

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

MARUŠA CVEK

DIPLOMSKA NALOGA

UNIVERZITETNI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2013

Univerza v Ljubljani
Fakulteta *za farmacijo*



MARUŠA CVEK

**IZDELAVA MULTIPLIH TRDNIH DISPERZIJ KARVEDILOLA PRI POVIŠANI
TEMPERATURI**

**FORMULATION OF MULTIPLE SOLID DISPERSIONS WITH CARVEDILOL
AT ELEVATED TEMPERATURE**

Ljubljana, 2013

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

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorju, prof. dr. Odonu Planinšku, mag. farm, za vso strokovno pomoč in nasvete pri izdelavi diplomske naloge. Prav tako se zahvaljujem vsem ostalim zaposlenim na Katedri za farmacevtsko tehnologijo, ki so mi pomagali pri izvedbi diplomske naloge.

Posebno bi se rada zahvalila tudi svojim staršem za vso pomoč, podporo in spodbudo tekom študija ter vsem, ki ste mi kakorkoli pomagali pri doseganju ciljev.

IZJAVA

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom prof. dr. Odonu Planinška, mag. farm..

Maruša Cvek

VSEBINA

KAZALO SLIK	III
POVZETEK.....	V
ABSTRACT	VI
SEZNAM OKRAJŠAV	VII
1 UVOD	1
1.1 METODE ZA IZBOLJŠANJE RAZTAPLJANJA V VODI SLABO TOPNIH ZDRAVILNIH UČINKOVIN.....	1
1.2 TRDNE DISPERZIJE.....	2
1.2.1 Definicija	2
1.2.2 Metode za izdelavo trdnih disperzij.....	3
1.2.3 Prednosti in slabosti trdnih disperzij	13
1.3 MULTIPLE TRDNE DISPERZIJE	15
1.4 POROZNI NOSILCI ZA PRIPRAVO TRDNIH DISPERZIJ.....	15
1.5 KAPILARNOST IN IMPREGNACIJA POROZNIH POMOŽNIH SNOVI Z ZDRAVILNO UČINKOVINO	16
2 NAMEN DELA.....	21
3 EKSPERIMENTALNO DELO.....	22
3.1 MATERIALI	22
3.1.1 Modelna učinkovina	23
3.1.2 Porozni silicijev dioksid (Syloid 244 FP).....	24
3.2 APARATURE:	25
3.3 METODE	25
3.3.1 Raztapljanje pomožnih snovi v vodi in topnost učinkovine v pomožnih snoveh	25
3.3.2 Priprava vzorcev in merjenje viskoznosti.....	26

3.3.3 Merjenje stičnega kota in hitrost pronicanja raztopin učinkovine v porozni silicijev dioksid.....	26
3.3.4 Priprava zmesi modelne učinkovine in pomožne snovi ter izdelava multiplih trdnih disperzij.....	27
3.3.5 Vrednotenje multiplih trdnih disperzij	28
4 REZULTATI IN RAZPRAVA.....	31
4.1 PREDFORMULACIJA MULTIPLIH TRDNIH DISPERZIJ	31
4.2 VREDNOTENJE MULTIPLIH TRDNIH DISPERZIJ	35
4.2.1 MULTIPLE TRDNE DISPERZIJE S PEG 400.....	35
4.2.2 MULTIPLETRDNE DISPERZIJE S TWEEN 80	40
4.2.3 MULTIPLE TRDNE DISPERZIJE S PEG 4000.....	45
5 SKLEP	52
6 LITERATURA	53

KAZALO SLIK

Slika 1: Prikaz trdnih raztopin: Intersticijska kristalinična (A), substitucijska kristalinična (B) in amorfna (C) trdna raztopina.	2
Slika 2: Pregled metod za izdelavo trdnih disperzij	3
Slika 3: Shema dvovijačnega ekstrudorja	5
Slika 4: Shema aparata za izdelavo delcev z razprševanjem s strjevanjem.....	6
Slika 5: Shemi možnega poteka aglomeracije s talinami: (A) distribucija in (B) imerzija ..	8
Slika 6: Shematski prikaz metode uporabe plina kot netopila.....	10
Slika 7: Koraka izdelave multiple emulzije voda v olju v vodi.....	15
Slika 8: Kapilarni dvig.....	18
Slika 9: Primer kapljevine, ki moči podlago (levo) in kapljevine, ki podlage ne moči (desno)	19
Slika 10: Elektronsko mikroskopska slika delcev Syloida 244 FP	24
Slika 11: Oprema za merjenje časa pronicanja in stičnega kota pri povišanih temperaturah kapljevin.	27
Slika 12: Sestava opreme za izdelavo trdne disperzije	28
Slika 13: Topnost karvedilola v izbranih PS v odvisnosti od temperature	32
Slika 14: Viskoznost PS in raztopin PS s karvedilolom v odvisnosti od temperature.....	33
Slika 15: Odvisnost časa pronicanja (od sprostitve do popolnega pronicanja kapljice v nosilec) tekočih vzorcev s pomožnimi snovmi brez ali s karvedilolom od viskoznosti.....	35
Slika 16: Raztapljanje karvedilola, sproščanje karvedilola iz raztopine s PEG 400 in iz multiple trdne disperzije s Syloidom 244FP v mediju s pH = 1.2.....	35
Slika 17: Raztapljanje karvedilola, sproščanje karvedilola iz raztopine s PEG 400 in iz multiple trdne disperzije s Syloidom 244FP v mediju s pH = 6.8.....	36
Slika 18: DSC krivulje karvedilola, PEG 400, raztopine PEG 400 in karvedilola ter multiple TD s PEG 400	37
Slika 19: Elektronsko mikroskopska slika kristalnih delcev karvedilola,	38
Slika 20: Elektronsko mikroskopska slika delcev Syloida 244 FP.....	39
Slika 21: Elektronsko mikroskopska slika delcev multiple trdne disperzije s PEG 400	39
Slika 22: Raztapljanje karvedilola, sproščanje karvedilola iz raztopine s Tween 80 in iz multiple trdne disperzije s Syloidom 244FP v mediju s pH = 1.2.....	40

