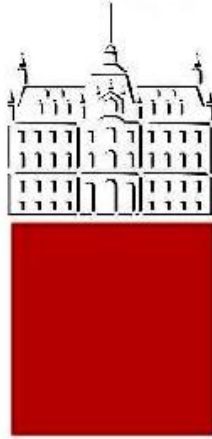


Univerza v Ljubljani  
Fakulteta *za farmacijo*



MARKO HANŽELIČ

Univerzitetni študij farmacije

**Vpliv procesnih spremenljivk na velikost mikropelcev in  
izkoristek procesa s tehnologijo razprševanja s strjevanjem**

**Influence of process variables on microparticle size and process  
yield using spray congealing technology**

DIPLOMSKA NALOGA

Ljubljana, 2010

**Izjava**

Izjavljam, da sem diplomsko delo izdelal samostojno na Fakulteti za farmacijo pod mentorskim vodstvom prof. dr. Staneta Srčiča in somentorstvom asist. Ilije Ilića.

Marko Hanželič

Ljubljana, november 2009

**Zahvala**

Za strokovno pomoč, nasvete ter usmeritve pri opravljanju diplomskega dela se iskreno zahvaljujem mentorju dr. Stanku Srčiču za strokovno svetovanje, potrpežljivost in spodbudo pri nastajanju diplomskega dela. Hkrati bi se rad zahvalil tudi somentorju asist. Iliji Iliću za pomoč in strokovne nasvete pri eksperimentalnem delu diplomskega dela ter izjemno koristne informacije pri pisanju diplomskega dela. Za slike, pridobljene s elektronsko mikroskopijo se zahvaljujem tudi izr. prof. Odon Planinšku.

Hvala tudi tebi, Martina, ki me sprejemaš takšnega kot sem. V vseh mojih vzponih in padcih si verjela vame, me optimistično spodbujala ter mi nesebično pomagala.

Iskreno se zahvaljujem tudi svojim staršem in družini za vso podporo in razumevanje ter hkrati tudi za finančno pomoč tekom mojega študija. Še enkrat posebej bi se rad zahvalil tudi mami, ki se je trudila tudi z mojimi slovničnimi napakami in lektorirala moje diplomsko delo.

Predsednik diplomske komisije: prof. dr. Slavko Pečar

Član diplomske komisije: doc. dr. Iztok Grabnar

## KAZALO

KAZALO.....	3
1 POVZETEK.....	1
1.1 ABSTRACT.....	2
2 UVOD.....	4
2.1 DEFINICIJA MIKRODELCEV .....	5
2.2 NAČINI PRIDOBIVANJA MIKRODELCEV .....	6
2.2.1 ENOSTAVNA KOACERVACIJA.....	7
2.2.2 KOMPLEKSNA KOACERVACIJA .....	7
2.2.2.1 KOMERCIALNI PRODUKTI.....	8
2.2.3 STRJEVANJE EMULZIJE.....	8
2.2.3.1 ODPAREVANJE TOPILA .....	9
2.2.3.2 EKSTRAKCIJA TOPILA .....	9
2.2.3.3 PREMREŽENJE .....	9
2.2.4 METODA IONOTROPNEGA GELIRANJA .....	10
2.2.5 MEDFAZNA POLIMERIZACIJA .....	10
2.2.6 RAZPRŠEVANJE Z IZGUBO TOPILA (ANGL.: SPRAY DESOLVATION)..	11
2.2.7 METODE S SUPERKRITIČNIMI PLINI.....	11
2.2.7.1 HITRA EKSPANZIJA IZ SUPERKRITIČNE RAZTOPINE (RESS).....	12
2.2.7.2 KRISTALIZACIJA IZ SUPERKRITIČNEGA PROTITOPILA (SAS).....	12
2.2.8 MIKROENKAPSULIRANJE S TALINAMI.....	13
2.3 SUŠENJE Z RAZPRŠEVANJEM.....	13
2.3.1 DEFINICIJA .....	13
2.3.2 ZGODOVINA .....	14
2.3.3 APARATURE IN OPREMA .....	15

---

2.3.4 UPORABNOST .....	16
2.4 RAZPRŠEVANJE S STRJEVANJEM.....	17
2.4.1 DEFINICIJA .....	17
2.4.2 APARATURE IN OPREMA .....	19
2.4.3 UPORABNOST METODE.....	24
3 NAMEN DELA.....	29
4 MATERIALI IN APARATURE .....	30
4.1 MATERIALI.....	30
4.1.1 TRDNE SNOVI IN NJIHOVE LASTNOSTI .....	30
4.2 APARATURE.....	30
5 EKSPERIMENTALNO DELO .....	31
5.1 RAZPRŠEVANJE S STRJEVANJEM.....	31
5.2 PRIPRAVA TALINE .....	31
5.3 DOLOČANJE VISKOZNOSTI TALINE .....	32
5.4 DOLOČANJE VELIKOSTI DELCEV IN MORFOLOGIJE .....	32
6 REZULTATI IN RAZPRAVA.....	33
6.1 VISKOZNOST .....	33
6.2 VPLIV PROCESNIH SPREMENLJIVK NA VELIKOST IZDELANIH MIKRODELCEV IN IZKORISTEK PROCESA RAZPRŠEVANJA S STRJEVANJEM .. .....	36
6.2.1 VPLIV HITROSTI DOVAJANJA TALINE NA VELIKOST IZDELANIH MIKRODELCEV IN NA IZKORISTEK PROCESA RAZPRŠEVANJA S STRJEVANJEM .....	36
6.2.2 VPLIV ODVITJA KAPICE ŠOBE NA IZKORISTEK PROCESA RAZPRŠEVANJA S STRJEVANJEM.....	42

6.2.3 VPLIV TLAKA RAZPRŠEVANJA NA VELIKOST IZDELANIH MIKRODELCEV IN IZKORISTEK PROCESA RAZPRŠEVANJA S STRJEVANJEM .....	46
6.3 DISKUSIJA VPLIVA POSAMEZNIH SPREMENLJIVK NA PROCES .....	51
7 ZAKLJUČEK .....	53
8 LITERATURA IN VIRI.....	55

## 1 POVZETEK

Osnovni namen diplomskega dela z naslovom Vpliv procesnih spremenljivk na velikost mikrodelcev in izkoristek procesa s tehnologijo razprševanja s strjevanjem je izdelovanje mikrodelcev s procesom tehnologije razprševanja s strjevanjem. Za izdelavo mikrodelcev smo uporabili laboratorijski sušilec z razprševanjem Büchi B-296 s pripadajočo opremo, ter aparat ustrezno modificirali, da je omogočal delo s talinami. Glavni poudarek diplomskega dela je bilo proučevanje procesnih parametrov, s katerimi bi bilo mogoče nastanek mikrodelcev nadzorovati (predvsem njihovo velikost) in proces optimizirati za industrijsko uporabo. Za talino smo uporabili snov Gelucire® 50/13. Želeli smo izdelati relativno velike mikrodelce z uniformno določeno velikostjo med 125 in 500 mikrometri (uporabna frakcija), pri tem pa smo želeli doseči tudi čim višje izkoristke procesa izdelave. V sklopu vplivov sprememb na proces razprševanja s strjevanjem in lastnosti produkta smo preučevali vpliv spreminjanja tlaka razprševanja, vpliv spreminjanja hitrosti dovajanja (pretoka) vzorca in vpliv spreminjanja nastavitve kape šobe.

Poskusi, ki smo jih izvedli, so pokazali, da je s pripadajočo opremo mogoče uspešno razprševati relativno velike vzorce (tudi do 100 gramov) Gelucire® 50/13 ter izdelati mikrodelce z visokim celokupnim izkoristkom, ki lahko dosega tudi 95 odstotkov. Na velikost izdelanih mikrodelcev lahko bistveno vpliva viskoznost taline, ki se spreminja v odvisnosti od temperature.

Ugotovili smo, da se velikost mikrodelcev z višanjem hitrosti dovajanja taline povečuje, in sicer iz 84  $\mu\text{m}$  pri 6,0 ml/min na 140  $\mu\text{m}$  pri 23,4 ml/min. Na širino porazdelitve velikosti mikrodelcev hitrost dovajanja taline bistveno ne vpliva. Pri visoki hitrosti dovajanja taline so mikrodelci sicer večjih velikosti (višji uporabni izkoristek), vendar je lepljenje na steno procesne komore bolj izraženo, zato je celokupni izkoristek izdelave nižji.

Med izvajanjem poskusov smo odkrili, da lahko z odvijanjem kapice šobe vplivamo na geometrijo razprševalnega stožca. Zožanje stožca razprševanja podaljša pot kapljic, kar izboljša celokupni izkoristek iz 72% na 88%, uporabni izkoristek pa iz skromnih 7% na skoraj 46%. Zožanje stožca razprševanja dodatno ugodno vpliva na širino porazdelitve, ki se zoži, kar je zaželeno.

Potrdili smo tudi korelacijo med tlakom razprševanja in velikostjo izdelanih mikrodlecev. Pri tlaku razprševanja 1590 mbar je povprečna velikost izdelanih mikrodlecev 58  $\mu\text{m}$ , če tlak zmanjšamo na 1090 mbar pa se velikost poveča na kar 278  $\mu\text{m}$ . Boljši celokupni izkoristek izdelave dosežemo pri visokih tlakih razprševanja, medtem ko so nizki tlaki razprševanja bolj ugodni za visok uporabni izkoristek. Najti je torej potrebno kompromisno rešitev.

Zaključimo lahko, da na velikost mikrodlecev in izkoristke procesa razprševanja s strjevanjem bistveno vplivata predvsem kot razprševanja (odvoj kapice šobe) in tlak razprševanja, še posebej slednji se zdi kot najpomembnejši dejavnik procesa, manj izrazito, a nikakor ne zanemarljivo vlogo pri optimizaciji pa ima tudi hitrost pretoka taline.

## 1.1 ABSTRACT

The intention of this work titled *Influence of process variables on microparticle size and process yield using spray congealing technology* was to develop a method for preparation of microparticles using spray congealing technology. A laboratory spray-dryer Büchi B-296 was modified to allow work with hot molten material. The basic objective of this work was to investigate process parameters that allow the control of microparticle production (especially size) and optimization for large-scale production. Gelucire<sup>®</sup> 50/13 was used for melt preparation. The preferred microparticle size was from 125 to 500  $\mu\text{m}$  in diameter (useful fraction) and the preparation process should have high yields of production. Process parameters tested included atomization pressure, liquid feed rate and spray cone width.

The employed spray congealing technique enabled the production of microparticles with diameters from 125 to 500  $\mu\text{m}$  with high total yield up to 95 percent.

Microparticle size increased with increase of liquid feed rate from 84  $\mu\text{m}$  at 6,0 ml/min to 140  $\mu\text{m}$  at 23,4 ml/min. Liquid feed rate did not influence the microparticle distribution width. Although the microparticles were bigger at higher liquid feed rates, the adherence to the process chamber wall was more pronounced at these conditions, which lowered total process yield.

The possibility to influence the width of spray cone was discovered by unscrewing the nozzle cap. Narrower spray cone increases the fly path of molten droplets, which leads to increase of total process yield from 72% to 88% and increase of useful total yield from modest 7% to almost 46%. An additional positive influence of this was that the microparticle distribution width was lowered, which is preferred.

A correlation between atomization pressure and microparticle size was also observed. At atomization pressure of 1590 mbar the average microparticle size was 58  $\mu\text{m}$ , when atomization pressure was lowered to 1090 mbar, the microparticle size was increased to an average 278  $\mu\text{m}$ . Higher total yields were observed at higher values of atomization pressure, while lower atomization pressure values increased the useful yield of the process, therefore a compromise must be made.

It can be concluded that microparticle size and process yields using spray congealing process are mainly influenced by spray cone width (nozzle cap position) and atomization pressure, especially the latter seems to be the most important process parameter during spray congealing. Liquid feed rate had a less pronounced influence on the process.



## 2 UVOD

V zadnjih letih se je z razvojem novih naprednih in učinkovitih tehnologij proces priprave in oblaganja mikrodlecev oziroma mikroenkapsulacije izredno razširil predvsem na področju farmacevtske industrije, pa tudi v veterini, kmetijstvu in živilski in kozmetični industriji (1). Pri tem se za pripravo mikrodlecev v veliki meri uporabljata predvsem tehnologiji sušenja z razprševanjem (angl.: spray-drying) in razprševanja s strjevanjem (angl.: spray-congealing, spray-cooling ali spray-chilling), mikrodlece pa lahko pridobivamo tudi s številnimi drugimi metodami kot so: metode z odparevanjem topila, premreženje, ionsko geliranje, medfazna polimerizacije ter metode, kjer uporabljamo taline (2). Mikroenkapsulacija sicer ni popolna novost na področju izdelave mikrodlecev, saj se uporablja že od tridesetih let prejšnjega stoletja naprej, ko so na omenjeni način pričeli izdelovati arome in vitamine, ki so s tem pridobili dodano vrednost (2). Prvi komercialni izdelek narejen z mikroenkapsulacijo je bila proizvodnja indigo papirja, kjer prenos barve temelji na mehanskem predrtju mikrokapsul, ki vsebujejo oljnato obarvano jedro (3). Danes se tehnologija mikroenkapsulacije v farmaciji in biomedicini uporablja predvsem za:

- prekrivanje neprijetnega vonja in okusa (4);
- zaščito zdravilnih učinkovin pred vplivi okolja (npr. kisik, vlaga, svetloba, encimi, želodčna kislina) (5);
- zmanjševanje velikosti delcev za hitrejše raztapljanje težko topnih zdravilnih učinkovin (6);
- prirejeno sproščanje učinkovin (7);
- enkapsulacija celic (8).

V zadnjih desetletjih so mikrodleci postali nepogrešljiv del udejanjanja nadzorovanega sproščanja učinkovin, še posebej, ker jih je prav zaradi njihove zasnove mogoče prilagajati različnim neodvisnim režimom odmerjanja. V splošnem velja, da imajo biorazgradljivi polimerni mikrodleci v primerjavi s konvencionalnimi parenteralnimi pripravki številne prednosti:

**Podaljšano sproščanje:** Pri enkapsulaciji učinkovine s polimernim matriksom, ki omejuje vstop tekočin organizma do učinkovine, lahko mikrodelci vzdržujejo koncentracijo učinkovine v krvi v terapevtskem oknu skozi daljši čas. Na ta način so morebitni toksični stranski učinki minimalni, sprejemljivost takšne terapije s strani bolnikov pa izboljšana zaradi podaljšanega dozirnega intervala (2).

**Lokalna aplikacija:** Subkutano ali intramuskularno aplicirani pripravki z mikrodelci lahko vzdržujejo terapevtsko učinkovite koncentracije na tarčnem tkivu skozi daljši čas. Zaradi lokalne aplikacije so manjši tudi z učinkovino povezani sistemski stranski učinki. Sistem se je izkazal za še posebej učinkovitega pri dostavi lokalnih anestetikov (9).

**Pulzirajoče sproščanje:** Takšen način dostavljanja zdravilne učinkovine se je izkazal za najbolj učinkovito pri dovajanju antibiotikov in vakcin, saj v primerjavi s takojšnjim in zakasnjnim sproščanjem zmanjšuje možnost nastanka rezistence bakterij na aplicirane antibiotike. Pri zdravljenju z vakcinami primarna sprostitelj učinkovine ter za njo zadržano sproščanje spominja na začetni in vzdrževalni odmerek, kar se izkaže kot bolj učinkovito kot običajno dajanje (11).

## 2.1 DEFINICIJA MIKRODELCEV

Mikrodelci so dostavni sistemi v obliki trdnih delcev velikosti med 1 in 1000 mikrometri, ki jih običajno pridobivamo na osnovi polimerov ter služijo kot dostavni sistem za zdravilne učinkovine. Običajno so sferične oblike. Glede na lastnosti jih ločimo na mikrosfere in mikrokapsule. Za mikrokapsule velja, da so zgrajene iz jedra, ki je lahko tekoče ali trdno in trdnega ovoja, ki jedro obdaja. Mikrosfere pa so mikrodelci, v katerih je učinkovina, enakomerno razporejena po celotni prostornini delca (7, 2).



Slika 1: Polimerni mikrodelci: a) mikrosfere; b) mikrokapsule.

## 2.2 NAČINI PRIDOBIVANJA MIKRODELCEV

V zadnjih desetletjih se za izdelavo mikrodelcev uporabljajo številne tehnologije kot npr.:

- enostavna koacervacija;
- kompleksna koacervacija;
- strjevanje emulzije;
- odparevanje topila;
- ekstrakcija topila;
- premreženje;
- ionotropno geliranje;
- medfazna polimerizacija;
- razprševanje z izgubo topila;
- metode s superkritičnimi plini;
- mikroenkapsuliranje s pomočjo talin;
- sušenje z razprševanjem;
- razprševanje s strjevanjem.

Preglednica I: Različne metode mikroenkapsulacije in njihove relativne širine povprečne velikosti nastajajočih delcev (12).

<b>Metoda mikroenkapsulacije</b>	<b>Povprečni premer delcev (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
Sušenje z razprševanjem	5–5000
Koacervacija	2–1200
Odporevanje topila	0,5–1000
Ločitev faz	0,5–1000
Medfazna polimerizacija	0,5–1000

### **2.2.1 ENOSTAVNA KOACERVACIJA**

Med najstarejše postopke izdelave mikrodelcev vsekakor velja uvrstiti koacervacijo, ki se lahko uporablja tako za izdelavo mikrosfer kot mikrokapsul. Metoda temelji na ločevanju raztopine hidrofilnih polimerov v dve fazi. Tako nastanejo majhne kapljice, bogate s polimerom, ki jih obdaja medij, v katerem prevladuje topilo. Proces koacervacije sicer delimo na enostavno in kompleksno koacervacijo, in sicer glede na število polimerov, ki so udeleženi pri formiranju mikrodelcev (2).

V procesu enostavne koacervacije uporabimo le eno vrsto polimera (npr. želatino, polivinil alkohol, karboksimetil celulozo, itd), ločitev faz pa lahko induciramo z dehidracijo polimerne faze. Takšne pogoje lahko izzovemo z dodatkom z vodo se mešajočih organskih netopil, kot so etanol, aceton, dioksan, izopropanol ali propanol (11) ali dodatkom anorganskih soli, kot je na primer natrijev sulfat (13), enostavno koacervacijo pa je mogoče doseči tudi s spremembo temperature (7).

