

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

MOJCA ABINA

DIPLOMSKA NALOGA

Univerzitetni študij farmacije

Ljubljana, 2013

Univerza v Ljubljani
Fakulteta *za farmacijo*



MOJCA ABINA

**IZDELAVA IN VREDNOTENJE ZRNC S pH ODVISNIM
SPROŠČANJEM MODELNE UČINKOVINE**

**PREPARATION AND EVALUATION OF GRANULES WITH
pH - DEPENDANT RELEASE OF MODEL SUBSTANCE**

Ljubljana, 2013

Diplomsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo na Katedri za farmacevtsko tehnologijo pod mentorstvom doc. dr. Roka Dreua, mag. farm.

Za strokovno pomoč in nasvete pri izdelavi diplomske naloge se najlepše zahvaljujem mentorju doc. dr. Roku Dreu, mag. farm.

Zahvaljujem se tudi dr. Matevžu Luštriku za strokovno pomoč pri izvedbi procesov oblaganja ter tehničnima sodelavkama Tatjani Hrovatič ter Mojci Keržan za praktične nasvete pri delu v laboratoriju.

Hkrati pa se zahvaljujem tudi svoji družini, Marku in prijateljem za vso podporo, ki so mi jo nudili tekom študija.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom doc. dr. Roka Dreua, mag. farm.

Mojca Abina

Predsednik diplomske komisije: izr. prof. dr. Aleš Obreza, mag. farm.

Članica diplomske komisije: doc. dr. Alenka Zvonar, mag. farm.

KAZALO

POVZETEK	iii
ABSTRACT	iv
SEZNAM OKRAJŠAV	vi
1. UVOD	1
1.1 PRIREJENO SPROŠČANJE.....	1
1.2 GRANULIRANJE.....	2
1.2.1 Vzroki za granuliranje	2
1.2.2 Metode granuliranja.....	3
1.2.3 Mehanizem povezav med zrci	4
1.2.4 Granuliranje v hitro vrtečih granulatorjih.....	4
1.2.5 Mehanizem vlažnega granuliranja v hitro vrtečih granulatorjih	5
1.2.6 Vpliv formulacijskih in procesnih spremenljivk na proces granulacije in na lastnosti zrnca.....	6
1.3 OBLAGANJE.....	6
1.3.1 Vzroki za oblaganje	6
1.3.2 Vrste naprav za oblaganje.....	7
1.3.3 Temperiranje zrnca po oblaganju	10
1.4 POLIMERNE OBLOGE, NAMENJENE ZAŠČITI PRED VLAGO.....	11
1.5 PREKRIVANJE NEPRIJETNEGA OKUSA UČINKOVIN	11
1.6 PRESKUSI SPROŠČANJA	12
1.6.1 Naprava z vesli (Naprava 2)	13
1.6.2 Naprava z recipročnimi cilindri (Naprava 3) - BIO-DIS.....	13
2. NAMEN DELA.....	16
3. MATERIALI IN METODE	17
3.1 MATERIALI	17
3.1.1 Laktoza	17
3.1.2 Mikrokristalna celuloza	17
3.1.3 Polivinilpirolidon (PVP).....	18
3.1.4 Tartrazin - modelna zdravilna učinkovina.....	18
3.1.5 Eudragit® L 30 D-55.....	18
3.1.6 Kollicoat® Smartseal 30 D.....	18

3.1.7	HPMC 606 - Pharmacoat.....	19
3.2	OPREMA.....	19
3.3	METODE.....	20
3.3.1	Izdelava zrnč v hitro vrtečem granulatorju.....	20
3.3.2	Vrednotenje zrnč.....	20
3.3.3	Izračuni.....	21
3.3.4	Oblaganje zrnč in pelet.....	22
3.3.5	Temperiranje obloženih zrnč.....	22
3.3.6	Priprava umeritvenih krivulj.....	23
3.3.7	Določanje vsebnosti tartrazina v zrnčih in peletah.....	25
3.3.8	Poskusni preskusi sproščanja.....	26
3.3.9	Preskus sproščanja zrnč in pelet z napravo z vesli.....	26
3.3.10	Preskus sproščanja zrnč in pelet z napravo z recipročnimi cilindri.....	28
4.	EKSPERIMENTALNO DELO.....	29
4.1	GRANULIRANJE S HITRO VRTEČIM GRANULATORJEM.....	29
4.2	PROCESI OBLAGANJA.....	30
4.2.1	Oblaganje z acidorezistentno oblogo.....	30
4.2.2	Oblaganje z barierno oblogo.....	35
4.2.3	Oblaganje z zaščitno oblogo.....	36
5.	REZULTATI IN RAZPRAVA.....	42
5.1	VREDNOTENJE GRANULATA.....	42
5.2	VSEBNOST TARTRAZINA.....	45
5.3	REZULTATI PRESKUSOV SPROŠČANJA.....	46
5.3.1	Dokaz acidorezistence zrnč ZRTREU1 in ZRTREU2.....	46
5.3.2	Sproščanje tartrazina pri zrnčih ZRTREU2+KO-SM v nevtralnem mediju.....	48
5.3.3	Funkcionalnost pelet, obloženih s polimerom Kollicoat Smartseal 30 D.....	54
5.3.4	Dokaz acidorezistence pelet PETREU1.....	56
5.3.5	Sproščanje tartrazina pri peletah PETREU1+HPMC+KO-SM.....	57
6.	SKLEP.....	61
7.	VIRI.....	62

POVZETEK

V okviru naše diplomske naloge smo izdelali zrnca z dvojno filmsko oblogo. Cilj naloge je bil, da bi prva filmska obloga zagotavljala gastrozestenco, medtem ko bi druga – zunanja obloga preprečila raztapljanje v nevtralnem oz. rahlo alkalnem mediju. Takšen sistem bi bil potencialno primeren za aplikacijo na hidrolizo občutljivih zdravilnih učinkovin v obliki ex-tempore suspenzije, pripravljene iz obloženih zrn, prav tako pa bi omogočal zakasnjeno sproščanje učinkovine.

Najprej smo zrnca izdelali s pomočjo hitro vrtečega mešalnika. Kot modelno učinkovino smo uporabili tartrazin. V nadaljevanju smo zrnca s pomočjo Wursterjeve komore obložili z vodno disperzijo polimera Eudragit L 30 D-55, ki je zagotavljal gastrozestenco. Kasneje smo zrnca obložili še z zaščitno oblogo in sicer s polimerom Kollicoat Smartseal 30 D. Funkcionalnost oblog smo preverjali s preskusi sproščanja. Za preverjanje gastrozestence smo uporabljali napravo z vesli. Za spremljanje sproščanja učinkovine iz zrn z obema oblogama pa smo uporabljali napravo z recipročnimi cilindri. Cilj naše naloge je bil, da bi se v mediju s pH=7,2 po osmih urah sprostilo manj kot 0,5% učinkovine, v mediju s pH=1,2 po dveh urah pa manj kot 10% učinkovine. Na koncu naj bi se iz zrn v mediju s pH=6,8 kumulativno sprostilo vsaj 95% učinkovine.

Tekom raziskovalnega dela smo ugotovili, da kombinacija teh dveh oblog na zrnih ne deluje tako, kot smo pričakovali. Razlog za to je lahko sama uporaba zrn, saj imajo le-te nepravilno obliko in specifično površino. Problem je lahko tudi v nezdržljivosti obeh oblog ali pa v nepravilni formulaciji disperzije za zaščitno oblogo.

V nadaljevanju smo se odločili, da bomo ta koncept lažje predstavili na peletah. Zaradi morebitne nezdržljivosti oblog smo uvedli še barierno oblogo, ki je vsebovala HPMC. Poleg tega smo v recepturo za vodno suspenzijo zaščitne obloge uvedli še antioksidant BHT. Preskusi sproščanja so v tem primeru dali rezultate, ki so ustrezali našim ciljem diplomske naloge. Z zunanjo oblogo smo uspeli preprečiti sproščanje tartrazina v nevtralnem oz. rahlo alkalnem mediju, z notranjo oblogo pa smo zagotovili pogoje gastrozestence. V mediju s pH=6,8 se je kumulativno sprostila celotna količina tartarazina.

ABSTRACT

Within the scope of our diploma granules with double film coating were prepared. The aim was to ensure gastroresistance by means of the first film coating, while the second – outer film coating should prevent dissolution in a neutral or slightly alkaline medium. Such system would be potentially appropriate for application of hydrolytically sensible active pharmaceutical ingredient in a form of an *ex tempore* suspension, prepared with coated granules. At the same time the system would enable a delayed release of active pharmaceutical ingredient.

First, granules were prepared by use of high shear granulation method. Tartrazine was incorporated as a model substance. Granules were then coated in a Wurster coating chamber by using water dispersion of a polymer Eudragit L 30 D55, which assures gastroresistance. Subsequently granules were coated with a protective layer, namely with the polymer Kollicoat Smartseal 30 D. Functionality of coatings was assessed - with dissolution tests. To check the gastroresistance the paddle assembly (App 2) was used. To follow the release of the model substance from the granules with both coatings a device with reciprocating cylinders (App 3) was utilized. The aim was to prove, that granules release less than 0,5% of the model substance after eight hours in a medium with pH=7,2 and less than 10% of the substance after two hours in a medium with pH=1,2. Finally granules should cumulatively release at least 95% of a substance in a medium with pH=6,8.

During our research we ascertained that the combination of these two coatings on granules doesn't perform as expected. The reason for that can be in the granules themselves, due to their irregular shape and high specific surface. The problem can also lay in the incompatibility of applied coatings or in the incorrect formulation of the dispersion for the protective layer.

Further, we have decided to test the concept on pellets. Because of the possible incompatibility of the coatings the third, barrier layer, with HPMC was introduced. Moreover, the antioxidant BHT was added to the formulation of the protective layer. The results of dissolution tests showed system behaviour, which corresponded with our aims. The dissolution of tartrazin in a neutral or slightly alkaline medium was prevented by outer

coating, while inner coating ensured conditions for gastroresistence. In a medium with pH=6,8 pellets cumulatively released the whole quantity of tartrazin.

SEZNAM OKRAJŠAV

FO	farmacevtska oblika
ZRTREU1	zbrana uporabna frakcija predhodno izdelanih zrn, obložena z Eudragitom®L 30 D-55
ZRTREU2	zrnca ZRTREU1, ponovno obložena z Eudragitom®L 30 D-55
PETREU1	pelete s tartrazinom, obložene z Eudragitom®L 30 D-55
CE+KO-SM	celete, obložene s polimerom Kollicoat®Smartseal 30 D
ZRTREU2+KO-SM	zrnca ZRTREU2, obložena s polimerom Kollicoat®Smartseal 30 D
PETR+KOSM	pelete s tartrazinom, obložene s polimerom Kollicoat®Smartseal 30 D
PETREU1+HPMC	pelete PETREU1, obložene z vodno disperzijo HPMC
PETREU1+HPMC+KO-SM	pelete PETREU1+HPMC, obložene s polimerom Kollicoat Smartseal®30 D

1. UVOD

1.1 PRIREJENO SPROŠČANJE

Farmacevtske oblike (FO) s prirejenim sproščanjem so bile razvite z namenom izboljšanja zdravljenja. Prirejeno sproščanje med drugim omogoča vzdrževanje terapevtskih koncentracij zdravilne učinkovine v plazmi skozi daljše časovno obdobje. To je še posebej pomembno pri bolnikih s kroničnimi boleznimi, pri katerih lahko zmanjšana koncentracija zdravilne učinkovine v plazmi povzroči nastop simptomov (astma). Pri FO s podaljšanim sproščanjem se lahko terapevtska koncentracija vzdržuje tudi skozi celo noč, kar je še posebej pomembno pri bolnikih s kroničnimi boleznimi. Prednost teh FO pa je tudi povečana komplanca bolnikov, saj se zmanjša pogostost jemanja zdravil. Farmacevtske oblike s prirejenim sproščanjem lahko razdelimo v tri skupine (1):

- FO s podaljšanim sproščanjem,
- FO z zakasnjnim sproščanjem,
- FO s pulzirajočim sproščanjem.

Med FO z zakasnjnim sproščanjem spadajo FO z gastrorezistentno oblogo. Oblaganje trdnih FO z gastrorezistentno oblogo je ena izmed najbolj razširjenih oblik dostave zdravilne učinkovine do tankega črevesja (2). Z gastrorezistentno oblogo zaščitimo zdravilno učinkovino pred kislim okoljem v želodcu in preprečimo draženje želodca ter slabost, ki jih povzročajo določene zdravilne učinkovine. Uporabljamo jo tudi v primeru aplikacije zdravilnih učinkovin, ki se najboljše absorbirajo v tankem črevesju (3). Osnovni princip pri razvoju teh FO je izbor primerne polimera, ki je pri nizkih pH vrednostih v želodcu netopen, medtem ko se pri zvišanju pH vrednosti ob vstopu v duodenum in kasneje v tanko črevo raztopi in s tem omogoči sproščanje zdravilne učinkovine (2). Pomembno je tudi, da je polimer združljiv z zdravilno učinkovino ter z ostalimi komponentami, ki so v raztopini za oblaganje. Tvoriti mora kontinuirano filmsko oblogo, biti pa mora tudi netoksičen, poceni in enostaven za nanos na farmacevtsko obliko. Izbira polimera ter debelina obloge sta kritična parametra, ki vplivata na pH profil gastrorezistentne FO (3). Za oblogo se lahko uporabljajo naslednji polimeri: celulozni acetat ftalat (CAP), polivinilacetat ftalat (PVAP), hidroksipropilmetil celulozaftalat (HPMCP), kopolimeri metakrilnih kislin (EUDRAGIT®), hidroksipropil metilcelulozni acetat sukcinat (HPMCAS) (2).

1.2 GRANULIRANJE

Granuliranje je proces aglomeriranja delcev v večje agregate (zrnca), v katerih lahko še vedno prepoznamo osnovne delce (4). Zrnca v farmaciji so velika od 0,2 do 4,0 mm, kar je odvisno od njihove poznejše rabe. V večini primerov se zrnca uporabljajo kot vmesni produkt pri izdelavi tablet ali kapsul. V tem primeru je njihov velikostni razred od 0,2 do 0,5 mm. Večja zrnca pa se uporabljajo kot samostojna farmacevtska oblika (1). Granulacija se v veliki meri uporablja tudi v drugih industrijah, npr. za izdelavo hrane in sintezo kemikalij (4).

1.2.1 Vzroki za granuliranje (1)

- Segregacija (razslojevanje zmesi delcev) je posledica razlik v velikosti in gostoti komponent v praškasti zmesi. Manjši ter gostejši delci se v posodah nahajajo spodaj, medtem ko se večji delci ter delci z manjšo gostoto nahajajo nad njimi. Pri idealnem granuliranju so vse komponente praškaste zmesi v vsaki granuli v pravem razmerju. Zaradi tega ne pride do segregacije. Pri zrncah je treba nadzorovati tudi porazdelitev velikosti delcev, saj lahko pri široki porazdelitvi pride do segregacije samih zrnec. Če se to zgodi v polnilnih lijakah za polnjenje vrečk, pri polnjenju kapsul ali pri tabletiranju, pride pri končnih produktih do velikih razlik v masi. Pri teh napravah polnjenje poteka na podlagi volumna zmesi in ne teže. Če so v polnilnem lijaku v različnih območjih zrnca različnih velikosti, to pomeni, da bo določen volumen v teh območjih vseboval različno maso zrnec. To pa vodi v nesprejemljivo porazdelitev vsebnosti zdravilne učinkovine v seriji oz. končnem izdelku, čeprav je zdravilna učinkovina v granulah razporejena enakomerno.
- Zaradi svoje majhne velikosti, nepravilne oblike in površinskih lastnosti so praški kohezivni in imajo slabe pretočne lastnosti. Zaradi slabih pretočnih lastnosti se matrice pri tabletiranju ne polnijo enakomerno, kar privede do velikih razlik v masi končnega produkta. Zrnca, ki jih pripravimo iz takšnih kohezivnih sistemov, so večja in bolj izodiametrična, kar prispeva k izboljšanju pretočnih lastnosti.
- Nekateri zmesi praškov so težje stisljive, čeprav je v mešanico praškov dodano vezivo. Zrnca, izdelana iz začetne zmesi enake sestave, so zaradi boljše porazdelitve veziva med delci bolj stisljiva, zato lahko iz njih proizvedemo trše tablete.

- Granuliranje toksičnih materialov zmanjša nevarnost, ki je povezana z nastajanjem prahu, ki se pojavi pri ravnanju s tovrstnimi praški. Med granuliranjem morajo biti zagotovljeni primerni varnostni ukrepi. Tako narejene granule morajo biti nekrušljive in imeti primerno mehansko trdnost.
- Materiali, ki so higroskopni, lahko vežejo večjo količino vode in med shranjevanjem tvorijo večje skupke. Z granuliranjem lahko zmanjšamo to tveganje, saj lahko zrnca adsorbirajo določeno količino vlage, a pri tem še vedno ohranijo primerne pretočne lastnosti.

1.2.2 Metode granuliranja

Obstajata dva osnovna načina izdelave zrn: *vlažno* in *suho* granuliranje.

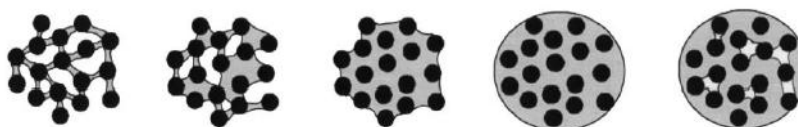
Pri suhem granuliranju se primarni praškasti delci agregirajo z uporabo visokih tlakov. To lahko dosežemo z briketiranjem, kjer stisnemo trde tablete (kompaktate), ali pa s kompaktiranjem, kjer praške stisnemo med dvema valjema in pri tem dobimo listu podoben kompakt. Nato ta vmesni produkt z ustrežno metodo mletja drobimo do zrn, ki jih ločimo skozi sito. To metodo lahko uporabljamo za učinkovine, ki so občutljive na vlago. Postopek suhega granuliranja pa je tudi časovno in energijsko ugodnejši, če ga primerjamo s postopkom vlažnega granuliranja (1).

Pri vlažnem granuliranju primarnim praškastim delcem dodamo granulacijsko tekočino. Uporabimo lahko vodo, etanol ali izopropanol, posamično ali v kombinacijah. Voda se pogosto uporablja zaradi ekoloških in ekonomskih razlogov. Je tudi nevnetljiva, kar močno zmanjša stroške za opremo. Ima pa tudi nekaj slabosti, saj lahko vpliva na stabilnost zdravilne učinkovine in povzroči hidrolizo, za sušenje pa potrebuje več časa, kot npr. organska topila (1). Pri vlažnem granuliranju lahko veziva dodajamo na različne načine. Ena izmed možnosti je, da uporabljamo raztopino veziva, ki ima določeno viskoznost, površinsko napetost in kot močenja. Druga možnost je, da dodamo tekočino z nizko viskoznostjo (voda ali organsko topilo), v mešanico prahov za granuliranje pa dodamo suho vezivo, ki se tekom postopka v tekočini raztopi. Če uporabljamo pristop *in-situ* raztapljanja, nam to omogoči granuliranje z visoko viskoznimi vezivi, pri tem pa nam ni treba uporabljati posebnih črpalk, ne pride do zamašitve šob. Za nekatera visoko viskozna veziva pa je to edini način uporabe (5).

1.2.3 Mehanizem povezav med zrnca

Zrnca lahko obstajajo v več različnih stopnjah relativnega nasičenja s tekočino (Slika1). Newitt in Conway-Jones sta jih razdelila na 5 stopenj (4).

V *pendularnem stanju* delce v stičnih točkah držijo skupaj tekočinski mostovi. *Kapilarno stanje* nastopi, ko so zrnca zasičena. Takrat so vse praznine med delci zapolnjene s tekočino, tekočina na površini pa je zaradi kapilarnih sil povlečena v pore. *Funikularno stanje* je prehod med pendularnim in kapilarnim stanjem, kar pomeni, da praznine še niso popolnoma zasičene s tekočino. *Kapljično stanje* nastane, ko se delci zadržujejo znotraj ali na površini tekočinske kapljice. Obstaja tudi *psevdo-kapljično stanje*, kjer nezapolnjene praznine ostanejo ujete v kapljicah. To se največkrat zgodi v sistemih s slabim močenjem.