Slika 23: Raztapljanje karvedilola, sproščanje karvedilola iz raztopine s Tween 80 in iz multiple trdne disperzije s Syloidom 244FP v mediju s pH = 6.8.....	41
Slika 24: DSC krivulje karvedilola, Tween 80, raztopine Tween 80 in karvedilola ter multiple TD s karvedilolom.....	42
Slika 25: Elektronsko mikroskopska slika kristalnih delcev karvedilola	43
Slika 26: Elektronsko mikroskopska slika kristalnih delcev Syloida 244 FP.....	44
Slika 27: Elektronsko mikroskopska slika delcev multiple trdne disperzije s Tween 80 ...	44
Slika 28: Raztapljanje karvedilola, sproščanje karvedilola iz raztopine s PEG 4000 in iz multiple trdne disperzije s Syloidom 244FP v mediju s pH = 1.2.....	45
Slika 29: Raztapljanje karvedilola, sproščanje karvedilola iz raztopine s PEG 4000 in iz multiple trdne disperzije s Syloidom 244FP v mediju s pH = 6.8.....	46
Slika 30: DSC krivulje karvedilola, PEG 4000, zmesi PEG 4000 in karvedilola ter multiple TD s PEG 4000.....	47
Slika 31: Elektronsko mikroskopska slika delcev PEG 4000.....	48
Slika 32: Elektronsko mikroskopska slika kristalnih delcev karvedilola	49
Slika 33: Elektronsko mikroskopska slika kristalnih delcev Syloida 244 FP.....	49
Slika 34: Elektronska mikroskopska slika delcev trdne disperzije s PEG 4000.....	50

POVZETEK

Vgrajevanje učinkovin v trdne disperzije z uporabo poroznih pomožnih snovi lahko predstavlja obetaven način za izboljšanje topnosti v vodi slabo topnih zdravilnih učinkovin. Cilj diplomske naloge je bil izdelava multiplih trdnih disperzij, kjer smo učinkovino karvedilol najprej raztopili v izbrani tekoči pomožni snovi oziroma talini, nato pa s to raztopino impregnirali porozni silicijev dioksid. Metoda, ki smo jo uporabili za izdelavo je najbolj podobna metodi granuliranja s talinami.

Kot pomožne snovi smo uporabili dva polietilenglikola z različnima molekulskima masama (PEG 400, PEG 4000) neionsko površinsko aktivno snov polioksietilen (20) sorbitan monooleat (Tween 80), in porozni silicijev dioksid (Syloid 244 FP). Vse izbrane pomožne snovi razen silicijevega dioksida izkazujejo dobro topnost v vodnih medijih. Ocenili smo, da se karvedilol najbolje raztaplja v PEG 400, najmanj pa v Tween 80. Z merjenjem viskoznosti smo ugotovili, da je najbolj viskozna pomožna snov staljeni PEG 4000, sledi ji Tween 80, najmanj viskozen pa je PEG 400. Raztopine karvedilola v pomožnih snoveh imajo višjo viskoznost od čistih pomožnih snovi.

Raztapljanje same učinkovine, iz raztopine učinkovine v pomožni snovi ter iz multiple trdne disperzije smo vrednotili s preizkusom raztapljanja po Ph. Eur. 7th Ed.. Lastnosti multiple trdne disperzije smo vrednotili s termično analizo (DSC) ter merjenjem specifične površine (BET), morfologijo delcev pa z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM).

Ugotovili smo, da se učinkovina iz trdne disperzije hitreje in bolje sprošča kot njena kristalna oblika, hkrati pa je bilo sproščanje učinkovine iz trdne disperzije primerljivo s sproščanjem iz raztopine učinkovine v pomožni snovi. S termično analizo smo ugotovili, da se učinkovina v multipli trdni disperziji ter v raztopini učinkovine v izbrani pomožni snovi nahaja v amorfni obliki in je v porah najverjetneje raztopljena v pomožni snovi. S pomočjo elektronskega mikroskopa (SEM) ter merjenjem specifične površine (BET) smo potrdili, da se je raztopina karvedilola v izbrani pomožni snovi porazdelila pretežno v pore Syloida 244 FP. Glede na meritve specifične površine je najboljše rezultate dala multipla trdna disperzija s Tween 80 kot pomožno snovjo. Zaradi svoje visoke viskoznosti ter visoke temperature tališča pa PEG 4000 predstavlja pomožno snov, ki najtežje prodira v pore Syloida 244. Posledično je bilo sproščanje učinkovine iz te multiple trdne disperzije najmanj izboljšano.

ABSTRACT

Formulation of solid dispersions by using porous carriers can represent a promising method of solubility improvement for poorly water soluble drugs.

The aim of our study was to formulate multiple solid dispersions. Hence we firstly dissolved our drug carvedilol in a selected liquid excipient or melt and then impregnated the porous silicon dioxide with this solution. The method used for this formulation is the most similar to melt agglomeration method.

We used two polyethylene glycols with different molecular masses (PEG 400 and PEG 4000), nonionic surfactant polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate (Tween 80) and porous silicon dioxide (Syloid 244 FP) as our excipients. With the exception of silicon dioxide all selected excipients show a good water-solubility. After our evaluation we concluded that carvedilol shows the best solubility in PEG 400 and the worst in Tween 80. Viscosity measures proved melted PEG 4000 to be the most viscous excipient followed by Tween 80. PEG 400 showed the lowest viscosity. Carvedilol solutions exhibit higher viscosity than excipients alone.

We evaluated dissolution of the drug from the drug-excipient solution and from multiple solid dispersions with a dissolution test according to Ph. Eur. 7th Ed.. We also evaluated the properties of multiple solid dispersions by using thermal analysis (DSC) and specific surface area measurements (BET). The morphology of the particles was evaluated using the scanning electron microscope (SEM). It was evident during our study that the drug release from solid dispersion is faster and better than from its crystalline form. The drug release from solid dispersion was at the same time comparable with its release from drug-excipient solution. Our results made by using thermal analysis method show that in multiple solid dispersions and in drug-excipient solutions carvedilol is in amorphous form and that it is probably incorporated into pores as a drug-excipient solution. With the help of the scanning electron microscope (SEM) and specific surface area measurements (BET) we were able to confirm that the carvedilol solution in a selected excipient distributed itself mainly in the Syloid 244 FP pores. The best results regarding specific surface area measurements gave multiple solid dispersion with Tween 80 as an excipient. PEG 4000 however classifies as an excipient which penetrates Syloid 244 FP pores most difficultly due to its high viscosity and high melting temperature. The drug release from this multiple solid dispersion was consequently least improved.