### **2.2.2 KOMPLEKSNA KOACERVACIJA**

Proces kompleksne koacervacije zahteva prisotnost dveh hidrofilnih polimerov, ki sta nasprotno nabita (14). Nevtralizacija skupnega pozitivnega naboja na enem izmed polimerov z negativno nabitim polimerom povzroča ločitev s polimeri bogate faze. Najbolj

znan primer kompleksne koacervacije je sistem želatina-arabski gumi, ki ga je v začetku štiridesetih let prejšnjega stoletja iznašel Bungenberg de Jong (16). Ker so v sistemu prisotne tudi elektrostatične interakcije, je izjemnega pomena za uspeh kompleksne koacervacije tudi pH medija v sistemu. V omenjenem sistemu mora biti pH nižji od izoelektrične točke želatine, tako da slednji lahko vzdržuje pozitivni naboj. Ko se okoli kapljic olja ali trdne faze ustvarijo koacervacijski vključki, se ti polimerni kompleksi stabilizirajo s pomočjo prečnega premreženja, ki ga omogoča glutaraldehid (2).

### **2.2.2.1 KOMERCIALNI PRODUKTI**

Prvi v komercialne namene uporabljeni mikrodelci so mikrokapsule, nastale z metodo kompleksne koacervacije namenjene kopiranju, ki so jih razvili pri podjetju National Cash Register Corp. (3). Hrbtna stran lista je bila prevlečena z mikrokapsulami velikosti med 3 in 10 mikrometrov. Slednje so izdelali na osnovi sistema želatina-arabski gumi. V sredici mikrokapsule se nahaja oljni medij, v katerem so raztopili brezbarvno barvilo, ki pa se je pod določenimi pogoji obarvalo. To se je zgodilo, ko so zaradi pritiska, ki ga je ustvarjalo pisalo ali igla, mikrokapsule popokale in je iz njih priteklo brezbarvno barvilo, ki se je ob stiku z razvijalcem barve nanešenim na sprednjo stran naslednjega lista obarvalo (2).

### **2.2.3 STRJEVANJE EMULZIJE**

Mikrodelce lahko izdelamo tudi iz emulzije dveh ali več tekočin, ki se med seboj ne mešajo. Primer takšnega načina nastajanja mikrodelcev je raztopina hidrofobne učinkovine in polimera v organski fazi, pri čemer je slednja emulzificirana v vodni fazi in torej gre za emulzijo tipa O/V. Če odstranimo topilo nastanejo mikrokapsule, ki vsebujejo učinkovino in ovoj iz polimera. Odvisno od topnosti učinkovine v vodi in uporabljenega polimera, lahko nastanejo različni tipi emulzije. Tip V/O/V je primeren za izdelavo mikrokapsul z v vodi topnimi učinkovinami v hidrofobnem polimeru, podobno velja za tip V/O/O, medtem ko emulzija tipa V/O omogoča izdelavo mikrokapsul z vodotopno učinkovino in vodotopnim

polimerom. Odvisno od metode strjevanja kapljic notranje faze lahko metodo razdelimo v tri podskupine: odparevanje topila, ekstrakcijo topila ali premreženje (2).

### **2.2.3.1 ODPAREVANJE TOPILA**

Za metodo odparevanja topila velja, da je polimer raztopljen v hlapnem organskem topilu skupaj z učinkovino, ki je lahko v raztopljeni ali suspendirani obliki. Takšna organska faza se nato emulzificira v vodni raztopini, ki vsebuje emulgator, do nastanka O/V emulzije. Tako dobljeno emulzijo mešamo, dokler večina organskega topila ne izhlapi. Tako nastanejo mikrokapsule, ki jih lahko nato speremo z vodo in liofiliziramo. Zaradi lažjega odparevanja topila emulzijo običajno segrejemo malenkost nad vrelišče organskega topila (2). Metoda z odparevanjem topila temelji predvsem na visokem parnem tlaku samega topila, kar pomeni, da je za uspešno izvedbo potrebno uporabiti zelo hlapno topilo, saj v nasprotnem primeru proces strjevanja traja predolgo, posledica le-tega pa je neustrezna morfologija (17) in velika poroznost delcev (18) ter manjši izkoristek procesa (19, 20), vse skupaj pa lahko privede tudi do nepredvidljive razporeditve velikosti delcev (17).

### **2.2.3.2 EKSTRAKCIJA TOPILA**

Kadar izbira topil ne dopušča hitrega odparevanja, je mogoče uporabiti metodo ekstrakcije topila. To storimo tako, da povečamo koncentracijsko razliko med fazama z dodatkom netopila. Pri ekstrakciji topila gre v principu za ločevanje snovi s pomočjo različne topnosti v uporabljenih topilih. To je mogoče doseči z uporabo topila, ki ima večjo topnost v zunanji fazi (21), večjo razliko v topnosti med notranjo in zunanjo fazo (18) ali z difuzijo dodanega tretjega topila, imenovanega tudi netopilo v samo zunanjo fazo (22).

### **2.2.3.3 PREMREŽENJE**

Mnoge hidrofilne polimere naravnega izvora, recimo želatina, albumin, škrob, dekstran, hialuronska kislina in hitosan (23), je mogoče v obliki kapljic strditi s kemičnimi ali

termičnimi premreževalnimi procesi. Večino proteinov je mogoče premrežiti z glutaraldehidi, gre za t.i. klasično premreženje, vendar je njihova aplikacija v farmacevtske namene precej problematična s stališča toksičnosti. Segrevanje (24), dodajanje nasprotno nabitih polionov (25) ali premreževalnih reagentov (26) predstavljajo alternativo klasični premreževalni metodi.

#### **2.2.4 METODA IONOTROPNEGA GELIRANJA**

Za ionotropno geliranje je potrebno prečno premreženje polielektrolitov v prisotnosti večvalentnih nasprotno nabitih ionov. Za primer lahko navedemo razprševanje raztopine natrijevega alginata v raztopino kalcijevega klorida, kar povzroči nastanek rigidnih gel delcev. Ionskemu geliranju pogosto sledi polielektrolitna kompleksacija z nasprotno nabitimi polielektroliti. Sama kompleksacija povzroči nastanek membrane polielektrolitnega kompleksa na površini gel delcev, kar povzroči povečanje mehanske odpornosti delcev. V primeru uporabe kalcijevega alginata se za polielektrolitno kompleksacijo običajno uporablja polilizin. Drugi polimerni sistemi, ki se prav tako uporabljajo pri ionskem geliranju, so hitosan/trifosfat, karboksimetil celuloza/aluminij (ali hitosan), pektin/kalcij, polifosfazen/kalcij in še nekateri. To metodo sta za potrebe mikroenkapsuliranja celic sicer razvila Lim in Sun (8), danes pa se veliko uporablja tudi za mikroenkapsulacijo učinkovin.

#### **2.2.5 MEDFAZNA POLIMERIZACIJA**

Polimerizacija monomerov lahko poteka na stični površini dveh med seboj nemešajočih se tekočin, pri čemer nastane membrana. S polimerizacijo monomerov kislinskega diklorida in diamina nastanejo na stični površini najlonska vlakna. Nevodna faza, ki vsebuje surfaktant in vodna faza z učinkovino in diaminom z medsebojnim mešanjem tvorita V/O emulzijo, h kateri dodamo dodatno nevodno fazo s kislinskim kloridom. Slednji je potreben za potek medfazne polimerizacije, v prebitku služi pa tudi za njeno prekinitev (27).

### **2.2.6 RAZPRŠEVANJE Z IZGUBO TOPILA (ANGL.: SPRAY DESOLVATION)**

Pri tej metodi gre za razprševanje polimerne raztopine na desolvatno tekočino. Dober primer razprševanja z izgubo topila je razprševanje raztopine polivinilacetata (PVA) na acetonsko kopel. V tem primeru topilo, običajno voda, difundira v aceton, delci PVA pa precipitirajo do velikosti trdnih mikrodlecev (28). Podoben mehanizem poteka tudi v primeru govejih serumskih albuminov (BSA), obloženih s polilaktatno-ko-glikolno kislino (PLGA). Mikronizirani delci učinkovine se suspendirajo v raztopini PLGA v acetonu, nato pa jih je mogoče s pomočjo ultrazvočne šobe razprševati v etanolno kopel (29).

Poleg klasičnega razprševanja z izgubo topila, se precej uporablja tudi modificirana metoda kriogeneske ekstrakcije (30). Za to metodo je značilna porazdelitev ali raztapljanje učinkovine v polimerni fazi, ki sestoji iz PLGA in diklorometana. Omenjeno zmes polimera in učinkovine je nato potrebno razprševati nad slojem etanola, zamrznjenega s pomočjo tekočega dušika. Mikrokapljice se strdijo ob dotiku s tekočim dušikom ter se nato potopijo do etanolnega sloja pod plastjo tekočega dušika. Z dvigom temperature zamrznjeni mikrodleci pričnejo drseti v tajajoč se etanol. Pri tem se prične taliti tudi diklorometan iz polimerne faze, ki se nato počasi ekstrahira v etanol, kar ima za posledico učvrstitev mikrodlecev. Prav proces kriogeneske ekstrakcije je bil uporabljen za izdelavo mikrodlecev s humanim rastnim hormonom (hGH) (31, 32), ki se na trgu pojavlja v obliki suspenzije za injiciranje (Nutropin Depot<sup>®</sup>) z dozirnimi intervalom štirinajstih dni ali enega meseca.

### **2.2.7 METODE S SUPERKRITIČNIMI PLINI**

Gre za sorazmerno novo metodo, s katero lahko minimiziramo uporabo organskih topil in zahtevnih proizvodnih pogojev, pri čemer izkoriščamo predvsem dve specifični lastnosti superkritičnih plinov, in sicer veliko stisljivost ter tekočinam podobno gostoto. Omenjeno metodo lahko v grobem razdelimo na dva dela:



- hitro ekspanzijo iz superkritične raztopine (angl.: rapid expansion of supercritical solutions - RESS), pri kateri superkritična raztopina služi kot topilo za polimer (34);
- kristalizacijo iz superkritičnega protitopila (angl.: supercritical antisolvent crystallization - SAS), pri kateri superkritična tekočina služi kot protitopilo, ki povzroča obarjanje polimera (34).

### **2.2.7.1 HITRA EKSPANZIJA IZ SUPERKRITIČNE RAZTOPINE (RESS)**

Učinkovino uvajamo v superkritično tekočino (ponavadi CO<sub>2</sub>). Takšna zmes je potem z visoko hitrostjo potisnjena skozi razpršilnik, kjer pride do ekspanzije superkritične tekočine. Posledično se močno zmanjša moč superkritične tekočine kot topila in učinkovina se obori. Prisotne površinsko aktivne snovi inhibirajo rast nastajajočih kristalov. Prednost te metode je v tem, da končni produkt ne vsebuje nikakršnih rezidualov topil, vendar je večina uporabnih učinkovin slabo topna ali netopna v superkritičnih tekočinah, kar predstavlja veliko omejitev metode (35, 36).

### **2.2.7.2 KRISTALIZACIJA IZ SUPERKRITIČNEGA PROTITOPILA (SAS)**

Metoda je bila razvita za izdelavo nanodelcev hidrofobnih učinkovin, katere ne moremo izdelati z RESS metodo zaradi njihove prenizke topnosti v superkritičnih plinih. Učinkovino raztopimo v primernem organskem topilu, takšno raztopino pa razpršimo v superkritični CO<sub>2</sub>. Visoka specifična površina kapljic povzroči tesen stik s superkritičnim plinom, kar omogoči difuzijo raztopine v superkritični plin in obratno. Ker pa ima učinkovina v superkritičnem plinu manjšo topnost kot v organskem topilu pride do nasičenja in hitre nukleacije, ki rezultira v nastanku delcev učinkovine (37).

### **2.2.8 MIKROENKAPSULIRANJE S TALINAMI**

Za to metodo je značilno, da polimer najprej raztalimo in ga nato zmešamo s trdnimi ali tekočimi učinkovinami (38). Takšno mešanico nato suspendiramo v nemešajočem topilu in segrevamo 5 stopinj Celzija nad točko tališča polimera ob konstantnem mešanju. Emulzijo nato ohladimo pod tališče, dokler se polimerni mikrodelci ne strdijo (2).

## **2.3 SUŠENJE Z RAZPRŠEVANJEM**

### **2.3.1 DEFINICIJA**

Proces sušenja z razprševanjem ali s tujko »spray-drying« je enostopenjski proces v zaprtem sistemu, ki omogoča aplikacijo na velikem številu različnih snovi. Pri omenjenem procesu učinkovino najprej raztopimo ali suspendiramo v ustreznem (vodnem ali nevodnem) mediju, v katerem so lahko raztopljene tudi druge snovi. Raztopino ali suspenzijo nato razpršujemo v sušilno komoro, v kateri se razpršene kapljice posušijo, še preden trčijo ob steno komore. Sušenje omogoča ustrezno segret nosilni plin, običajno zrak, rezultat samega procesa pa je močno odvisen od lastnosti materialov in nastavitvev procesnih spremenljivk aparature za sušenje z razprševanjem. Običajno je pri sušenju z razprševanjem mogoče nastavljati naslednje parametre: temperaturo, vlago in pretok vhodnega zraka, hitrost dovajanja raztopine ali suspenzije ter tlak razprševanja. Vse te procesne spremenljivke sistema vplivajo na lastnosti samega produkta, predvsem na velikost oziroma premer posameznih delcev, izkoristek, razpon velikosti posameznih delcev ter na količino rezidualnih (zaostalih) topil. Optimiziranje proizvodnega procesa je običajno odvisno od specifičnih lastnosti snovi, ki se pri slednjem uporabljajo, zato je tudi optimizacija nepogrešljiv del eksperimentalnega dela (2).

Postopek sušenja z razprševanjem sestoji iz štirih osnovnih stopenj:

1. priprava raztopine, suspenzije ali emulzije za razprševanje;
2. atomizacija pripravljene raztopine ali suspenzije;
3. stik s segretim zrakom v komori;
4. odparevanje topila in sušenje delcev;
5. separacija posušenega produkta (39).

Topilo, uporabljeno pri sušenju z razprševanjem je lahko hidrofilno ali hidrofobno, sam produkt pa so zelo porozne kroglice, ki v svoji notranjosti vsebujejo učinkovino. Pri tem se lahko pojavijo tudi nekateri želeni ali neželeni učinki, kot so npr. formiranje trdnih disperzij zaradi ponovne kristalizacije ali termalne degradacije temperaturno občutljivih učinkovin (40).

### **2.3.2 ZGODOVINA**

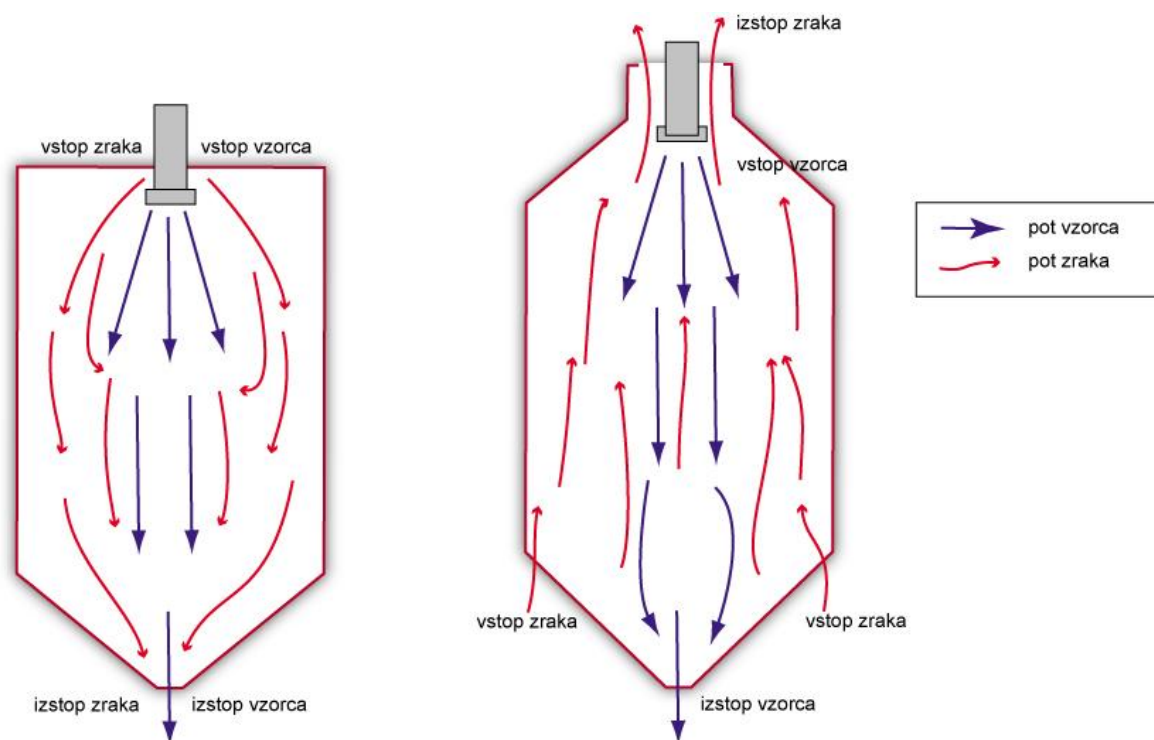
Razvoj opreme za razprševanje s sušenjem sega v devetnajsto stoletje, prve znane aparature za razprševanje s sušenjem pa so bile opremljene izključno z zračnimi šobami, saj so se rotacijske šobe z diski pojavile šele nekaj desetletij kasneje. Zaradi relativno nedodelane zasnove in težavnega rokovanja z njimi, je bila metoda do dvajsetih let prejšnjega stoletja le redko uporabljana, nato je pa hiter razvoj aparaturne opreme prinesel tudi komercialni uspeh metode. Mleko v prahu je bil prvi komercialno dostopen produkt, pridobljen z metodo razprševanja s sušenjem, v naslednjih dvajsetih letih pa je proizvajalcem opreme uspelo narediti velik korak naprej, predvsem v smislu razširitve spektra vhodnih materialov, tako da je danes mogoče razprševati vse od nekaterih termolabilnih snovi do emulzij, raztopin in suspenzij. Med drugo svetovno vojno je prav razprševanje s sušenjem poskrbelo za veliko manj logističnih težav vojska po svetu, saj je bil transport proizvodov procesa sušenja z razprševanjem na bojišča veliko lažji in enostavnejši kot klasično pripravljena hrana (41).