Slika 1: Stopnje tekočinskega nasičenja (od leve proti desni: pendularno stanje, funikularno stanje, kapilarno stanje, kapljično stanje, psevdo kapljično stanje) (4)

1.2.4 Granuliranje v hitro vrtečih granulatorjih

Hitro vrteči granulatorji omogočajo spreminjanje drobnih kohezivnih praškov v močne, goste aglomerate oz. zrnca (5). Večina hitro vrtečih granulatorjev je sestavljena iz posode za mešanje, ki je lahko cilindrična ali stožčasta, tri-krakega mešala ter sekala. Mešalo se uporablja za mešanje suhih praškov ter za razporejanje granulacijske tekočine zaradi striga ter za zbitje granul. Funkcija sekala je razbijanje večjih vlažnih mas ter posledično povečanje izkoristka izdelave zrnca (6).

Prednosti:

- uporaba manjših količin veziva,
- granuliranje visoko kohezivnih materialov,
- večje povečanje granularne gostote zrnca in produkcija manj krhkih zrnca,
- velika ponovljivost izdelave zrnca z enakomerno porazdelitvijo velikosti delcev,
- zmanjšanje prašenja in s tem minimalna izpostavljenost delavcev,
- predvidljivo določanje končne točke granulacije (6).

Slabosti:

- v primerjavi z zrnci, izdelanimi s tehnologijo z vrtinčenjem, so izdelana zrnca manj stisljiva,
- ozek nabor procesnih pogojev (6).

1.2.5 Mehanizem vlažnega granuliranja v hitro vrtečih granulatorjih

Vlažno granuliranje v hitro vrtečih mešalnikih je razdeljeno na pet stopenj: mešanje, dodajanje raztopine veziva, močenje in jedrenje, konsolidacija in rast ter krušenje in razpad.

Med dodajanjem in po dodatku raztopine veziva ali granulacijske tekočine se le-ta zaradi mehanske sile, ki jo proizvede mešalo, enakomerno razporedi v mešanici prahov. V tej stopnji se praškasti delci omočijo in preko jedrenja sprožijo aglomeracijo. Do jedrenja delcev pride zaradi oblikovanja tekočinskih mostičkov med praškastimi delci, zaradi česar delci med sabo adherirajo in tvorijo aglomerate. V tej stopnji je koncentracija tekoče faze sicer zelo majhna, vendar dovolj velika za tvorbo tekočinskih mostičkov. Dodajanje in razporejanje raztopine veziva ima lahko velik vpliv na porazdelitev velikosti delcev in kakovost končnih zrn. Rast zrn poteka po enem izmed naslednjih mehanizmov: koalescenca ali oblaganje. Koalescenca je aglomeracija, do katere pride pri trku in konsolidaciji primarnih jedr oz. zrn. Takšna rast zrn prevlada, ko nastali aglomerati lahko nasprotujejo strižnim silam mešala. Do oblaganja pride, ko se fini delci oprimejo večjega delca ali zrnca, ki je obdan z vezivom. Glavni pogoj za rast zrn po enem ali drugem mehanizmu je prosta tekočina na površini aglomerata. Le-ta lahko nastane z dodajanjem raztopine veziva ali pri iztisku tekočine iz aglomerata pri konsolidaciji. Pri krušenju in razpadu pride do zmanjšanja velikosti zrn. Razpad zrn je odvisen od dinamičnih sil v zrnih ter strižnih sil v granulatorju. Če so sile pri trkih večje od trdnosti zrn, pride do razpada, ki mu spet sledi koalescenca. V primeru, da je trdnost zrn večja od sil pri trkih, pa zrnca ne razpadejo. Pri granuliranju tako pride do ravnotežja med rastjo aglomeratov in njihovim razpadom. Z izbiro procesnih parametrov lahko pomaknemo ravnotežje v smeri rasti delcev (6).

1.2.6 Vpliv formulacijskih in procesnih spremenljivk na proces granulacije in na lastnosti zrn

V mešanico prahov za tabletiranje poleg zdravilne učinkovine dodajamo še polnila, razgrajevala in veziva. Fizikalne lastnosti zdravilne učinkovine, vrsta in količina pomožnih snovi ter vrsta in količina veziva lahko vplivajo na zgoščevanje v končnih zrnih. Te lastnosti mešanice prahov lahko vplivajo tudi na količino potrebne tekočine za granulacijo ter na stopnjo nasičenja aglomeratov, kar v končni fazi vpliva tudi na fizikalne lastnosti suhih zrn (6).

Tudi procesne spremenljivke imajo ključno vlogo pri procesu granulacije, saj vplivajo na porazdelitev granulacijske tekočine ter na stopnjo zgoščevanja v mešanici prahov. Glavne spremenljivke so: napolnjenost posode za granuliranje, hitrost vrtenja mešala, način dodajanja granulacijske tekočine, količina granulacijske tekočine, hitrost sekala ter čas gnetenja. Rezultati študije, ki so jo opravili Badawy in sodelavci, so pokazali, da je stisljivost zrn, ki temeljijo na laktozi, močno odvisna od procesnih spremenljivk. Ob povečanju količine vode in hitrosti mešala ter zmanjšanju časa gnetenja se je velikost zrn povečala. Čas gnetenja ter hitrost mešala sta imela velik vpliv tudi na stisljivost zrn. Povečanje hitrosti mešala in časa gnetenja sta zmanjšala poroznost zrn, kar je vodilo v zmanjšano trdnost tablet (6).

1.3 OBLAGANJE

Oblaganje delcev je proces, ki je v farmaciji poznan že stoletja. V času med 9. in 11. stoletjem so za oblaganje delcev uporabljali sluz trpotca ter srebro. Za prekrivanje neprijetnega okusa zdravilnih učinkovin pa so nanašali obloge iz medu ali sladkorja (7).

1.3.1 Vzroki za oblaganje

Razlogi za oblaganje tablet so različni, v nadaljevanju pa je zbranih nekaj najpomembnejših (1).

- Nekatere sestavine potrebujejo zaščito pred zunanjimi vplivi, kot sta na primer svetloba in vlaga.
- Pri peroralnih FO je okus eden izmed najpomembnejših parametrov, ki vplivajo na complianco bolnika. Peroralna aplikacija grenkih zdravilnih učinkovin je še vedno glavni predmet razprave znanstvenikov in zdravstvenih delavcev, še posebej pri

pediatričnih bolnikih. Oblaganje je zelo pogosto uporabljena tehnologija za spreminjanje oz. izboljšanje okusa zdravilnih učinkovin (8).

- Obarvane obloge zakrijejo razliko v izgledu vhodnih materialov različnih serij in tako pomirijo bolnikovo skrb o različnem videzu tablet.
- Povečanje compliance bolnikov.
- Obarvane obloge povečajo identifikacijo produkta s strani proizvajalca, farmacevta in pacienta.
- Obložene tablete olajšajo rokovanje pri polnjenju in pakiranju. Oblaganje zelo pogosto pripomore k povečani mehanski moči tabletnega jedra. Prav tako se zmanjša navzkrižna kontaminacija v proizvodnih obratih, saj je prašenje iz tablet zaradi obloge zmanjšano.
- Filmske obloge se uporabljajo z namenom prirejanja sproščanja tablet oz. večodmernih farmacevtskih oblik.

Poznamo tri vrste oblaganja s pomožnimi snovmi: filmsko oblaganje, oblaganje s sladkorji in suho oblaganje. Najbolj pogosto se uporablja filmsko oblaganje (1), pri katerem je debelina obloge med 10 in 200 μm . Obloga in njena debelina sta pomembna pri zaščiti pred svetlobo, vlago in zračnim kisikom ter pri prekrivanju neprijetnega okusa učinkovine (7). Filmsko oblaganje je učinkovit način uvajanja prirejenega sproščanja pri tabletah, še bolj pogosto pa pri večletnih farmacevtskih oblikah. Te so bolj primerne zaradi njihove majhne velikosti, ki jim omogoča prehod skozi stisnjen pilorični sfinkter ter nadaljnje razporejanje po gastrointestinalnem traktu. Tablete se lahko zaradi svoje velikosti dlje časa zadržujejo v želodcu, kar lahko povzroči poškodbe želodčne sluznice. Če pri peleti pride do napake in se sprost vsa zdravilna učinkovina naenkrat, pacient ni podvržen čezmernemu tveganju. Če pa se to zgodi pri tableti, so lahko posledice zelo resne (1).

1.3.2 Vrste naprav za oblaganje

V grobem lahko naprave za oblaganje razdelimo v dve skupini in sicer na bobne za oblaganje ter naprave, ki temeljijo na tehnologiji z vrtinčenjem.

Oblaganje ima svoj začetek v živilski industriji, kjer je potekalo oblaganje delcev s sladkorjem v velikih vrtečih posodah (bobnih). Kmalu zatem so te postopke začeli uporabljati tudi v farmacevtski industriji. Za oblaganje delcev so najprej uporabljali bobne, ki so se vrteli okoli osi, ki je bila nagnjena pod kotom. Sčasoma pa so os vrtenja

premaknili v vodoravno smer, saj se je s tem podaljšal čas stika med delci in zrakom, kar vodi v skrajšan čas sušenja in oblaganje večjih količin delcev. Ker so imeli takšni bobni za oblaganje veliko pomanjkljivosti (neučinkovito gibanje delcev ter neenakomerno sušenje, kar je povzročilo zlepljanje delcev in nastanek aglomeratov), so v bobne vgradili lopatice oz. mešala, kar je pripomoglo k intenzivnejšemu gibanju delcev. Skozi leta je prišlo do razvoja novih polimerov (derivati akrilne kisline in celuloze), zato so potrebovali nove naprave za nanašanje tanjših (filmskih) oblog. Uvedli so bobne s perforirano steno, kjer so zrak uvajali skozi steno bobna, vsebovali pa so tudi perforirana mešala, kar je zagotovilo učinkovito mešanje in sušenje ter odpravo mrtvih con. S tovrstnimi bobni so lahko oblagali večje delce, saj je pri manjših prišlo do zamašitve luknjic v steni bobna. Ta problem so rešili z uvedbo dušilne lopute, ki je med oblaganjem manjših delcev prekrila perforirane dele bobna. Kasneje so v bobne uvedli tudi posebno ukrivljeno cev, ki jo je bilo mogoče vstaviti neposredno v plast delcev in je omogočala istočasno dovajanje zraka za sušenje ter kapljevine za oblaganje. Danes so na voljo tudi kontinuirani bobni za oblaganje, ki vsebujejo podolgovato ohišje z valjem, ki se vrti okoli horizontalno nameščene osi. Šobe za razprševanje obloge so nameščene po celotni dolžini. Ti bobni imajo svoje prednosti kot npr. skrajšan čas proizvodnje in zmanjšane izgube. Zavzemajo manj prostora, prav tako je manj ročnega dela. Vendar pri njih najdemo tudi pomanjkljivosti. Z njimi lahko izdelamo le velike količine produkta, pri tem pa moramo upoštevati tudi nastale stroške. Pri oblaganju delcev s široko porazdelitvijo velikosti se zaradi razslojitve nasutja delcev težko doseže enakomerno razprševanje po vseh delcih, posledično pa je oteženo tudi določevanje časa trajanja postopka ter določevanje optimalne hitrosti razprševanja (7).

Tehnologija z vrtinčenjem se uporablja za oblaganje z raztopinami, suspenzijami, praškastimi delci, sušenje, granuliranje z dograjevanjem in direktno izdelavo pelet. Pri tehnologiji z vrtinčenjem zaradi vpihovanja zraka, usmerjenega navzgor, skozi plast trdnih delcev pride do fluidizacije, kar pomeni, da se trdni delci v mnogih pogledih obnašajo kot tekočina. Glede na gibanje vhodnega zraka in delcev ter smeri razprševanja kapljevine poznamo različne komore, ki temeljijo na tehnologiji z vrtinčenjem (7).

Komora za razprševanje od zgoraj ima obliko obrnjenega prisekanega stožca, kjer zgornji, širši del predstavlja ekspanzijski prostor. Na spodnjem delu je nameščena perforirana plošča, skozi katero uvajamo zrak za fluidizacijo. Ta komora je primarno namenjena za izdelavo granulata, v njej pa lahko izvajamo tudi oblaganje. Proces oblaganja moramo

izvajati pri nižjem položaju šobe, saj sta tam številčna gostota in hitrost delcev največja, razdalja potovanja razpršene kapljice do delca pa najmanjša. Lahko jo uporabljamo za nanašanje oblog za prekrivanje neprijetnega okusa učinkovin, ne pa v primeru ko obloga omogoča difuzijsko omejeno sproščanje, saj je tam potrebna enakomernost in zveznost nanosa (7).

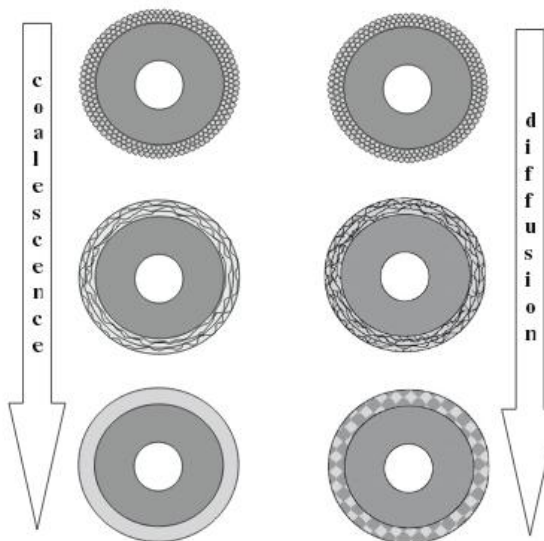
Pri rotorski komori je šoba postavljena tangencialno glede na smer gibanja delcev in je med procesom potopljena v delce. Rotorsko komoro poleg šobe sestavljajo še spodnji del z vrtečo ploščo in ekspanzijsko dno (7). Plošča se med procesom dvigne, pri tem se ustvari ožina, ki omogoča pretok zraka v komoro. Nizko stopnjo sušenja pri postopku direktne izdelave pelet in oblaganju s praškastimi delci nam omogoča neodvisno kontroliranje pretoka zraka od hitrosti zraka. Z rotorsko komoro lahko opravljamo procese oblaganja z raztopinami, suspenzijami in praški, granuliranje ter direktno izdelavo pelet (9).

S komoro, kjer s šobo razpršujemo od spodaj - Wursterjeva komora, lahko oblagamo delce velikosti okrog 50 μm , ne da bi ti med procesom aglomerirali. Primerna je torej za oblaganje manjših delcev (pelete, granule). Redko pa jo uporabljamo za oblaganje tablet, saj zaradi intenzivnega gibanja pogosto pride do krušenja nanesene obloge in jeder (7). Wursterjeva komora je stožčaste oblike in vsebuje vertikalno postavljen razmejitveni valj ter perforirano ploščo z značilno porazdelitvijo odprtin, kjer je več odprtin na sredini, manj pa na obrobju. Zaradi takšne razporeditve je na sredini pretok zraka večji, kar potiska delce skozi razmejitveni valj do ekspanzijskega prostora. V trenutku, ko gravitacijska sila postane večja kot sila toka zraka, delci pričnejo padati nazaj na ploščo med valjem in steno komore. Razlika zračnih tokov v centralnem delu in na periferiji komore vzpostavi razliko tlakov, kar povzroči pretok delcev skozi režo nazaj v razmejitveni valj (9). Pri razvoju so ugotovili, da je pomanjkljivost naprave relativno šibek tok zraka v spodnjem skrajno perifernem delu komore, zaradi tega se delci dlje časa zadržujejo na tem območju in tako ne vstopajo redno v območje razprševanja. Težavo so rešili tako, da so skozi režo, nameščeno tik nad porazdelitveno ploščo, vpihovali zrak. Da je imel ta zrak enako temperaturo in vlažnost kot zrak za fluidizacijo, so v ločeni konstrukcijski rešitvi problema zadrževanja delcev namestili še obvod, ki je skozi obodno režo omogočal vpihovanje zraka za fluidizacijo. Pri oblaganju pogosto prihaja tudi do prehajanja delcev v območje še ne dokončno izoblikovanega aerosola kapljic. Zaradi tega lahko pride do aglomeracije delcev, kar pa vodi v zmanjšanje izkoristka in učinkovitosti oblaganja. Ta problem so rešili z

namestitvijo dodatnega valja okoli šobe. Le-ta onemogoča prezgodnje prehajanje delcev v območje razprševanja ter zagotavlja, da je tok zraka okoli šobe nemoten in brez delcev (7).

1.3.3 Temperiranje zrn po oblaganju

Kapljice vodne disperzije polimera po razprševanju na farmacevtsko obliko tvorijo tanek vodni film. Zaradi izhlapevanja vode se razpršeni delci polimera približujejo drug drugemu in so v tesnem stiku. Zaradi nadaljnje evaporacije vode pride zaradi kapilarnih sil do koalescence koloidnih polimernih delcev ter tvorbe filma. Vendar pa se je v praksi izkazalo, da je zgolj v procesu oblaganja težko zagotoviti popolno formacijo filma. Zato je na splošno potrebna še nadaljnja toplotna obdelava (»curing«), za povečanje stopnje koalescence delcev. Ključni parametri, ki jih je potrebno v tem koraku optimizirati, so temperatura, relativna vlažnost in čas temperiranja. S povečano temperaturo se mobilnost makromolekul poveča ter s tem olajša koalescenco delcev. Relativna vlaga med procesom temperiranja določa vsebnost vode v sistemu, ta pa je ključna za kapilarne sile, ki združujejo delce, na nekatere polimere pa voda deluje tudi kot mehčalo (10). Na Sliki 2 so shematsko prikazane strukturne spremembe, ki se dogajajo v polimernem filmu med procesom temperiranja.



Slika 2: Strukturne spremembe v polimernem filmu med procesom temperiranja (10)

1.4 POLIMERNE OBLOGE, NAMENJENE ZAŠČITI PRED VLAGO

Polimerne obloge, ki ščitijo FO pred vlago, so pogosto uporabljene z namenom, da med shranjevanjem podaljšajo stabilnost na vlago občutljivih zdravilnih učinkovin (11). Včasih so se za zaščito pred vlago uporabljale sladkorne obloge, danes pa prednjačijo polimerne filmske obloge, saj je taka vrsta oblaganja hitrejša, porabi pa se tudi manjša količina vode, kar poveča stabilnost zdravilne učinkovine. Proces oblaganja je zaradi visokih temperatur in vlage velikokrat kritični korak pri ohranjanju stabilnosti zdravilne učinkovine. V zadnjem času se pojavlja oblaganje brez topila, kjer se snov za oblaganje v obliki praška nanese na jedra. Tak tip oblaganja omeji uporabo vode, vendar je zaradi slabega tvorjenja filma potrebno dodati veliko količino mehčal in uporabiti visoke temperature. Najpogostejši polimeri, ki se uporabljajo za zaščito pred vlago, so: hidrokسيمetilceluloza (HMC), hidroksipropilmetilceluloza (HPMC), polivinilalkohol, poli (metakrilat-metilmetakrilat). Prepustnost vlage je odvisna od sestave filmske obloge, predvsem od dodanih pomožnih snovi ter od topila v katerem je polimer raztopljen oz. dispergirani (12). Raziskovalci so ugotovili, da je pomembno tudi fizikalno stanje polimernih molekul. Makromolekule polimera so lahko v kristaliničnem ali amorfem stanju. Materiali, ki so v amorfem stanju, imajo večjo kapaciteto za sorpcijo vlage, kot materiali v kristaliničnem stanju. Amorfnimi polimeri pa so lahko v steklastem ali zmečkanem stanju, kar je odvisno od temperature steklastega prehoda (T_g). Mobilnost makromolekul v steklastem stanju je manjša kot v zmečkanem stanju, kar zmanjša verjetnost za prehajanje molekul vode. V zmečkanem stanju polimera je mobilnost molekul večja, kar poveča prepustnost polimerne obloge za vlago (11).