SEZNAM OKRAJŠAV

BCS	Biopharmaceutics Classification System (biofarmacevtski klasifikacijski sistem)
BET	Brunauer-Emmett-Teller enačba
BU	biološka uporabnost
DSC	Differential Scanning Calorimetry (diferenčna dinamična kalorimetrija)
GIT	gastro intestinalni trakt
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry (mednarodna zveza za čisto in uporabno kemijo)
PAS	površinsko aktivna snov
PEG	polietilenglikol
PS	pomožna snov
SEM	Scanning Electron Microscopy (vrstična elektronska mikroskopija)
SES	Samo emulgirajoči sistem
TD	trdna disperzija
ZU	zdravilna učinkovina

1 UVOD

Peroralna uporaba je najbolj preprost in pogost način uporabe zdravil, saj je za paciente znan in enostaven (1, 2). Zaradi večje stabilnosti, natančnejšega odmerjanja in enostavne izdelave imajo trdne farmacevtske oblike veliko prednost pred drugimi peroralnimi oblikami (2). Čeprav je peroralna uporaba v tem smislu boljša, je problematična za mnoge v vodi slabo topne učinkovine, saj se te morajo po peroralni aplikaciji najprej raztopiti v želodčnem mediju ali intestinalni tekočini, da se pozneje lahko absorbirajo in preidejo v sistemski krvni obtok. Omejena absorpcija in posledično majhna biološka uporabnost (BU) predstavljata največji izziv s katerim se soočamo pri peroralni dostavi učinkovine v telo (1).

Skupaj s permeabilnostjo je raztapljanje v bioloških medijih ključni parameter, ki vpliva na biološko uporabnost učinkovine (3). V vodi težko topna snov je definirana kot snov, katere manj kot 1 del se raztopi v 1000 delih vode, oziroma, katere topnost je nižja od 100 µg/ml. Za slabo vodotopne pa veljajo tudi snovi, ki za raztapljanje v gastro intestinalnem traktu (GIT) potrebujejo dlje časa, kot je čas njihove absorpcije (4). Glede na topnost in permeabilnost delimo učinkovine po biofarmacevtskem sistemu klasifikacije (ang. *Biopharmaceutics Classification System* – BCS) v 4 razrede (5).

Razred I:	dobra topnost, dobra permeabilnost
Razred II:	slaba topnost, dobra permeabilnost
Razred III	dobra topnost, slaba permeabilnost
Razred IV	slaba topnost, slaba permeabilnost

1.1 METODE ZA IZBOLJŠANJE RAZTAPLJANJA V VODI SLABO TOPNIH ZDRAVILNIH UČINKOVIN

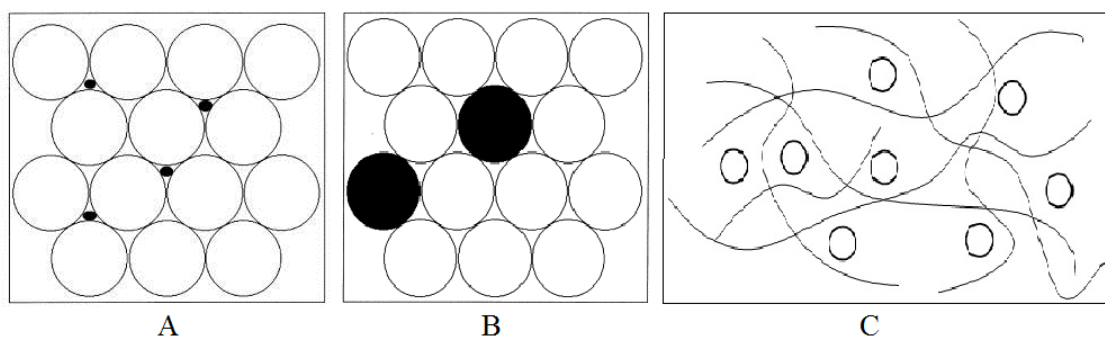
Za izboljšanje raztapljanja v vodi težko topnih zdravilnih učinkovin (ZU) uporabljamo kemijske in fizikalne metode. Med kemijske spadata metoda tvorjenja soli in sinteza topnih predzdravil. Med fizikalne metode prištevamo: zmanjševanje velikosti delcev, spremembo kristalne strukture (izdelava polimorfov ali psevdopolimorfov), kompleksacijo oziroma solubilizacijo z uporabo površinsko aktivnih snovi (PAS) ali ciklodekstrinov ter disperzije

učinkovine s pomožnimi snovmi (PS) (3). Metoda tvorbe soli ni možna za nevtralne učinkovine, prav tako pa ni vedno primerna za šibke baze in šibke kisline. Tudi če iz učinkovine lahko pripravimo sol, to še ne pomeni, da bomo nujno izboljšali topnost, saj se učinkovina v prebavnem traktu lahko pretvori nazaj v prvotno obliko. S solubilizacijo učinkovin v organskih in vodnih medijih z uporabo površinsko aktivnih snovi in sotopil nastanejo tekoče formulacije, ki pa so komercialno manj sprejemljive kot trdne farmacevtske oblike (2). Hitrost raztapljanja lahko povečamo tudi s povečanjem površine, ki je na voljo za raztapljanje, kar lahko dosežemo z zmanjšanjem velikosti delcev ali z izboljšanjem močenja snovi. Z mletjem praškaste učinkovine lahko zmanjšamo velikost delcev, vendar ima metoda omejitve glede velikosti delcev, ki jih lahko dosežemo. V nekaterih primerih nastali praškasti delci težijo k aglomeraciji, kar delno izniči učinke mletja. Praškasti delci so tudi problematični z vidika rokovanja in slabe močljivosti (2, 3).

1.2 TRDNE DISPERZIJE

1.2.1 Definicija

Trdne disperzije (TD) so disperzije najmanj dveh komponent v trdnem agregatnem stanju, običajno hidrofilnega ogrodja in hidrofozne učinkovine. Ogrodje trdne disperzije je lahko kristalno ali amorfno, učinkovina pa je v ogrodju dispergirana molekularno, v obliki amorfnih ali kristalnih delcev (1). Glede na molekularno ureditev lahko nastanejo enostavne evtektične zmesi, amorfni precipitati v/na kristalnem nosilcu, trdne raztopine, steklaste raztopine ali suspenzije, kompleksne spojine ter kombinacije naštetih struktur. Trdne raztopine lahko glede na razporeditev učinkovine še naprej razdelimo na intersticijske kristalinične, substitucijske kristalinične in amorfne trdne raztopine (6).