### 2.3.3 APARATURE IN OPREMA

Sušilnik z razprševanjem (angl.: spray-dryer) je naprava, ki se uporablja za formiranje delcev s procesom sušenja z razprševanjem. V vsakem primeru je naprava opremljena s šobo, ki razprši tekočino v drobne kapljice, ki v stiku z vročim zrakom v sušilcu z razprševanjem v zelo kratkem časovnem intervalu spremenijo svoje agregatno stanje, s čimer se tvorijo fini delci, ki se nabirajo na dnu razprševalne komore. Smer razprševanja je običajno od zgoraj navzdol, delci ki pri tem nastajajo pa se od toka zraka običajno ločijo v ciklonu, ozkem steklenem delu, ki se nadaljuje iz komore in je zaključen s posodo, v kateri se zbirajo delci. Običajno gre za delce sferične oblike, velikosti med 20 in 200 mikrometrov. Proces razprševanja s sušenjem je metoda izbire predvsem pri zelo občutljivih snoveh, kot so hormoni, beljakovine, vitamini in eterična olja. Pri slednjih in mnogih drugih snoveh, ki se hitro oksidirajo, je s pomočjo razprševanja s sušenjem mogoče izvesti mikroenkapsulacijo, ki preprečuje dostop zraka v notranjost delcev, s čimer je mogoče doseči obstojnost občutljivih preparatov tudi v sicer potencialno neustrezni atmosferi. Takšna rešitev seveda omogoča enostavnejši transport in uporabo tovrstnih preparatov (39).

Način razprševanja ima signifikanten vpliv na lastnosti končnega produkta. Aparature za sušenje z razprševanjem so lahko glede na tok zraka in smer razprševanja dveh vrst: smer razprševanja enaka kot smer pretoka zraka (angl.: »co-current«, slika 2 - levo). Tovrstna zasnova je namenjena predvsem razprševanju termolabilnih učinkovin, saj pri teh napravah temperatura samega produkta le redko presega temperaturo izhodnega zraka. Ta temperatura je precej nižja od temperature vhodnega zraka zaradi izgube toplote ter odparevanja topila, ki je endotermen proces. Druga zasnova aparata je, da je smer toka zraka nasprotna smeri razprševanja (angl.: »counter-current«, slika 2 - desno). Ta zasnova se običajno uporablja za proizvodnjo delcev z visoko gostoto, ki imajo hkrati nizko zaostalo vsebnost topila ter posledično zelo malo intrapartikularnih prostorov. Temperatura produkta je pri takšnem načinu sušenja z razprševanjem običajno višja od temperature vhodnega zraka. Mešani tok zraka delcem omogoča, da se dlje časa zadržujejo v sušilni komori, kar je uporabno predvsem pri sušenju delcev, ki jih je sicer običajno težko posušiti in zahtevajo tudi manjše dovajanje energije. Mešanje zraka v komori je mogoče

kombinirati tudi z različnimi temperaturnimi conami, s čimer je mogoče doseči nastanek votlih mikrosfer (39).



Slika 2: Shematski prikaz delovanja glede na tok zraka in smer razprševanja: levo – »co-current« način; desno – »counter-current« način delovanja.

### 2.3.4 UPORABNOST

Pridobivanje praškastih produktov s pomočjo procesa sušenja z razprševanjem ima številne bistvene prednosti v primerjavi z večino drugih metod, ki omogočajo izdelavo mikrodolcev. Najprej velja izpostaviti predvsem možnost velike ponovljivosti posameznih serij in zelo fiksno zasnovo, zgradbo in velikost mikrodolcev posamezne serije. S procesom sušenja z razprševanjem je mogoče doseči uniformnost posameznih serij, hkrati pa izkoristiti primerne lastnosti vhodnih materialov. Metoda razprševanja s sušenjem

omogoča tudi relativno enostavno in ponovljivo procesiranje velikih serij, s čimer je izjemno primerna tudi za industrijsko uporabo. Ob vhodnih snoveh imajo pomemben vpliv na obliko in velikost mikrodelcev tudi procesni pogoji in pa zasnova same aparature. Farmacevtski materiali, ki jih pridobimo z visoko energijskimi procesi, med katere spada tudi sušenje z razprševanjem, običajno izkazujejo vsaj delno amorfno naravo. To je posledica dejstva, da takšni procesi ustvarjajo pogoje, ki lahko preprečijo kristalizacijo med formacijo trdnih delcev, obstaja pa tudi možnost, da omenjeni pogoji mehansko porušijo strukturo že nastalega kristaliničnega materiala sredi procesa. Pri komercialno dosegljivih pripravkih s cefalosporinom, ki jih pridobivajo z metodo sušenja z razprševanjem, je učinkovina v končnem pripravku običajno v amorfni obliki (42, 43). Sušenje z razprševanjem je tudi učinkovita metoda za prikrivanje neprijetnega okusa. V tem primeru je učinkovino potrebno raztopiti skupaj s polimerom, k raztopini je včasih potrebno dodati tudi snovi za vezanje (44).

## **2.4 RAZPRŠEVANJE S STRJEVANJEM**

### **2.4.1 DEFINICIJA**

Poleg razprševanja z vročim zrakom se v zadnjem obdobju vse bolj uporablja tudi metoda razprševanja s strjevanjem, angleško poimenovana »spray-cooling«, »spray-chilling« ali »spray-congealing«, ki se je izkazala predvsem kot varna in hitra metoda za izdelavo mikrodelcev z nekaterimi prednostmi pred ostalimi metodami. Pri razprševanju s strjevanjem disperzijo ali suspenzijo učinkovine v talini razpršujemo v komoro s hladnim zrakom, nenaden padec temperature pa povzroči hitro strjevanje posameznih kapljic. Kot zunanjo fazo uporabimo polimere, ki se talijo pri razmeroma nizki temperaturi, običajno med 45 in 75 °C. Bistvena prednost metode je to, da za izdelavo mikrodelcev ne potrebujemo topila, kar je lahko ugodno, kadar je učinkovina občutljiva na hidrolizo ali kadar se iz določenih razlogov želimo izogniti uporabi organskih topil (39).

Proces razprševanja s strjevanjem običajno sestoji iz naslednjih stopenj:

1. Polimerno nosilno snov raztalimo in ji dodamo učinkovino. Slednjo se lahko v talini polimera raztaplja ali pa le dispergira z mešanjem. Čeprav sta teoretično povsem možni obe obliki, so disperzijski sistemi pri procesu razprševanja s strjevanjem veliko bolj pogosti.
2. Talino z učinkovino dovajamo do razpršilne šobe, ki je običajno nameščena nad hladilno komoro ter jo razpršimo v hladilno komoro.
3. Med kapljicami vroče taline in hladnim zrakom v komori pride do hitrega prenosa toplote, zaradi česar se delci taline strdijo v trdne kroglice.
4. Trdni in ohlajeni prašni delci se ločijo od ohlajenega zraka s pomočjo ciklona in se zbirajo v posodi za produkt (39).

Razprševanje s strjevanjem ne vključuje faze odparevanja topila, zato so mikrodenci običajno gosti in neporozni. Proces razprševanja s strjevanjem je zelo podobno sušenju z razprševanjem, bistvena razlika med njima je pravzaprav pretok energije. Pri slednjem je energija potrebna za odparevanje topila in formacijo trdnih delcev, pri razprševanju s strjevanjem pa prav nizka temperatura zraka v komori povzroči strjevanje delcev taline (40). Če poenostavimo, gre pri razprševanju s strjevanjem za zlitje dveh tehnologij in sicer tehnologije talin (angl.: »hot-melt« tehnologije) in sušenja z razprševanjem.

Preglednica II: Prikaz pogloblitnih prednosti in slabosti sušenja z razprševanjem in razprševanja s strjevanjem (12).

<b>Metoda</b>	<b>Prednosti</b>	<b>Slabosti</b>
Sušenje z razprševanjem	- razširjena oprema in védenje o metodi - široke možnosti uporabe - možnost proizvodjanja velikih serij	- razmeroma visoki stroški obratovanja in vzdrževanja - visoke temperature - pogosto potrebna uporaba organskih topil
Razprševanje s strjevanjem	- brez uporabe topil - možnost razprševanja termolabilnih snovi	- težji nadzor nad procesom in procesnimi spremenljivkami

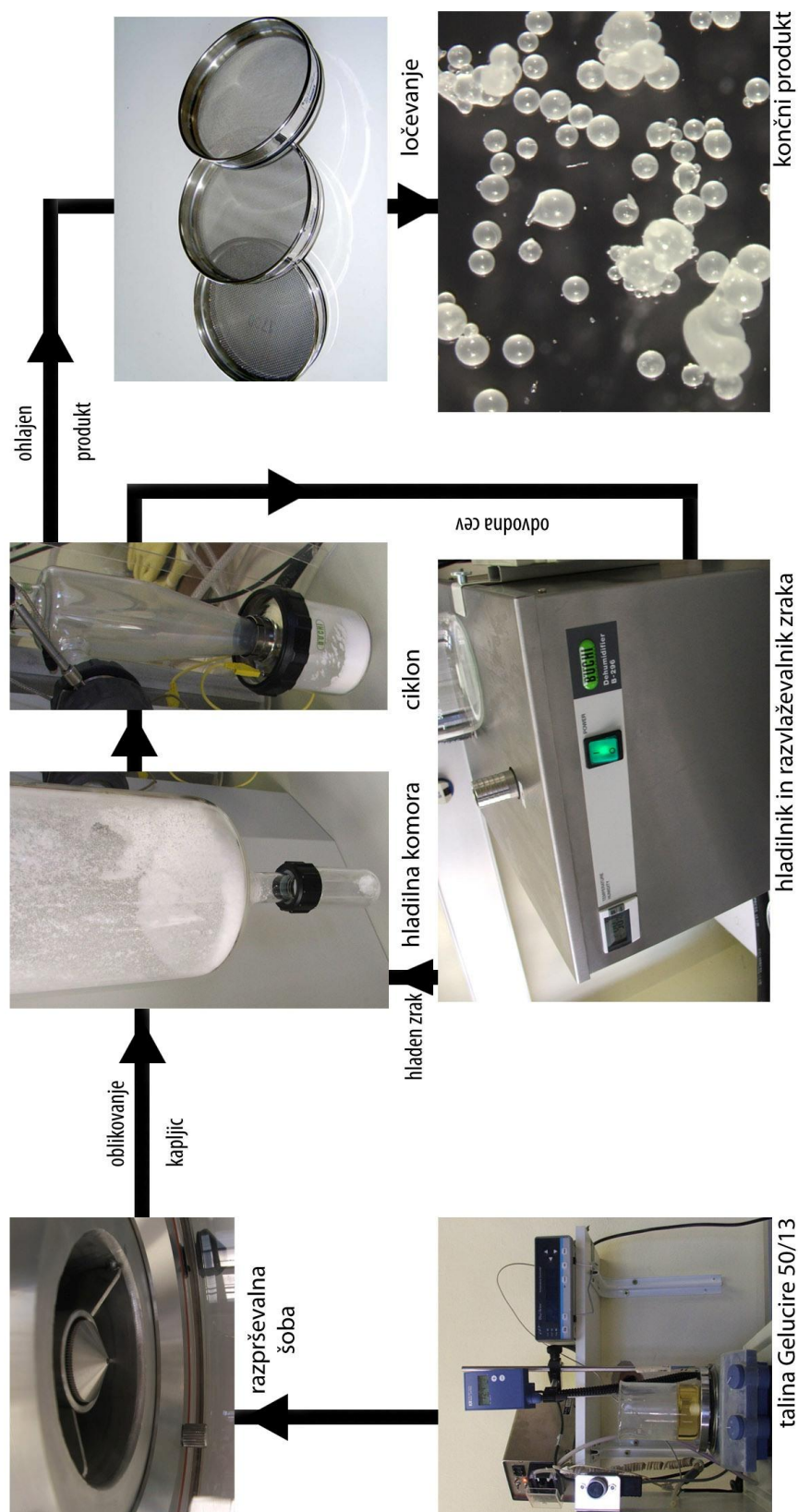
#### 2.4.2 APARATURE IN OPREMA

Za razprševanje s strjevanjem lahko običajno uporabljamo tudi enake aparature kot pri sušenju z razprševanjem, potrebne so le manjše predelave in dodatki. Glavne procesne spremenljivke pri razprševanju s strjevanjem so temperatura dovedene taline, temperatura hladilnega zraka, ki ohlaja komoro, temperatura in tlak stisnjenega zraka, ki potuje skozi šobo ter hitrost dovajanja taline. Eden glavnih elementov razprševanja s strjevanjem je tudi učinkovitost atomizacije delcev taline, ki jo lahko spreminjamo z uporabo različnih šob in procesnih spremenljivk (39).

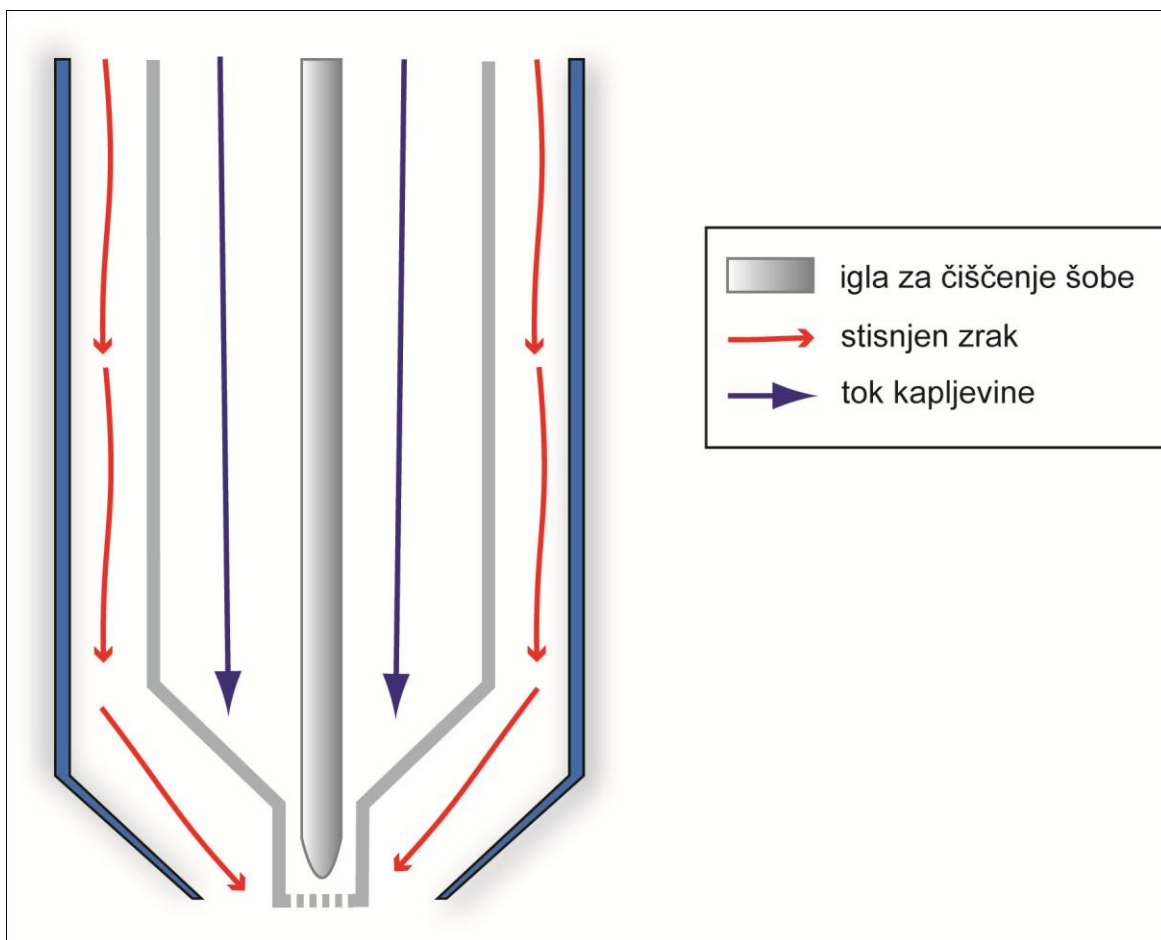




Slika 3: Sušilnik z razprševanjem Büchi B-296, ki je sicer v prvi vrsti namenjen razprševanju s sušenjem, a je z njegovo modifikacijo mogoče izvajati tudi proces razprševanja s strjevanjem.



Slika 4: Shema procesa razprševanja s strjevanjem.



Slika 5: Shema uporabljenе dvokanalne šobe, značilne za uporabo pri razprševanju s strjevanjem.

V osnovi je šobe mogoče razdeliti v štiri skupine, in sicer:

- rotacijske ali centrifugalne;
- brezračne šobe;
- zračne dvokanalne šobe;
- in ultrazvočne šobe (39).

Kot velja za večino procesov, ki temeljijo na talinah in pri katerih prihaja do strjevanja končnih produktov, se tudi pri razprševanju s strjevanjem ni mogoče izogniti segrevanju dovodnih cevi, po katerih talina prihaja do same šobe, s čimer preprečujemo nezaželeno

strjevanje pred samim razprševanjem in posledično zastajanje v teoriji neprekinjenega procesa. Tudi šoba je običajno obdana z izolacijskimi snovmi znotraj samega aparata ali pa ima dvojni plašč, s pomočjo katerega jo je mogoče termostatirati na želeno temperaturo.

Razprševanje z zračnimi dvokanalnimi šobami se pri razprševanju s strjevanjem uporablja največ, saj slednje omogočajo največji manevrski prostor in so najbolj vsestransko uporabne. Z njimi je mogoče najbolj enostavno vplivati na nastanek kapljic, saj je mogoče odprtino same šobe, tlak razprševanja in hitrost dovajanja taline spreminjati neodvisno eno od drugega (39). Z omenjeno šobo je mogoče pridobivati delce, ki imajo premer precej manjši od 50 mikrometrov. Šobe, ki temeljijo na razprševanju s pomočjo stisnjenega zraka, se utegnejo izkazati za problematične predvsem v primerih, kadar je viskoznost taline zelo visoka torej v primerih, ko je v talini dispergirano veliko trdnih delcev. V teh primerih se lahko za bolj primerne izkažejo brezračne šobe, medtem ko so dvokanalne šobe s pomočjo stisnjenega zraka bolj primerne za uporabo pri talinah z nizko vsebnostjo trdnih delcev v talini in kadar velikost delcev ni manjša od 100 mikrometrov (39).

Rotacijske razpršilne šobe so sestavljene iz vrtljivega diska, nameščenega na os, skozi katero na disk priteka talina. Zaradi vrtenja diska se talina formira v manjše kapljice, ki nato zdrsnejo z diska in tvorijo radialno razprševanje. Za razliko od aparatov, namenjenih uporabi dvokanalnimi šobami, ki imajo daljšo in ožjo obliko komore, imajo aparature z rotacijskimi razpršilnimi šobami komore, ki so širše in krajše. Porazdelitev velikosti delcev produkta je mogoče nadzorovati s spreminjanjem hitrosti dovajanja taline in hitrosti vrtenja diska, tovrstne šobe pa je mogoče uporabljati tudi za razprševanje s strjevanjem snovi, ki so korozivne in abrazivne. Pri procesih, pri katerih se uporabljajo brezračne enokanalne hidravlične ali rotacijske šobe, gre običajno za relativno počasnejše ohlajanje delcev, predvsem zaradi več mešanja zraka v hladilni komori, kot se to dogaja pri šobah, katerih delovanje temelji na dovodu stisnjenega zraka. Uporaba ultrazvočnih šob pri procesu razprševanja s strjevanjem je relativno nova. Ta tip šobe izkorišča gibanje oscilirajoče plošče, ki vibrira z ultrazvočnimi frekvencami, kar povzroči delitev osnovnega toka taline, ki priteka na površino plošče. Kapljice, ki pri tem nastajajo, so običajno izjemno majhne in v premeru le redko dosežejo velikost 30 mikrometrov, ta tip šob pa je še posebej primeren za nizke hitrosti dovajanja taline. Ker je samo nastajanje kapljic zaradi ultrazvočnih vibracij potrebne le malo kinetične energije, je vzorec in način razprševanja mogoče enostavno nadzorovati.

