znižanem tlaku, brez dodatka SDS. Vsekakor pa iz diagrama 19 zelo dobro vidimo, da izdelava trdne disperzije močno izboljša hitrost sproščanja.

5. Zaključek

Z vgraditvijo modelne učinkovine v nanopore poroznega hidrofilnega silicijevega dioksida (Sylisia 350) smo izdelali trdne disperzije. Polnjenje pa smo izvajali z vzpostavitvijo ravnotežja iz raztopine acetona ali z odparevanjem topila pri znižanem tlaku. Pri slednji metodi smo poleg poroznega silicijevega dioksida kot pomožno snov za izboljšanje raztapljanja uporabili natrijev dodecilsulfat.

Iz vseh izdelanih trdnih disperzij se je učinkovina sproščala hitreje kot učinkovina v čisti obliki. Predpostavljamo, da k izboljšanju hitrosti raztapljanja prispeva več mehanizmov. Oborjeni delci učinkovine imajo v porah silicijevega dioksida mnogo večjo specifično površino kot delci čiste učinkovine, kar smo dokazali z BET analizo. Izboljšanje močenja trdnih disperzij z medijem za raztapljanje, glede na čisto učinkovino, prav tako prispeva k izboljšanju sproščanja učinkovine. S termično analizo smo dokazali, da je učinkovina v večini primerov amorfna, kar je tretji mehanizem, ki prispeva k izboljšanju raztapljanja. Ugotovili smo, da se do določene koncentracije učinkovine v trdni disperziji učinkovina nahaja zgolj v amorfni obliki, nad to mejo pa je prisotna tudi kristalna oblika, kar negativno vpliva na sproščanje učinkovine. Razlog za upočasnitev sproščanja iz disperzij, ki vsebujejo tudi kristalno obliko učinkovine, je najverjetneje obarjanje delcev zunaj por. Dodatek natrijevega dodecilsulfata bistveno vpliva na izboljšanje sproščanja učinkovine le v primeru, ko ga dodamo v disperzijo pred učinkovino. Predvidevamo, da dodatek površinsko aktivne snovi olajša desorpcijo učinkovine s sten por. Možno je tudi, da površinsko aktivna snov solubilizira učinkovino v porah silicijevega dioksida.

6. Literatura

- 1) Dannenfelser R., He H., Joshi Y., Bateman S., Serajuddin A. Development of Clinical Dosage Forms for Poorly Water Soluble Drug I: Application of polyethylene glycol-polysorbate 80 solid dispersion carrier system. *Journal of Pharmaceutical sciences* (2004); 93; 1165-1175
- 2) <http://www.fda.gov/AboutFDA/CentersOffices/CDER/ucm128219.htm>
- 3) Planinšek O. Nekatere metode za povečanje topnosti in hitrosti raztapljanja v vodi težko topnih učinkovin–1.del, *Farm Vestn* (2001); 52; 221-230
- 4) Planinšek O. Nekatere metode za povečanje topnosti in hitrosti raztapljanja v vodi težko topnih učinkovin–2.del, *Farm Vestn* (2002); 53; 117-127
- 5) Ford JL. The current status of solid dispersions. *Pharm Acta Helv* (1986); 3: 69-88
- 6) Planinšek O. Sodobni pristopi k izdelavi trdnih disperzij z izboljšano biološko uporabnostjo učinkovin, *Farm Vestn* (2009); 60; 169-176
- 7) Y. Wan, D. Zhao. On the controllable soft-templating approach to mesoporous silicates, *Chem. Rev.* (2007); 107; 2821-2860
- 8) S. Wang. Ordered mesoporous materials for delivery, *Micropor. Mesopor. Mater.* (2009); 117; 1-9
- 9) J. Andersson, J. Rosenholm, S. Areva, M. Linen. Influences of material characteristics on ibuprofen drug loading and release profiles from ordered micro- and mesoporous silica matrices, *Chem. Mater.* (2004); 16; 4160-4167
- 10) P. Horcajada, A. Ramila, J. Perez-Pariente, M. Vallet-Regi. Influence of pore size of MCM-41 matrices on drug delivery rate, *Micropor. Mesopor. Mater.* (2004); 68; 105-109
- 11) A. Ramila, B. Munoz, J. Perez-Pariente, M. Vallet-Regi. Mesoporous MCM-41 as drug host system, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* (2003); 26; 1199-1202
- 12) M. Van Speybroeck, V. Barillaro, T. Do Thi, R. Mellaerts, J. Martens, J. Van Humbeeck, J. Vermant, P. Annaert, G. Van den Mooter, P. Augustijns, Ordered mesoporous silica material SBA-15: A broad-spectrum formulation platform for poorly soluble drugs, *Journal of Pharmaceutical Sciences* (2009); 98; 2648-2658
- 13) R. Mellaerts, C. A. Aerts, J. Van Humbeeck, P. Augustijns, G. Van den Mooter, J. A. Martens. Enhanced release of itraconazole from ordered mesoporous SBA-15 silica materials, *Chem. Commun.* (2007); 1375-1377