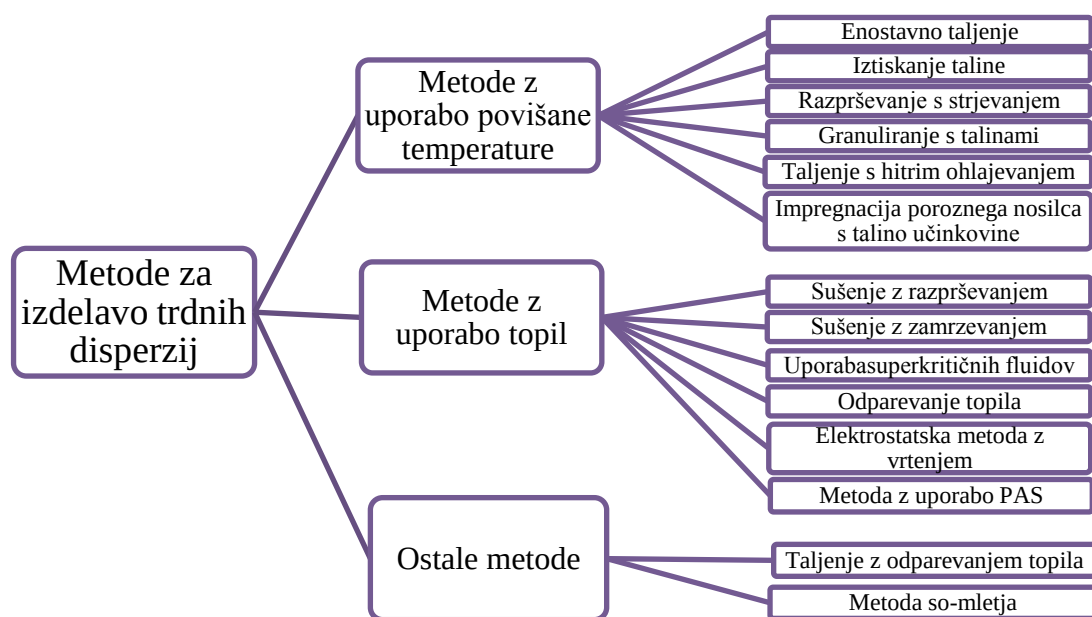
Slika 1: Prikaz trdnih raztopin: Intersticijska kristalinična (A), substitucijska kristalinična (B) in amorfna (C) trdna raztopina.

TD lahko definiramo tudi kot molekularne zmesi v vodi težko topne učinkovine s hidrofilnimi nosilci, pri katerih je profil sproščanja odvisen od lastnosti nosilca.

Glede na zgodovinski razvoj delimo trdne disperzije v tri generacije. V prvi generaciji TD ogrodje predstavljajo kristalni nosilci, v drugi amorfni ter v tretji pa nosilci s površinsko aktivnostjo (2).

1.2.2 Metode za izdelavo trdnih disperzij

Obstaja več metod za pripravo TD, v grobem pa jih delimo na metode z uporabo povišane temperature (metode taljenja) in metode z uporabo topil (metode raztapljanja) ter kombinacijo obeh (7). Metode za izdelavo TD so shematsko prikazane na sliki 2. Med metode, ki potekajo pri povišani temperaturi, spadajo metoda enostavnega taljenja, metoda iztiskanja taline, razprševanje s strjevanjem, granuliranje s talinami, metoda taljenja s hitrim ohlajevanjem, impregniranje poroznega nosilca s talino učinkovine ... Med metode z uporabo topil pa prištevamo metodo sušenja z razprševanjem, sušenja z zamrzovanjem oziroma liofilizacijo, metodo obarjanja z uporabo superkritičnih fluidov, metodo odparevanja topila pri znižanem tlaku, elektrostatično metodo z vrtenjem ter metodo z uporabo PAS. Med ostale metode za pripravo TD uvrščamo taljenje z odparevanjem topila, ki je kombinacija metod taljenja in raztapljanja, ter metodo so-mletja (1, 2, 6).



Slika 2: Pregled metod za izdelavo trdnih disperzij

1.2.2.1 Metode z uporabo povišane temperature

Enostavno taljenje (angl. *simple fusion, fusion method*)

Metoda enostavnega taljenja velja za prvo metodo priprave trdnih disperzij, ki sta jo v 60. letih prejšnjega stoletja zasnovala Sekiguchi in Obi in se v načinu priprave do danes ni bistveno spremenila (1, 2). Pri tej metodi gre za pripravo fizikalne zmesi učinkovine in vodotopne pomožne snovi, ter njuno taljenje. Za znižanje temperature priprave TD lahko uporabljamo evtektične zmesi učinkovine in nosilca, saj bi previsoka temperatura lahko povzročila njun razpad. Po taljenju sledi ohlajanje, ki pa so ga različni avtorji izvedli na različne načine, in sicer kot: ohlajanje v ledeni kopeli z močnim mešanjem, hlajenje z mrzlim zrakom po nanosu na ploščo iz nerjavečega jekla, z nanosom v petrijevke in ohlajanjem v eksikatorju, s hlajenjem v aluminijastih čolničkih ali na suhem ledu (2). Končni trdni produkt nato zdrobimo in uprašimo, ustrezno frakcijo delcev pa presejemo (6).

Kljub temu da metoda enostavnega taljenja velja za eno najpreprostejših in cenovno ugodnih metod priprave TD, ima tudi določene omejitve. Učinkovine in nosilci, ki jih uporabljamo za pripravo TD z metodo enostavnega taljenja, morajo biti stabilni pri temperaturi izdelave. Metoda je uporabna le, ko sta učinkovina in nosilec kompatibilna in se dobro mešata pri temperaturi priprave. V nasprotnem primeru lahko namreč pride do nastanka suspenzije oziroma ločenih tekočih faz, to pa privede do nehomogene TD. Problem lahko nastane tudi med ohlajanjem, in sicer, ko se spremeni razmerje, v katerem se učinkovina in nosilec mešata, zaradi česar pa lahko pride do ločitve faz (1).

Taljenje s hitrim ohlajevanjem (angl. *melt quenching*)

Pri metodi taljenja s hitrim ohlajevanjem fizikalno zmes učinkovine in nosilca segrejemo na temperaturo, ki je nad tališčem učinkovine, in segrevamo nekaj minut, nato pa jo hitro ohladimo (na primer s tekočim dušikom). Produkt nato uprašimo in presejemo ustrezno frakcijo delcev (8).

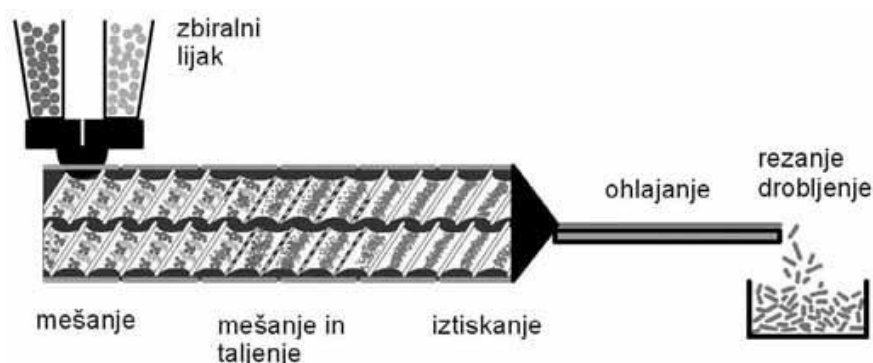
Impregnacija poroznega nosilca s talino učinkovine (angl. *melt-method*)

Pri metodi impregnacije poroznega nosilca s talino učinkovine najprej stalimo učinkovino in s pomočjo kopeli vzdržujemo želeno temperaturo. Nato med mešanjem dodajamo porozni nosilec in pustimo, da se počasi ohladi na sobno temperaturo. Sher in sodelavci so

s to metodo pripravili TD ibuprofena v poroznem nosilcu Accurel MP 1000[®] ter ugotovili, da omejitev metode predstavlja visoka viskoznost staljene učinkovine, ki preprečuje učinkovini prodirati v pore poroznega nosilca. Poleg tega zaradi razlik v temperaturi pride do hitre fazne transformacije, kar skupaj z visoko viskoznostjo povzroči nalaganje učinkovine na površini (9).