Vse vrste šob imajo tudi določene pomanjkljivosti kot so težave pri razprševanju zelo viskoznih tekočin z deležem trdnih snovi nad 30 m/m %. Nedavno so razvili tudi novo konstrukcijo ultrazvočne šobe, ki omogoča razprševanje disperzij z deležem suhih snovi do 50 m/m % (45).

### **2.4.3 UPORABNOST METODE**

Razprševanje s strjevanjem ima v primerjavi s konvencionalnimi metodami izdelave mikrodelcev številne prednosti. V splošnem ni potrebno uporabljati nobenih topil pri pripravi formulacije in proizvodnih procesih, tako da ni potrebna vzpostavitev sistema za ločevanje topil in morebitno reciklažo, potrebno zaradi potencialne nevarnosti topil za okolje in zdravje ljudi. Proces razprševanja s strjevanjem je tudi sorazmerno hitra metoda, saj pri njem ni potrebno odparevati topil, kar je običajno glavni dejavnik počasnosti procesa. Odsotnost topila pomeni tudi, da ni težav v zvezi z interakcijami med zdravilnimi učinkovinami in topili (45).

Med slabosti procesov razprševanja s strjevanjem velja uvrstiti predvsem relativno majhen nabor primernih polimerov, ki jih lahko uporabljamo. Le-ti namreč morajo biti stabilni pri temperaturi tališča, kar ni povsem samoumevno, saj mnogi polimeri pri tej temperaturi že pričnejo degradirati. Metoda je tudi precej zahtevna s stališča načrtovanja dovajanja taline na mesto razprševanja, saj je potrebno zagotoviti pogoje, ki ne bodo dopuščali strjevanja taline v samih dovodnih cevkah in tvorbo neželenih aglomeratov med procesom. Dodatno težavo predstavlja stabilnost uporabljenih polimerov, saj se pri skladiščenju tudi hitro starajo, kar lahko vpliva na stabilnost ter sproščanje izdelka (46).

Omejitev predstavlja tudi nabor snovi, ki se uporabljajo kot taline in so navedeni v preglednici III. Ta nabor metoda deli tudi z ostalimi metodami, ki temeljijo na uporabi talin. Zaželene lastnosti omenjenih snovi so naslednje:

- snov je stabilna pri temperaturah, ki se uporabljajo pri procesu razprševanja s strjevanjem (torej pri temperaturah do približno 30°C nad svojim tališčem);
- snov se zlahka razprši v hladilno komoro (lastnost vezana na viskoznost);
- tališče snovi je dovolj nizko, da zagotavlja mile obratovalne pogoje in zmanjša vpliv temperature na morebiten razpad učinkovine (47).

Primerne in komercialno dostopne snovi lahko razdelimo v dve veliki skupini: hidrofilne in hidrofobne. Med hidrofilne prištevamo polioksigliceride (npr. Gelucire<sup>®</sup>), poloksamera 188 in 407 (npr. Lutrol<sup>®</sup>, Pluronic<sup>®</sup>), polietilenglikole z molskimi masami od 2000 do 20000 in estre polietilenglikolov (npr. Stearate 6000 WL1644<sup>®</sup>). Med hidrofobnimi polimeri lahko najdemo čebelji vosek, Karnuauba vosek, cetil palmitat, številne estre glicerola z maščobnimi kislinami, ricinusovo olje, parafinski vosek in še nekatere druge (48).

Preglednica III: Seznam hidrofilnih in hidrofobnih snovi, primernih za metodo razprševanja s strjevanjem (48).

<b>Tipi topnih vezalcev, primernih za razprševanje s strjevanjem</b>	<b>Območje taljenja (°C)</b>
<b>Hidrofilne snovi</b>	
Gelucire <sup>®</sup> 50/13	35–44
Poloksamer 188	~51
Polietilenglikol 2000	42–53
Polietilenglikol 3000	48–63
Polietilenglikol 6000	49–63
Polietilenglikol 8000	54–63
Polietilenglikol 10000	57–64
Polietilenglikol 20000	53–66
Stearate 6000 WL1644 <sup>®</sup>	46–58
<b>Hidrofobne snovi</b>	
Čebelji vosek	56–60
Karnauba vosek	75–83
Cetil palmitat	47–50
Gliceril behenat	67–75
Gliceril monostearat	47–63
Gliceril palmitostearat	48–57
Gliceril stearat	54–63
Hidrogenirano ricinusovo olje	62–86
Mikrokristaliničen vosek	58–72
Parafinski vosek	47–65
Stearinska kislina	46–69
Stearinski alkohol	56–60

Za uporabo metode razprševanja s strjevanjem se lahko odločamo iz različnih razlogov, predvsem pa zaradi lažje in bolj učinkovite priprave mikrodlecev v primerjavi z drugimi

metodami, še posebej, kadar je ogrožena stabilnost učinkovine zaradi uporabe topil ali proces enkapsulacije pri drugih metodah ni učinkovit. Dodatno je metoda učinkovita pri doseganju prirejenega sproščanja, z uporabo hidrofobnih polimerov je mogoče sproščanje učinkovine s kratko razpolovno dobo podaljšati, kot v primeru verapamil hidroklorida (49) in teofilina (50). Z uporabo hidrofilnih polimerov pa je mogoče izdelati trdne disperzije ter tako pospešiti sproščanje v vodi slabo topnih zdravilnih učinkovin, kot v primeru karbamazepina (51), diklofenaka (52) in prazikvantela (53). V literaturi najdemo tudi številne druge primere uporabe tehnologije razprševanja s strjevanjem kot je npr. izdelava mikrodlecev z klaritromicinom (54), indometacinom (55), propafenon hidrokloridom,  $\alpha$ -tokoferil acetatom (45), felodipinom (56, 57), fenbufenom (58), tetraciklin hidrokloridom, lidokain hidrokloridom (59) in beljakovino inzulinom (60).

V primerjavi z drugimi metodami izdelave mikrodlecev je metoda razprševanja s strjevanjem ustrezna tudi s stališča uporabnosti same aparature, saj je slednja kompaktne zasnove in zato ne zavzame veliko prostora. Razprševanje s strjevanjem je še posebej primerno za pripravo trdnih lipidnih mikrodlecev, mikrodlecev s prilagojenim ali zakasnenim sproščanjem ter za prekrivanje neprijetnega okusa, v zadnjem času pa je bilo veliko truda vloženega tudi v razvoj mikrodlecev z beljakovinami (60).

Če torej povzamemo, so glavne vrline metode razprševanja s strjevanjem predvsem enostavnost in ekonomičnost izvedbe, možnost razprševanja termolabilnih učinkovin ter seveda odsotnost topil. Na drugi strani pa ima razprševanje s strjevanjem tudi svoje omejitve, saj je nabor polimerov, ki jih je mogoče uporabiti, relativno majhen. Metoda prav tako ni primerna za učinkovine, ki so nestabilne pri temperaturi tališča polimera in izhlapevajo ali sublimirajo pri povišanih temperaturah. V takšnih primerih si je sicer mogoče pomagati z raztalitvijo v zaprtem vsebniku ob prisotnosti inertnega plina, kot je dušik. Med slabe strani metode velja uvrstiti tudi težave z viskozno talino, ki lahko privede do zastajanja v sami dovodni cevi, to pa ima za posledico neenakomerno velike delce, sprejemanje delcev in neenakomerno kristalizacijo produkta (39).

Malo je dostopne literature na temo različnih procesnih parametrov pri procesu razprševanja s strjevanjem, še posebej kar se tiče njihovega vpliva na velikost končnega produkta. Znano je, da se na rotacijski šobi velikost delcev povečuje s hitrostjo dovajanja taline in zmanjšuje s hitrostjo oz. obrati diska na šobi in viskoznostjo taline (61). Velikost kapljic pri dvokanalni šobi so prečevali Juslin in sodelavci. Uporabili so vodno raztopino



veziva (npr. polivinilpirolidona) namenjeno granulaciji s pomočjo tehnologije z vrtinčenjem. Višji tlak razprševanja, nižje hitrosti dovajanja tekočine in nižje koncentracije veziva (nižja viskoznost) rezultirajo v manjši povprečni velikosti kapljic (62, 63). Šele pred kratkim so dokazali podoben vpliv procesnih spremenljivk na velikost izdelanih mikrodlecev pri procesu razprševanja s strjevanjem. Povečanje tlaka razprševanja iz 5 na 6 barov je vodilo v zmanjšanje velikosti izdelanih mikrodlecev (60). Pomemben je tudi vpliv viskoznosti tekočine, ki jo pri razprševanju s strjevanjem lahko nadzorujemo s temperaturo ter vrsti in količini dodane suhe snovi. Nižje viskoznosti ali povedano drugače, višje temperature taline vodijo v nastanek manjših mikrodlecev (60), višje viskoznosti, npr. zaradi dodatka suhe snovi, pa vodijo v nastanek večjih mikrodlecev (50).

### 3 NAMEN DELA

Namen diplomskega dela je izdelava relativno velikih delcev s procesom tehnologije razprševanja s strjevanjem. Meje zelene velikosti mikrodelcev smo določili med 125 in 500 mikrometri (uporabna frakcija), pri tem pa smo hoteli doseči tudi čim višje izkoristke procesa izdelave mikrodelcev. Gledano v celoti smo želeli raziskati vpliv nekaterih procesnih spremenljivk na velikost mikrodelcev ter optimizirati proces tehnologije razprševanja s strjevanjem za izdelavo zelene velikosti mikrodelcev. V sklopu vplivov sprememb na proces razprševanja s strjevanjem in lastnosti produkta smo želeli preučiti naslednje procesne spremenljivke:

- vpliv spreminjanja tlaka razprševanja;
- vpliv spreminjanja hitrosti dovajanja (pretoka) vzorca;
- vpliv spreminjanja nastavitve kape šobe.

Gre za procesne spremenljivke, ki so tesno povezane s procesom razprševanja in glede na literaturne podatke lahko bistveno vplivajo na velikost kapljic pri razprševanju, zato upravičeno sklepamo, da bodo močno vplivale tudi na velikost mikrodelcev. Naše eksperimentalno delo v vseh navedenih primerih pomeni večkratno ponavljanje procesa izdelave mikrodelcev, pri čemer bomo ugotavljali, kako posamezna procesna spremenljivka vpliva na velikost delcev in izkoristke procesa. Poleg tega se bomo ukvarjali tudi s samo konsistenco, obliko in morfologijo delcev, ki jo bomo preučevali s pomočjo stereomikroskopa in vrstičnega elektronskega mikroskopa (angl.: SEM). Pri slednjem nas zanima predvsem kvalitativna opredelitev, zato bomo pozorni predvsem na to, ali gre pri posameznih delcih za aglomerate ali osnovne delce in kakšna je površina posameznih delcev.

Rezultate posameznih poskusov bomo med sabo primerjali, ugotoviti pa želimo s kakšnimi spremembami procesnih spremenljivk lahko proces optimiziramo tako, da dobimo največji odstotek delcev zahtevane velikosti in posledično najvišji uporabni izkoristek.

## **4 MATERIALI IN APARATURE**

### **4.1 MATERIALI**

#### **4.1.1 TRDNE SNOVI IN NJIHOVE LASTNOSTI**

- Gelucire 50/13, HLB 13, Gattefossé, Francija

Mikrodelce smo pripravili iz Gelucire 50/13 (polioksogliceridi ali stearyl makrogol-gliceridi, trde pastile, HLB 13, Gattefossé, Francija; lot: 106058).

### **4.2 APARATURE**

- spray dryer B-296, Büchi, Švica
- peristaltična črpalka Flocon 1B.1003-R/65, PetroGas, Nemčija
- termostatna postaja Digi-Sense, Cole Palmer, ZDA
- digitalni manometer GDH 13 AN, Greisinger electronic, Nemčija
- analizna tehtnica, A-150-SX, Cobos, Španija
- tehtnica EB-1200C, Železniki, Slovenija
- analizni siti 125 in 500  $\mu\text{m}$ , Retsch, Nemčija
- naprava za določanje velikosti delcev - Mastersizer S, Malvern instruments, Worcestershire, Velika Britanija
- elektronski mikroskop, Zeiss SUPRA35 VP z EDS analizatorjem Oxford Inca 400, Zeiss, Nemčija
- stereomikroskop, Olympus SZX 12 z videokamero Sony, Japonska
- helijev piknometer, AccuPyc 1330, Micromeritics, ZDA
- refraktometer, Jena J78, Carl Zeiss, Nemčija
- rotacijski reometer Physica Rheolab MC 100 UM, Paar Physica, Stuttgart, Nemčija

## **5 EKSPERIMENTALNO DELO**

### **5.1 RAZPRŠEVANJE S STRJEVANJEM**

Mikrodelce smo pripravili s procesom razprševanja s strjevanjem, ki smo ga izvedli z aparaturom Büchi Mini Spray Dryer B-290 (Büchi, Švica). Za razprševanje taline v hlajeno komoro smo uporabili zračno dvokanalno šobo s širino razpršilnega dela 0,7 milimetra ter navojni del z odprtino širine 1,5 milimetra. Pri procesu smo uporabljali priloženo hladilno komoro, ki meri 15 centimetrov v širino ter 60 centimetrov v dolžino, v sistem pa so bili povezani tudi ciklon, aspirator in izhodni filter. Stalen tok ohlajenega zraka nizke vlažnosti s temperaturo med 0 in 5 stopinjami Celzija, smo uporabili za strjevanje delcev taline v procesni komori. Vstopni zrak smo ohladili s pomočjo razvlaževalca B-296 (Büchi, Švica), ki je bil zaporedno povezan z aparatom, tako da se je izstopna cev razvlaževalca nadaljevala v vstopno odprtino za zrak na sami komori sušilca z razprševanjem. Razpršilno šobo smo termostatirali na 60 stopinj Celzija s pomočjo vodnega pretoka skozi njeno dvojno ohišje, s pomočjo kapilare v vodni kopeli pa smo segrevali tudi stisnjen zrak za razprševanje, s čimer smo preprečili strjevanje taline v sami šobi. Masa izdelanih serij mikrodelcev pri izvedbi razprševanja s strjevanjem je bila med 47 g in 97 g, tipično okoli 70 gramov.

### **5.2 PRIPRAVA TALINE**

Gelucire v pastilah smo najprej raztalili in segreli na 70 stopinj Celzija, pri čemer smo pridobili rumenkasto prozorno talino, ki se je ob stiku s hladno podlago strdila v voskaste oblate. Pri reprocesiranju taline smo pri taljenju opazili prisotnost zračnih mehurčkov, ki so izginili, če smo talino ohladili, tako da se je popolnoma strdila, in jo nato ponovno raztalili.

### 5.3 DOLOČANJE VISKOZNOSTI TALINE

Postopek določanja viskoznosti smo opravili s pomočjo rotacijskega reometra Physica Rheolab MC 100 UM in dveh mešal z oznakama Z1 in Z3, ki se med seboj ločita po premeru (Z1 ima premer 10 milimetrov, Z3 pa 30 milimetrov). Pred samim merjenjem viskoznosti je bilo potrebno talino termostatirati na temperaturo, pri kateri smo določali viskoznost. Meritve smo izvajali tako, da smo strižno hitrost povečevali od 0 do 200 in nazaj na  $0 \text{ s}^{-1}$ . Obdelava in izpis rezultatov sta potekala računalniško s pomočjo programa RheoWin.

### 5.4 DOLOČANJE VELIKOSTI DELCEV IN MORFOLOGIJE

Merjenje porazdelitve velikosti delcev smo opravili z lasersko difrakcijo pri naslednjih pogojih: leča 300RF; enota za mešanje disperzije (1000 vrtljajev v minuti); prava gostota  $1,110 \text{ g/cm}^3$  (AccuPyc 1330, Micromeritics, ZDA); refrakcijski indeks Gelucire 50/13 1,439. Refrakcijski indeks smo določili z ekstrapolacijo do 100% trdne snovi s pomočjo Gelucire 50/13 raztopin v vodi. (4 točke; 0,184% m/m - 1,880% m/m; pri  $R^2=0,997$ ) z uporabo refraktometra Jena J78. Za disperzijski medij smo uporabili 96% etanol, v katerem se Gelucire 50/13 ne raztaplja. Vsako meritev smo opravili trikrat.

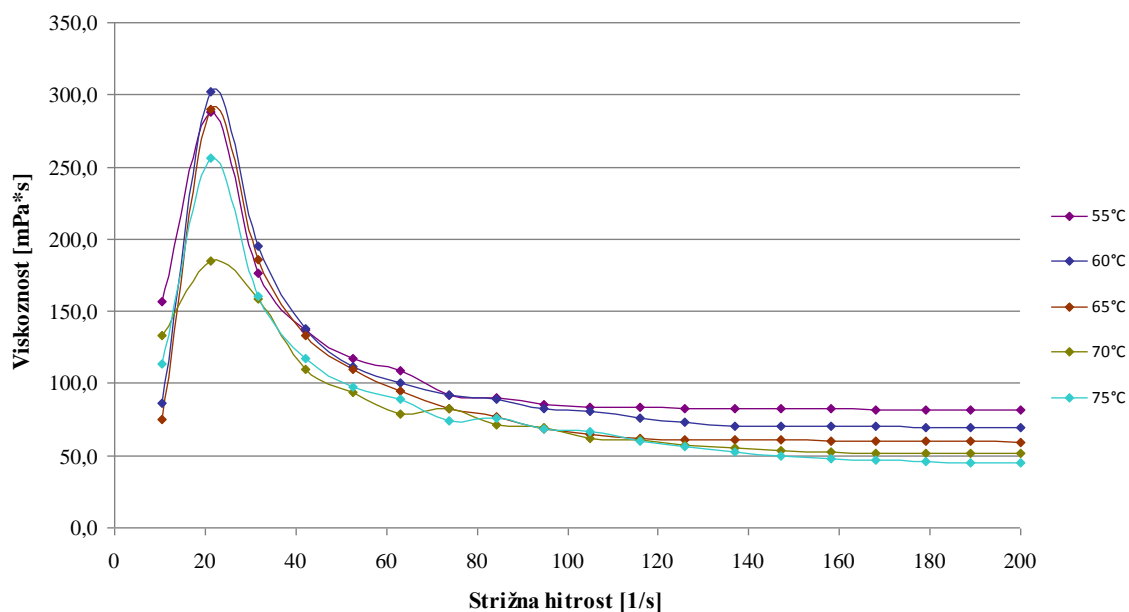
Velikost, obliko in morfologijo mikrodolcev smo opazovali z elektronskim mikroskopom (EHT = 1.00 kV, SE2 detector, Zeiss SUPRA35 VP, Nemčija) in stereomikroskopom Olympus SZX 12.