1.5 PREKRIVANJE NEPRIJETNEGA OKUSA UČINKOVIN

Okus farmacevtske oblike je pomemben faktor, ki vpliva na komplanco pacientov, zato je peroralna aplikacija grenkih učinkovin pomemben predmet razprave predvsem pri pediatričnih in starejših pacientih. Želja po izboljšanju neprijetnega okusa teh učinkovin je privedla do razvoja številnih metod prekrivanja okusa. Pri procesu prekrivanja neprijetnega okusa je pomembno, da uporabimo čim manj naprav in procesnih korakov in da z majhnim številom lahko dostopnih in varnih pomožnih snovi dosežemo primerno formulacijo. Pomembno je tudi, da s tem procesom ne vplivamo na biološko uporabnost učinkovin. Pri izbiri metode je potrebno upoštevati, kako močan okus ima zdravilna učinkovina, kakšen je

odmerek ZU, kolikšna je velikost in porazdelitev velikosti, za katero farmacevtsko obliko gre ter kakšna je topnost zdravilne učinkovine (13).

Oblaganje je ena izmed najpogosteje uporabljenih metod za prikrivanje neprijetnega okusa. Materiali za oblaganje so lahko različni, kot npr.: lipidi, polimeri ali sladkorji. Lahko se uporabljajo posamezno ali v kombinaciji. Najpogosteje se sicer uporabljajo polimeri (14). V naši diplomski nalogi smo uporabljali polimer Kollicoat® Smartseal 30 D, s katerim je bila narejena tudi raziskava, kjer so z oblaganjem delcev ugotavljali učinek prekrivanja neprijetnega okusa ornidazola. Teste so izvedli na 20 prostovoljnih, ki so jim najprej dali 10 mg odmerek ornidazola, nato pa še ekvivalentno količino v vzorcih, ki so bili obloženi. Ugotovili so, da je ta polimer učinkovit pri prekrivanju okusa, kadar je stopnja obloge 50% (m/m). Za prikrivanje neprijetnega okusa učinkovin so na voljo še naslednje metode: dodatek sladil in arom, izdelava mikrokapsul, uporaba ionsko izmenjevalnih smol, granulacija, adsorbcija, pristop s predzdravili in izdelava liposomov (14).

1.6 PRESKUSI SPROŠČANJA

Preskusi sproščanja so uradni farmakopejski testi za vrednotenje sproščanja zdravilne učinkovine iz trdnih in poltrdnih farmacevtskih oblik (15). Sproščanje je primarnega pomena za vse trdne peroralne farmacevtske oblike, še posebej pa za farmacevtske oblike s prirejenim sproščanjem, saj lahko omejuje absorpcijo učinkovine (16). Preskusi sproščanja so tudi ključni analizni testi, ki se uporabljajo za detekcijo fizikalnih sprememb zdravilne učinkovine in produkta. V zgodnjih fazah razvoja *in vitro* preskusi sproščanja vodijo v optimizacijo profila sproščanja učinkovine. V zadnjih 50 letih se preskusi sproščanja uporabljajo tudi v kontroli kakovosti (QC), v raziskavah in razvoju (R&D) za zaznavanje in vrednotenje vpliva kritičnih proizvodnih spremenljivk ter v primerjalnih študijah za *in vitro-in vivo* korelacije (17). Preskusi sproščanja so najpomembnejši način preučevanja sproščanja zdravilne učinkovine iz farmacevtske oblike v *in vitro* pogojih, in tako predstavljajo pomembno orodje, s katerim lahko ocenimo faktorje, ki vplivajo na biološko uporabnost zdravilne učinkovine (1). Ustrezna biološka uporabnost pa je prvi pogoj za ustrezno sistemsko učinkovitost peroralno apliciranih farmacevtskih oblik (16).

Pred samim preskusom sproščanja je treba izbrati medij, aparaturo in hidrodinamske pogoje (npr: hitrost vrtenja mešala, frekvenca potapljanja), ki so primerne za produkt. Kaj bomo izbrali, je odvisno od lastnosti farmacevtske oblike in od načina aplikacije (17).

USP 27 priznava 7 aparaturo:

- Apparatus 1 (naprava s košaricami),
- Apparatus 2 (naprava z vesli),
- Apparatus 3 (naprava z recipročnimi cilindri),
- Apparatus 4 (pretočna celica),
- Apparatus 5 (veslo nad diskom),
- Apparatus 6 (cilinder),
- Apparatus 7 (recipročno držalo) (16).

Najpogosteje se uporabljata Naprava 1 in Naprava 2 in sicer zaradi njune enostavnosti, robustnosti in primernosti za standardizacije. Podprti pa sta tudi z največ eksperimentalnimi izkušnjami. Zaradi teh prednosti sta ti dve aparaturi prva izbira pri *in vitro* poskusih sproščanja za trdne farmacevtske oblike (s takojšnjim in prirejenim sproščanjem) (16).

1.6.1 Naprava z vesli (Naprava 2)

Naprava 1 in Naprava 2 sta si glede sestave skoraj enaka. Pri Napravi 2 košarice iz Naprave 1 nadomeščajo vesla, ostali sestavni deli pa so: pokrita posoda (iz stekla ali kakšnega drugega inertnega materiala), motor in kovinska gonilna gred. Posoda je litrska, cilindrične oblike s polkroglastim dnom. Posode so delno potopljene v vodno kopel primerne velikosti, ki je ogrevana tako, da vzdržuje temperaturo medija v posodi na $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Zaradi preprečevanja izhlapevanja so posode na vrhu pokrite z ustreznim pokrovom z odprtini. Za povečanje ponovljivosti testnih pogojev je pomembna geometrija vesel ter mirna rotacija. Os vrteče gredi mora namreč na vseh točkah sovpadati z osjo posode na $\pm 2\text{mm}$. Odstopanje od te specifikacije lahko povzroči velik vpliv na sproščanje, še posebej pri Napravi 2. USP podrobno opisuje tudi mesto odvzema vzorca. Ta naj bi bil na polovici med gladino medija in vrhom potopljenega vesla (18).

Naprava 2 je primerna za analiziranje tablet in ostalih trdnih farmacevtskih oblik, za farmacevtske oblike s prirejenim sproščanjem in transdermalne oblike (18).

1.6.2 Naprava z recipročnimi cilindri (Naprava 3) - BIO-DIS

Koncept naprave USP 3 izhaja iz predstavitve na F.I.P (Federation Internationale Pharmaceutique) konferenci leta 1980. Predstavili so problem rezultatov preskusov

sproščanja, pridobljenih na Napravi 1 in Napravi 2, na katere naj bi statistično zanesljivo vplivali nihanje osi, lokacija, centriranje, deformacija košaric in vesel ter prisotnost zračnih mehurčkov v mediju. V 70-letih so Profesor Beckett in drugi raziskovalci na tem področju za vrednotenje produktov s prirejenim sproščanjem (še posebej pelet) uporabljali metodo rotirajoče steklenice (rotating bottle method). Ta metoda je omogočala prosto premikanje farmacevtske oblike skozi medij, medtem ko se je steklenica premikala, kar je bilo v nasprotju z gibanjem medija glede na farmacevtsko obliko pri aparaturnah USP1 in USP2. Kljub visoko ponovljivim profilom sproščanja ta metoda zaradi težav pri popolni avtomatizaciji procesa menjave medijev ni bila priznana v USP. Skupina znanstvenikov je kasneje pod Beckett-ovim vodstvom razvila BIO-DIS. Konstrukcija BIO-DIS-a je vključevala hidrodinamsko obliko rotirajoče steklenice z zmožnostjo popolne avtomatizacije spremembe medija ter fleksibilnostjo, ki je omogočala analizo z UV/VIS ali HPLC (19).

Glavni sestavni deli Naprave 3 so: set cilindričnih steklenih posod z ravnim dnom, set steklenih recipročnih cilindrov, nerjavna jeklena držala in mrežice cilindrov iz ustreznih materialov, ki so narejeni tako, da ustrezajo zgornjim in spodnjim delom recipročnih cilindrov (Slika 3) (18).

Napravo 3 sestavlja ogrevana kopel, v kateri je 6 vrst. V vsaki vrsti je po 7 cilindričnih steklenih posod z ravnim dnom, ki vsebujejo medij. Napravo sestavlja še 7 notranjih posod, ki vsebujejo recipročne cilindre, v katerih je produkt za analizo. Pogon glave omogoča vertikalno gibanje recipročnih cilindrov v steklenih posodah in horizontalno gibanje recipročnih cilindrov med vrstami steklenih posod. Steklene posode so delno potopljene v vodo, katere temperatura je vzdrževana na $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ (18). Pri delovanju pride do potapljanja (merjeno v potopih na minuto; dips per minute - dpm) recipročnih cilindrov v steklenih posodah. Pri gibanju navzgor produkt stopi v stik z dnom recipročnega cilindra, pri gibanju navzdol pa produkt zapusti mrežico in prosto plava znotraj recipročnega cilindra (16).

Naprava 3 se zaradi njene uporabnosti in pripravnosti izpostavljanja produkta mehanskim in različnim fizikalno-kemijskim pogojem, ki vplivajo na sproščanje v gastrointestinalnem traktu, smatra za napravo prvega izbora pri razvoju farmacevtskih oblik s prirejenim sproščanjem. Posebna prednost te naprave je tudi tehnično enostavna in neproblematična

menjava medijev z različnimi pH vrednostmi v določenem časovnem intervalu. Dodatna prednost te naprave je tudi možnost izvajanja preskusov raztapljanja za žvečilne tablete (16).



Slika 3: Naprava z recipročnimi cilindri, ki smo jo uporabljali za preskuse sproščanja (20)

2. NAMEN DELA

Cilj naše diplomske naloge je izdelati sistem obloženih zrn z dvojno filmsko oblogo. Prva filmska obloga bo zagotavljala gastrozestenco, medtem ko bo druga obloga preprečila raztapljanje v nevtralnem oz. rahlo alkalnem mediju. S tem je potencialno omogočena stabilnost zrn v suspenziji z nevtralnimi pH pred aplikacijo. Kombinacija teh dveh filmskih oblog bi bila potencialno primerna za aplikacijo na hidrolizo občutljivih zdravilnih učinkovin v obliki ex-tempore suspenzije, pripravljene iz obloženih zrn, prav tako pa ta sistem omogoča zakasnjeno sproščanje učinkovine.

Zrnca bomo izdelali s pomočjo hitro vrtečega granulatorja. Kot nadomestek učinkovine bomo uporabljali v vodi dobro topen tartrazin. S spremembami osnovne recepture in s spreminjanjem procesnih parametrov bomo poskušali doseči čim večji izkoristek granuliranja. Uporabno frakcijo zrn bomo v nadaljevanju obložili z dvema filmskima oblogama. Najprej bomo zrnca obložili z acidozestentno disperzijo, katere glavna komponenta bo Eudragit L30 D-55. S pomočjo naprave z vesli (Naprava 2) bomo preverili acidozestentnost. Za dokaz gastrozestence se mora po 2 urah v 0,1M HCl sprostiti manj kot 10% tartrazina. Ko bo ta pogoj dosežen, bo sledilo oblaganje acidozestentnih zrn z disperzijo, ki bo vsebovala polimer Kollicoat Smartseal 30 D. Ta filmska obloga bo omogočala stabilnost zrn v nevtralnem oz. rahlo alkalnem mediju. Na koncu bomo s preskusom sproščanja v več zaporednih medijih ocenili učinkovitost izdelanega sistema zrn. V ta namen bomo uporabili napravo z recipročnimi cilindri (Naprava 3) - Biodis.

Naš cilj je, da bi se iz zrn v vodnem mediju oz. pufru s pH=7,2 v 8 urah sprostito manj kot 0,5% tartrazina. Ko bomo zrnca prenesli v pufer s pH=1,2 se mora sprostiti manj kot 10% tartrazina. Na koncu v pH=6,8 pa se mora kumulativno sprostiti vsaj 95% učinkovine. Takšen profil sproščanja omogoča aplikacijo na hidrolizo občutljivih zdravilnih učinkovin, ki se morajo sprostiti v tankem črevesju.

3. MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIALI

Laktoza NF 200 MESH, Lek d.d., Ljubljana, Slovenija

Mikrokristalna celuloza Avicel PH101, Lek d.d., Ljubljana, Slovenija

Polivinilpirolidon K 25, Lek d.d., Ljubljana, Slovenija

Tartrazin, Sigma-Aldrich, ZDA

Eudragit ® D 30 L-55, Evonik, Essen, Nemčija

Kollocoat® Smartseal 30 D, BASF, Nemčija

Trietilcitrat, Lek d.d., Ljubljana, Slovenija

Butilhidroksitoluen (BHT), Lek d.d., Ljubljana, Slovenija

Smukec, Lek d.d., Ljubljana, Slovenija

Gliceril monostearat 35-50, Lex d.o.o., Koper, Slovenija

Tween ®80, Sigma-Aldrich, Francija

Simeticon (Silicon Antischaummit), Krka d.d., Novo mesto, Slovenija

Celllets 200, HARKE Pharma, Nemčija

HPMC 606 Pharmacoat, ShinEtsu, Nemčija

3.1.1 Laktoza

Laktoza monohidrat je naravni disaharid, pridobljen iz mleka, ki je sestavljen iz galaktoze in glukoze. Pogosto se uporablja kot polnilo v tabletah, kapsulah ter suhih praških za inhalacijo, v manjši meri pa se uporablja v liofiliziranih produktih in mlečnih formulah (21).

3.1.2 Mikrokristalna celuloza

Mikrokristalna celuloza je prečiščena in delno depolimerizirana celuloza. V farmaciji je široko uporabljena kot vezivo v tabletah in v kapsulah, kadar v kapsule polnimo rahle

komprimata. Uporablja se pri postopkih vlažnega granuliranja in direktnega stiskanja. Deluje tudi kot drsilo in razgrajevalo, zato je zelo uporabna pri tabletiranju. Na voljo je več vrst mikrokristalne celuloze, ki se med seboj razlikujejo glede na velikost delcev in vsebnost vode, kar vpliva na njihove lastnosti in uporabo (21).

3.1.3 Polivinilpirolidon (PVP)

PVP se pridobiva z radikalsko polimerizacijo vinilpirolidina. Obstaja več vrst PVP z različnimi K-vrednostmi, ki opredelijo povprečno molekulsko maso polimera. PVP K 25, K 30 in K 90 se uporabljajo kot veziva v tabletah in granulah. Učinkoviti so pri vlažni in suhi granulaciji, lahko pa se uporabljajo tudi pri direktnem stiskanju tablet. Rezultat vlažnega granuliranja z zgoraj navedenimi PVP so trdne granule z odličnimi pretočnimi lastnostmi. PVP se lahko uporablja kot solubilizator za slabo topne učinkovine in kot stabilizator v suspenzijah (22).

3.1.4 Tartrazin - modelna zdravilna učinkovina

Tartrazin (E 102) je monoazo spojina, ki se uporablja kot barvilo. Je rumen ali oranžno-rumen prah, dobro topen v vodi in stabilen na svetlobi. Produktom se dodaja zaradi izboljšanja videza in lažje identifikacije.

- Kemijsko ime: trinatrijev 5-hidroksi-1-(4-sulfonatofenil)-4-(4-sulfonatofenilazo)-1H-pirazol-3-karboksilat
- Relativna molekulska masa: 534.39
- Molekulska formula: $C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$ (21)

3.1.5 Eudragit® L 30 D-55

Eudragit® L 30 D-55 je kopolimerna vodna disperzija metakrilne kisline in etilakrilata. Je mlečno-bela tekočina nizke viskoznosti s šibkim značilnim vonjem (23). Uporablja se za gastrorezistentno oblaganje trdnih farmacevtskih oblik. Raztaplja se v medijih s pH nad 5,5, zato je netopen v želodčnem mediju, raztaplja pa se v tankem črevesju (21).

3.1.6 Kollicoat® Smartseal 30 D

Kollicoat® Smartseal 30 D je vodna disperzija kopolimera metilmetakrilata in dietilaminoetilmetakrilata v razmerju 6:4. Kot stabilizatorja sta dodana makrogol cetostearileter in natrijev lavrilsulfat. Je mlečno bela do rumena tekočina s šibkim

značilnim vonjem. Uporablja se kot obloga za prekrivanje neprijetnega okusa učinkovin ter za oblaganje na hidrolizo občutljivih učinkovin. V nevtralnem in rahlo bazičnem mediju (pH 6,8-7,2) je netopna, v kislem mediju (pod pH 5,5) pa se zaradi terciarnih amino skupin protonira in raztopi. Zaradi teh lastnosti omogoča učinkovito zaščito zdravilne učinkovine v ustih in hitro sproščanje v želodcu (24).

3.1.7 HPMC 606 - Pharmacoat

Pharmacoat je bel prašek z delci, velikimi od 50 do 70 μm in je brez vonja in okusa. Je nizko viskozna hidroksipropilmetilceluloza, ki se uporablja za filmsko oblaganje. Učinkovit je tudi kot vezivo, saj ne reagira z zdravilnimi učinkovinami, je zelo stabilen in ima neionske lastnosti. Filmske obloge, ki vsebujejo Pharmacoat, so trdne in močne, ob dodatku mehčala pa postanejo fleksibilne. Filmske obloge se pri tabletah in zrcih lahko nanašajo z namenom prekrivanja barve in okusa, izboljšanja trdnosti, preprečevanja krušljivosti, izboljšanja pretočnih lastnosti in povečanja stabilnosti. Uporablja se tudi kot vmesna obloga pri gastrorezistentnih tabletah, saj preprečuje interakcije med zdravilno učinkovino in sestavinami obloge (25).

3.2 OPREMA

- ✓ Hitro vrteči granulator 4M8-TriX, ProCept, Belgija
- ✓ Vrtinčnoslojni sušilnik STREA - 1, Niro aeromatic AG, Švica
- ✓ Avtomatski analizator vlage, B-302, Büchi, Švica
- ✓ Laboratorijski vibracijski sejalek, AS 200 basic, Retsch, Nemčija
- ✓ Vrtinčnoslojni oblagalnik, GPCG1, Glatt GmbH, Nemčija
- ✓ Vrtinčnoslojni oblagalnik, BX CGD 1, Brinox d.o.o, Slovenija
- ✓ Aparatura za preskus raztapljanja, VanKel 7000, Varian, ZDA
- ✓ Naprava z recipročnimi cilindri (BioDis), VanKel, Varian, ZDA
- ✓ UV spektrofotometer 8453 Hewlett Packard, ZDA
- ✓ Laboratorijski sušilnik SP-45, Kambič, Laboratorijska oprema, Slovenija
- ✓ pH meter S220 Seven Compact pH/ion, Mettler Toledo, Švica
- ✓ analitska tehtnica AG245, Mettler Toledo, Švica
- ✓ precizna tehtnica Vibra AJ-1200CE, Tehtnica Železniki, Slovenija
- ✓ precizna tehtnica CPA42025, Sartorius, Nemčija
- ✓ propellersko mešalo Eurostar digital, IKA, Nemčija
- ✓ magnetno mešalo RCT basic control, IKA, Nemčija

- ✓ rotor-stator homogenizator Ultra-Turrax t 25, IKA, Nemčija

3.3 METODE

3.3.1 Izdelava zrn v hitro vrtečem granulatorju

Za izdelavo zrn smo uporabili hitro vrteči granulator 4M8-TriX s 4-litrsko posodo. Najprej smo natehtali vse sestavine v pateno in jih prenesli v plastično vrečko ter jih 2 minuti mešali. Zmes prahov smo stresli v 4-litrsko posodo. Na tehtnico granulatorja smo postavili stekleno čašo s prečiščeno vodo, vanjo vstavili cevko, ki je preko integrirane črpalke vodila do granulatorja, in tehtnico tarirali. Na kontrolni plošči smo nastavili hitrost mešala in sekala, pretok komprimiranega zraka ter hitrost razprševanja.

Po končanem granuliranju smo zrnca posušili. Uporabili smo vrtninoslojni sušilnik STREA - 1. Granulat smo stresli v posodo in jo pritrdili na aparaturo. Nato smo nastavili temperaturo vhodnega zraka (70°C) ter pretok zraka za sušenje (80 m³/h). Spremljali smo parametre sušenja in proces ustavili, ko je temperatura izhodnega zraka dosegla 50°C.

3.3.2 Vrednotenje zrn

Zaostanek vlage po sušenju:

Po sušenju smo z avtomatskim analizatorjem vlage Büchi B-302 določili zaostanek vlage v zrnih. Direktno na analizator smo natehtali 5 g zrn in jih enakomerno, v tankem sloju, porazdelili po pladnju za vzorec. Nato smo zagnali program sušenja (80°C, 15 min). Rezultati so podani v odstotkih.