Iztiskanje taline (angl. *hot-melt extrusion*)

Metoda iztiskanja taline je zelo podobna metodi enostavnega taljenja, le da pri metodi iztiskanja taline za intenzivno mešanje komponent uporabimo ekstrudor (1). Končna produkta obeh metod sta primerljiva glede stabilnosti in topnosti, vendar metoda iztiskanja taline ponuja možnost oblikovanja končnega produkta v obliki implantantov ali drugih trdnih peroralnih farmacevtskih oblik (10). Iztiskanje je proces, pri katerem iz vhodnih materialov z iztiskanjem skozi matrico dobimo produkt enotne oblike in gostote (11). Pri iztiskanju taline dovajamo toploto za vzdrževanje viskoznosti materiala, da lahko snov prehaja skozi matrico (10).



Slika 3: Shema dvovijačnega ekstrudorja

Naprava za iztiskanje, vijačni ekstrudor (Slika 3), je sestavljena iz vijačnega mešalnika z enim ali dvema vijakoma, ki ima površino oblikovano tako, da omogoča mešanje in transport snovi vzdolž cevi – ohišja, imenovanega polž (7). Proces iztiskanja lahko v grobem razdelimo na štiri dele: polnjenje ekstrudorja, ki ga izvajamo v področju zbiralnega vijaka, mešanje, taljenje in prenos mase do matrice, iztiskanje mase skozi matrico ter obdelava ekstrudata (7, 10). Od strižnih sil, toka praškov, časa zadrževanja zmesi v aparatu, tlaka in hitrosti ohlajanja so odvisne lastnosti ekstrudata (7).

Velika prednost vijačnega ekstrudorja je, da se zmes ne zadržuje dolgo pri povišani temperaturi, saj čas procesa od polnjenja do iztiskanja ne presega dveh minut. Temperaturo posameznih delov aparature lahko nadziramo in natančno prilagodimo v razponu od 30 °C do 250 °C ter s tem zmanjšamo možnost razpada učinkovine. Poleg tega razgradnjo učinkovine omejuje tudi zaprt sistem, ki preprečuje dostop vlage in kisika (10). V primerjavi z metodo preprostega taljenja metoda iztiskanja taline omogoča nepretrgano proizvodnjo, zaradi česar je primerna za industrijsko proizvodnjo. Poleg tega je produkt pri metodi iztiskanja taline že oblikovan v obliko, ki jo zahteva naslednji proizvodni korak, in ne potrebuje vmesnega mletja. Omejitve metode predstavljata povišana temperatura, ki lahko povzroči razpad termolabilnih učinkovin, ter problem slabe mešljivosti učinkovine in nosilca, ki rezultira v nehomogeno TD (1).

Razprševanje s strjevanjem (angl. *spray congealing*)

Metoda razprševanja s strjevanjem je ena izmed metod, s katerimi izdelujemo mikrodelce oziroma bolj natančno, mikrosfere, in bi jo lahko opisali kot združitev metode taljenja in metode sušenja z razprševanjem (12). Aparat (Slika 4), ki ga uporabljamo pri tej metodi, je običajno namenjen sušenju z razprševanjem vodnih in organskih disperzij (7).



Slika 4: Shema aparata za izdelavo delcev z razprševanjem s strjevanjem

Pri metodi razprševanja s strjevanjem najprej stalimo nosilec ter v njem raztopimo ali dispergiramo učinkovino. Rastaljen material nato razpršimo skozi šobo v hladilno komoro, kjer zaradi hitre ohlavitve nastanejo kapljice. Zaradi prenosa toplote med hladnim zrakom in vročo talino se delci strdijo in padejo na dno posode, kjer jih zberemo v obliki sipkega praška. Pomembni parametri, s katerimi nadzorujemo proces izdelave TD, so: temperatura in viskoznost taline, temperatura vstopnega zraka, temperatura in tlak zraka za

razprševanje, ter hitrost dovajanja taline. Delci, ki nastanejo s to metodo, so sferični in imajo gladko površino, zaradi česar lahko pričakujemo, da imajo dobre pretočne lastnosti. Ker metoda ne vključuje uporabe topil, so nastali delci običajno gosti in neporozni (12).

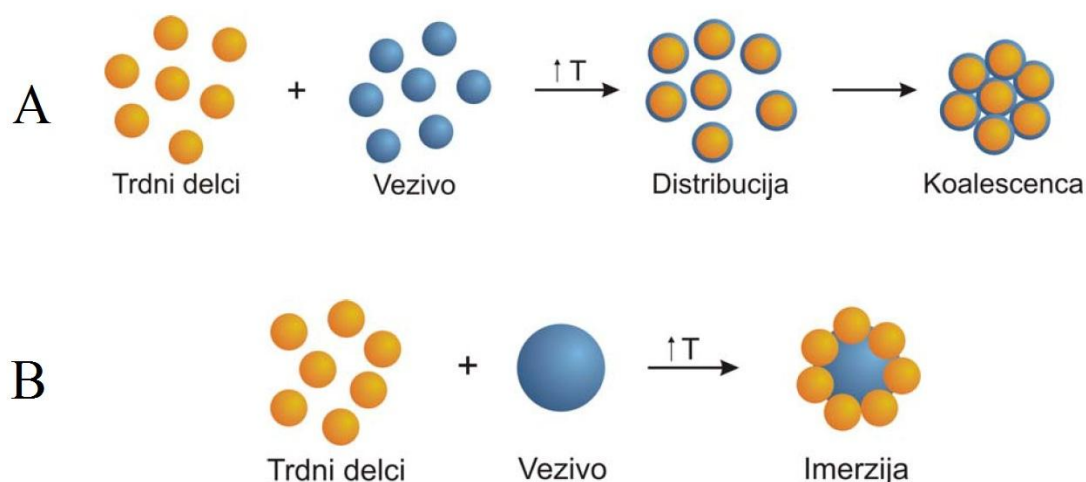
Metoda razprševanja s strjevanjem ima veliko prednosti. Ker uporaba topil pri tej metodi ni potrebna, se izognemo višjim stroškom ter zahtevnejšemu in dolgotrajnejšemu procesu izdelave, poleg tega pa nimamo težav z zaostalimi topili ter odpadnimi organskimi topili, ki predstavljajo obremenitev za okolje. S tem ko se izognemo uporabi topila, se izognemo tudi neželenim interakcijam učinkovine s topilom (12).