## 6 REZULTATI IN RAZPRAVA

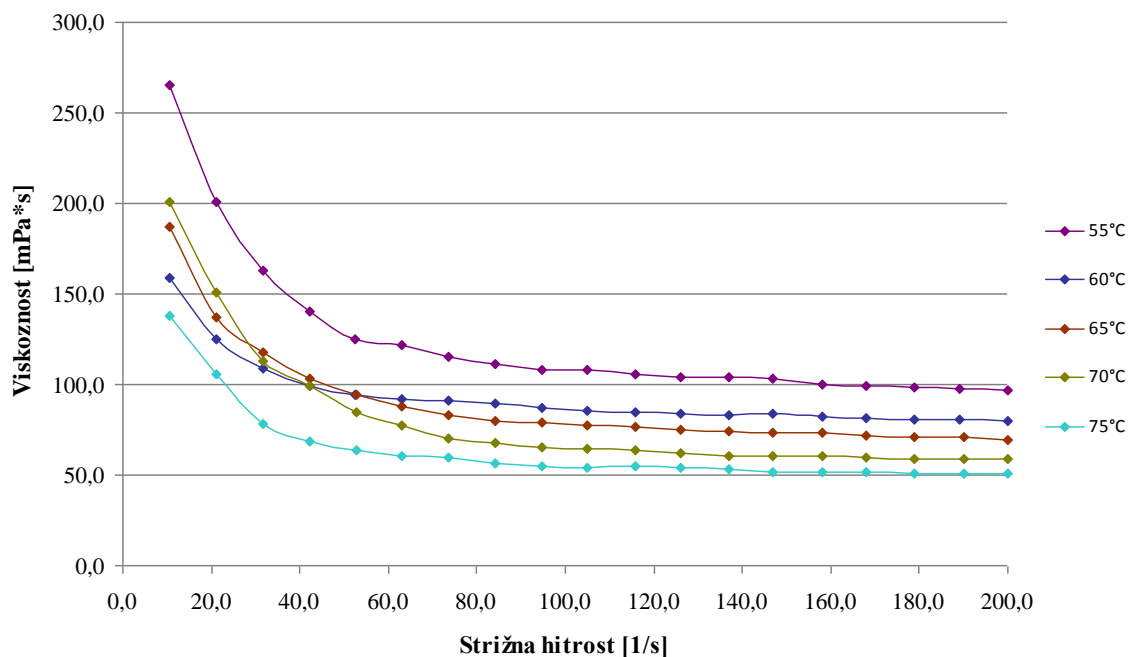
### 6.1 VISKOZNOST

Za polimer Gelucire 50/13, ki smo ga uporabljali pri eksperimentalnem delu velja, da ima relativno nizko viskoznost v primerjavi z drugimi polimeri (npr. polietilenglikoli, itd), ki se uporabljajo pri tehnologijah s talinami (64). Ker je pri razprševanju velikost nastalih mikrodelcev odvisna od razmerja med koalescenco taline in sile za njeno razbitje, so polimeri z nižjo viskoznostjo bolj primerni za pridobivanje mikrodelcev z manjšim povprečnim premerom. Na podlagi obstoječe literature je možno trditi, da ima pri tehnologiji s talinami viskoznost taline signifikanten vpliv na velikost nastajajočih delcev, npr. pri granulaciji s talinami (50, 60).

Bistven vpliv na viskoznost ima temperatura na katero je talina termostatirana. Pri višjih temperaturah je običajno viskoznost nižja kot pri nižjih. Zaradi pomembnega vpliva viskoznosti na obnašanje talin in potrebe po termostatiranju taline pri proizvodnji mikrodelcev z razprševanjem s strjevanjem smo viskoznost tudi kvantitativno merili.



Slika 6: Prikaz meritev viskoznosti Gelucire<sup>®</sup> 50/13 v odvisnosti strižne hitrosti, opravljenih z valjem Z1 pri različnih temperaturah.

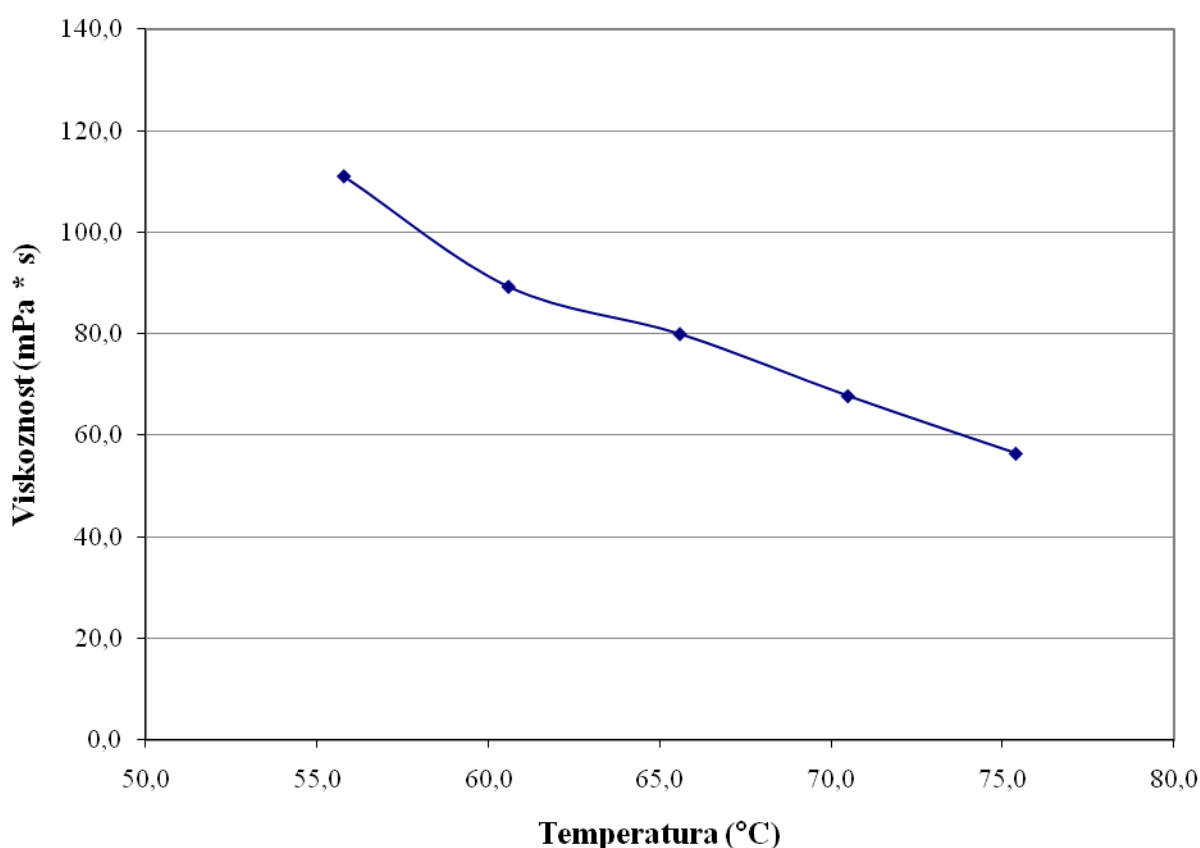


Slika 7: Prikaz meritev viskoznosti Gelucire® 50/13 v odvisnosti strižne hitrosti, opravljenih z valjem Z3 pri različnih temperaturah.

Pri meritvah viskoznosti z reometrom smo uporabljali dve vrsti mešal z oznakama Z3 in Z1, ki sta dali primerljive, a vseeno nesignifikantno različne rezultate. Skupno obema vrstama meritev je to, da se Gelucire® 50/13 obnaša kot pseudoplastičen sistem, kar je sicer tipično za polimere. Najprej smo poskušali viskoznost izmeriti s pomočjo valja z oznako Z1, a smo pri slednjem ugotovili, da se vrednosti viskoznosti umirijo šele pri strižni hitrosti večji od  $150 \text{ s}^{-1}$ . Z valjem Z3 smo uspeli pridobiti boljše rezultate pri nižjih strižnih hitrostih, kar je bližje realnim pogojem mešanja. Ugotovimo, da viskoznost z naraščajočo temperaturo pada. Rezultati odčitani pri strižni hitrosti  $84,2 \text{ s}^{-1}$  so prikazani v preglednici IV.

Preglednica IV: Viskoznost Gelucire<sup>®</sup> 50/13 v odvisnosti od temperature.

Viskoznost (mPa * s)	Temperatura (°C)
111,0	55,8
89,3	60,6
80,0	65,6
67,8	70,5
56,5	75,4

Slika 8: Odvisnost viskoznosti Gelucire<sup>®</sup> 50/13 taline od temperature.

Iz preglednice IV in slike 8 je razvidno, da znaša viskoznost pri temperature taline 55°C približno 110 mPas, pri temperaturi taline 75°C pa približno 57 mPas. To pomeni, da dvig temperature taline za 20°C približno razpolovi njeno viskoznost. To lahko seveda bistveno vpliva na njeno razprševanje, pomemben dejavnik pa je tudi pri pretočnosti taline po ceveh, ki naj bo čim višja, saj se s tem zmanjša tveganje za njeno strditev še pred



razprševanjem. Izmerjene vrednosti so v skladu z rezultati drugih raziskovalcev, ki so izmerili viskoznost Gelucire<sup>®</sup> 50/13 pri 70°C na 49 mPas (64). Na podlagi teh meritev smo se odločili, da bomo poskuse izvajali pri relativno nizki temperaturi taline (60°C) s čimer bomo proces nekoliko nagnili v smer nastanka večjih mikrodelcev.

## **6.2 VPLIV PROCESNIH SPREMENLJIVK NA VELIKOST IZDELANIH MIKRODELCEV IN IZKORISTEK PROCESA RAZPRŠEVANJA S STRJEVANJEM**

Proces razprševanja s strjevanjem smo želeli optimizirati s spreminjanjem več procesnih sprejemljivk in preučiti vpliv vsake izmed njih na velikost in porazdelitev velikosti izdelanih mikrodelcev ter celokupni in uporabni izkoristek. V naši raziskavi smo preučevali tiste bistvene parametre, ki vplivajo na omenjene lastnosti izdelka in na proces: tlak razprševanja, hitrost dovajanja taline in odvoj šobe oz. kot razprševanja.

### **6.2.1 VPLIV HITROSTI DOVAJANJA TALINE NA VELIKOST IZDELANIH MIKRODELCEV IN NA IZKORISTEK PROCESA RAZPRŠEVANJA S STRJEVANJEM**

Vpliv hitrosti dovajanja taline smo proučevali na štirih serijah, ki smo jih pripravili pri enakih pogojih, vsakič smo uporabili tlak razprševanja 1440 mbar, spreminjali pa smo hitrost dovajanja taline.

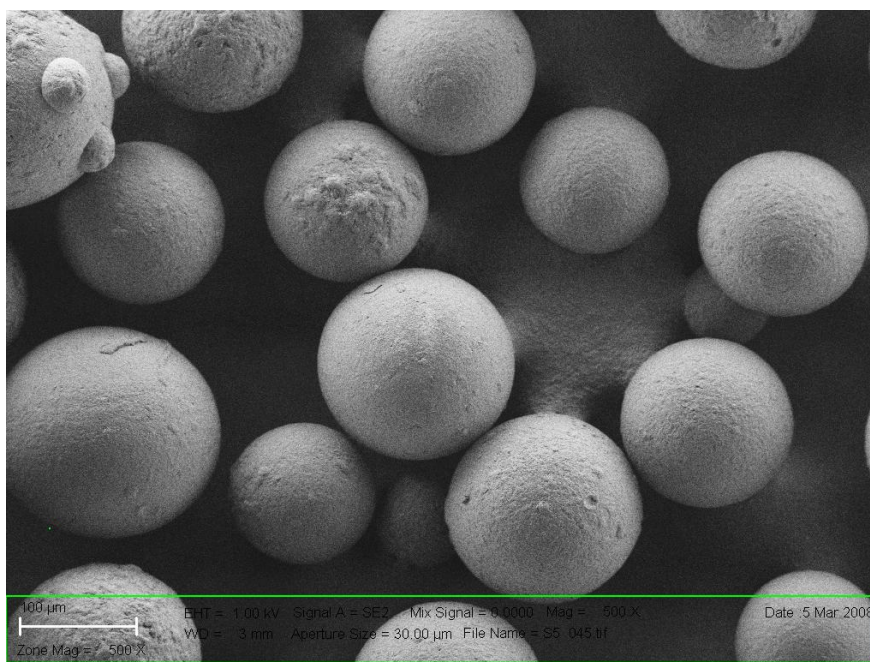
#### **Definicija celokupnega, uporabnega in relativnega uporabnega izkoristka**

Celokupni izkoristek ( $\eta$  celokupni) predstavlja razmerje med maso izdelanih mikrodelcev, ki smo jo določili po koncu poskusa in maso taline, ki smo jo uporabili za razprševanje. Uporabni izkoristek ( $\eta$  uporabni) je razmerje med maso uporabnega deleža vzorca, ki predstavlja delce s premerom med 500 in 125 mikrometrov in maso taline, ki smo jo uporabili za razprševanje. Relativni uporabni izkoristek ( $\eta$  rel. uporabni) je razmerje med

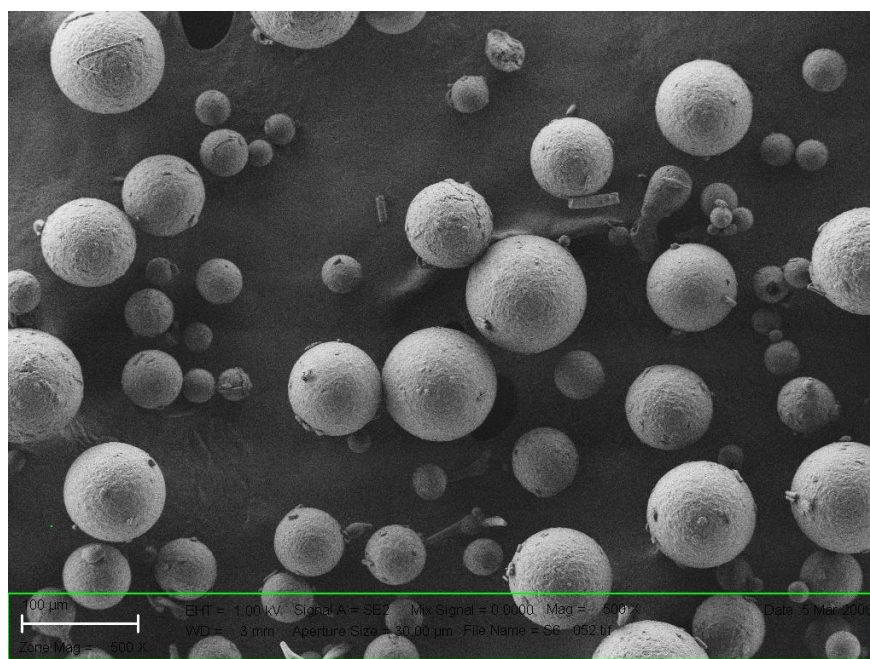
uporabnim in celokupnim izkoristkom, ki poenostavljeno pomeni delež produkta z velikostjo mikrodolcev med 125 in 500 mikrometrov. Relativni uporabni izkoristek je praktičen za primerjavo serij z drugačnim celokupnim izkoristkom, saj le-ta vpliva tudi na uporabni izkoristek.

### Evalvacija sejalne analize kot ustrezne separacijske metode

Slika 9 predstavlja sliko elektronskega mikroskopa uporabne frakcije (125–500  $\mu\text{m}$ ) mikrodolcev izdelanih v seriji A2. Iz slike je razvidno, da so mikrodolci idealne okrogle oblike z relativno gladko površino. Večino uporabnega produkta predstavljajo primarni delci. Slika 10 pa predstavlja mikrodolce manjše od 125  $\mu\text{m}$  izdelan v seriji A2. Iz obeh slik je razvidno, da so velikosti mikrodolcev v skladu z odprtinami na uporabljenih sitih, kar potrjuje, da je sejalna analiza ustrezna metoda za separacijo izdelanih mikrodolcev.



Slika 9: SEM slika uporabne frakcije (125–500  $\mu\text{m}$ ) mikrodolcev izdelanih v seriji A2.



Slika 10: SEM slika mikrodelcev manjših od 125  $\mu\text{m}$  izdelanih v seriji A2.

Preglednica V: Vpliv hitrosti dovajanja taline na velikost in porazdelitev velikosti izdelanih mikrodelcev pri konstantnem tlaku razprševanja 1440 mbar (povprečje  $\pm$  SD;  $n = 3$ ).