Sejalna analiza:

S pomočjo sejalne analize smo določili porazdelitev velikosti granulata. Uporabili smo sita 125, 180, 250, 355, 500, 710 in 1000 µm. Pred sejanjem smo prazna sita in dno stehtali. Na laboratorijski sejalnik smo najprej položili dno, nanj pa še ostala sita po velikosti od najmanjšega do največjega. Natehtali smo 100 g granulata in ga stresli na največje sito in pustili stresati 10 min pri amplitudi stresa 2 mm. Po stresanju smo polna sita še enkrat stehtali in s tem dobili maso granulata na vsakem situ. Podatki so podani v masnih odstotkih za vsako sito in prikazani na histogramu.

Uporabna frakcija zrn:

Preostali granulati smo presejali ročno. Izbrana uporabna frakcija granulata je bila večja od 180 μm in manjša od 355 μm . Ves granulati smo presejali čez sito 355 μm . Zrnca, ki so padla skozi sito, smo presejali še skozi sito 180 μm . Zrnca, ki so ostala na tem situ, so predstavljala uporabno frakcijo. Uporabne frakcije vseh poskusov smo združili in jih uporabili v nadaljevanju raziskovalnega dela.

3.3.3 IzračuniMasni delež posameznih frakcij:

$$F (\%) = \frac{m(2) - m(1)}{m(vz)} \quad (1)$$

Celokupni izkoristek:

$$\eta_{\text{cel}} (\%) = \frac{m_{\text{gr}}}{m_{\text{vh}}} \times 100 \quad (2)$$

Delež uporabne frakcije:

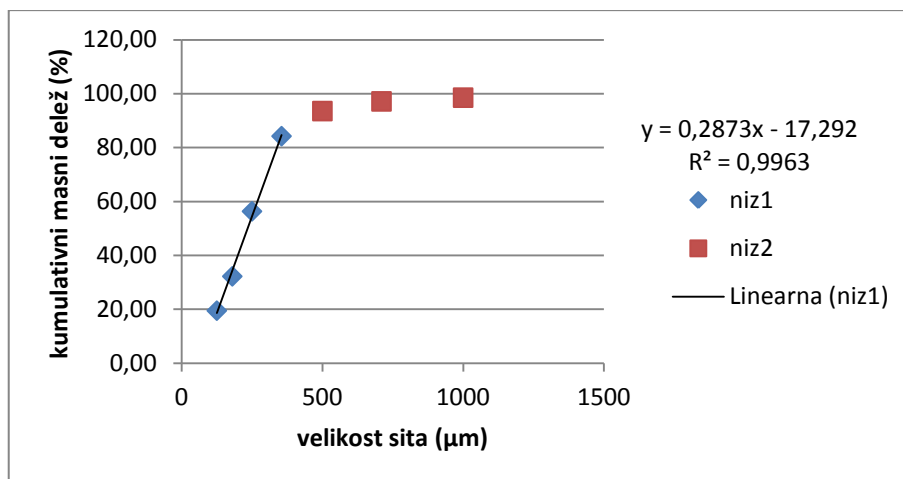
$$F_{\text{up}} (\%) = \frac{m_{\text{up}}}{m_{\text{gr}}} \times 100 \quad (3)$$

Uporabni izkoristek:

$$\eta_{\text{up}} = \frac{\eta_{\text{cel}}}{100} \times \frac{F_{\text{up}}}{100} \times 100 \quad (4)$$

m_2 = masa sita z granulatom, m_1 = masa sita, m_{vz} = masa vzorca, m_{gr} = masa granulata po sušenju, m_{vh} = masa suhih vhodnih snovi, m_{up} = masa uporabne frakcije, m_{gr} = masa granulata po sušenju

Pri sejalni analizi smo iz masnih deležev izračunali kumulativne masne deleže in to prikazali v obliki grafa. Za izbrane točke smo z linearno regresijo določili enačbo premice (Slika 4). V nadaljevanju smo s pomočjo enačbe 5 in 8 določili vrednost mediane velikosti zrn d_{50} in koeficient variance CV.



Slika 4: Primer izbiranja točk za linearno regresijo

$$d_{50} = \frac{50-n}{k} \quad (5)$$

$$d_{84} = \frac{84-n}{k} \quad (6)$$

$$d_{16} = \frac{16-n}{k} \quad (7)$$

$$CV = 100 \times \frac{d_{84} - d_{16}}{2 \times d_{50}} \quad (8)$$

k = smerni koeficient premice, n = odsek na ordinatni osi premice

3.3.4 Oblaganje zrn in pelet

Pred oblaganjem smo po predpisani recepturi pripravili disperzijo oz. suspenzijo za oblaganje. Po tem smo s pomočjo Wursterjeve komore obložili zrnca oz. pelete. Po končanem postopku oblaganja smo izmerili še zaostanek vlage, presejali obložena zrnca oz. pelete skozi sita primernih velikosti in s tem izločili praškaste delce in aglomerate.

3.3.5 Temperiranje obloženih zrn

Po oblaganju zrn z vodno disperzijo Eudragit L 30 D-55 in vodno disperzijo Kollicoat Smartseal 30 D je sledilo temperiranje v sušilni omari. Del zrn, ki smo jih v nadaljevanju uporabljali za preskuse sproščanja, smo enakomerno in v čim tanjšem sloju razporedili po površini papirja. Zrnca, ki smo jih obložili samo z Eudragitom® L30 D-55 smo temperirali pri 40°C 24 ur, zrnca obložena z obema oblogama pa pri 45°C 48 ur.

3.3.6 Priprava umeritvenih krivulj

Priprava medija s pH=6,8

Natehtali smo 9,12 g KH_2PO_4 in ga kvantitativno prenesli v 1000 ml bučko. V bučko smo odmerili 900 ml prečiščene vode in dobro premešali. Tako pripravljeno raztopino smo s prečiščeno vodo dopolnili do oznake in še enkrat premešali. Nato smo z dodajanjem 45% m/m KOH na pH metru umerili pH na 6,8.

Izdelava umeritvene premice za določanje koncentracije tartrazina pri pH=6,8

Natehtali smo 100,4 mg (101,6 mg) tartrazina in ga raztopili v 100 ml zgoraj pripravljene raztopine s pH=6,8. Tako smo dobili osnovno raztopino s koncentracijo $1,00 \cdot 10^{-3} \text{ g/ml}$ ($1,016 \cdot 10^{-3} \text{ g/ml}$). Z uporabo polnilnih pipet in merilnih bučk smo osnovno raztopino z istim medijem redčili še naprej in pripravili raztopine različnih koncentracij. Pripravljenim raztopinam smo pomerili absorbanco pri valovni dolžini 425 nm (Preglednica I in Preglednica II). Za slepi vzorec smo uporabili zgoraj pripravljen medij. Zaradi večje natančnosti umeritvene krivulje smo postopek še enkrat ponovili.

*Preglednica I: Podatki umeritvene premice-
1.par*

koncentracija tartrazina (10^{-5} g/ml)	absorbanca
1,50	0,68951
1,20	0,56466
1,13	0,52578
0,75	0,36245
0,60	0,28695
0,30	0,15369

$$R^2=0,99975$$

*Preglednica II: Podatki umeritvene premice-
2.par*

Koncentracija tartrazina (10^{-5} g/ml)	absorbanca
1,52	0,70247
1,22	0,57517
1,14	0,53725
0,76	0,35234
0,61	0,28664
0,30	0,14571

$$\text{Enačba umeritvene premice: } C[\text{g/ml}] = 2,1387 \times 10^{-5} \text{ g/ml} \times A$$

Priprava medija s pH=7,2

Za pripravo fosfatnega pufru pH=7,2 smo predhodno pripravili 0,2M KH_2PO_4 in 0,2M NaOH. V 1L bučko smo zmešali 250 ml 0,2M KH_2PO_4 in 173,5 ml 0,2M NaOH in s prečiščeno vodo dopolnili do oznake ter dobro premešali. pH smo preverili še na pH metru.

Izdelava umeritvene krivulje za določanje koncentracije tartrazina pri pH=7,2

Natehtali smo 101,6 mg (102,3 mg) tartrazina in ga raztopili v 100 ml zgoraj pripravljenega medija (pH=7,2) in dobili osnovno raztopino s koncentracijo $1,016 \cdot 10^{-3}$ g/ml ($1,023 \cdot 10^{-3}$ g/ml). Z uporabo polnilnih pipet in merilnih bučk smo osnovno raztopino z istim medijem redčili naprej in pripravili raztopine z različnih koncentracij. Tem raztopinam smo izmerili absorbanco pri valovni dolžini 425 nm (Preglednica III in Preglednica IV). Za slepi vzorec smo uporabili zgornji medij. Zaradi večje natančnosti umeritvene krivulje smo zgornji postopek ponovili še enkrat.

Preglednica III: Podatki umeritvene premice-1. par

Koncentracija tartrazina ($\cdot 10^{-5}$ g/ml)	absorbanca
1,52	0,6971
1,22	0,55641
1,14	0,52206
0,76	0,34598
0,61	0,28145
0,30	0,14525

$$R^2=0,99980$$

Preglednica IV: Podatki umeritvene premice-2.par

Koncentracija tartrazina ($\cdot 10^{-5}$ g/ml)	absorbanca
1,53	0,68929
1,22	0,57439
1,15	0,52528
0,77	0,34436
0,61	0,28174
0,31	0,14148

$$\text{Enačba umeritvene premice: } C[\text{g/ml}] = 2,1848 \times 10^{-5} \text{ g/ml} \times A$$

Priprava medija s pH=1,2

Pripravili smo 0,1M raztopino HCl s pH=1,2. V 2 litrsko bučko smo prenesli 200 ml standardizirane 1M raztopine HCl in bučko do oznake dopolnili s prečiščeno vodo ter dobro premešali.

Izdelava umeritvene krivulje za določanje koncentracije tartrazina pri pH=1,2

Natehtali smo 103,8 mg (101,5 mg) tartrazina in ga raztopili v 100 ml zgoraj pripravljenega medija (pH=1,2) in dobili osnovno raztopino s koncentracijo $1,038 \cdot 10^{-5}$ g/ml ($1,015 \cdot 10^{-5}$ g/ml). Z uporabo polnilnih pipet in merilnih bučk smo osnovno raztopino redčili naprej z istim medijem in dobili raztopine različnih koncentracij. Izmerili smo jim absorbanco pri valovni dolžini 425 nm (Preglednica V in Preglednica VI). Za slepi vzorec smo uporabili zgornji medij. Zaradi večje natančnosti umeritvene krivulje smo zgornji postopek ponovili še enkrat.

*Preglednica V: Podatki umeritvene
premice-1.par*

Koncentracija tartrazina ($\cdot 10^{-5}$ g/ml)	absorbanca
1,56	0,66859
1,25	0,54061
1,17	0,50659
0,78	0,34416
0,62	0,26881
0,31	0,14614

$$R^2=0,99977$$

*Preglednica VI: Podatki umeritvene
premice-2. par*

Koncentracija tartrazina (10^{-5} g/ml)	absorbanca
1,52	0,65354
1,22	0,52616
1,14	0,49452
0,76	0,33455
0,61	0,26860
0,30	0,14546

Enačba umeritvene premice: $C[\text{g/ml}] = 2,3088 \times 10^{-5} \text{ g/ml} \times A$

3.3.7 Določanje vsebnosti tartrazina v zrnih in peletah

Zrnem oz. peletam smo določevali vsebnost tartrazina, da smo pri preskusih sproščanja lahko natančno določili, kolikšen delež tartrazina se je sprostil. Po granuliranju smo naredili preizkus vsebnosti in s tem preverili tudi, ali je v zrnih res toliko tartrazina, kolikor smo ga po recepturi teoretično vgradili. Poskus smo opravljali v 6 paralelah. Natančno smo natehtali približno 300 mg zrn, jih prenesli v 250 ml bučko ter do oznake napolnili z medijem s $\text{pH}=6,8$ ter prenesli na magnetno mešalo in mešali 2 uri. Zatem smo vzeli 3 ml raztopine, jo prenesli v 10 ml bučko ter z medijem dopolnili do oznake. Nato smo raztopinam pomerili absorbanco in določili vsebnost. Iz šestih paralel smo določili povprečno vsebnost. Po prvem oblaganju z vodno disperzijo Eudragit L 30 D 55 smo vsebnost tartrazina določili računsko po enačbi 9.

$$\text{vsebnost po oblaganju}(\%) = \frac{m_{zr} \times vs}{m_{ob}} \quad (9)$$

m_{zr} = masa zrn pred oblaganjem v gramih, vs = vsebnost tartrazina v zrnih pred oblaganjem (%); m_{ob} = masa obloženih zrn v gramih

Po drugem oblaganju z vodno disperzijo Eudragita L 30 D-55 smo vsebnost tartrazina določili eksperimentalno. Zaradi večje natančnosti smo vsebnost določevali s šestimi paralelami. Natehtali smo približno 150 mg obloženih zrn in jih kvantitativno prenesli v

500 ml bučko in dopolnili s pufrom pH=6,8 do oznake. Bučke smo prenesli na magnetno mešalo in pustili mešati 2 uri. Iz vsake bučke smo odvzeli vzorec, ki smo ga prefiltrirali skozi filter Minisart RC25 z velikostjo por 45 μm . S prvimi 3 ml smo sprali kiveto, preostalemu vzorcu pa smo izmerili absorbanco pri valovni dolžini 425 nm.

Tudi zrnem, obloženim z dvojno oblogo, smo vsebnost tartrazina določevali eksperimentalno ter v šestih paralelah. Natančno smo natehtali določeno količino zrn, ki smo jih prenesli v 500 ml bučko ter v bučko dodali 375ml pufrs s pH=1,2. Bučke smo prenesli na magnetno mešalo in pustili mešati. Po 2 urah smo v bučke do oznake nalili še 125 ml 0,2M $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$. S tem smo pH spremenili iz 1,2 na 6,8 in tako omogočili, da se je raztopila še notranja obloga. Bučke smo zopet postavili nazaj na magnetno mešalo in pustili mešati čez noč. Iz vsake bučke smo odvzeli vzorec, ga prefiltrirali in izmerili absorbanco. Enak postopek določevanja vsebnosti, kot smo ga uporabili pri zrnih, smo izvajali tudi pri peletah.

3.3.8 Poskusni preskusi sproščanja

Pred farmakopejskimi preskusi sproščanja smo sproščanje učinkovine iz pelet oz. zrn preverjali s poenostavljenimi preskusi sproščanja, ki smo jih izvajali v čaši. Litrsko čašo, ki ima podoben obseg kot čaše na napravi z vesli, smo postavili na magnetno mešalo z grelcem. S pomočjo kontaktnega termometra, ki smo ga pritrdili na mešalo, smo vzdrževali temperaturo medija na $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Na propelersko mešalo smo vpeli veslasto mešalo in nastavili hitrost mešanja na 50 obratov/min. Višino veslastega mešala smo nastavili s pomočjo distančnika, ki se uporablja tudi pri farmakopejsko predpisani Napravi 2. V čašo smo stresli pelete oz. zrnca in istočasno sprožili štoparico. Vzorčili smo z 10-mililitrsko brizgo. Vzorce smo nato prefiltrirali skozi membranski filter Minisart RC25 z velikostjo por 0,45 μm in pomerili absorbanco.

3.3.9 Preskus sproščanja zrn in pelet z napravo z vesli

Pri preskusu sproščanja smo uporabili 2 medija. Postopek priprave prvega medija s pH=1,2 je bil enak kot pri izdelavi umeritvene premice. Za drugi medij pa smo pripravili 2L 0,2M $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$. Najprej smo natehtali 152,07 g $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, kvantitativno prenesli v 2 litrsko bučko, s prečiščeno vodo dopolnili do oznake in dobro premešali.

Sproščanje učinkovine iz pelet oz. zrn, ki so bile obložene zgolj z gastrozistentnim polimerom (Eudragit® L 30 D-55), smo spremljali s farmakopejsko Napravo 2. Preskuse sproščanja smo izvajali na šestih paralelah. Na kontrolni plošči smo hitrost vrtenja veslastih mešal nastavili na 50 obratov na minuto, temperaturo medija pa na 37°C. V vsako izmed čaš smo nalili 750 ml prvega medija, čaše pokrili s pokrovom in počakali, da je temperatura medija dosegla 37±0,5°C. Nato smo v vse čaše naenkrat stresli pelete oz. zrnca in zagnali program vzorčenja. Avtomatski vzorčevalnik je po 1 uri in 2 urah v epruvete načrpal po 10 ml vzorca. Po 2 urah smo v vse čaše naenkrat nalili še 250 ml drugega medija (0,2M Na₃PO₄·12H₂O), ki smo ga predhodno segreli na 37°C. Z dodatkom drugega medija smo pH spremenili iz 1,2 na 6,8. Avtomatski vzorčevalnik je naslednje pol ure vzorce jemal vsakih 5 minut, nato pa še 60-to in 120-to minuto. Vzorce smo skozi membranske filtre Minisart RC25 z velikostjo por 0,45 µm prefiltrirali v kiveto UV-VIS spektrofotometra. Kiveto smo najprej sprali s 3 ml vzorca, preostanek pa smo porabili za meritve absorbance pri 425 nm. Računalnik je na podlagi umeritvenih premic avtomatsko preračunal absorbanco v koncentracijo sproščene učinkovine. Najprej smo izračunali maso sproščene tartrazina v določeni časovni točki. Izračunali smo tudi maso sproščene tartrazina v 10 ml za vsako časovno točko. To količino smo prišteli k vsaki naslednji časovni točki ter seštevek delili z maso tartrazina, ki je bila prisotna v začetnem vzorcu.

Primer: Določitev sproščene tartrazina po 2 h in 5 min

$$m_3 = c_3 \times v_3 \quad (10)$$

$$m_2 = c_2 \times 10 \text{ ml} \quad (11)$$

$$m_1 = c_1 \times 10 \text{ ml} \quad (12)$$

$$\text{spr. uč. (\%)} = \frac{m_3 + m_2 + m_1}{m_{zr} \times vs} \quad (13)$$

m₃ = masa sproščene tartrazina po 2h 5min, c₃ = konc. sproščene tartrazina po 2h 5min, v₃ = volumen medija po 2h in 5min, m₂ = masa sproščene tartrazina v 10 ml medija po 2h, c₂ = konc. sproščene tartrazina po 2h, m₁ = masa sproščene tartrazina v 10 ml medija po 1h, c₁ = konc. sproščene tartrazina po 1h, m_{zr} = masa zrn, vs = vsebnost tartrazina v zrnih

3.3.10 Preskus sproščanja zrn in pelet z napravo z recipročnimi cilindri

Napravo z recipročnimi cilindri smo uporabljali za spremljanje sproščanja učinkovine iz zrn z dvojno oblogo. Pri izvajanju preskusa sproščanja smo uporabljali tri medije (pH=1,2; pH=6,8; pH=7,2), ki smo jih pripravili po enakih postopkih, kot za izdelavo umeritvenih krivulj. V prvo vrsto smo v vsako izmed čaš nalili 250 ml fosfatnega pufra s pH=7,2. Enak postopek smo z medijem pH=1,2 ponovili v drugi vrsti. V tretji vrsti pa smo čaše napolnili s pufrom pH=6,8. Na zgornjo in spodnjo stran cilindra smo pritrdili mrežico. Pri poskusih smo na začetku uporabljali mrežice z velikostjo por 177 μm , kasneje pa smo zaradi uporabe večjih zrn uporabljali mrežice z velikostjo por 400 μm . V cilindre smo stresli zrnca/pelete in jih pritrdili na napravo. V prvem mediju smo nastavili 4 potope na minuto v naslednjih dveh pa 10 potopov na minuto. Temperaturo medijev smo vzdrževali na $37\pm 0,5^\circ\text{C}$. Na avtomatskem vzorčevalniku smo nastavili program vzorčenja. Volumen odvzetega vzorca je bil 5 ml. V prvem mediju so se časovne točke spreminjale glede na vrsto eksperimenta (2h-24h). V drugem mediju je bil vzorec 2 uri, vzorčenje je potekalo vsako uro. V tretjem mediju smo vzorec 2 uri vzorčili na 30 minut. Vzorce smo v kiveto UV-VIS spektrofotometra najprej prefiltrirali skozi membranski filter Minisart z velikostjo por 1,20 μm , zatem pa še skozi membranski filter Minisart RC25 z velikostjo por 0,45 μm . S prvimi mililitrom vzorca smo kiveto sprali, preostanek pa smo porabili za merjenje absorbance. Delež sproščenega tartrazina smo računali podobno kot pri prejšnjem preskusu sproščanja. Določili smo deleže sproščenega tartrazina v vsaki časovni točki v določenem mediju. Na koncu pa smo sešteli deleže iz vsakega medija in dobili kumulativne vrednosti.