Omejitve metode so podobne kot pri drugih metodah z uporabo povišane temperature. Za možno izvedbo metode mora biti učinkovina stabilna pri temperaturah, ki so potrebne za taljenje nosilca. Pri mnogih učinkovinah je temperatura razpada precej nizka, kar izključuje možnost uporabe primernih nosilcev. Nosilci predstavljajo še dodaten problem, saj so med procesom shranjevanja podvrženi staranju, kar lahko vpliva na stabilnost same učinkovine in/ali profil sproščanja učinkovine. Poleg tega mora biti aparatura zasnovana tako, da med izdelavo ne pride do nihanja temperature ter posledične strditve taline že pred razprševanjem ali do neželene aglomeracije (12).

Granuliranje s talinami (angl. *melt agglomeration process*)

Metoda granuliranja s talinami je enostaven postopek, kjer s topljivim vezivom, ki je pri sobni temperaturi v trdnem agregatnem stanju, v enem koraku dosežemo aglomeracijo (13). Veziva, ki so bila najpogosteje uporabljena za pripravo TD s to metodo, so PEG 3000, PEG 4000, Gelucire 50/13 in Poloksamer 188 (7). Z metodo granuliranja s talinami lahko TD pripravimo na dva načina. Pri prvem načinu gre za razprševanje disperzije učinkovine v raztopljenem vezivu (»spray-on procedure«) v hitrovrtečem mešalniku. Učinkovino dispergiramo v talini veziva ter jo po kapljicah dodajamo ostalim PS v hitrovrtečem mešalniku, kjer vzdržujemo povišano temperaturo do nastanka granul. Nastale granule po ohladitvi zaradi povečane specifične površine omogočajo izboljšano raztapljanje (7). Drugi način priprave TD z metodo granuliranja s talinami daje podobne rezultate, granuliranje pa dosežemo tako, da v hitrovrtečem mešalniku segrevamo vezivo, učinkovino in PS nad temperaturo taljenja veziva (»melt-in procedure«) (6, 7). Granulator zvrtničenih plasti z vrtečo tornjo ploščo (angl. *Rotary processor*), kot alternativna aparatura za pripravo TD z metodo granuliranja s talinami, se je izkazala za boljšo od hitrovrtečega mešalnika, saj omogoča lažji nadzor temperature, poleg tega pa omogoča vključitev večje

vsebnosti veziva (14). V primeru izdelave TD je večja količina veziva nujna, saj omogoča vključitev zadostne količine učinkovine. Končni produkti metode granuliranja s talinami so lahko nepravilno oblikovani aglomerati s široko distribucijo velikosti delcev ali pelete, ki so v bistvu sferični aglomerati (13). Ključni parametri pri pripravi TD z metodo granuliranja s talinami so vrsta veziva, metoda izdelave in velikost delcev, saj ti parametri vplivajo na hitrost raztapljanja, mehanizem nastanka in rasti aglomeratov, velikost aglomeratov in velikostno porazdelitev aglomeratov ter njihovo gostoto (6).



Slika 5: Shemi možnega poteka aglomeracije s talinami: (A) distribucija in (B) imerzija

Glede na podatke o porazdelitvah v granulah sta Schaefer in Mathiensen predlagala dva mehanizma jedrenja. Kateri mehanizem bo prevladoval, je odvisno od razmerja med velikostjo trdnih praškastih delcev in kapljic veziva. Po distribucijskem mehanizmu se vezivo porazdeli po površini primarnih suhih delcev (slika 5 A). Z vezivom prekriti delci tvorijo večje aglomerate s koalescenco. Ta mehanizem prevladuje, kadar je velikost kapljic veziva manjša ali podobna velikosti trdnih delcev, pri velikih strižnih silah in nizki viskoznosti taline veziva. Po imerzijskem mehanizmu pa se primarni delci lepijo oz. potopijo v kapljice veziva, ki mu sledi proces rasti aglomerata z oblaganjem (slika 5 B). Ta proces prevladuje, kadar so delci oz. kapljice veziva večji od trdnih delcev, pri majhnih strižnih silah in višjih viskoznostih taline veziva. Z izdelavo aglomeratov po distribucijskem mehanizmu dobimo enotnejšo porazdelitev veziva znotraj aglomeratov kot z imerzijskim mehanizmom (15).

1.2.2.2. Metode z uporabo topila

Pri metodah z uporabo topila gre najprej za raztapljanje učinkovine v topilu, ki ga nato odparimo. Te metode potekajo pri relativno nizkih temperaturah in so zato primerne za učinkovine, ki pri višjih temperaturah razpadejo. Običajno so te metode dražje in bolj zamudne od metod ki potekajo pri povišani temperaturi, njihova slabost pa je toksičnost organskih topil ter obremenitev za okolje, ki jo ta predstavljajo.

Sušenje z razprševanjem (angl. *spray drying*)

Sušenje z razprševanjem je metoda, s katero pretvorimo raztopino ali suspenzijo v trden produkt. Izdelava TD učinkovine z metodo sušenja z razprševanjem je možna, ko imamo učinkovino, ki je lahko topna v hlapnih organskih topilih ali zmesi topil. Proces poteka v več korakih: atomizacija tekoče faze, mešanje učinkovine s plinom za sušenje, izhlapevanje tekočine ter ločevanje posušenih delcev od plina. Značilnost te metode je izjemno hitro izhlapevanje topila, zaradi česar je zanimiva za pripravo amorfnih trdnih disperzij. Do hitrega izhlapevanja topila pride, ker z atomizacijo povzročimo razpršitev tekočine v drobne kapljice s povečanim razmerjem med površino in volumnom. Zaradi izhlapevanja topila med sušenjem z razprševanjem se poveča viskoznost, kar dovoljuje, da se učinkovina kinetično ujame v ogrodje nosilca. Topila, ki jih uporabljamo za izdelavo TD, so večinoma na vodni osnovi, lahko pa uporabljamo tudi organska topila. V primeru da za pripravo TD uporabljamo organska topila, za sušenje uporabimo inertne pline, kot je na primer dušik, poleg tega pa moramo uporabiti tudi kondenzator, ki zbere vso izhlapelo topilo. Končni produkt po končanem postopku lahko dodatno sušimo v vakuumu (16).