- 14) <http://abstracts.aapspharmaceutica.com/expoaaps07/Data/EC/Event/Exhibitors/1228/a2f2ab2e-dd9d-4e4c-91cb-026e422e83b2.pdf>
- 15) http://www.fuji-silysia.co.jp/english/product/micronized_silica/sylysia.html
- 16) Takeuchi H., Nagira S., Hiromitsu Y., Kawashima Y. Solid dispersion particles of tolbutamide prepared with fine silica particles by the spray-drying method. Powder Technology (2004); 141; 187-195
- 17) http://en.wikipedia.org/wiki/Mesoporous_silica#cite_note-dongyuan-5
- 18) Bernardos, E. Anzar, C. Coll, R. Martinez-Manez, J. M. Barat, M.D. Marcos, F. Sancenon, A. Benito, J. Soto, Controlled release of vitamin B₂ using mesoporous materials functionalized with amine-bearing gate-like scaffoldings, J. Controll. Rel. (2008); 131; 181-189
- 19) Q. Yang, S. Wang, P. Fan, L. Wang, Y. di, K. Lin, F.-S. Xiao, pH-responsive carrier system based on carboxylic acid modified mesoporous silica and polyelectrolyte for drug delivery, Chem. Mater. (2005); 17; 5999-6003
- 20) C. Y. Lai, B.G. Trewyn, D. M. Jeftinija, K. Jeftinija, S. Xu, S. Jeftinija, V. S. Y, A mesoporous silica nanosphere-based carrier system with chemically removable CdS nanoparticle caps for stimuli-responsive controlled release of neurotransmitters and drug molecules. J. Am. Chem. Soc. (2003); 125; 4451-4459
- 21) S. Giri, B. G. Trewyn, M. P. Stellmaker, V. S. Y. Lin, Stimuli-responsive controlled release delivery system based on mesoporous silica nanorods capped with magnetic nanoparticles. Angew. Chem., Int. Ed. (2005); 44; 5038-5044
- 22) J. L. Vivero-Escoto, I. I. Slowing, C.-W. Wu, V. S.-Y. Lin, Photoinduced intracellular controlled release drug delivery in human cells by gold-capped mesoporous silica nanosphere, J. Am. Chem. Soc. (2009); 131; 3462-3463
- 23) Takeuchi H., Nagira S., Hiromitsu Y., Kawashima Y. Solid dispersion particles of amorphous indometacin with fine porous silica particles by using spray-drying method. Int J Pharm (2005); 293; 155-164
- 24) C. Charnay, S. Begu, C. Tourne-Peteilh, L. Nicole, D. A. Lerner, J. M. Devoisselle, Inclusion of ibuprofen in mesoporous templated silica: drug loading and release property, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics (2004); 57; 533-540
- 25) www.zdravila.net

- 26) Pkharkar V. B., Mandpe L. P., Padamwar M. N., Ambike A. A., Mahadik K. R., Paradkar A. Development, characterization and stabilization of amorphous form of low Tg drug. Powder Technology (2006); 167; 20-25
- 27) K. M. Ohta, M. Fuji, T. Takei, M. Chikazawa. Development of a simple method for the preparation of a silica gel based controlled delivery system with a high drug content, European Journal of Pharmaceutical Sciences (2005); 26; 87–96
- 28) Planinšek O. Nekatere metode stabilizacije amorfnih učinkovin, Farm Vest (2007); 58; 8-13