Seriya	F1	F2	F3	F4
<b>Hitrost dovajanja taline (ml/min)</b>	<b>6,0</b>	<b>11,0</b>	<b>16,0</b>	<b>23,4</b>
$d_{(0,1)}$ ( $\mu\text{m}$ )	21,1 $\pm$ 1,4	30,4 $\pm$ 2,2	32,0 $\pm$ 4,6	38,0 $\pm$ 2,1
$d_{(0,5)}$ ( $\mu\text{m}$ ) <sup>*</sup>	84,2 $\pm$ 5,4	107,7 $\pm$ 9,7	126,0 $\pm$ 8,3	139,6 $\pm$ 2,1
$d_{(0,9)}$ ( $\mu\text{m}$ )	308,8 $\pm$ 27,3	357,0 $\pm$ 40,5	434,2 $\pm$ 38,6	450,5 $\pm$ 7,4
<b>širina porazdelitve (<math>\check{S}P</math>)</b>	<b>3,41 <math>\pm</math> 0,09</b>	<b>3,04 <math>\pm</math> 0,12</b>	<b>3,19 <math>\pm</math> 0,07</b>	<b>2,96 <math>\pm</math> 0,04</b>

<sup>\*</sup> $d_{(0,5)}$ : mediana volumske porazdelitve velikosti delcev

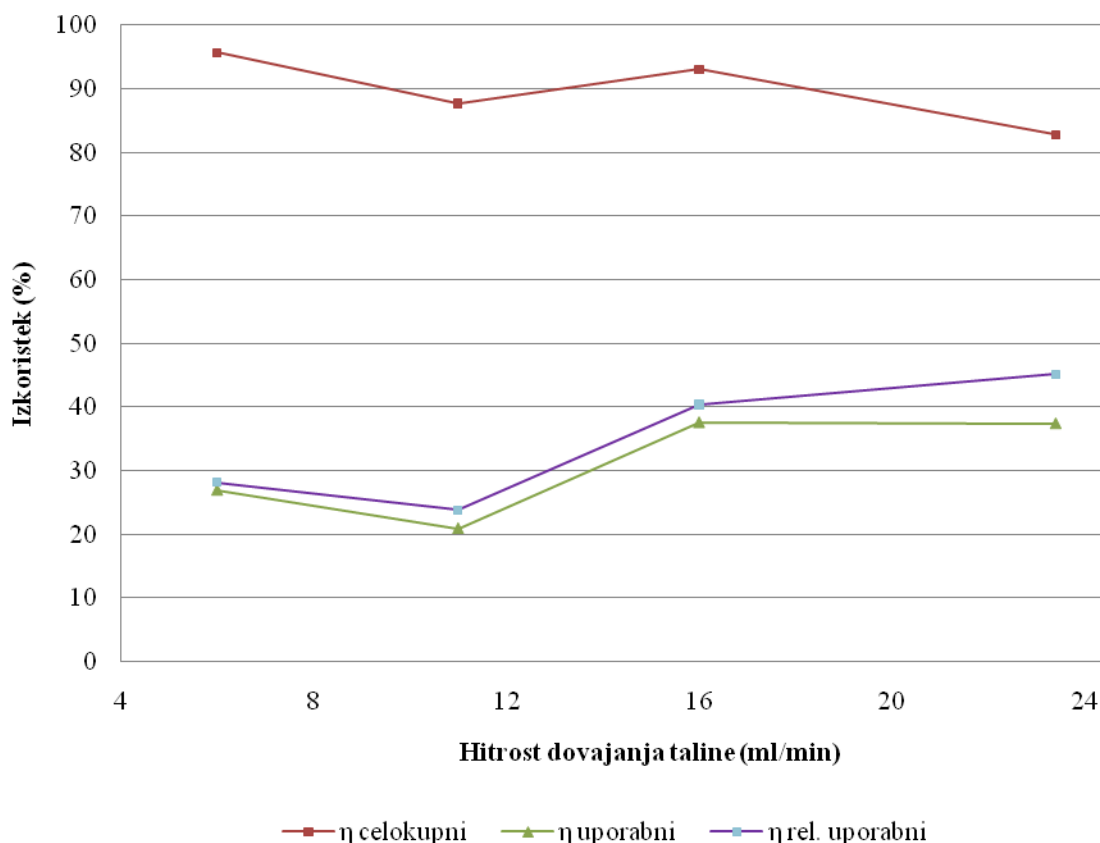
Iz meritev velikosti in porazdelitve velikosti mikrodelcev z lasersko difrakcijo smo ugotovili da se povprečni premer delcev s povečevanjem hitrosti dovajanja taline povečuje, saj v primeru najnižjega pretoka taline (serija F1) le-ta znaša 84  $\mu\text{m}$ , z njegovim povečevanjem pa se velikost delcev povečuje vse do premera 140  $\mu\text{m}$  pri pretoku 23,4 ml/min (serija F4). Vsi ostali parametri v seriji poskusov so bili enaki. Nekateri avtorji pri pogojih razprševanja govorijo o kvocientu razmerja mas med stisnjenim zrakom in

dovedeno tekočino (angl.: air-to-liquid mass ratio), ki se v primeru povečevanja hitrosti dovajanja taline manjša in vodi v nastanek večjih kapljic (65, 66).

Širino porazdelitve ( $\check{S}P = (d_{(0,9)} - d_{(0,1)}) / d_{(0,5)}$ ) smo izračunali iz rezultatov, ki smo jih pridobili z eksperimentalnim delom.  $\check{S}P$  označuje širino porazdelitve premera mikrodicev, kar pomeni, da večji  $\check{S}P$  označuje tudi širšo porazdelitev. Opazimo, da se  $\check{S}P$  pri hitrostih dovajanja taline od 11,0 do 23,4 ml/min giblje okrog vrednosti 3,0, nekoliko višji  $\check{S}P$  in s tem širšo porazdelitev velikosti pa opazimo pri najnižji hitrosti dovajanja taline 6,0 ml/min.

Preglednica VI: Vpliv hitrosti dovajanja taline na celokupni, uporabni in relativni uporabni izkoristek.

<b>Serijska</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>
<b>Pretok (ml/min)</b>	6,0	11,0	16,0	23,4
<b><math>\eta</math> celokupni (%)</b>	95,65	87,68	93,00	82,74
<b><math>\eta</math> uporabni (%)</b>	26,91	20,90	37,56	37,38
<b><math>\eta</math> rel. uporabni (%)</b>	28,13	23,83	40,39	45,17



Slika 11: Vpliv hitrosti dovajanja taline na celokupni, uporabni in relativni izkoristek.

Večji dotok taline povzroči različen učinek na celokupni in uporabni izkoristek. Celokupni izkoristek se s povečevanjem hitrosti dovajanja taline nekoliko zmanjšuje in sicer iz 95% pri 6,0 ml/min na 83% pri 23,4 ml/min. Razlog je v velikosti kapljic, ki je večja pri višjih hitrostih dovajanja taline. Zaradi manjše specifične površine večjih mikrodolcev je izmanjava toplote oz. ohlajanje manj učinkovito kot v primeru manjših mikrodolcev z visoko specifično površino. To vodi v počasnejše ohlajanje večjih kapljic, ki se odraža v bolj intenzivnem nabiranju nestrjenega materiala na steni procesne komore in tvorbi skorje, kar niža celokupni izkoristek procesa. Uporabni izkoristek se s povečevanjem hitrosti dovajanja taline povečuje iz 27% pri 6,0 ml/min na 37% pri 23,4 ml/min, kar je v skladu z izmerjeno velikostjo delcev teh serij. Pri večji velikosti izdelanih mikrodolcev pričakujemo tudi višji uporabni izkoristek, kar potrjujejo tudi rezultati.

Pri višjih hitrostih dovajanja taline opazimo tudi pospešen proces nastajanja aglomeratov, kar ni zaželeno, prispevajo pa k dvigu povprečnega premera delcev.



Slika 12: Pri višjih hitrostih dovajanja taline povprečni premer naraste tudi zaradi tvorbe aglomeratov (serija F4).

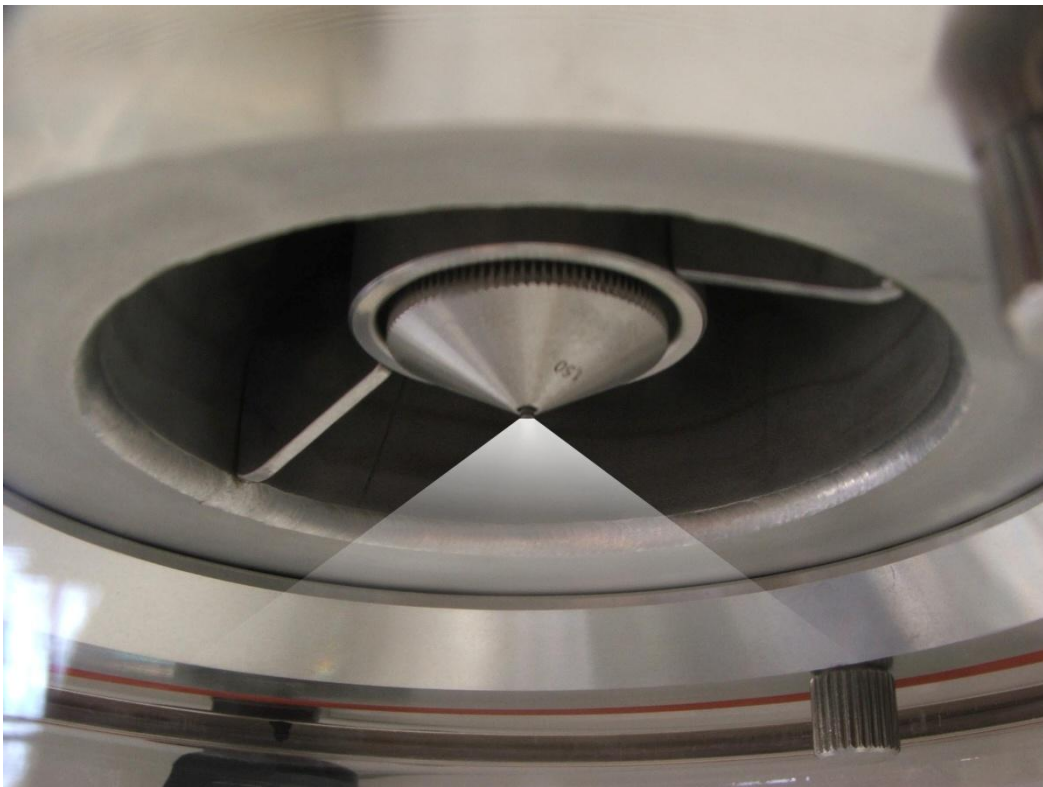
Nastanek skorje v obliki oboda na zgornjem delu same komore lahko pripišemo povečanju povprečnega premera kapljic, ki so posledica višje hitrosti dovajanja. Kapljice se zaradi svoje velikosti ne uspejo dovolj ohladiti, preden trčijo ob steno komore, zaradi česar se ne strdijo popolnoma, posledica nepopolnega strjevanja pa je lepljenje ob steno komore in tvorba aglomeratov, ki v končni fazi pripeljejo do ustvarjanja skorje na zgornjem delu komore. Na spodnjem delu komore je takšnih aglomeratov manj, kar gre pripisati daljši poti potovanja delcev, ki imajo v tem primeru dovolj časa, da se popolnoma strdijo.



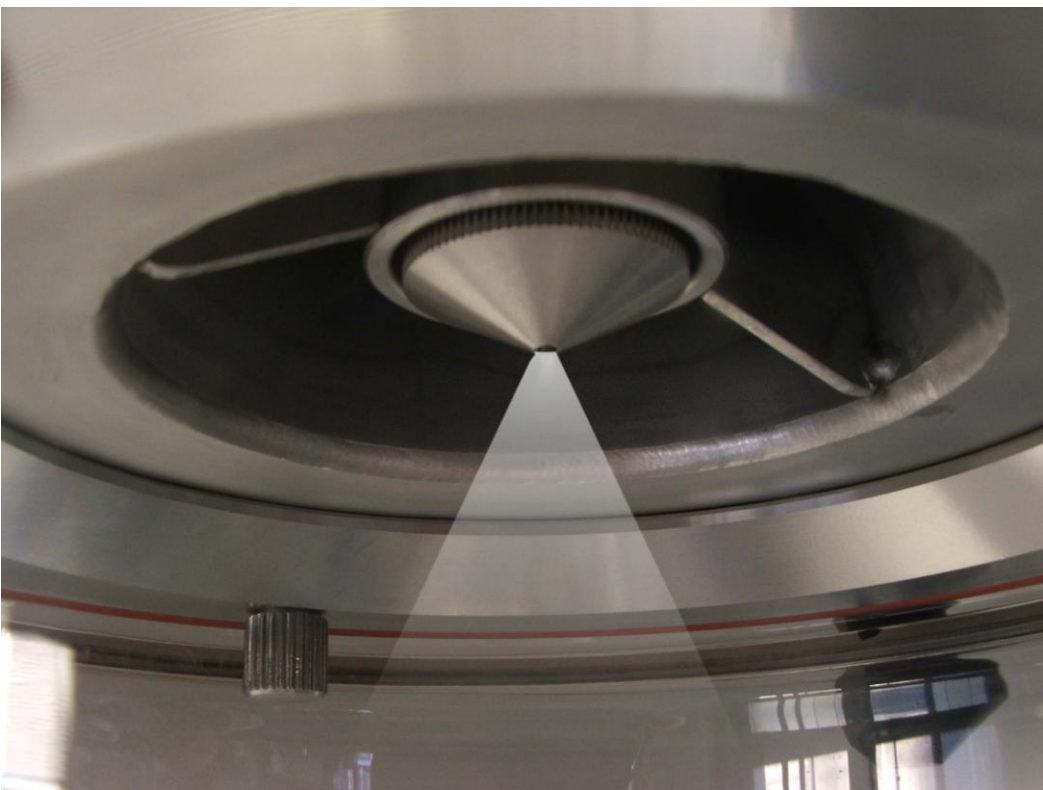
Slika 13: Slika trde skorje v zgornjem delu komore zaradi uporabe previsoke hitrosti dovajanja taline.

### **6.2.2 VPLIV ODVITJA KAPICE ŠOBE NA IZKORISTEK PROCESA RAZPRŠEVANJA S STRJEVANJEM**

Med izvajanjem poskusov smo odkrili, da lahko z odvijanjem kapice šobe vplivamo na geometrijo razprševalnega stožca. Ugotovili smo, da je slednji pri popolnoma zaviti kapici širok, če pa kapico odvijemo se stožec zoži, oba primera prikazujeta sliki 14 in 15. Hladilna procesna komora je geometrijsko dolga in ozka, zato z širino razprševalnega stožca lahko vplivamo na dolžino poti kapljic od šobe do stene komore. V primeru širokega stožca je ta pot krajša, če pa se stožec razprševanja zoži bo pot kapljic daljša in kapljice imajo več časa, da se strdijo pred stikom s steno. Na ta način lahko dosežemo tudi pri večjih kapljicah ugodne celokupne izkoristke.



Slika 14: Shematski prikaz širokega kota razprševanja pri popolnoma zaviti kapici šobe.



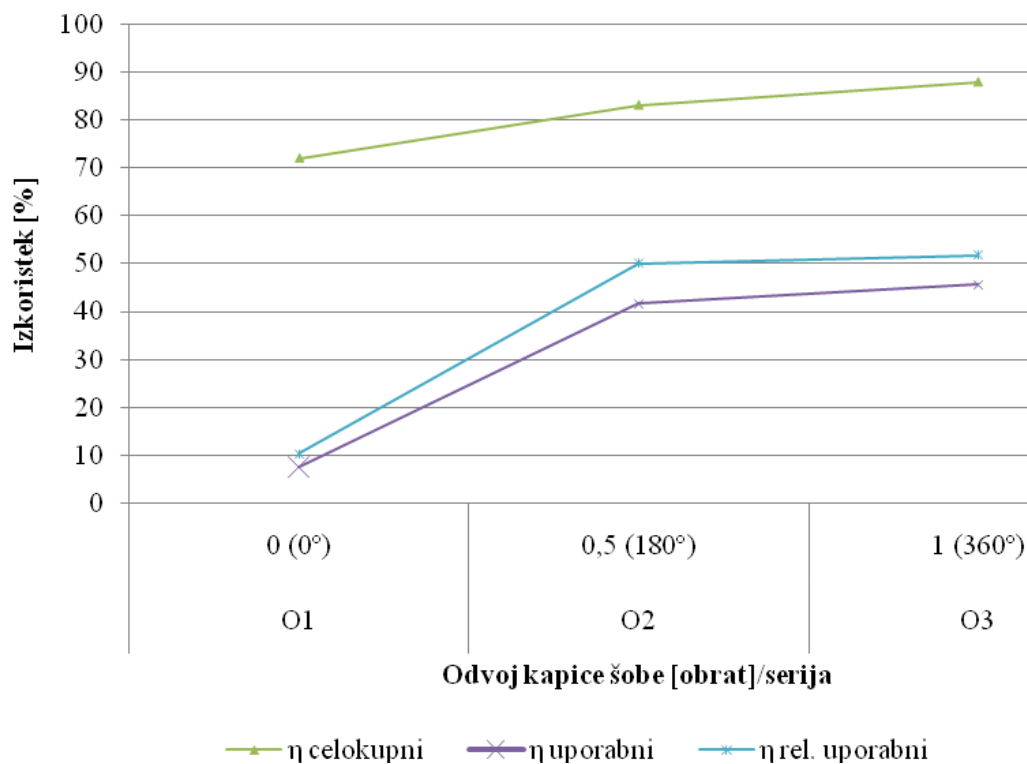
Slika 15: Shematski prikaz ozkega kota razprševanja pri enem obratu kapice šobe.



Vpliv odvijanja kapice šobe na izkoristek procesa smo preučevali na treh serijah, ki smo jih pripravili pri enakih pogojih, vsakič smo uporabili hitrost dovajanja taline 6,0 ml/min in tlak razprševanja 1150 mbar, spreminjali pa smo odvoj kapice. Serija z oznako O1 je bila narejena pri popolnoma zaviti šobi, pri seriji O2 smo šobo odvili za pol kroga (180°), pri seriji O3 pa za cel krog (360°).

Preglednica VII: Celokupni, uporabni in relativni uporabni izkoristek pri različnih odvojih kapice šobe in konstantni hitrosti dovajanja taline 6,0 ml/min ter konstantnem tlaku razprševanja 1150 mbar.

<b>Serijs</b>	<b>O1</b>	<b>O2</b>	<b>O3</b>
<b>Odvitje šobe (obrat)</b>	0	0,5	1
<b><math>\eta</math> celokupni (%)</b>	72,08	83,29	88,12
<b><math>\eta</math> uporabni (%)</b>	7,34	41,71	45,66
<b><math>\eta</math> rel. uporabni (%)</b>	10,18	50,07	51,81



Slika 16: Celokupni, uporabni in relativni uporabni izkoristek pri različnih odvojih kapice šobe in konstantni hitrosti dovajanja taline 6,0 ml/min ter konstantnem tlaku razprševanja 1150 mbar.

Ker smo pri procesu pridobivanja ustreznih mikrodlecev, ki naj bi spadali v velikostni razred med 125 in 500 mikrometri naleteli na težave, ki so nastale zaradi fizičnih omejitev same aparature, smo se odločili, da s pomočjo odvitja kapice šobe poskušamo vplivati tako na celokupni kot tudi uporabni izkoristek. Osnovna ideja, ki je vodila do takšnega nekonvencionalnega početja, je bila pogojena s potjo kapljic, preden so le-te trčile ob steno komore. Pri relativno nizkih tlakih razprševanja, kjer so kapljice večje, je zato pri popolnoma zaprti kapici šobe prihajalo do tvorbe skorje na sami steni komore, slednja pa je bila posledica zlepljanja kapljic, ki se na tako kratki poti niso uspele dovolj ohladiti, da bi v popolnosti spremenile agregatno stanje. Zaradi tega je prišlo do medsebojnega lepljenja delcev, kar je močno vplivalo tako na celokupni kot tudi uporabni izkoristek, hkrati pa je zaradi lepljenja metoda problematična tudi s stališča čiščenja.