4. EKSPERIMENTALNO DELO

4.1 GRANULIRANJE S HITRO VRTEČIM GRANULATORJEM

Za izdelavo zrnč smo uporabili hitro vrteči granulator. Opravili smo 8 različnih poskusov. Prva dva, preliminarna poskusa (PL1 in PL2), smo opravili brez tartrazina, da smo dobili parametre, s katerimi je bil izkoristek uporabne frakcije zrnč zadovoljivo visok. Receptura za ta dva poskusa je predstavljena v Preglednici VII, receptura za ostale poskuse pa v Preglednici VIII. V Preglednici IX so predstavljeni procesni parametri za vseh 8 opravljenih poskusov.

Preglednica VII: Receptura za zrnca brez tartrazina

Laktoza	325g
mikrokristalna celuloza	150g
PVP k 25	25g

Preglednica VIII: Receptura za zrnca s tartrazinom

Laktoza	315g
mikrokristalna celuloza	150g
PVP k 25	25g
tartrazin	10g

Preglednica IX: Vrednosti procesnih parametrov ter količina dodane vode pri posameznih poskusih granuliranja

Ime poskusa	količina vode	parametri
PL 1	150g	hitrost mešala (rpm): 1150 hitrost sekala (rpm): 2000 hitrost razprševanja (ml/min): 11 pretok zraka (l/min): 7,3
PL 2	130g	hitrost mešala (rpm): 1150 hitrost sekala (rpm): 2000 hitrost razprševanja (ml/min): 11 pretok zraka (l/min):7,3

TR 3	130g	hitrost mešala (rpm): 1150 hitrost sekala (rpm): 2000 hitrost razprševanja (ml/min): 11 pretok zraka (l/min): 7,3
TR 4	110g	hitrost mešala (rpm): 1150 hitrost sekala (rpm): 2000 hitrost razprševanja (ml/min): 11 pretok zraka (l/min):7,3
TR 5	120g	hitrost mešala (rpm): 1150 hitrost sekala (rpm): 2000 hitrost razprševanja (ml/min): 11 pretok zraka (l/min):7,3
TR 6	110g	hitrost mešala (rpm): 1150 hitrost sekala (rpm): 2000 hitrost razprševanja (ml/min): 13 pretok zraka (l/min):7,3
TR 7	110g	hitrost mešala (rpm): 1300 hitrost sekala (rpm): 2000 hitrost razprševanja (ml/min): 13 pretok zraka (l/min):7,3
TR 8	110g	hitrost mešala (rpm): 1300 hitrost sekala (rpm): 2000 hitrost razprševanja (ml/min): 14 pretok zraka (l/min):7,3

4.2 PROCESI OBLAGANJA

4.2.1 Oblaganje z acidorezistentno oblogo

Združene frakcije zrn, ki smo jih pridobili pri granuliranju, smo najprej obložili z Eudragitom L30 D-55. 700 g zrn srednje velikosti 250 μm (180-355 μm) ima skupno površino 112.000 cm^2 , zaradi tega smo morali za doseg 20 μm debeline obloge z ocenjeno gostoto 1,3 g/cm^3 razpršiti 291,2 g suhih snovi. Ker disperzija za oblaganje vsebuje 19,99% suhih snovi in je predviden izkoristek oblaganja 85,5%, smo morali na 700 g zrn razpršiti 1705,01 g disperzije za oblaganje po spodnji recepturi. Ker smo pred tem

procesibilnost procesa preizkusili na celetah 200, je bilo potrebno pripraviti 2100 g disperzije za oblaganje. Receptura disperzije za oblaganje je predstavljena v Preglednici X.

Preglednica X: Receptura gastrozestistente obloge zrnca

Eudragit L 30 D-55	56,98%	1196,58g
gliceril monostearat (GMS)	0,85%	17,85g
Trietilcitrat	1,71%	35,91g
Tween 80 (33%)	1,04%	21,84g
prečiščena voda 1. Del	15,77%	331,17g
prečiščena voda 2. Del	23,65%	496,65g
SKUPAJ	100%	2100g

Najprej smo pripravili 33% raztopino Tween-a 80. Zatem smo v 3L čašo, ki smo jo pred tem stehali, natehtali 1. del prečiščene vode in segreli na 70-80°C. Med mešanjem z Ultraturaxom smo dodali 33% raztopino Tween-a 80, trietilcitrat in gliceril monostearat. Homogenizirali smo še 20 minut. Nato smo disperziji med mešanjem s propellerskim mešalom dodali drugi del prečiščene vode in disperzijo ohladili na 28°C. Dodali smo delež izhlapele vode (razlika med teoretično in dejansko maso) in na koncu še disperzijo Eudragita L30 D-55. Celotno disperzijo smo nato mešali še 2 uri.

Oznaka poskusa: **ZRTREU1**

Vrsta procesne opreme: BX CGD 1 + Wursterjeva komora s Swirl generatorjem in ukrivljenim dnom, Brinox

Disperzija za oblaganje: vodna disperzija Eudragit L30 D-55

delež suhih snovi v disperziji: 19,99%

m(zrnca pred oblaganjem): 700,06g

LOD (pred oblaganjem, 80°C, 15 min): 1,98%

Dodatne nastavitve opreme: premer cevke šobe: 1,2 mm

višina valja: 20 mm

1. Temperiranje:

$T_{VH.ZRAK}$ [°C]: 38

$T_{PROD.TEMP}$ (konec) [°C]: 29,6

Φ_v (vhodni) [m³/h]: 100

2. Razprševanje:

$T_{\text{VH.ZRAK}} [^{\circ}\text{C}]$: 38	Φ_m (disperzije) [RPM]: začetek-6RPM; 2min-9RPM; 3min-10RPM; 3,5min-11RPM 4min-12RPM
Φ_v (vhodni) [m^3/h]: 100	T (produkta) [$^{\circ}\text{C}$]: 24,6
m (razpršene disperzije) [g]: 1705,01	P (razprševanja) [bar]: 2,3
t (razprševanja) : 2h 46min	Φ_m (disperzije, povp.) [g/min]: 10,27

3. Sušenje:

$T_{\text{VH.ZRAK}} [^{\circ}\text{C}]$: 5min-40 $^{\circ}\text{C}$; 10 min-45 $^{\circ}\text{C}$	T (produkta) [$^{\circ}\text{C}$]: 36,2
Φ_v (vhodni) [m^3/h]: 100	t (sušenja) [min]: 15

4. Rezultati

m (pelet po oblaganju) [g]: 1003,32	LOD_{po} (80 $^{\circ}\text{C}$, 15 min): 1,24%
m (pelet < 180 μm) [g]: 38,95	m (pelet > 500 μm) [g]: 6,15
η (nanosa disperzije) [%]: 89,39	

Oznaka poskusa: **ZRTREU2**

Vrsta procesne opreme: BX CGD 1 + Wursterjeva komoras Swirl generatorjem in ukrivljenim dnom, Brinox

Disperzija za oblaganje: Vodna disperzija Eudragit L30 D-55

delež suhih snovi v disperziji: 19,99%

m (zrnc ZRTREU1 pred oblaganjem): 700,12g

LOD (pred oblaganjem, 80 $^{\circ}\text{C}$, 15 min): 1,53%

Dodatne nastavitve opreme: premer cevke šobe: 1,2 mm

višina valja: 20 mm

1. Temperiranje:

$T_{\text{VH.ZRAK}} [^{\circ}\text{C}]$: 38	$T_{\text{PROD.TEMP}}$ (konec) [$^{\circ}\text{C}$]: 29,4
Φ_v (vhodni) [m^3/h]: 100	

2. Razprševanje:

$T_{(VH.ZRAK)} [^{\circ}C]: 38$	Φ_m (disperzije) [RPM]: 2min-9RPM; 3min-10RPM; 3,5min-11RPM 4min-12RPM
Φ_v (vhodni) [m^3/h]: 100	T (produkta) [$^{\circ}C$]: 24,6
m (razpršene disperzije) [g]: 1705,01	P (razprševanja) [bar]: 2,3
t (razprševanja) : 2h 46min	Φ_m (disperzije, povp.) [g/min]: 10,27

3. Sušenje:

$T_{VH.ZRAK}[^{\circ}C]: 5min-40^{\circ}C; 10 min-45^{\circ}C$	T (produkta) [$^{\circ}C$]: 36,7
Φ_v (vhodni) [m^3/h]: 100	t (sušenja) [min]: 15

4. Rezultati:

m (pelet po oblaganju) [g]: 995,59	LOD _{po} (80 $^{\circ}C$, 15 min): 1,29%
m (pelet < 180 μm) [g]: 1,2	m (pelet > 500 μm) [g]: 19,25
η (nanosa disperzije) [%]: 86,07	

Z acidorezistentno oblogo smo oblagali tudi pelete, ki so bile predhodno obložene s tartrazinom. 850 g pelet s spodnjo vrednostjo velikosti 700 μm ima ocenjeno skupno površino 48571 cm^2 , zaradi tega smo morali za dosego obloge debeline 20 μm z ocenjeno gostoto 1,3 g/cm^3 razpršiti 126,28 g suhih snovi. Ker disperzija za oblaganje vsebuje 19,99% suhih snovi in je predvideni izkoristek oblaganja 89% smo morali na 850 g pelet razpršiti 709,83 g disperzije za oblaganje. Receptura disperzije za oblaganje je predstavljena v Preglednici XI.

Preglednica XI: Receptura gastrozistentne obloge pelet

Eudragit L30 D-55	56,98%	569,8g
Gliceril monostearat	0,85%	8,5g
Trietilcitrata	1,71%	17,1g
Tween 80	0,343%	3,43g
Prečiščena voda 1. del	16,47%	164,7g
Prečiščena voda 2. del	23,65%	236,5g
SKUPAJ	100%	1000g

Stehtali smo 2-litrsko prazno čašo in vanjo natehtali 1. del prečiščene vode ter segreti na 80°C. Med mešanjem z Ultraturaxom smo dodali Tween 80, trietilcitrát in šele nato GMS. V trenutku dodajanja GMS je morala biti temperatura nad 75 °C. Homogenizirali smo še 20 minut. Nato smo začeli z mešanjem s propellerskim mešalom in dodali 2. del prečiščene vode. Disperzijo smo ohladili na 28 °C, dopolnili izhlapeli delež vode (razlika med teoretično in dejansko maso) in dodali disperzijo Eudragit L 30 D-55. Ker se je disperzija začela peniti, smo dodali še 0,05g simetikonskega olja. Celotno disperzijo smo nato mešali še 2 uri.

Oznaka poskusa: **PETREU1**

Vrsta procesne opreme: GPCG1, Wursterjeva komora, Glatt

Disperzija za oblaganje: Vodna disperzija Eudragit L30 D-55

delež suhih snovi v disperziji: 19,99%

m(pelet pred oblaganjem): 850,0g

LOD (pred oblaganjem, 80°C, 15 min): 1,89%

Dodatne nastavitve opreme: premer cevke šobe: 1,2 mm

višina valja: 20 mm

1. Temperiranje:

$T_{VH.ZRAK}$ [°C]: 38

$T_{PROD.TEMP}$ (konec) [°C]: 31

Φ_v (vhodni) [m³/h]: 100

2. Razprševanje:

$T_{(VH.ZRAK)}$ [°C]: 38

Φ_m (disperzije) [RPM]: začetek 6RP; 2min-9RPM;
3min-10RPM; 3,5min-11RPM 4,5min-
12RPM; 5min-13RPM

Φ_v (vhodni) [m³/h]: 130

T (produkta) [°C]: 25

m (razpršene disperzije) [g]: 710

P (razprševanja) [bar]: 2,3

t (razprševanja) : 60 min

Φ_m (disperzije, povp.) [g/min]: 11,83

3. Sušenje:

$T_{VH.ZRAK}$ [°C]: 45

T (produkta) [°C]: 40

Φ_v (vhodni) [m³/h]: 130

t (sušenja) [min]: 10

4. Rezultati:

m (pelet po oblaganju) [g]: 984,40	LOD _{po} (80°C, 15 min): 1,64%
m (pelet < 250 μm) [g]: /	m (pelet > 1400 μm) [g]: /
η (nanosa disperzije) [%]: 94,64%	

4.2.2 Oblaganje z barierno oblogo

Pelete, predhodno obložene s tartrazinom in acidorezistentno oblogo (PETREU1), ki smo jih kasneje obložili s Kollicoat Smartseal 30 D disperzijo, smo obložili z vodno disperzijo HPMC (Preglednica XII).

Preglednica XII: Receptura barierne obloge pelet

Prečiščena voda	910g
PEG 6000	10g
HPMC	80g
SKUPAJ	1000g

Oznaka poskusa: **PETREU1+HPMC**

Vrsta procesne opreme: GPCG1, Wursterjeva komora, Glatt

Disperzija za oblaganje: vodna disperzija HPMC

delež suhih snovi v disperziji: 9 %

m(pelet pred oblaganjem): 850,0g

LOD (pred oblaganjem, 80°C, 15 min): 1,70%

Dodatne nastavitve opreme: premer cevke šobe: 0,8 mm

višina valja: 20mm

1. Temperiranje:

T_{VH.ZRAK} [°C]: 55T_{PROD.TEMP} (konec) [°C]: 45Φ_v (vhodni) [m³/h]: 130

2. Razprševanje:

$T_{\text{(VH.ZRAK)}} [^{\circ}\text{C}]$: 55	Φ_m (disperzije) [g/min, RPM]: začetek 8RPM: 1min-9RPM; 3min-10RPM; 8min- 11RPM
m (razpršene disperzije) [g]: 500,0	P (razprševanja) [bar]: 2,1
Φ_v (vhodni) [m^3/h]: 130	T (produkta) [$^{\circ}\text{C}$]: 41-42
t (razprševanja): 49 min	Φ_m (disperzije, povp.) [g/min]: 10,20

3. Sušenje:

$T_{\text{VH.ZRAK}} [^{\circ}\text{C}]$: 55	T (produkta) [$^{\circ}\text{C}$]: 45
Φ_v (vhodni) [m^3/h]: 130	t (sušenja) [min]: 6min 20s

4. Rezultati:

m (pelet po oblaganju) [g]: 883,77g	LOD_{po} (80 $^{\circ}\text{C}$, 15 min): 1,11%
m (pelet < 355 μm) [g]: /	m (pelet > 1400 μm) [g]: /
η (nanosa disperzije) [%]: 85,36	

4.2.3 Oblaganje z zaščitno oblogo

Obložena zrnca z Eudragitom L 30 D-55 smo kasneje obložili še z vodno suspenzijo Kollicoat Smartseal 30 D. Za preizkus procesnih spremenljivk oz. procesibilnosti delcev majhnih velikosti smo najprej obložili nevtralna jedra Cellets 200 (200-355 μm). Receptura vodne suspenzije je prikazana v Preglednici XIII.

Preglednica XIII: Receptura zaščitne obloge zrnca

Kollicoat Smartseal 30D	33,33%	266,64g
Trietilcitrat	1,51%	12,08g
Smukec	8,00%	64,0g
Prečiščena voda	56,87%	454,96 g
SKUPAJ	100%	800g

V 2-litrsko čašo smo natehtali prečiščeno vodo. Med mešanjem z Ultraturaxom smo dodali smukec in homogenizirali še 15 min. Nato smo v čašo dodali disperzijo Kollicoat Smartseal 30 D in trietilcitrat ter s propellerskim mešalom mešali 2 uri. Na koncu smo suspenzijo presejali skozi sito 200 μm .

Oznaka poskusa: CE+KO-SM	
Vrsta procesne opreme: BX-CGD1+Wursterjeva komora s Swirl generatorjem in ukrivljenim dnom, Brinox	
Disperzija za oblaganje: Vodna suspenzija Kollicoat Smatseal 30 D	
delež suhih snovi v disperziji: 19,5%	
m(pelet (Cellets 200) pred oblaganjem): 700,24g	
LOD (pred oblaganjem, 80°C, 15 min): 3,59%	
Dodatne nastavitve opreme:	premer cevke šobe: 0,8 mm
	višina valja: 20 mm

1. Temperiranje:

$T_{VH.ZRAK}$ [°C]: 38	$T_{PROD.TEMP}$ (konec) [°C]: 28
Φ_v (vhodni) [m ³ /h]: 100	

2. Razprševanje:

$T_{(VH.ZRAK)}$ [°C]: 40-41	Φ_m (disperzije) [g/min, RPM]: začetek 5RPM; 50s-6RPM; 2 min 45s-7RPM; 4min-8RPM ; 5min-9RPM; 6min-10RPM; 6min 30s-11RPM; 8 min-12RPM, 12min-13RPM
Φ_v (vhodni) [m ³ /h]: 100	T (produkta) [°C]: 25,8
m (razpršene disperzije) [g]: 700g	P (razprševanja) [bar]: 1,8
t (razprševanja) : 1h 3min	Φ_m (disperzije, povp.) [g/min]: 11,11

3. Sušenje:

$T_{VH.ZRAK}$ [°C]: 55	T (produkta) [°C]: 42
Φ_v (vhodni) [m ³ /h]: 100	t (sušenja) [min]: 10

4. Rezultati:

m (pelet po oblaganju) [g]: 774,43g	LOD _{po} (80°C, 15 min): 1,67%
m (pelet<180µm) [g]: /	m (pelet >500µm) [g]: 0,20g
η (nanosa disperzije) [%]: 63,29%	

Za oblaganje zrnca smo uporabili enako recepturo kot za Cellets 200. Pripravili smo skupno 4000 g vodne suspenzije.

Oznaka poskusa: ZRTREU2+KO-SM

Vrsta procesne opreme: BX-CGD1 + Wursterjeva komora s Swirl generatorjem in ukrivljenim dnom, Brinox

Disperzija za oblaganje: Vodna suspenzija Kollicoat Smatseal 30 D

delež suhih snovi v disperziji: 19,5%

m(zrnca ZRTREU2 pred oblaganjem): 700,00g

LOD (pred oblaganjem, 80°C, 15 min): 1,56%

Dodatne nastavitve opreme: premer cevke šobe: 0,8 mm

višina valja: 20 mm

1. Temperiranje:

$T_{VH.ZRAK}$ [°C]: 38

$T_{PROD.TEMP}$ (konec) [°C]: 28

Φ_v (vhodni) [m³/h]: 100

2. Razprševanje:

$T_{(VH.ZRAK)}$ [°C]: 34-37

Φ_m (disperzije) [g/min, RPM]: začetek-7RPM; 2 min-8RPM; 3 min-9RPM; 4min-10RPM; 5min-11RPM; 6min-13RPM

Φ_v (vhodni) [m³/h]: 100

T (produkta) [°C]: 24,7-25,1

m (razpršene disperzije) [g]: 3800

P (razprševanja) [bar]: začetek-1,8; 2 min-1,6

t (razprševanja) : 5h 38min

Φ_m (disperzije, povp.) [g/min]: 11,24

3. Sušenje:

$T_{VH.ZRAK}$ [°C]: začetek-40, po 10min-55

T (produkta) [°C]: začetek 34; po 10 min 42

Φ_v (vhodni) [m³/h]: 100

t (sušenja) [min]: 17

4. Rezultati:

m (pelet po oblaganju) [g]: 1295,52g

LOD_{po} (80°C, 15 min): 0,97%

m (pelet<180µm) [g]: 5,23g

m (pelet >600µm) [g]: 4,86g

η (nanosa disperzije) [%]: 80,14%

S Kollicoat Smartseal 30 D suspenzijo smo oblagali tudi pelete, ki so bile predhodno obložene s tartazinom. Receptura suspenzije je predstavljena v Preglednici XIV.