Sušenje z zmrzovanjem oz. liofilizacija (angl. *freeze drying, lyophilization technique*)

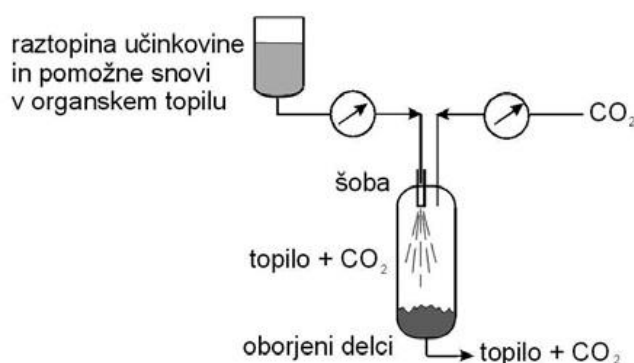
Liofilizacija je v farmacevtski industriji in biotehnologiji pogost postopek za izboljšanje stabilnosti formulacij, njena uporaba pri izdelavi TD pa je zaenkrat še slabo raziskana (1, 17). Pri tem postopku najprej raztopimo učinkovino skupaj s PS v ustreznem topilu (običajno v vodi) ter raztopino nato filtriramo skozi filtre z velikostjo por 0,2 μm , da dosežemo sterilnost. Sterilizirano raztopino napolnimo v vialo in naložimo v liofilizator. V liofilizatorju se raztopina najprej zamrzne, nato pa segreva pri zelo nizkem tlaku, da topilo sublimira in se na ta način odstrani iz formulacije. Po odstranitvi topila se vialo zapečatijo pod vakuumom oz. z inertnim plinom (npr. Ar, N₂) (21). Končni produkt je visoko porozna

lioofilizirana molekularna disperzija učinkovine z nizko vsebnostjo vlage, ki je primerna za shranjevanje do nadaljnje uporabe oziroma obdelave (6, 17).

Omejitev metode predstavlja uporaba organskih topil, saj imajo nizko temperaturo zmrzišča, za uspešno izvedeno sublimacijo pa mora topilo med postopkom ostati zamrznjeno (1).

Metoda z uporabo superkritičnih fluidov (angl. *supercritical fluid process*)

Superkritični fluidi se nad kritično temperaturo in kritičnim tlakom nahajajo v obliki ene faze. Najpomembnejše lastnosti superkritičnih fluidov so velika stisljivost, gostota, podobna tekoči obliki, ter viskoznost med tekočino in plinom (2). Najpogosteje pri tej metodi uporabljamo ogljikov dioksid, saj je ta okolju prijazen, nevnetljiv, netoksičen, lahko dostopen, poleg tega pa ima relativno nizek kritičen tlak in temperaturo (73,8 bar, 31,1 °C) (2, 18). Metoda superkritičnih fluidov je hitra, daje dober izkoristek, produkt pa ima visoko čistoto zaradi enostavnosti odstranjevanja topila (2). Na sliki 6 je shematsko prikazana metoda uporabe plina kot netopila.



Slika 6: Shematski prikaz metode uporabe plina kot netopila

Prva izmed metod uporabe superkritičnih fluidov za izdelavo trdnih disperzij je metoda hitre ekspanzije iz superkritične raztopine, kjer lahko uporabimo ogljikov dioksid kot topilo za učinkovino in nosilec ali kot netopilo. V primeru da CO₂ igra vlogo topila, v njem raztopimo učinkovino in pomožno snov, ter raztopino razpršimo skozi šobo v ekspanzijsko posodo z nižjim tlakom, kjer nastanejo delci disperzije. Metoda ni primerna za industrijsko proizvodnjo, saj je večina učinkovin in PS za farmacevtsko uporabo v CO₂ slabo topnih in bi bila proizvodnja večjih količin produkta nepraktična (1, 7).

Za razliko od zgoraj opisane metode, so vse druge metode z uporabo superkritičnih fluidov precipitacijske. Za te metode je nujna uporaba organskih topil, v katerih raztopimo učinkovino in PS ter z dodatkom superkritičnega fluida kot netopila povzročimo obarjanje delcev. (1).

Pri metodi PGSS (angl. *precipitation from gas saturated solutions*) raztopino učinkovine in PS združimo s stisnjenim CO₂. Pogoje izberemo tako, da se CO₂ in raztopina dobro mešata pod superkritičnimi pogoji. Po ekspanziji se učinkovina in nosilec oborita zaradi zmanjšane topnosti v topilu. Nastane trdna disperzija s kristalnim ogrodjem (1).

Ena izmed metod za izdelavo TD s superkritičnimi fluidi, imenovana PCA (angl. *precipitation with compressed anti-solvent*), vključuje razprševanje raztopine učinkovine in nosilca skozi šobo v posodo, ki vsebuje tekočino ali superkritično netopilo. Ker superkritični fluid hitro prodre v razpršene kapljice, zaradi prenasičenja učinkovina in nosilec kristalizirata (1).

Pri metodi impregnacije s superkritičnim fluidom impregniramo polimerno ogrodje z raztopino učinkovine v superkritičnem fluidu. Ogrodje pri tem nabrekne in absorbira učinkovino, nastane trdna raztopina ali amorfnna trdna disperzija. Proces difuzije lahko nadziramo s prilagajanjem časa izpostavitve in tlaka (1, 7). Metoda je uporabna za učinkovine, ki so dobro topne v superkritičnem fluidu (7).

Metoda z odparevanjem topila (angl. *solvent evaporation method*)

Pri metodi z odparevanjem topila najprej pripravimo raztopino učinkovine in nosilca v organskem topilu ter nato odstranimo topilo, npr. s pomočjo vrtečega evaporatorja (rotavaporja) ali vakuumskega sušilnika, ter posušimo do konstantne mase (1, 2, 6). Druga možnost priprave TD z metodo odparevanja topila je, da nosilec ostane naraztopljen v organskem topilu, učinkovina pa se pri odparevanju topila obori v porah nosilca (7).

Zaradi nizkih temperatur, ki so potrebne za odparitev organskega topila, se izognemo razpadu učinkovine in nosilca med izdelavo, kar je glavna prednost te metode (6). Metoda pa ima tudi kar nekaj pomanjkljivosti. Ker so učinkovine ponavadi hidrofozne, nosilci pa hidrofilni, je težko najti primerno organsko topilo, v katerem bosta obe snovi topni. To težavo pogosto rešujemo z uporabo velikih količin topila ali s segrevanjem, kar pa poveča stroške priprave TD in možnost za termični razpad učinkovine (2, 6). Naslednja težava, ki se pojavlja pri odparevanju topila, je ločitev faz ter rast kristalov. S povečanjem temperature skrajšamo čas, v katerem lahko nastopi ločitev faz, vendar višja temperatura

poveča mobilnost molekul in teži k ločitvi faz (2). Poleg tega lahko za izdelavo TD s to metodo uporabljamo organska topila razreda I, ki so zelo toksični ter morajo biti v končnem izdelku pod ustrezno mejo (1).