Z odvojem kapice na šobi smo uspeli doseči, da se je njihova pot do stene komore zaradi ožjega kota razprševanja, dovolj podaljšala. Tako so se posamezne kapljice uspele dovolj ohladiti in nastali so posamezni mikrodenci in namesto strjene gmote na steni komore, kot se je to dogajalo v primeru, ko kapice nismo odvili. Z odvitjem šobe smo uspeli celokupni izkoristek povečati iz približno 72% na 88%, predvsem pa smo bistveno izboljšali uporabni izkoristek iz prej skromnih 7% na 46%.

### 6.2.3 VPLIV TLAKA RAZPRŠEVANJA NA VELIKOST IZDELANIH MIKRODELCEV IN IZKORISTEK PROCESA RAZPRŠEVANJA S STRJEVANJEM

Vpliv tlaka razprševanja na izkoristek procesa smo preučevali na petih serijah, ki smo jih pripravili pri enakih pogojih, vsakič smo uporabili hitrost dovajanja taline 6,0 ml/min, spreminjali pa smo tlak razprševanja. Poskuse smo izvajali pri enem odvoju šobe.

Preglednica VIII: Vpliv tlaka razprševanja na velikost in porazdelitev velikosti izdelanih mikrodencov (povprečje  $\pm$  SD;  $n = 3$ ).

Serijska	A1	A2	A3	A4	A5
<b>tlak razprševanja (mbar)</b>	<b>1090</b>	<b>1100</b>	<b>1150</b>	<b>1315</b>	<b>1590</b>
$d_{(0.1)} (\mu\text{m})$	64,7 $\pm$ 3,7	72,5 $\pm$ 14,2	47,9 $\pm$ 3,9	25,0 $\pm$ 2,7	20,1 $\pm$ 1,3
$d_{(0.5)} (\mu\text{m})^*$	278,2 $\pm$ 12,0	256,4 $\pm$ 28,2	126,5 $\pm$ 4,6	78,6 $\pm$ 5,6	58,3 $\pm$ 7,7
$d_{(0.9)} (\mu\text{m})$	607,3 $\pm$ 37,3	574,9 $\pm$ 45,7	260,1 $\pm$ 14,9	181,8 $\pm$ 9,7	141,6 $\pm$ 26,4
<b>širina porazdelitve (ŠP)</b>	1,95 $\pm$ 0,06	1,97 $\pm$ 0,10	1,68 $\pm$ 0,06	2,00 $\pm$ 0,11	2,07 $\pm$ 0,17

\* $d_{(0.5)}$ : mediana volumske porazdelitve velikosti delcev

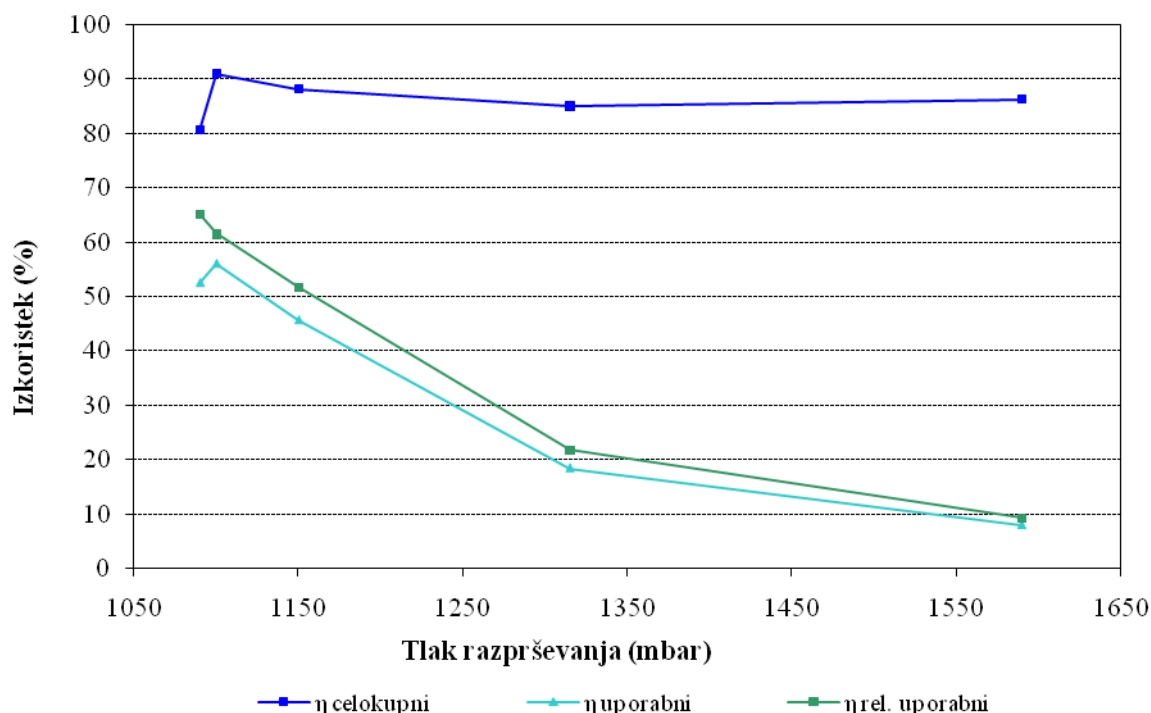
Iz rezultatov je razvidno, da se povprečni premer delcev z večanjem tlaka razprševanja zmanjšuje od 280  $\mu\text{m}$  pri tlaku 1090 mbar do 60  $\mu\text{m}$  pri najvišjem merjenem tlaku 1590 mbar. S povečevanjem tlaka razprševanja se tako zmanjšuje premer mikrodencov. Višji tlak razprševanja taline vpliva tudi na višjo hitrost zraka skozi končni del šobe oziroma njeno

odprtino. To hkrati pomeni tudi več dovedene kinetične energije neposredno na samo talino, močnejše razbitje delcev pa pomeni tudi manjše delce samega produkta. Zopet lahko govorimo o že prej omenjenem razmerju med maso dovedenega stisnjenega zraka in dovedeno tekočino, ki se v primeru povečanja tlaka razprševanja poveča in vodi v nastanek manjših kapljic.

Za večino vzorcev velja, da je vrednost  $\check{S}P$ , ki označuje širino porazdelitve velikosti, približno 2,0, razen za vzorec 3, pri katerem je porazdelitev delcev nekoliko ožja. Iz rezultatov je prav tako razvidno, da se širina porazdelitve premera delcev med vzorcema 1 in 5, pri katerih je bil uporabljen najnižji oziroma najvišji tlak razprševanja bistveno ne razlikuje. To nakazuje, da tlak razprševanja nima vpliva na širino porazdelitve pri posameznem vzorcu, temveč vpliva samo na povprečni premer mikrodeltcev. Opazimo pa v primeru spreminjanja tlaka razprševanja, da se je širina porazdelitve delcev nekoliko spremenila v primerjavi z rezultati, kjer smo spreminjali hitrost dovajanja taline in je bil  $\check{S}P$  približno 3. Ker je  $\check{S}P$  v primeru spreminjanja tlaka razprševanja in hitrosti dovajanja taline neodvisen od teh dveh procesnih spremenljivk pripisujemo zoženje porazdelitve velikosti odvoju kapice šobe. Gre za nepričakovan, vendar pozitiven efekt odvoja na šobi, saj je naša želja, da so izdelani mikrodeltci čim bolj enaki, torej da je porazdelitev velikosti čim ožja oz. monomodalna.

Preglednica IX: Vpliv tlaka razprševanja na celokupni, uporabni in relativni uporabni izkoristek.

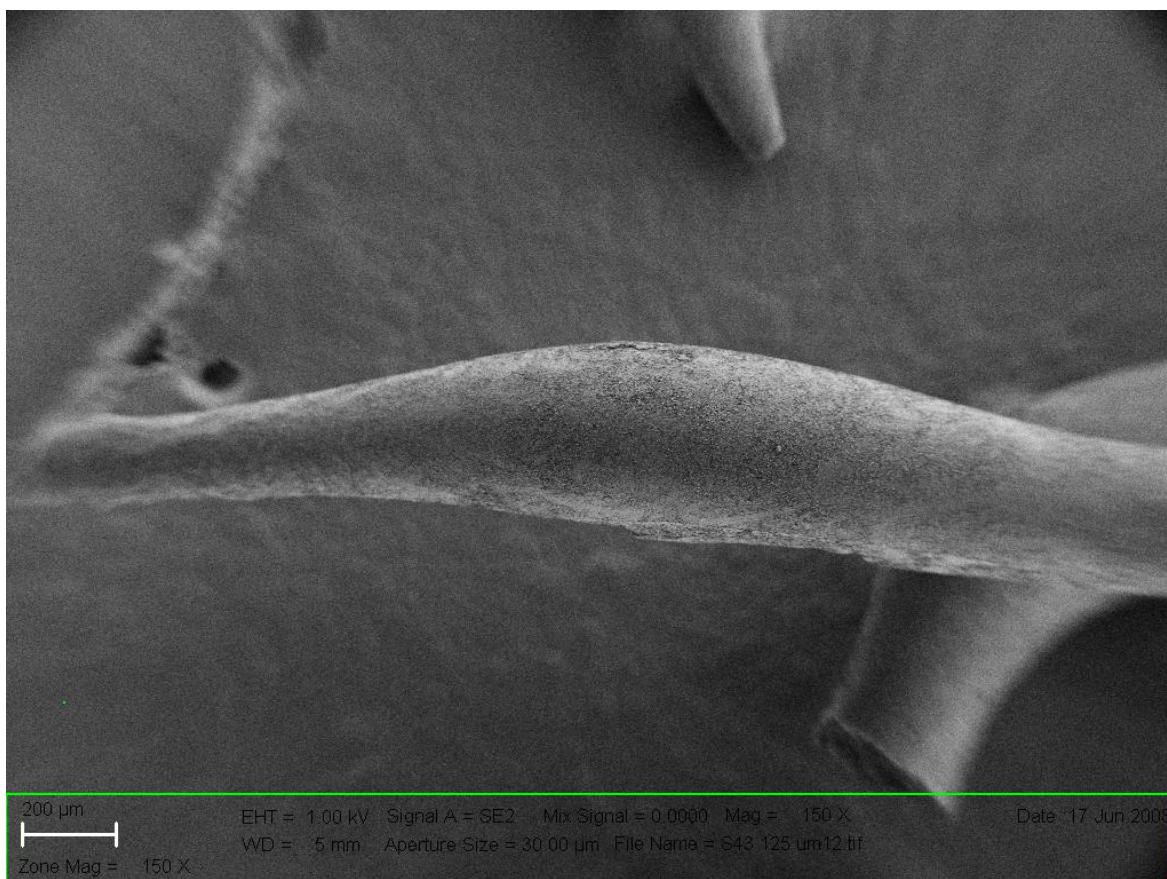
Serijska	A1	A2	A3	A4	A5
<b>Nadtlak (mbar)</b>	1090	1100	1150	1315	1590
<b><math>\eta</math> celokupni</b>	80,58	90,93	88,12	84,94	86,26
<b><math>\eta</math> uporabni</b>	52,50	56,01	45,66	18,43	7,98
<b><math>\eta</math> rel. uporabni</b>	65,16	61,53	51,81	21,70	9,25



Slika 17: Vpliv tlaka razprševanja na celokupni, uporabni in relativni uporabni izkoristek.

Vpliv tlaka razprševanja na izkoristek procesa razprševanja, je kot je razvidno iz slike 18 pravzaprav dvoznačen. Na eni strani se z zmanjševanjem tlaka razprševanja manjša celokupni izkoristek procesa (padec viden pri seriji A1), kar pravzaprav pomeni, da so pri teh pogojih izgube snovi v procesu izvedbe procesa razprševanja s strjevanjem povečujejo. Slednje je posledica čezmernega nabiranja kapljic na steni procesne komore, zaradi česar nastane trda porozna skorja, ki jo je mogoče odstraniti le z močnim mehanskim drgnjenjem (slika 13). Postrgani aglomerirani mikrodelci pa so tudi popolnoma neuporabni z vidika zahtev, postavljenih v diplomskem delu. Vzrok nastanka skorje je dejstvo, da se kapljice zaradi prekratke poti od šobe do stene komore ne ohladijo dovolj, da bi se strdile. Pri pogojih nizkih tlakov razprševanja so razpršene kapljice taline velike in odvajanje toplote do strjevanja je zaradi nizke specifične površine počasno in neučinkovito, tudi pri enem odvoju šobe in s tem zoženim kotom razprševanja. Po drugi strani pa je pri visokih tlakih razprševanja specifična površina taline visoka, izmenjava toplote pospešena in strjevanje bistveno pospešeno, vendar so tako izdelani mikrodelci neustrezno majhni. Posledica

pre nizkega tlaka razprševanja pa se pozna tudi na lastnostih izdelanih mikrodelcev, ki sicer so veliki, vendar pa pogosto ne gre več za pretežno okrogle delce, temveč nastajajo večji aglomerati ali celo igličasti delci prikazani na slikah 19 in 20.



Slika 18: Nastanek igličastih delcev zaradi uporabe prenizkega tlaka razprševanja taline.

Pri višjih tlakih razprševanja je celokupni uporabni izkoristek relativno dober in pri serijah od A2 do A5 variira med 85 in 91 odstotki.

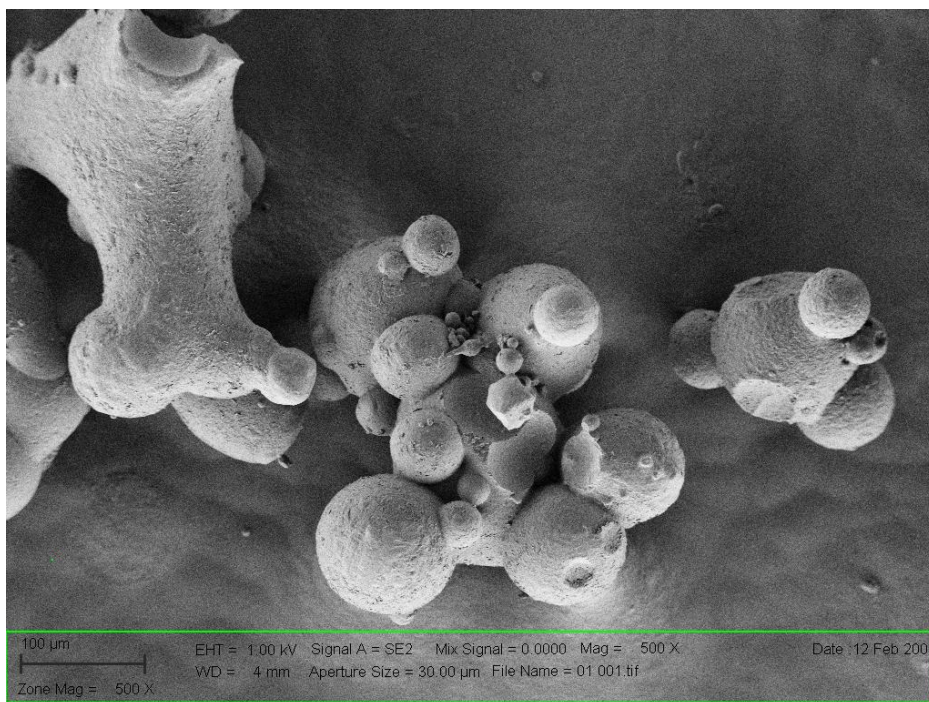
Na drugi strani se s povečevanjem tlaka razprševanja zmanjšuje uporabni izkoristek in z njim tudi relativni uporabni izkoristek. Do tega pride zato, ker večji tlak razprševanja pomeni večji strig oz. obremenitev na talino na vrhu šobe. Slednje vodi v nastanek manjših kapljic in posledično nastanek manjših mikrodelcev ob strjevanju kapljic v ohlajeni komori. Pri tlaku razprševanja 1,150 bara znaša uporabni izkoristek še okrog 46%, pri tlaku 1,315 pa le še 18%. Obratno velja v primeru nizkega tlaka razprševanja, ki vodi v

nastanek večjih delcev in boljšega uporabnega in relativnega uporabnega izkoristka. Primerjava med serijama A1 in A2 pokaže, da je pri nižjem tlaku razprševanja uporabljenem pri seriji A1 uporabni izkoristek z 52% nekoliko nižji kot pri seriji A2. Do tega pride zato, ker je uporabni izkoristek odvisen tudi od celokupnega. Če je celokupni izkoristek nizek, bo tudi uporabni izkoristek znižan na njegov račun, zato je smiselna uvedba relativnega uporabnega izkoristka, saj s tem lahko primerjamo med seboj serije neodvisno od celokupnega izkoristka. Ob primerjavi relativnih uporabnih izkoristkov vidimo, da je slednji pri tlaku razprševanja 1,090 bar najvišji in dosega 65%, kar pomeni, da sta približno dve tretjini produkta zelenega velikostnega razreda.

Očitno je, da s spremembo procesnih spremenljivk lahko vplivamo na celokupni in še bolj na uporabni izkoristek procesa razprševanja s strjevanjem. Večino izgub do teoretično 100 odstotnega celokupnega izkoristka pripisujemo lahko trem razlogom, ki so neodvisni od procesnih parametrov:

- odpihovanja zelo finih delcev na povrhnjico filtra;
- zastajanja taline v dovodnih ceveh in šobi;
- zaostanek vhodne taline v termostatirani čaši iz katere dovajamo talino na šobo.

Pri večkratnem ponavljanju poskusov smo uspeli ugotoviti, da so tovrstne izgube približno konstantne, ter neodvisne od velikosti posamezne serije in znašajo od 5 do 10 gramov. Največji delež izgub pripisujemo zaostajanju taline v dovodnih ceveh, šobi in termostatirani čaši.



Slika 19: Nastanek zlitkov in aglomeratov je posledica prenizkega tlaka razprševanja, ki onemogoča ustrezno formiranje in strjevanje delcev (serija F2).

### 6.3 DISKUSIJA VPLIVA POSAMEZNIH SPREMENLJIVK NA PROCES

Proučevali smo tri pomembne procesne spremenljivke in njihov vpliv na velikost, porazdelitev velikosti in izkoristek procesa razprševanja s strjevanjem. S spreminjanjem hitrosti dovajanja taline v intervalu od 6,0 ml/min do 23,4 ml/min smo uspeli velikost izdelanih mikrodolcev spreminjati v intervalu od 84 do 140 µm. Vpliv tega procesnega parametra na celokupni in uporabni izkoristek ni bil močno izražen. Bistveno večji vpliv na izkoristka smo dosegli z spremembo kota razprševanja s katero smo uspeli preseči nekatere fizikalne omejitve uporabljenega aparata (ozka in podolgovata hladilna komora). Z zožanjem razprševalnega stožca smo dvignili celokupni izkoristek iz 72 na 88%, uporabni izkoristek pa iz skromnih 7 na skoraj 46% glede na tovarniško nastavljeno šobo in kot razprševanja. Vpliv kota razprševanja lahko torej označimo kot bistven na uspešnost diplomskega dela.