Preglednica XIV: Receptura zaščitne obloge pelet

Kollicoat Smartseal 30D	33,33%	833,25g
Trietilcitrata	1,5%	37,5g
Butilhidroksitoluen (BHT)	0,1%	2,5g
Smukec	8,0%	200,0g
Prečiščena voda	57,07%	1426,75g
SKUPAJ	100%	2500,0g

V manjšo čašo smo natehtali trietilcitrata in med mešanjem na magnetnem mešalu dodali butilhidroksitoluen. Zmes smo segreli na 50°C in počakali, da se je ves BHT raztopil. V 3-litrsko čašo smo natehtali prečiščeno vodo. Med mešanjem z Ultraturaxom smo dodali smukec in homogenizirali še 15 minut. Nato smo med mešanjem s propellerskim mešalom dodali Kollicoat Smartseal 30 D ter predhodno pripravljeno zmes trietil citrata in BHT. Mešali smo še 2 uri in na koncu disperzijo precedili skozi sito 200 µm.

Oznaka poskusa: PETR+KO-SM	
Vrsta procesne opreme: GPCG1, Wursterjeva komora, Glatt	
Disperzija za oblaganje: Vodna suspenzija Kollicoat Smatseal 30 D+TEC+BHT	
delež suhih snovi v disperziji: 19,5%	
m(pelet s tartrazinom pred oblaganjem): 850,00g	
LOD (pred oblaganjem, 80°C, 15 min): 1,87%	
Dodatne nastavitve opreme:	premer cevke šobe: 0,8 mm
	višina valja: 20 mm

1. Temperiranje:

$T_{VH.ZRAK}$ [°C]: 55	$T_{PROD.TEMP}$ (konec) [°C]: 45
Φ_v (vhodni) [m ³ /h]: 130	

2. Razprševanje:

$T_{(VH.ZRAK)}$ [°C]: 55-51	Φ_m (disperzije) [g/min, RPM]: začetek-7RPM; 2 min-9RPM; 3 min 15s-10RPM; 4min 10s-11RPM; 4min 40s-12RPM; 5min 20s-13RPM; 6min 40s-14RPM
-----------------------------	---

Φ_v (vhodni) [m ³ /h]: 130	T (produkta) [°C]: 34
m (razpršene disperzije) [g]: 2289,58	P (razprševanja) [bar]: 1,7->1,6
t (razprševanja) : 2h 47min	Φ_m (disperzije, povp.) [g/min]: 13,71

3. Sušenje:

$T_{VH.ZRAK}$ [°C]: 51	T (produkta) [°C]: 45
Φ_v (vhodni) [m ³ /h]: 130	t (sušenja) [min]: 4min 25s

4. Rezultati:

m (pelet po oblaganju) [g]: 1203,19g	LOD _{po} (80°C, 15 min): 0,74%
m (pelet<300 μ m) [g]: /	m (pelet >1400 μ m) [g]: 0,05
η (nanosa disperzije) [%]: 80, 67	

Oznaka poskusa: **PETREU1+HPMC+KO-SM**

Vrsta procesne opreme: GPCG1, Wursterjeva komora, Glatt

Disperzija za oblaganje: Vodna suspenzija Kollicoat Smatseal 30 D+TEC+BHT

delež suhih snovi v disperziji: 19,5%

m(pelet (PETREU1+HPMC) pred oblaganjem): 850,0g

LOD (pred oblaganjem, 80°C, 15 min): 1,11%

Dodatne nastavitve opreme: premer cevke šobe: 0,8 mm

višina valja: 20mm

1. Temperiranje:

$T_{VH.ZRAK}$ [°C]: 51	$T_{PROD.TEMP}$ (konec) [°C]: 45
Φ_v (vhodni) [m ³ /h]: 130	

2. Razprševanje:

$T_{(VH.ZRAK)}$ [°C]: 48-50	Φ_m (disperzije) [g/min, RPM]: začetek 7RPM: 2min-9RPM; 3min 15s-10RPM; 4min 10s-11RPM; 4min 40s-12RPM; 5min 20s-13RPM; 6min 40s-14RPM
Φ_v (vhodni) [m ³ /h]: 130	T (produkta) [°C]: 34
m (razpršene disperzije) [g]: 2290,2	P (razprševanja) [bar]: 1,7->1,6
t (razprševanja): 2h 53 min	Φ_m (disperzije, povp.) [g/min]: 13,24

3. Sušenje:

$T_{\text{VH.ZRAK}} [^{\circ}\text{C}]$: 49->51	T (produkta) [$^{\circ}\text{C}$]: 47
Φ_v (vhodni) [m^3/h]: 130	t (sušenja) [min]: 10

4. Rezultati:

m (pelet po oblaganju) [g]: 1214,85	LOD_{po} (80 $^{\circ}\text{C}$, 15 min): 0,62%
m (pelet < 355 μm) [g]: /	m (pelet > 1400 μm) [g]: /
η (nanosa disperzije) [%]: 82,12	

5. REZULTATI IN RAZPRAVA

5.1 VREDNOTENJE GRANULATA

Po končanem granuliranju smo granulat posušili in ga stehtali. Po enačbah 2, 3, 4, 5 in 8 smo izračunali celokupni izkoristek, delež uporabne frakcije, uporabni izkoristek in mediano velikosti delcev - vrednost d_{50} ter koeficient variance CV. V Preglednici XV so še podatki za zaostanek vlage po sušenju.

Preglednica XV: Rezultati vrednotenja granulata

Poskus	PL 1	PL 2	TR 3	TR 4	TR 5	TR 6	TR 7	TR 8
masa celotnega granulata (g)	452,92	461,23	475,81	474,41	465,38	470,63	475,48	472,21
masa uporabne frakcije (g)	111,88	332,2	84,02	216,95	35,64	262,04	233,3	131,2
celokupni izkoristek (%)	90,58	92,25	95,16	94,88	93,08	94,13	95,10	94,44
delež uporabne frakcije (%)	24,98	72,81	17,85	46,22	7,74	56,28	49,59	28,08
uporabni izkoristek (%)	22,63	67,17	16,98	43,85	7,21	52,97	47,16	26,52
mediana d_{50} (μm)	408,00	258,54	412,76	245,08	596,02	200,69	234,26	291,09
zaostanek vlage po sušenju (%)	1,04	1,81	1,14	1,17	1,26	0,97	1,11	1,22
Koeficient variacije CV (%)	43,0	36,5	41,0	58,6	94,7	34,9	50,5	67,6

V Preglednici XVI so prikazani masni deleži posameznih frakcij, ki smo jih izračunali po enačbi 1.

Preglednica XVI: Masni deleži posameznih frakcij

POSKUS	PL 1	PL 2	TR 3	TR4	TR 5	TR 6	TR 7	TR 8
(0-125) μm [%]	1,39	7,78	2,91	28,63	21,53	14,51	19,46	21,26
(125-180) μm [%]	3,44	5,59	2,06	0,00	4,60	23,15	12,75	10,28
(180-250) μm [%]	6,70	34,62	3,06	17,01	2,87	37,29	24,12	8,88
(250-355) μm [%]	27,70	38,15	15,02	34,82	4,32	17,71	27,90	23,34
(355-500) μm [%]	31,67	5,95	56,72	11,90	12,10	4,76	9,31	21,41
(500-710) μm [%]	15,36	2,69	14,24	4,00	39,82	1,40	3,59	8,99
(710-1000) μm [%]	6,46	1,71	2,74	1,30	9,16	0,52	1,39	2,92
>1000 μm [%]	7,29	3,51	3,24	2,34	5,60	0,65	1,48	2,92

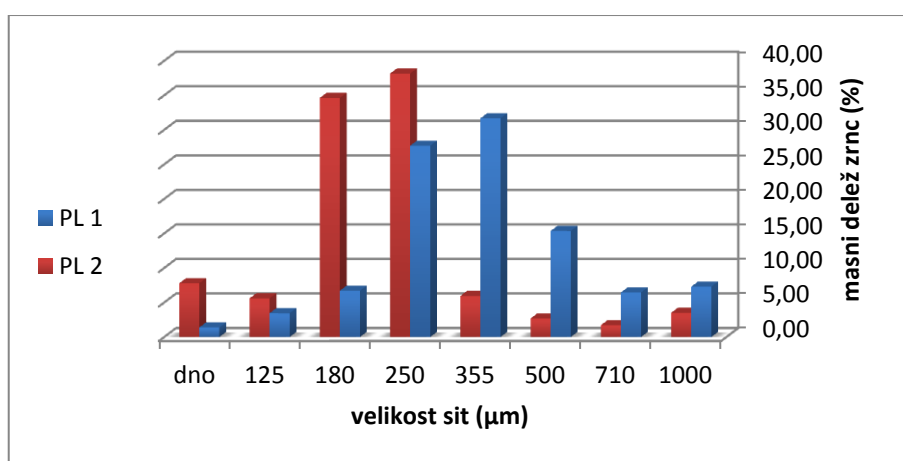
Pri postopku granulacije smo želeli doseči maksimalen delež zrn v območju od 180 do 355 μm , zato smo med samim granuliranjem spreminjali izbrane procesne parametre.

Pri poskusu PL1, kjer smo za granuliranje porabili 150 g vode, je bila srednja vrednost delcev 408 μm (Preglednica XV), porazdelitev velikosti delcev pa je bila zadovoljiva. V predhodnih raziskavah so ugotovili, da rast delcev, ki med seboj trkajo, predvidoma poteka po mehanizmu koalescence. Le-ta pa je močno odvisna od stopnje nasičenja delcev. Večja je stopnja nasičenja, več je proste tekočine okoli delcev, kar poveča koalescenco zrn. Moč povezave med delci je pri večji nasičenosti večja, zaradi tega lahko nasprotuje sili, ki jo povzroča mešalo (26). Zaradi teh procesov smo se pri poskusu PL 2 odločili zmanjšati

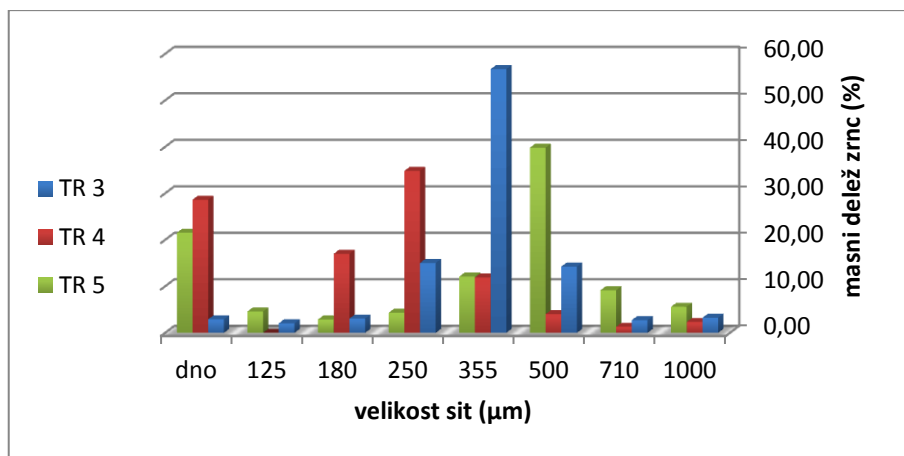
količino vode kot granulacijske tekočine in s tem dobili manjše delce (nižja vrednost d_{50}) (Slika 5). Porazdelitev velikosti delcev je bila prav tako ožja, kar je ustrezalo našim ciljem, zato smo v nadaljevanju dela v recepturo vključili modelno učinkovino - tartrazin.

Pri nadaljnjih poskusih se je izkazalo, da dodatek tartrazina vpliva na velikost delcev - vrednost d_{50} in na porazdelitev velikosti delcev. Pri poskusu TR3 smo dodali enako količino vode kot pri poskusu PL2. Opazili smo, da se je vrednost d_{50} bistveno povečala, saj se je poleg veziva in-situ raztapljal tudi tartrazin, kar je lahko vplivalo na viskoznost in površinsko napetost kapljevine v tekočinskih mostičkih. Zaradi tega smo pri poskusu TR4 zmanjšali količino vode iz 130 g na 110 g. Dobili smo manjše delce, ki so bolj ustrezali našim kriterijem za uporabno frakcijo. Delce smo hoteli pri naslednjem poskusu TR 5 še malenkost povečati, zato smo dodali 120 g vode. Srednja vrednost delcev je bila 596 μm , torej prevelika, zato smo pri nadaljnjih poskusih dodajali 110 g vode. Porazdelitev velikosti delcev iz poskusov TR3, TR4 in TR5 je prikazana na Sliki 6.

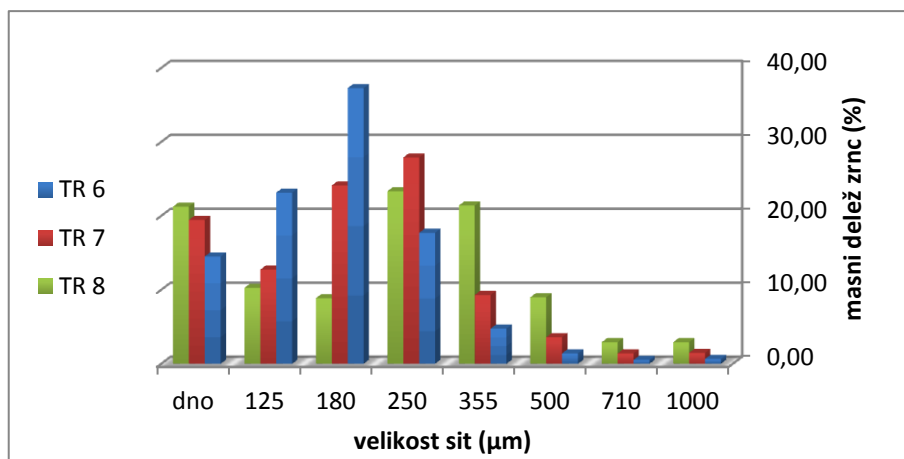
Pri poskusu TR 6 smo povečali hitrost razprševanja vode (iz 11 ml/min na 13 ml/min). Dobili smo manjše delce in dokaj ozko porazdelitev velikosti delcev. V poskusih TR 7 in TR 8 pa smo povečali še hitrost mešala (iz 1150 RPM na 1300 RPM). Dobili smo večjo srednjo vrednost delcev s široko porazdelitvijo velikosti delcev. Vzrok za veliko frakcijo na dnu je lahko vlažna posoda za granulacijo. V tem primeru bi se prahovi prijeli na steno posode in ne bi bili na voljo za granulacijo. Široka porazdelitev delcev je lahko tudi posledica večje mehanske obremenitve, ki lahko povzroči drobljenje nastalih zrn. Porazdelitev velikosti delcev iz poskusov TR6, TR7 in TR8 je prikazana na Sliki 7.



Slika 5: Porazdelitev velikosti delcev pri poskusih PL1 in PL2



Slika 6: Porazdelitev velikosti delcev pri poskusih TR3, TR4, TR5



Slika 7: Porazdelitev velikosti delcev pri poskusih TR6, TR7, TR8

5.2 VSEBNOST TARTRAZINA

V Preglednici XVII so predstavljeni rezultati določevanja vsebnosti tartazina v zrnih in peletah. Vidimo lahko, da se vsebnost tartrazina po dodatku oblog(e) zmanjša. To je povsem razumljivo, saj količina tartrazina v zrnih ostaja enaka, medtem ko se količina ostalih pomožnih snovi povečuje. Vidimo lahko tudi, da je vsebnost tartrazina v frakciji večjih zrn nekoliko manjša, kot v frakciji manjših zrn.

Preglednica XVII: Vsebnost tartrazina

vrsta zrn /pelet	vsebnost tartrazina (%)
zrnca (brez obloge)	2,19
ZRTREU1 (teoretično)	1,52
ZRTREU2	1,07
ZRTREU2+KO-SM (celotna frakcija)	0,74
ZRTREU2+KO-SM (180-500 μ m)	0,78
ZRTREU2+KO-SM (500-600 μ m)	0,70
PE+KO-SM	0,49
PETREU1	0,82
PETREU1+HPMC+KO-SM	0,55

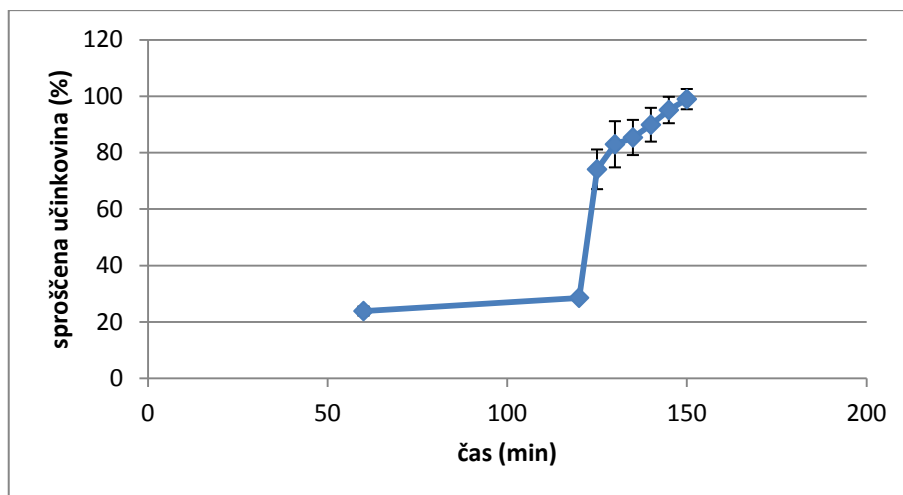
5.3 REZULTATI PRESKUSOV SPROŠČANJA

5.3.1 Dokaz acidorezistence zrn ZRTREU1 in ZRTREU2

V prvem delu diplomske naloge smo preskuse sproščanja opravljali na aparaturi z vesli (Naprava 2). Pred opravljanjem poskusov smo najprej preverili vsebnost tartrazina v zrnih. V Preglednici XVIII in na Sliki 8 so zbrani podatki preskusa sproščanja zrn ZRTREU1.

Preglednica XVIII: Rezultati preskusa sproščanja zrn ZRTREU1

pH	čas vzorčenja (min)	sproščena učinkovina (%)	standardna deviacija
1,2	60	23,87	1,59
1,2	120	28,57	0,93
6,8	125	74,08	7,03
6,8	130	82,96	8,18
6,8	135	85,37	6,24
6,8	140	89,89	5,99
6,8	145	95,10	4,68
6,8	150	98,96	3,59



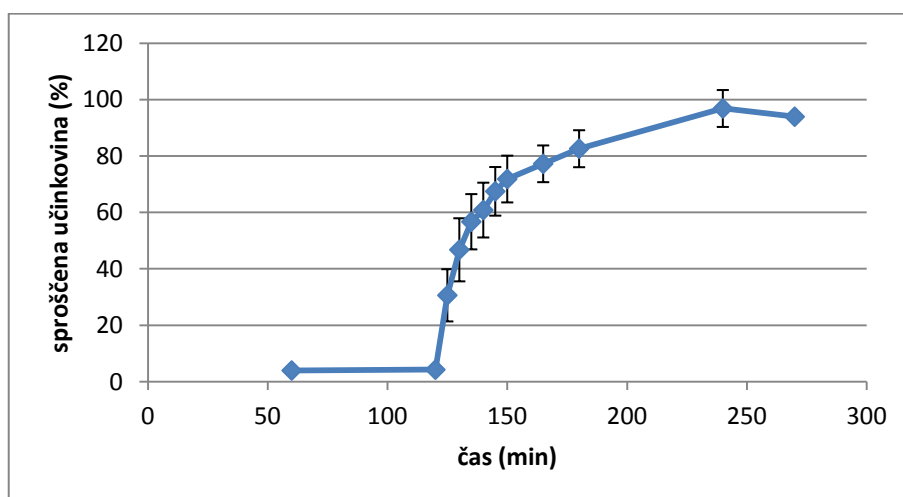
Slika 8: Grafični prikaz sproščanja tartrazina iz zrnč ZRTREU1

Acidorezistenco zrnč bi zagotovili v primeru, da bi se v mediju s $\text{pH}=1,2$ v dveh urah sprostito manj kot 10% učinkovine, v nadaljevanju pa bi se v mediju s $\text{pH}=6,8$ sprostito vsaj 95% učinkovine. Kot vidimo na zgornjem grafu, se je po prvi uri sprostito 23,9% učinkovine, po dveh urah pa 28,6% učinkovine, po dvigu pH na 6,8 pa se je sprostito 99% učinkovine. Sklepali smo, da je prevelik delež sproščene učinkovine v kislem mediju posledica pretanke acidorezistentne filmske obloge. Glede na eksperimentalne podatke smo izračunali, da je bila dejanska debelina polimera Eudragit L30 D-55 pri oblaganju 18 μm . Po navodilih proizvajalca polimera pa je za dosego acidorezistence priporočljiva debelina polimera od 10 do 14 μm . Ker so zrnč delci nepravilnih oblik in imajo veliko specifično površino, lahko navkljub vrednosti izračunane povprečne debeline polimera (18 μm) pride do prevelikega deleža sproščene učinkovine. Zaradi teh razlogov smo se odločili, da zrnč dodatno obložimo. Po oblaganju smo zopet določili vsebnost tartrazina v zrnčih in ponovili sproščanje pri obeh reprezentativnih pH vrednostih. Rezultati preskusov sproščanja dodatno obloženih zrnč (ZRTREU2) so prikazani v Preglednici XIX in na Sliki 9.

Preglednica XIX: Rezultati preskusa sproščanja zrnč ZRTREU2

pH	čas vzorčenja (min)	sproščena učinkovina (%)	standardna deviacija
1,2	60	4,00	0,21
1,2	120	4,29	0,10
6,8	125	30,65	9,26

6,8	130	46,79	11,18
6,8	135	56,74	9,80
6,8	140	60,87	9,71
6,8	145	67,51	8,62
6,8	150	71,88	8,29
6,8	165	77,28	6,51
6,8	180	82,62	6,56
6,8	240	96,88	6,54
6,8	270	93,96	1,17



Slika 9: Grafični prikaz sproščanja učinkovine iz zrnč ZRTREU2

Opazili smo, da se je pri sproščanju ponovno obloženih zrnč profil sproščanja spremenil. Po prvi uri se je sprostil 4,0% učinkovine po dveh urah pri pH=1,2 pa 4,3% učinkovine, po spremembi pufra na pH=6,8 pa se je na koncu sprostil 94% učinkovine. Rahlo zmanjšanje sproščene učinkovine v končni časovni točki lahko pripišemo eksperimentalnim napakam. Iz grafa lahko vidimo večjo standardno deviacijo pri predzadnji časovni točki. Zaradi zadovoljivega profila sproščanja smo nadaljevali z oblaganjem zrnč z disperzijo polimera Kollicoat Smartseal 30 D.

5.3.2 Sproščanje tartrazina pri zrnčih ZRTREU2+KO-SM v nevtralnem mediju

Po oblaganju zrnč s polimerom Kollicoat Smartseal 30 D smo najprej izvedli poskusne preskuse sproščanja v čaši s pufrom pH=7,2. Naš cilj je bil, da bi se po 8 urah sprostil

manj kot 0,5% učinkovine. V Preglednici XX so prikazani rezultati prvega sproščanja, kjer zrnca niso bila temperirana.

Preglednica XX: Rezultati sproščanja tartrazina iz netemperiranih zrn ZRTREU2+KO-SM

čas	sproščena učinkovina (%)
2h	26,4
3h 45 min	27,8

Ker rezultati že po 4h niso ustrezali našim kriterijem, smo poskus prekinili. Odločili smo se, da damo zrnca temperirati v sušilno omaro za 24h pri 45 °C (Preglednici XXI).

Preglednica XXI: Rezultati sproščanja tartrazina iz zrn ZRTREU2+KO-SM po 24 urah temperiranja

čas	sproščena učinkovina (%)
2h	4,0
4h	16,7

Rezultati v tem poskusu so bili bolj ustrezni kot pri prejšnjem, vendar še vedno niso popolnoma zadostovali našim kriterijem, zato smo zrnca temperirali še nadaljnjih 24 ur pri 45°C (Preglednica XXII).

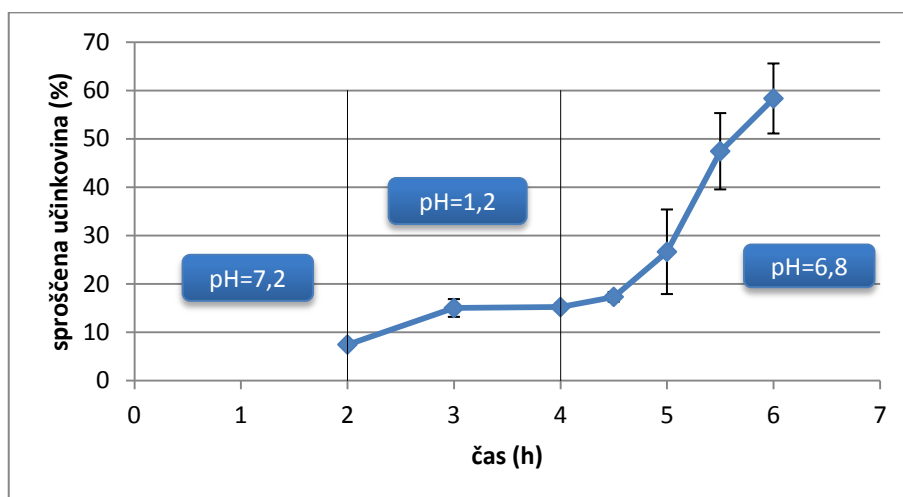
Preglednica XXII: Rezultati sproščanja tartrazina iz zrn ZRTREU2+KO-SM po 48 urah temperiranja

čas (h)	sproščena učinkovina (%)
1	2,5
2	3,2
3	4,6
4	5,6
5	5,9
6	7,7
7	10,3
8	14,4

Rezultati sproščanja za zrnca, ki so bila temperirana 2 dni pri 45 °C so bili že bližji našim zahtevam, zato smo se odločili, da opravimo preskus sproščanja na napravi z recipročnimi cilindri (Naprava 3). Pri prvem poskusu na Biodisu smo uporabili mrežice z velikostjo por 177 µm. S časom smo spreminjali tudi pH vrednosti medijev za raztapljanje. Rezultati preskusa sproščanja so prikazani v Preglednici XXIII.

Preglednica XXIII: Rezultati preskusa sproščanja zrnca ZRTREU2+KO-SM

pH	čas vzorčenja (h)	sproščena učinkovina (%)	kumulativne vrednosti	standardna deviacija
7,2	2	7,46	7,46	0,40
1,2	3	7,56	15,02	1,84
1,2	4	7,75	15,21	0,70
6,8	4,5	2,11	17,32	1,01
6,8	5	11,43	26,64	8,74
6,8	5,5	32,21	47,42	7,89
6,8	6	43,12	58,33	7,24



Slika 10: Grafčni prikaz sproščanja učinkovine iz zrnca ZRTREU2+KO-SM

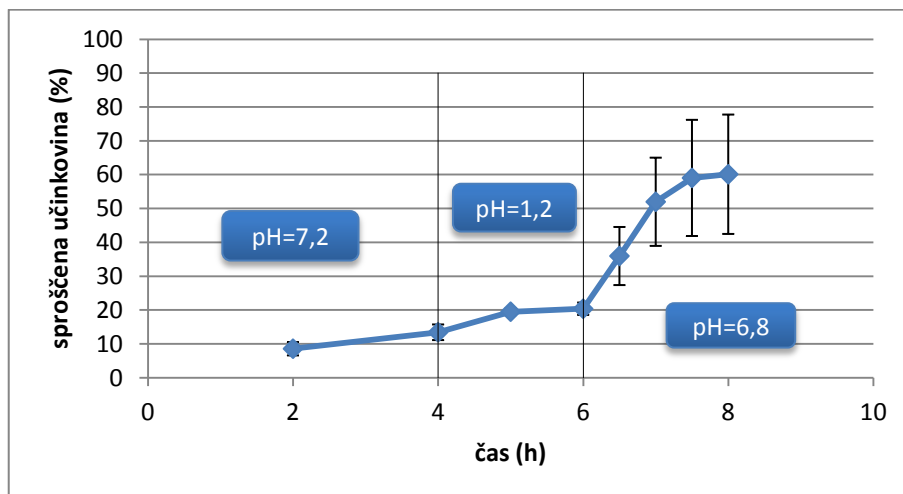
Zrnca so bila v mediju s pH=7,2 dve uri, sproščilo se je 7,5 % učinkovine, v mediju s pH=1,2 se je po dveh urah sproščilo 7,8 % učinkovine, v mediju s pH=6,8 pa se je po dveh urah sproščilo 43,1% učinkovine. Kumulativne vrednosti so predstavljene na Sliki 10. Pri poskusu smo opazili, da je skozi pore mrežic prehajalo premalo medija, zato so se zrnca

med sabo sprijela, kar je vplivalo na močenje zrnec ter posledično na sproščanje učinkovine. Količina sproščene učinkovine je bila napram poskusnim sproščanjem v časi drugačna tudi zaradi spremenjenih hidrodinamskih pogojev.

Opravili smo še en poskus, pri katerem so bila zrnca v pufru s pH=7,2 4 ure. Rezultati so bili primerljivi s prejšnjim poskusom in so prikazani na Preglednici XXIV in Sliki 11.

Preglednica XXIV: Rezultati ponovnega preskusa sproščanja zrnec ZRTREU2+KO-SM

pH	čas vzorčenja	sproščena učinkovina (%)	kumulativne vrednosti	standardna deviacija
7,2	2	8,59	8,59	1,98
7,2	4	13,45	13,45	2,30
1,2	5	6,07	19,52	0,99
1,2	6	6,95	20,40	1,83
6,8	6,5	15,57	35,97	8,58
6,8	7	31,59	51,99	13,03
6,8	7,5	38,64	59,04	17,16
6,8	8	39,73	60,12	17,63



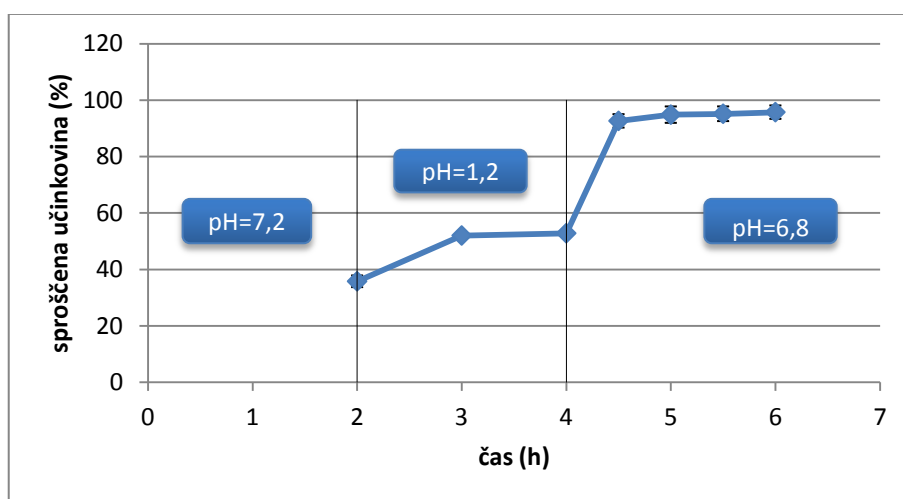
Slika 11: Grafični prikaz sproščanja učinkovine iz zrnec ZRTREU2+KO-SM

V nadaljevanju smo pri preskusih sproščanja uporabili mrežico z velikostjo por 400 μm . S tem smo izboljšali močenje zrnec in preprečili njihovo sprijemanje med sproščanjem. Zrnca smo presejali in uporabili samo frakcijo 500-600 μm . Za to frakcijo smo se odločili tudi

zaradi predhodnih raziskav, ki so pokazale, da imajo večji delci večjo debelino obloge (27). Tej frakciji smo določili vsebnost po istem postopku, kot pri prejšnji frakciji ter izvedli preskus sproščanja na BIO-DIS-u (Preglednica XXV in Slika 12).

Preglednica XXV: Rezultati preskusa sproščanja zrnca ZRTREU2+KO-SM: frakcija 500-600 mikrometrov

pH	čas vzorčenja	sproščena učinkovina (%)	kumulativne vrednosti	standardna deviacija
7,2	2	35,77	35,77	2,07
1,2	3	16,23	51,99	0,80
1,2	4	17,02	52,79	0,73
6,8	4,5	39,82	92,61	2,38
6,8	5	42,03	94,82	2,91
6,8	5,5	42,34	95,14	2,60
6,8	6	42,91	95,70	2,38



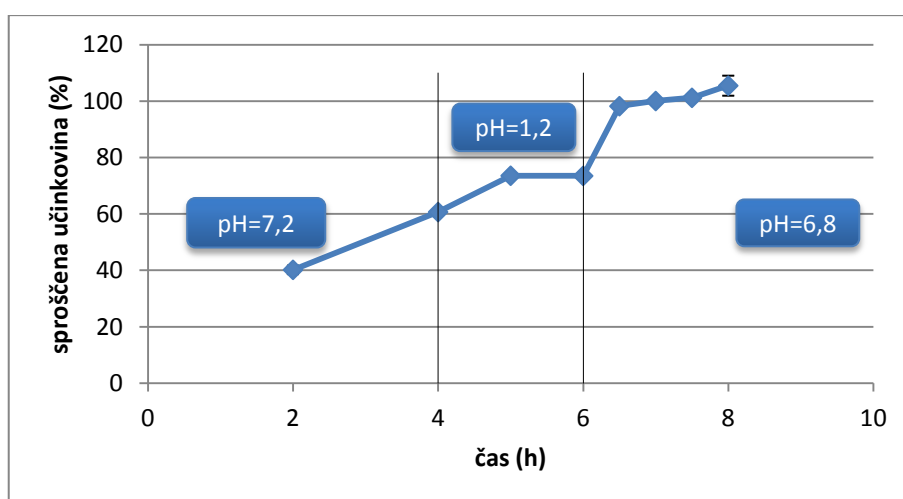
Slika 12: Grafični prikaz sproščanja učinkovine iz zrnca ZRTREU2+KO-SM, frakcija 500-600 mikrometrov

Po dveh urah v mediju s pH=7,2 se je sprostil 35,8 % zdravilne učinkovine. V mediju s pH=1,2 se je po dveh urah sprostil 17% učinkovine, v mediju s pH=6,8 pa se je sprostil 42,9% učinkovine. Kljub uporabi večje frakcije zrnca smo dobili rezultate, ki niso ustrezali našim pogojem. Do tega je verjetno prišlo zaradi menjave mrežice, saj se zrnca v tem primeru niso sprijela skupaj, zato je bila na voljo večja površina za sproščanje tartrazina.

Poskus pa smo še enkrat ponovili, tako da smo zrnca v mediju s pH=7,2 zadrževali 4 ure. Rezultati tega preskusa sproščanja so prikazani v Preglednici XXVI in na Sliki 13.

Preglednica XXVI: Rezultati ponovnega preskusa sproščanja zrnca ZRTREU2+KO-SM: frakcija 500-600 mikrometrov

pH	čas vzorčenja	sproščena učinkovina (%)	kumulativne vrednosti	standardna deviacija
7,2	2	39,59	39,59	1,51
7,2	4	60,25	60,25	1,09
1,2	5	12,91	73,16	0,91
1,2	6	12,78	73,03	0,36
6,8	6,5	25,01	98,04	0,92
6,8	7	26,73	99,75	0,78
6,8	7,5	27,68	100,71	1,15
6,8	8	31,99	105,01	3,55



Slika 13: Grafični prikaz ponovnega sproščanja učinkovine iz zrnca ZRTREU2+KO-SM: frakcija 500-600 mikrometrov

Rezultati so bili primerljivi s prejšnjim poskusom. Ugotovili smo, da kombinacija polimerov Eudragit L30 D-55 in Kollicoat Smartseal 30 D na naših zrncah ne deluje tako, kot smo načrtovali. Naš cilj je bil, da bi polimer Kollicoat Smartseal 30 D v nevtralnem oziroma rahlo alkalnem mediju preprečil sproščanje tartrazina (sprostilo naj bi se le 0,5% tartrazina), polimer Eudragit L 30 D-55 pa bi zagotovil gastrozistenco (sprostilo naj bi se

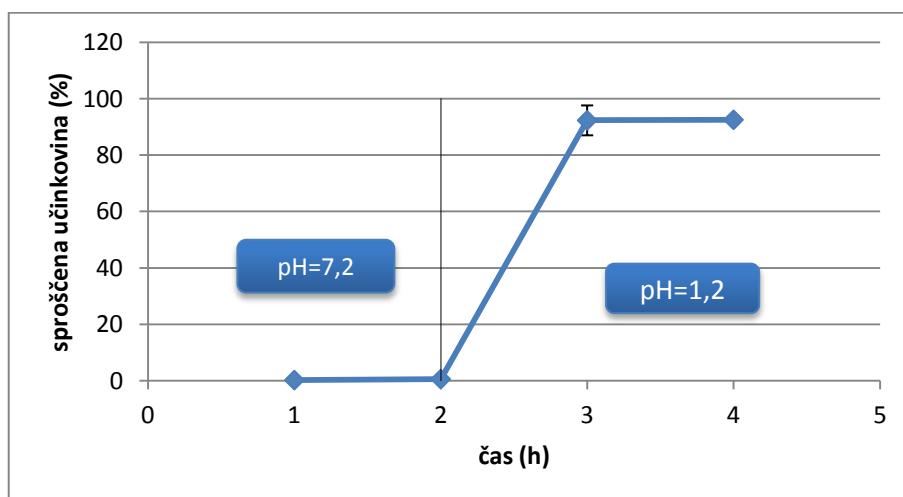
manj kot 10% tartrazina). Odločili smo se, da bomo ta koncept lažje potrdili na peletah, saj imajo le-te zaradi pravilne okrogle oblike bolj definirano površino. Poleg tega imajo gladko površino, kar je z vidika oblaganja zelo pomembno. Za pelete je značilna tudi ozka porazdelitev velikosti, kar v našem primeru prav tako predstavlja prednost.

5.3.3 Funkcionalnost pelet, obloženih s polimerom Kollicoat Smartseal 30 D

V nadaljnjih poskusih smo uporabljali pelete, ki so bile predhodno obložene s tartrazinom. V nasprotju s prej uporabljenimi matriks zrcni je bil tartrazin v peletah nanešen kot filmska obloga. Najprej smo pelete obložili samo z disperzijo polimera Kollicoat Smartseal 30 D in jih temperirali 2 dni pri 45°C. Ker smo preverjali funkcionalnost polimera Kollicoat Smartseal 30 D, smo v tem primeru na Biodis-u uporabljali samo dva različna medija. Rezultati preskusa sproščanja so prikazani v Preglednici XXVII in na Sliki 14.

Preglednica XXVII: Rezultati preskusa sproščanja pelet PETR+KO-SM

pH	čas vzorčenja (h)	sproščena učinkovina (%)	kumulativne vrednosti	standardna deviacija
7,2	1	0,30	0,30	0,09
7,2	2	0,64	0,64	0,17
1,2	3	91,70	92,34	5,29
1,2	4	91,89	92,53	1,21



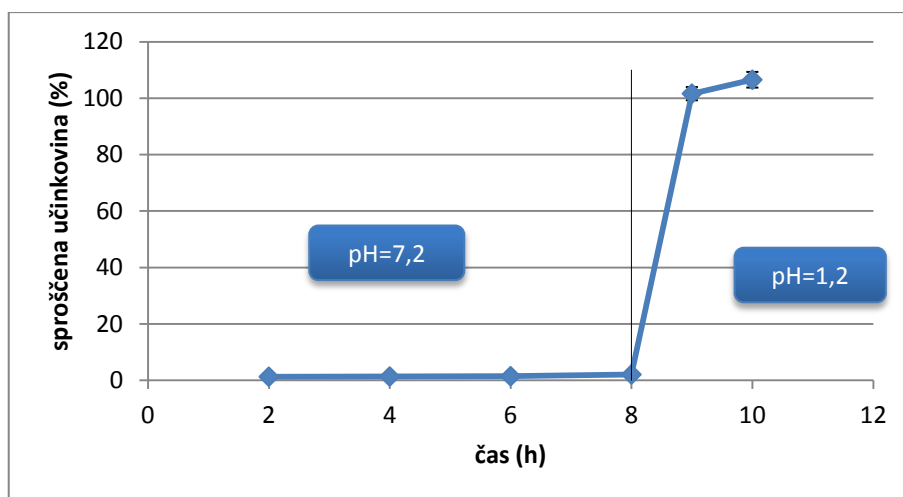
Slika 14: Grafični prikaz sproščanja učinkovine iz pelet PETR+KO-SM

Po eni uri se je sprostil 0,3%, po dveh urah pa 0,6% učinkovine. V mediju s pH=1,2 pa se je po dveh urah sprostil 91,9% učinkovine. S tem smo ugotovili, da je polimer Kollicoat Smartseal 30 D v rahlo alkalnem mediju netopen in zadrži sproščanje tartrazina v takšni meri, kot smo pričakovali. V kislem mediju pa se raztopi in omogoči sproščanje tartrazina.