Tlak razprševanja smo variirali med 1090 in 1590 mbar, izmerjena velikost mikrodolcev pa je znašala od 280 do 58  $\mu\text{m}$ . Tlak razprševanja je imel tudi močan vpliv predvsem na uporabni izkoristek, ki se je hitro nižal z višanjem tlaka razprševanja. Če smo pri tlaku razprševanja 1100 mbar dosegali 52,5% uporabni izkoristek je slednji že pri 1315 mbar padel na 18,4%, pri 1590 mbar pa je znašal le še 8%.

Iz rezultatov lahko torej zaključimo naravo povezav preučevanih procesnih parametrov na velikost mikrodolcev in izkoristke procesa, vendar moramo pri tem poudariti, da imata odvoj šobe in tlak razprševanja bistveno bolj dominantno vlogo na proces v primerjavi z hitrostjo dovajanja taline. Dodatno nam odvoj šobe zagotavlja ožjo distribucijo velikosti, kar je seveda ugodno. Predvsem tlak razprševanja se zdi, da je tisti najpomembnejši dejavnik, katerega optimizacija je nujna za doseganje najboljših rezultatov.

## 7 ZAKLJUČEK

Poskusi, ki smo jih izvedli v laboratoriju, so pokazali, da je s »spray-dryerjem Büchi B-296« in pripadajočo laboratorijsko opremo mogoče uspešno razprševati relativno velike vzorce (tudi do 100 gramov) Gelucire® 50/13 ter izdelati mikrodcelce z visokim celokupnim izkoristkom, ki lahko dosega tudi 95 odstotkov.

Na velikost izdelanih mikrodcelcev bistveno vpliva viskoznost taline, ki se spreminja v odvisnosti od temperature. Z vrstičnim elektronskim mikroskopom in stereomikroskopom smo pokazali, da so osnovni delci produkta v veliki večini primerni delci idealne okrogle oblike in s skoraj idealno ravno površino. Velikost oziroma premer posameznih delcev sta odvisna od procesnih parametrov in pogojev med samim procesom razprševanja s strjevanjem. Proučevali smo tri bistvene procesne spremenljivke in sicer: hitrost dovajanja taline, vpliv kota razprševalnega stožca in tlak razprševanja na velikost, porazdelitev velikosti in izkoristke procesa. Ugotovili smo, da se velikost delcev z višanjem hitrosti dovajanja taline povečuje. Podoben učinek opazimo pri zožanju kota razprševanja, kjer se bistveno izboljša predvsem uporabni izkoristek procesa (posredni vpliv na velikost delcev). Ugotovili smo tudi korelacijo med tlakom razprševanja in velikostjo mikrodcelcev, pri čemer velja, da z višjim tlakom razprševanja dobimo delce z manjšim povprečnim premerom. Bistvena sta predvsem kot razprševanja in tlak razprševanja, saj je območje vpliva teh dveh parametrov na velikost mikrodcelcev in izkoristek procesa veliko širše.

Ob tem je potrebno poudariti, da je optimalne pogoje potrebno izbrati na podlagi tako celokupnega kot uporabnega izkoristka in pogosto gre pri izbiri najboljših pogojev za kompromis, saj se pri spremembi pogojev celokupni izkoristek lahko zmanjša, uporabni pa zveča in obratno.

Z ustreznimi nastavitvami procesnih parametrov nam je uspelo optimizirati proces razprševanja s strjevanjem do te mere, da lahko pridobivamo mikrodcelce želene velikosti z ustreznimi in sprejemljivimi izkoristki. Metoda bi z nekaj modifikacijami bila primerna tudi za industrijsko proizvodnjo mikrodcelcev s polimerom Gelucire® 50/13.

Nadaljno optimizacijo procesa vidimo lahko v razvoju šobe, saj je proces razprševanja ključen. Celokupne in uporabne izkoristke bi bilo mogoče reševati tudi z drugačnim dizajnom hladilne komore, ki bi morala imeti večji premer.

## 8 LITERATURA IN VIRI

1. B.-F. Gibbs, S. Kermasha, I. Alli, C.-N. Mulligan, Encapsulation in the food industry: a review, *Int. J. Food Sci. Nutr.* 50 (1999) 213–224
2. Park, K., Yeo, Y., in: J: Swarbrick (Ed.), *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* 3rd Ed., Marcel Dekker Inc., New York, 2007, pp. 2315–2327
3. Green, B.K.; Schleicher, L. Oil-containing Microscopic Capsules and Method of Making Them. U.S. Patent 2800457, 1957
4. Bakan, J.A.; Powell, T.C.; Szotak, P.S. Recent advances using microencapsulation for taste-masking of bitter drugs. In *Microcapsules and Nanoparticles in Medicine and Pharmacy*; Donbrow, M., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, 1992; 149–156
5. Arica, B.; Arica, M.Y.; Kas, H.S.; Hincal, A.A.; Hasirci, V. In-vitro studies of enteric coated diclofenac sodium car-boxymethyl cellulose microspheres. *J. Microencapsul.* 1996, 13 (6), 689–699
6. Muller, R.H.; Peters, K. Nanosuspensions for the formulation of poorly soluble drugs. I. Preparation by a size-reduction technique. *Int. J. Pharm.* 1998, 160 (2), 229–237
7. Mathiowitz, E.; Kreitz, M.R. Microencapsulation. In *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*; Mathiowitz, E., Ed.; John Wiley & Sons, Inc.: New York, U.S.A., 1999; Vol. 2, 493–546
8. Lim, F.; Sun, A.M. Microencapsulated islets as bioartificial endocrine pancreas. *Science* 1980, 210, 908–910
9. Kohane, D.S.; Lipp, M.; Kinney, R.C.; Lotan, N.; Langer, R. Sciatic nerve blockade with lipid-protein-sugar particles containing bupivacaine. *Pharm. Res.* 2000, 17 (10), 1243–1249
10. Ying, M.; Thomasin, C.; Merkle, H.P.; Gander, B.; Corradin, G. A single administration of tetanus toxoid in biodegradable microspheres elicits T cell and antibody responses similar or superior to those obtained with aluminum hydroxide. *Vaccine* 1995, 13 (7), 683–689
11. Mohanty, B.; Bohidar, H.B. Systematic of alcohol-induced simple coacervation in aqueous gelatin solutions. *Biomacromolecules* 2003, 4 (4), 1080–1086

12. Ghosh, S.K. *Functional Coatings by polymer encapsulation*, Wiley-VCH, Weinheim, 2006, 224
13. Weiss, G.; Knoch, A.; Laicher, A.; Stanislaus, F.; Daniels, R. Simple coacervation of hydroxypropyl methyl cellulose phthalate (HPMCP). I. Temperature and pH dependency of coacervate formation. *Int. J. Pharm.* 1995, 124 (1), 87–96
14. Burgess, D.J.; Singh, O.N. Spontaneous formation of small sized albumin/acacia coacervate particles. *J. Pharm. Pharmacol.* 1993, 45, 586–591
15. Park, K.; Yeo, Y. *Microencapsulation Technology*, Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, Third Edition; Informa Healthcare: New York 2007, 2315-2327
16. de Jong, H.G.B. *Complex colloid systems (Chapter X)*. In *Colloid Science*; Elsevier: New York, 1949
17. Sah, H. Microencapsulation techniques using ethyl acetate as a dispersed solvent: effects of its extraction rate on the characteristics of PLGA microspheres. *J. Controlled Release* 1997, 47 (3), 233–245
18. Herrmann, J.; Bodmeier, R. Somatostatin containing biodegradable microspheres prepared by a modified solvent evaporation method based on W/O/W-multiple emulsions. *Int. J. Pharm.* 1995, 126 (1–2), 129–138
19. Bodmeier, R.; McGinity, J.W. Solvent selection in the preparation of PLA microspheres prepared by the solvent evaporation method. *Int. J. Pharm.* 1988, 43, 179–186
20. Yeo, Y.; Park, K. Control of encapsulation efficiency and initial burst in polymeric microparticle systems. *Arch.Pharmacol. Res.* 2004, 27 (1), 1–12
21. Dittrich, M., Hampl, J., Soukup, F. Branched oligoester microspheres fabricated by a rapid emulsion solvent extraction to microparticulate systems. *J. Microencapsul.* 2000, 17(5), 587–598
22. Kempen Diederik, H.R., Lu, L., Yhu, X., Kim, C., Jabbari, E., Dhert Wouter, J.A., Currier Bradford, L., Yaszemski Michael, J. Development of biodegradable poly(propylene fumarate)/poly(lactic-co-glycolic acid) blend microspheres. II. Controlled drug release and microsphere degradation. *J. Biomed. Mater. Res.* 2004, 70A (2), 293–302
23. Kas, H.S. Chitosan: properties, preparations and application to microparticulate systems. *J. Microencapsul.* 1997, 14 (6), 689–711

24. Kumbar, S.G.; Kulkarni, A.R.; Aminabhavi, T.M. Cross-linked chitosan microspheres for encapsulation of diclofenac sodium: effect of crosslinking agent. *J. Microencapsul.* 2002, 19 (2), 173–180
25. Kim, S.E.; Park, J.H.; Cho, Y.W.; Chung, H.; Jeong, S.Y.; Lee, E.B.; Kwon, I.C. Porous chitosan scaffold containing microspheres loaded with transforming growth factor beta1: implications for cartilage tissue engineering. *J. Controlled Release* 2003, 91, 365–374
26. Yun, Y.H.; Goetz, D.J.; Yellen, P.; Chen, W. Hyaluronan microspheres for sustained gene delivery and site-specific targeting. *Biomaterials* 2004, 25 (1), 147–157
27. Whateley, T.L. Microcapsules: preparation by interfacial polymerization and interfacial complexation and their application. In *Microencapsulation: Methods and Industrial Applications*; Benita, S., Ed.; Dekker: New York, U.S.A., 1996; Vol. 73, 349–375
28. Ting, T.; Gonda, I.; Gripps, E.M. Microparticles of PVA for nasal delivery. I. Generation by spray-drying and spray-desolvation. *Pharm. Res.* 1992, 9 (10), 330–1335
29. Sam, A.P.; Haan, F.D.; Dirix, C. A Novel Process for Manufacturing PLG Microparticles by Spray Desolvation Avoiding the use of Toxic Solvents. *International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials, Nice, France, 1994*; 198–199
30. Gombotz, W.R.; Healy, M.S.; Brown, L.R. Very Low Temperature Casting of Controlled Release Microspheres. U.S. Patent 5019400, 1991
31. Johnson, O.L.; Cleland, J.L.; Lee, H.J.; Charnis, M.; Duenas, E.; Jaworowicz, W.; Shepard, D.; Shahzamani, A.; Jones, A.J.; Putney, S.D. A month-long effect from a single injection of microencapsulated human growth hormone. *Nat. Med.* 1996, 2, 795–799
32. Lee, H.J.; Riley, G.; Johnson, O.; Cleland, J.L.; Kim, N.; Charnis, M.; Bailey, L.; Duenas, E.; Shahzamani, A.; Marian, M.; Jones, A.J.; Putney, S.D. In vivo characterization of sustained-release formulations of human growth hormone. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1997, 281 (3), 1431–1439
33. Santos, I.R.D.; Richard, J.; Pech, B.; Thies, C.; Benoit, J.P. Microencapsulation of protein particles within lipids using a novel supercritical fluid process. *Int. J. Pharm.* 2002, 242 (1–2), 69–78

34. Young, T.J.; Johnston, K.P.; Mishima, K.; Tanaka, H. Encapsulation of lysozyme in a biodegradable polymer by precipitation with a vapor-over-liquid antisolvent. *J. Pharm. Sci.* 1999, 88 (6), 640–650
35. Soppimath K. S., Aminabhavi T. M., Kulkarni, A. R., Rudzinski W. E., Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices, *Journal of Controlled Release* 70, 2001, 1-20
36. Kharb V., Bhatia M. Dureja H. Kaushik D., Nanoparticle Technology for the Delivery of Poorly Water-Soluble Drugs, *Pharmaceutical Technology*, februar 2006, 82-92
37. Date A. A., Patravale V. B., Current strategies for engineering drug nanoparticles, *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 9, 2004, 222-235
38. Chickering, D.E.; Jacob, J.S.; Desai, T.A.; Harrison, M.; Harris, W.P.; Morrell, C.N.; Chaturvedi, P.; Mathiowitz, E. Bioadhesive microspheres: III. An in vivo transit and bioavailability study of drug-loaded alginate and poly(fumaric-co-sebacic anhydride) microspheres. *J. Controlled Release* 1997, 48, 35–46
39. Kileen M.J., The process of spray drying and spray congealing. *Pharm. Eng.* 1993, 13, 56–64
40. Masters, K. *Spray Drying Fundamentals: Process stages and Layouts. Spray Drying Handbook*, 5th Ed.; Longman Scientific & Technical: New York, 1991; 23–64.
41. *Spray Drying and Operation of Spray Drayers* by GEA Niro;  
<http://www.niro.com/niro/cmsdoc.nsf/webdoc/ndkw5y7dra>
42. Pikal, M.; Lukes, A.; Lang, J.; Gaines, K. Quantitative crystallinity determinations for beta-lactam antibiotics by solution calorimetry: correlations with stability. *J. Pharm. Sci.* 1978, 67, 767–773
43. Hendricksen, B.A.; Preston, M.S.; York, P. Processing effects on crystallinity of cephalexin: characterisation by vacuum microbalance. *Int. J. Pharm.* 1995, 118, 1–10
44. Eliassen, H.; Kristensen, H.G.; Schæfer, T. Growth mechanisms in melt agglomeration with a low viscosity binder. *Int.J. Pharm.* 1999
45. Albertini, B., Passerini, N., Pattarino, F., Rodriguez, L., 2008. New spray congealing atomizer for the microencapsulation of highly concentrated solid and liquid substances. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 69, 348–357

46. Turton, R., Cheng, X.X., 2007. Cooling processes and congealing. In: Swarbrick, J. (Ed.), *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, vol. 2, 3rd ed. Informa Healthcare, New York, pp. 761–773, doi:10.1081/E-EPT-100000367
47. Achanta, A.S., Adusumilli, P.S., James, K.W., Rhodes, C.T., 1997. Development of hot melt coating methods. *Drug Dev Ind Pharm.* 23:441–449
48. Heng, P.W.S.; Wong, T.W. Melt Processes for Oral Solid Dosage Forms, *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, Informa Healthcare: New York 2007, 2257-2261
49. N. Passerini, B. Perissutti, B. Albertini, D. Voinovich, M. Moneghini, L. Rodriguez, Controlled release of verapamil hydrochloride from waxy microparticles prepared by spray congealing, *J. Control. Release* 88 (2003) 263–275
50. B. Albertini, N. Passerini, M.L. Gonzales-Rodriguez, B. Perissutti, L. Rodriguez. Effect of Aerosil® on the properties of lipid controlled release microparticles, *J. Control. Release* 100 (2004), 233–246
51. Passerini, N., Perissutti, B., Moneghini, M., Voinovich, D., Albertini, B., Cavallari, C., Rodriguez, L., 2002. Characterization of carbamazepine-Gelucire 50/13 microparticles prepared by a spray-congealing process using ultrasounds. *J. Pharm. Sci.* 100, 233–246
52. C. Cavallari, L. Rodriguez, B. Albertini, N. Passerini, F. Rosetti, A. Fini, Thermal and fractal analysis of diclofenac/Gelucire 50/13 microparticles obtained by ultrasound-assisted atomization, *J. Pharm. Sci.* 94 (2005) 1124–1134
53. Passerini, N., Albertini, B., Perissutti, B., Rodriguez, L., 2006. Evaluation of melt granulation and ultrasonic spray congealing as techniques to enhance the dissolution of praziquantel. *Int. J. Pharm.* 94, 1124–1134
54. T. Yajima, N. Umeki, S. Itai, Optimum spray congealing conditions for masking the bitter taste of clarithromycin in wax matrix, *Chem. Pharm. Bull.* 47, 1999, 220–225
55. A. Fini, L. Rodriguez, C. Cavallari, B. Albertini, N. Passerini, Ultrasound-compacted and spray-congealed indomethacin/polyethyleneglycol systems, *Int. J. Pharm.* 247, 2002, 11–22
56. Savolainen, M., Khoo, C., Glad, H., Dahlgvist, C., Juppo, A.M., 2002. Evaluation of controlled-release polar lipid microparticles. *Int. J. Pharm.* 244, 151–161
57. Savolainen, M., Herder, J., Khoo, C., Lovqvist, K., Dahlgvist, C., Glad, H., Juppo, A.M., 2003. Evaluation of polar lipid-hydrophilic polymer microparticles. *Int. J. Pharm.* 262, 47–62



- 
58. Rodriguez, L., Passerini, N., Cavallari, C., Cini, M., Sancin, P., Fini, A., 1999. Description and preliminary evaluation of a new ultrasonic atomizer for spray-congealing processes. *Int. J. Pharm.* 183, 133–143
59. McCarron, P.A., Donnelly, R.F., Al-Kassas, R., 2008. Comparison of a novel spray congealing procedure with emulsion-based methods for the micro-encapsulation of water-soluble drugs in low melting point triglycerides. *J. Microencapsul.* 25, 365–378
60. Maschke, A., Becker, C., Eyrich, D., Kiermaier, J., Blunk, T., Gopferich, A., 2007. Development of a spray congealing process for the preparation of insulin-loaded lipid microparticles and characterization thereof. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 65, 175–187
61. Scott, M.W., Robinson, M.J., Pauls, J.F., Lantz, R.J., 1964. Spray congealing: particle size relationships using a centrifugal wheel atomizer. *J. Pharm. Sci.* 53, 670–675
62. Juslin, L., Antikainen, O., Merkkü, P., Yliruusi, J., 1995a. Droplet size measurement. I. Effect of three independent variables on droplet size distribution and spray angle from a pneumatic nozzle. *Int. J. Pharm.* 123, 247–256
63. Juslin, L., Antikainen, O., Merkkü, P., Yliruusi, J., 1995b. Droplet size measurement. II. Effect of three independent variables on parameters describing the droplet size distribution from a pneumatic nozzle studied by multilinear stepwise regression analysis. *Int. J. Pharm.* 123, 257–264
64. Eliassen, H., Schaefer, T., Kristensen, H.G. Effects of binder rheology on melt agglomeration in a high shear mixer. *Int J Pharm*, 1998, 176: 73–83
65. Schaefer, T., Worts, O., 1978. Control of fluidized bed granulation. V. Factors affecting granule growth. *Arch. Pharm. Chem. Sci. Ed.* 6, 69–82
66. Wan, L.S.C., Heng, P.W.S., Liew, C.V., 1995. The influence of liquid spray rate and atomizing pressure on the size of spray droplets and spheroids. *Int. J. Pharm.* 118, 213–219