V naslednjem poskusu smo obdržali enake pogoje, s to razliko, da smo pelete v mediju s pH=7,2 zadrževali 8 ur (Preglednica XXVIII in Slika 15).

Preglednica XXVIII: Rezultati ponovnega preskusa sproščanja pelet PETR+KO-SM

pH	Čas vzorčenja (h)	Sproščena učinkovina (%)	Kumulativne vrednosti	SD
7,2	2	1,28	1,28	0,13
7,2	4	1,36	1,36	0,18
7,2	6	1,46	1,46	0,15
7,2	8	2,08	2,08	0,27
1,2	9	99,52	101,60	2,35
1,2	10	104,44	106,52	2,78



Slika 15: Grafični prikaz ponovnega sproščanja tartrazina iz pelet PETR+KO-SM

Po osmih urah se je v mediju s pH=7,2 sprostil 2,1% učinkovine. Po dveh urah v mediju s pH=1,2 se je sprostil 104,5% učinkovine. Previsok odstotek sproščene učinkovine lahko pripišemo eksperimentalnim napakam. Ugotovili smo, da se rezultati v tem primeru zelo približajo našim zahtevam (0,5% sproščene tartrazina po 8 urah pri pH=7,2). Razlog za

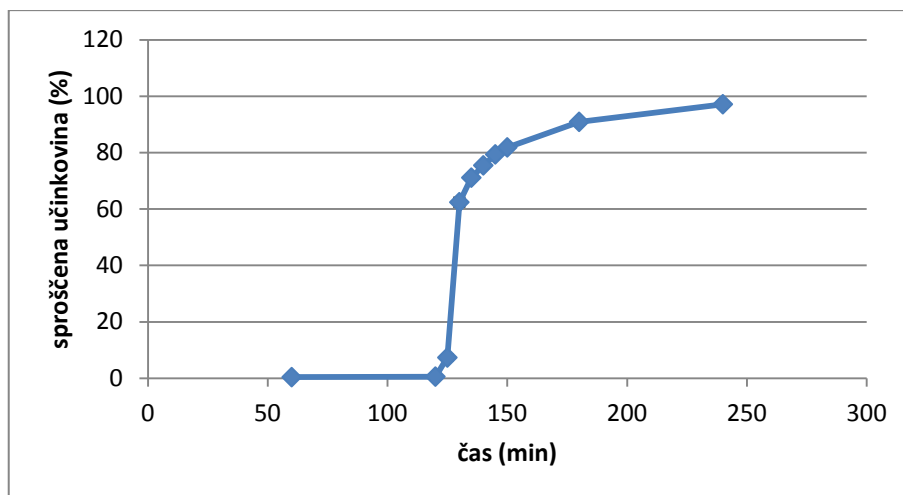
izboljšanje rezultatov je lahko uporaba pelet, saj imajo le-te s stališča oblaganja bolj ugodno površino. Pri oblaganju pelet smo v recepturo dodali še antioksidant BHT (butilhidroksitoluen), ki naj bi sicer preprečil zadrževanje sproščanja v kislem mediju. Proizvajalec sicer priporoča dodatek BHT samo za oblaganje tablet, vendar smo se za dodatek vseeno odločili tudi pri peletah.

5.3.4 Dokaz acidorezistence pelet PETREU1

V nadaljevanju smo filmsko obložene pelete s tartrazinom obložili z disperzijo Eudragita L 30 D-55 in z napravo z vesli (USP2) preverili acidorezistentnost (Preglednica XXIX in Slika 16).

Preglednica XXIX: Rezultati preskusa sproščanja pelet PETREU1

pH	čas vzorčenja (h)	sproščena učinkovina (%)	standardna deviacija
1,2	60	0,40	0,20
1,2	120	0,59	0,29
6,8	125	7,35	1,24
6,8	130	62,41	1,65
6,8	135	71,12	0,30
6,8	140	75,47	0,34
6,8	145	79,36	0,39
6,8	150	81,85	0,40
6,8	180	90,90	0,29
6,8	240	97,14	0,23



Slika 16: Grafični prikaz sproščanja učinkovine iz pelet PETREUI

V mediju s pH=1,2 se je po 2 urah sprostil 0,6% učinkovine, po spremembi medija na pH=6,8 pa se je sprostil 97,1% učinkovine. Rezultati so pokazali, da smo z oblogo zagotovili acidorezistentnost. Tudi v tem primeru lahko vidimo, da so pelete bolj primerne za oblaganje. Glede na eksperimentalne podatke smo izračunali, da je dejanska debelina obloge pelet 20 μm , kar je zadostovalo za acidorezistentnost. Pri zrcnih smo morali za doseg enakega cilja nanesti 38 μm debelo oblogo.

S poskusi, ki smo jih opisali v poglavjih 5.3.3 in 5.3.4 smo ugotovili, da obe funkcionalni oblogi (Eudragit L30 D-55 in Kollicoat Smartseal 30 D), nanešeni posamično, ustrezata našim pogojem.

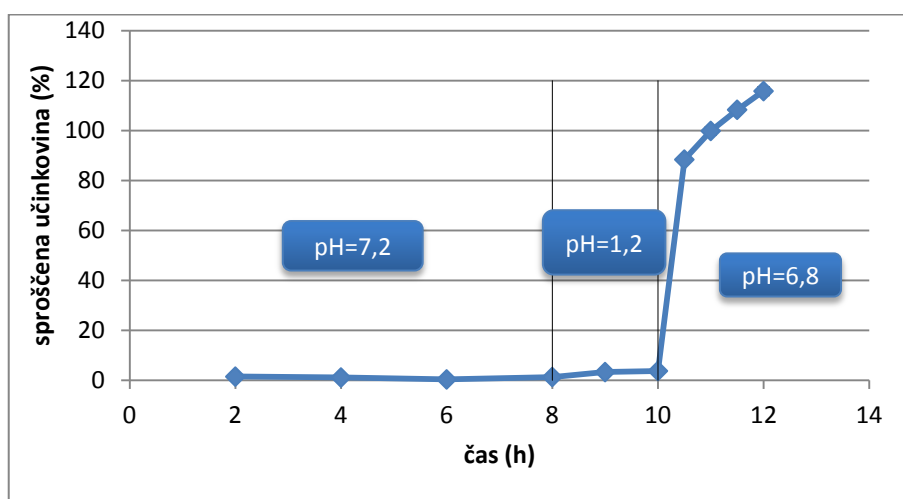
5.3.5 Sproščanje tartrazina pri peletah PETREUI+HPMC+KO-SM

Preskusi sproščanja na zrcnih so pokazali, da filmski oblogi (Eudragit L 30 D-55 in Kollicoat Smartseal 30 D), ki ju nanesemo eno za drugo, ne dajeta zelenih profilov sproščanja. V nadaljevanju smo zato na gastrozistentno oblogo nanesli vodno disperzijo HPMC kot barierno oblogo ter šele nato vodno suspenzijo polimera Kollicoat Smartseal 30D. S tem smo preventivno preprečili morebitne nezdržljivosti obeh pH odvisnih polimerov zaradi nasprotno nabitih funkcionalnih skupin.

V Preglednici XXX ter na Sliki 17 so predstavljeni rezultati preskusa sproščanja na napravi z recipročnimi cilindri, kjer smo uporabili mrežice z velikostjo por 400 μm .

Preglednica XXX: Rezultati preskusa sproščanja pelet PETREU1+HPMC+KO-SM

pH	čas vzorčenja (h)	sproščena učinkovina (%)	kumulativne vrednosti	standardna deviacija
7,2	2	1,54	1,54	0,13
7,2	4	1,20	1,20	0,21
7,2	6	0,43	0,43	0,15
7,2	8	1,40	1,40	0,29
1,2	9	1,98	3,38	0,36
1,2	10	2,42	3,82	0,13
6,8	10,5	84,60	88,42	0,92
6,8	11	96,07	99,89	1,47
6,8	11,5	104,55	108,37	0,83
6,8	12	112,02	115,83	1,65

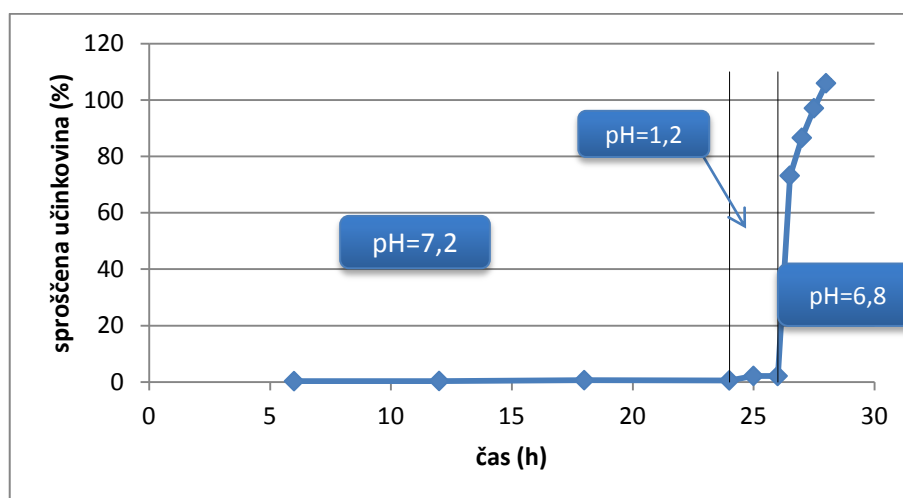


Slika 17: Grafični prikaz sproščanja učinkovine iz zrn PETREU1+HPMC+KO-SM

Po osmih urah v mediju s pH=7,2 se je sprostil 1,4% tartrazina, po dveh urah v mediju s pH=1,2 se je sprostil 3,8% učinkovine, po dveh urah v mediju s pH=6,8 pa se je kumulativno sprostil 112,0% učinkovine. Profil sproščanja v splošnem ustreza našim zahtevam, vendar smo opazili, da se je v zadnjem mediju sprostil preveč učinkovine. Poskus smo še enkrat ponovili (Preglednica XXXI in Slika 18), s tem da smo za ta poskus pripravili popolnoma sveže pufre. Pri pufrih, ki so pripravljene dlje časa namreč lahko pride do obarjanja soli to pa vodi v lažno povišanje absorbance.

Preglednica XXXI: Rezultati ponovnega preskusa sproščanja pelet PETREU1+HPMC+KO-SM

pH	Čas vzorčenja (h)	Sproščena učinkovina (%)	Kumulativne vrednosti	SD
7,2	6	0,28	0,28	0,17
7,2	12	0,35	0,35	0,09
7,2	18	0,64	0,64	0,07
7,2	24	0,55	0,55	0,04
1,2	25	1,59	2,14	0,09
1,2	26	1,56	2,11	0,10
6,8	26,5	71,00	73,11	0,76
6,8	27	84,44	86,55	0,89
6,8	27,5	94,92	97,04	0,93
6,8	28	103,78	105,90	1,29



Slika 18: Grafični prikaz ponovnega sproščanja učinkovine iz pelet PETREU1+HPMC+KO-SM

Ker smo pri prejšnjem poskusu ugotovili, da zunanja obloga po osmih urah ustreza našim pogojem, smo zadrževanje pelet v mediju s pH=7,2 podaljšali na 24 ur. Po 24 urah se je sprostil 0,6% učinkovine, po dveh urah v mediju s pH=1,2 se je sprostil 2,1% učinkovine, po spremembi pufru na pH=6,8 pa se je sprostil 105,9% učinkovine. Nekoliko večji odstotek sproščene učinkovine pri zadnji časovni točki odvzema lahko pripišemo eksperimentalnim napakam. Vidimo lahko tudi, da je standardna deviacija pri

zadnjem odvzemu najvišja. Rezultati zadnjega preskusa sproščanja popolnoma ustrezajo našim zahtevam. Z zunanjo oblogo smo uspeli preprečiti sproščanje tartrazina v nevtralnem oz. rahlo alkalnem mediju, z notranjo oblogo pa smo zagotovili pogoje gastrorezistence. V mediju s $\text{pH}=6,8$ se sprosti celotna količina tartarazina.

6. SKLEP

V prvem delu raziskovalnega dela smo s pomočjo hitro vrtečega mešalnika izdelali zrnca. Pri poskusih smo želeli doseči maksimalen delež zrnca v velikostnem razredu od 180 do 355 μm . Opravili smo 8 poskusov, od tega 2 preliminarna s placebo recepturo, ostalih 6 pa z modelno učinkovino - tartrazinom. Pri delu smo ugotovili, da dodatek tartrazina vpliva na velikost ter porazdelitev velikosti nastalih zrnca. Tekom dela smo prilagajali procesne parametre in količino vode z namenom, da bi dosegli čim večji uporabni izkoristek.

V nadaljevanju raziskovalnega dela smo zrnca obložili z gastrozistentno oblogo, ki je vsebovala polimer Eudragit L 30 D-55, kasneje pa še z zaščitno oblogo, ki je vsebovala polimer Kollicoat Smartseal 30 D. Funkcionalnost teh oblog smo preverili s preskusi sproščanja. Pri tem smo ugotovili naslednje:

- Pri oblaganju zrnca je zelo pomembna pravilna oblika in specifična površina zrnca. V našem primeru smo pri prvem oblaganju, glede na eksperimentalne podatke in izračun, nanесли dovolj obloge za zagotovitev gastrozistence, vendar se je pri preskusu sproščanja izkazalo, da gastrozistenca ni dosežena, zato smo morali zrnca še dodatno obložiti.
- Kombinacija polimerov Eudragit L 30 D-55 in Kollicoat Smartseal 30 D na zrncah ne delujeta po pričakovanjih. Razlog za to je lahko nepravilna oblika in relativno široka porazdelitev velikosti zrnca, nezdržljivost med oblogama ali uporabljena formulacija disperzije za zaščitno oblogo (nismo dodali antioksidanta).

Zaradi neuspehov pri zrncah smo se v nadaljevanju odločili, da bomo ta koncept lažje potrdili na peletah, saj imajo le-te bolj pravilno obliko, manjšo specifično površino ter ožjo porazdelitev velikosti. Prišli smo do naslednjih zaključkov:

- Za dosego gastrozistence je bilo potrebno nanesti manj obloge kot pri zrncah, kar potrjuje tezo v prvi alineji prejšnjega odstavka.
- Kombinacija polimerov Eudragit L 30 D-55 in Kollicoat Smartseal 30 D na peletah deluje po pričakovanjih. Razlog za to je poleg okrogle oblike pelet lahko uvedba dodatne barijerne obloge, ki preprečuje morebitne nezdržljivosti med gastrozistentno in zaščitno oblogo ali pa dodatek antioksidanta BHT pri recepturi za disperzijo zaščitne obloge.

7. VIRI

1. Aulton M.E.: *Pharmaceutics: The science of dosage form design*, Churchill Livingstone, Edinburgh, 2002: 289-90, 364-67, 441-48.
2. Rathbone MJ, Hadgraft J, Roberts MS, Lane ME: *Modified-release drug delivery technology*, Second edition, Volume 1, Informa Healthcare, New York, 2008: 311-17.
3. Hussan DS, Santanu R, Verma P, Bhandari V: A review on recent advances of enteric coating. *IOSR Journal of Pharmacy* 2012; 2(6): 05-11.
4. Iveson SM, Litster JD, Hapgood K, Ennis BJ: Nucleation, growth and breakage phenomena in agitated wet granulation processes: a review. *Powder Technology* 2001; 117: 3-39.
5. Chitu TM, Oulahna D, Hemati M: Wet granulation in laboratory scale high shear mixers: Effect of binder properties. *Powder Technology* 2011; 206(1): 25-33.
6. Parikh MD: *Handbook of pharmaceutical granulation technology*, second edition, Taylor & Francis Group, Florida, 2005: 191-12.
7. Luštrik M, Dreu R, Srčič S: Primerjava in razvoj naprav za oblaganje delcev, *Farmaceutski vestnik* 2010; 61: 155-61.
8. Chivate A, Sargar V, Nalawade P, Tawde V: Formulation and development of oral dry suspension using taste masked Ornidazole particles prepared using Kollicoat® Smartseal 30 D. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 2012; 00: 1-7.
9. Dreu R, Ilić I, Petek P, Pišek R, Dimnik A, Srčič S: Vaje iz industrijske farmacije, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2009: 2, 3.
10. Q.W. Yang, M.P. Flament, F. Siepmann, V. Busignies, B. Leclerc, C. Herry, P. Tchoreloff, J. Siepmann, Curing of aqueous polymeric film coatings: Importance of the coating level and type of plasticizer, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2010; 74: 362–70.

11. Bley O, Siepmann J, Bodmeier R: Importance of glassy-to-rubbery state transitions in moisture-protective polymer coatings. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2009; 73(1): 146-53.
12. Bley O, Siepmann J, Bodmeier R: Protection of moisture-sensitive drugs with aqueous polymer coatings: importance of coating and curing conditions. *International journal of pharmaceutics*, 2009; 378(1): 59-65.
13. Sharma D, Kumar D, Singh M, Singh G, Rathore M S: Taste masking technologies: A novel approach for the improvement of organoleptic property of pharmaceutical active substance. *International Research Journal Of Pharmacy* 2012; 3(4): 108-16.
14. Vummaneni V, Nagpal D: Taste masking technologies: An overview and recent updates. *Int. J. Res. Pharm. Biomed. Sci* 2012; 3(2), 510-24.
15. Azarmi S, Roa W, Löbenberg R: Current perspectives in dissolution testing of conventional and novel dosage forms. *International journal of pharmaceutics* 2007; 328(1): 12-21.
16. Dressman JB, Krämer J: *Pharmaceutical dissolution testing*, Taylor & Francis Group, Florida, 2005: 1, 15-20.
17. In Vitro Dissolution Testing For Solid Oral Dosage Forms, <http://www.particlesciences.com/news/technical-briefs/2010/in-vitro-dissolution-testing-for-solid-oral-dosage-forms.html>, junij 2013
18. Royal H, Grey V: *Handbook of dissolution testing*, Dissolution technologies Incorporated, Delaware, 2004: 35-48
19. Borst I, Ugwu S, Beckett AH: New and extended applications for USP drug release apparatus 3. *Dissolut Technol*, 1997; 4(1): 11-15.
20. <http://www.ffa.uni-lj.si/fileadmin/datoteke/FT/Oprema/BioDis.pdf>
21. Crowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME: *Handbook of pharmaceutical excipients*, Sixth edition, The Pharmaceutical Press, London, 2009, 364-69, 129-32, 129-32
22. Foltmann H, Quadir A: Polyvinylpyrrolidone (PVP) – One of the most widely used excipients in pharmaceuticals: An overview. *Drug delivery technology* 2008; 8(6), 22-27.

23. <http://eudragit.evonik.com/product/eudragit/en/products-services/eudragitproducts/enteric-formulations/l-30-d-55/pages/default.aspx>, junij 2013
24. http://www.pharmaingredients.basf.com/Statements/Technical%20Informations/EN/Pharma%20Solutions/03_101002e_Kollicoat%20Smartseal%2030%20D.pdf, junij 2013
25. <http://www.elementoorganika.ru/files/pharmacoat.pdf>, septemper 2013
26. Badawy SIF, Menning MM, Gorko MA, Gilbert DL: Effect of process parameters on compressibility of granulation manufactured in a high-shear mixer. *International journal of pharmaceutics* 2000; 198(1), 51-61.
27. Luštrik M, Dreu R, Šibanc R, Srčič, S: Comparative study of the uniformity of coating thickness of pellets coated with a conventional Wurster chamber and a swirl generator-equipped Wurster chamber. *Pharmaceutical Development and Technology* 2012; 17(3), 268-76.