Elektrostatska metoda z vrtenjem (angl. *electrospinning*)

Raztopino učinkovine in nosilca pri elektrostatski metodi z vrtenjem črpamo skozi cev, v kateri je izpostavljena močnemu električnemu polju (1, 19). Nastanejo vlakna s premerom mikrometrске oz. nanometrске velikosti, njihov premer je odvisen od medfazne napetosti, dielektrične konstante, hitrosti pretoka raztopine in velikosti električne napetosti (1, 7). Po odparitvi topila vlakna lahko zmeljemo ali takoj uporabimo za nadaljnjo obdelavo. Omejitev metode predstavlja ozek izbor nosilcev, saj ne obstaja veliko pomožnih snovi ki so sposobne tvoriti vlakna (1).

Metoda z uporabo PAS (angl. *use of surfactants*)

PAS so poznane kot snovi za izboljšanje topnosti. Poleg tega adsorpcija PAS na trdne površine povzroči spremembe na površini ter je odgovorna za procese flokulacije, dispergiranja, močenja, solubilizacije ... Zaradi teh učinkov so PAS postale zanimivo izhodišče za pripravo TD (6).

1.2.2.3 Ostale metode

Taljenje z odparevanjem topila (angl. *melt evaporation, melting solvent method*),

Trdne disperzije s to metodo pripravimo tako, da najprej raztopimo učinkovino v primernem tekočem topilu ter raztopino združimo z raztaljenim nosilcem (npr. PEG). Nastalo zmes segrevamo, dokler vse topilo ne odpari. Kot rezultat dobimo bister film, ki ga segrevamo do konstantne mase, da odstranimo možno zaostalo topilo. Ta metoda ima prednosti enostavnega taljenja in metode odparitve topila, vendar je primerna samo za učinkovine z nizkimi terapevtskimi odmerki (pod 50 mg). Poleg tega se raztopina učinkovine v topilu lahko ne meša z raztaljenim nosilcem, topilo pa lahko spremeni polimorfno obliko učinkovine (6).

Metoda so-mletja (angl. *co-grinding*)

Metoda so-mletja je metoda, pri kateri z mletjem učinkovine skupaj s PS dobimo trdno

amorfno obliko učinkovine, ki je mnogo bolj topna kot njena kristalna oblika (20). Fizikalno zmes učinkovine in PS meljemo z vibracijskim mlinom ter nastali produkt presejemo skozi sito, da dobimo ustrezno frakcijo delcev.

Watanabe in sodelavci so ugotovili povečano topnost indometacina pri so-mletju s siliko, poleg tega pa so bili končni produkti, pridobljeni z metodo so-mletja, zaradi močnejših kemijskih interakcij med učinkovino in poroznim nosilcem bolj stabilni kot tisti, ki so jih dobili z metodo taljenja s hitrim ohlajevanjem (8, 20). V primeru nepopolnega mletja pa so v končnem produktu ostali kristali učinkovine, ki so poslabšali stabilnost amorfne oblike, saj so predstavljal jedra za ponovno kristalizacijo (8).

1.2.3 Prednosti in slabosti trdnih disperzij

Prednosti trdnih disperzij

V primerjavi z drugimi trdnimi farmacevtskimi oblikami, ki vsebujejo isto učinkovino, z izdelavo TD povečamo hitrost raztapljanja, saj zmanjšamo velikost delcev in s tem povečamo površino za raztapljanje (1, 2). Z izdelavo trdnih disperzij lahko povečamo hitrost raztapljanja in dosežemo želeno sproščanje učinkovine. Ko pride trdna disperzija v stik z vodnim medijem, pride do hitre raztopitve pomožne snovi, učinkovina pa se sprosti v obliki koloidnih delcev. Ker imajo ti koloidni delci veliko specifično površino, se poveča hitrost raztapljanja učinkovine in njena biološka uporabnost (7). Ker se poveča hitrost raztapljanja, se poveča tudi hitrost in obseg absorpcije zdravilne učinkovine. Lahko se zmanjša tudi predsistemi metabolizem učinkovine, saj zaradi povečane hitrosti raztapljanja pride do nasičenja encimskih sistemov. Omenjene spremembe nam omogočajo zmanjšanje odmerka zdravilne učinkovine (7).

TD lahko izdelamo z različnimi metodami ter pri tem uporabimo najrazličnejše pomožne snovi, kar omogoča veliko prilagodljivost pri izdelavi peroralnih dostavnih sistemov za v vodi težko topne učinkovine. Nosilci s površinsko aktivnostjo lahko pomembno povečajo močenje učinkovine, poleg tega pa lahko vplivajo na profil sproščanja učinkovine (1).

Ker so TD v trdnem agregatnem stanju, so za paciente bolj sprejemljive kot tekoče formulacije (2). Trdne disperzije lahko predstavljajo enostaven način transformacije tekoče oblike učinkovine (talina učinkovine, raztopina učinkovine v organskem topilu, bolj kompleksne formulacije učinkovine, kot so samoemulgirajoči sistemi (SES)) v trdno agregatno stanje z dispergiranjem v inertne vodotopne nosilce ali impregnacijo v

nevodotopne porozne nosilce (silicijev dioksid, Polistiren, Accurel ...), pri čemer se izognemo polimorfnim spremembam in s tem povezanimi problemi z BU (21). Patil in Paradkar sta pripravila tekoče samoemulgirajoče sisteme (SES) z loratidinom, ki sta jih nato polnila v porozen Polistiren. Pri tem sta ugotovila, da Polistiren predstavlja potencialno uporaben nosilec za SES, pri čemer je potrebna majhna količina Polistirena za strditev tekočega SES (22). Poleg tega lahko kombinacija učinkovine s poroznim nosilcem stabilizira nestabilno amorfno obliko (8).

Pomanjkljivosti trdnih disperzij pozneje

Izdelavo trdnih disperzij lahko omejujejo številni dejavniki, kot so uporaba slabo definiranih, zamudnih in dragih metod izdelave, slaba ponovljivost izdelave, težave pri formulaciji ustrezne farmacevtske oblike, omejitve glede povečevanja proizvodne serije ter tudi njihova fizikalna in kemijska nestabilnost (2, 23).

Med postopkom izdelave (mehanska obremenitev) in med shranjevanjem (vpliv vlage in temperature) lahko učinkovina preide iz amorfne v kristalno obliko, poleg tega pa se s časom zmanjšuje hitrost raztapljanja. Zaradi vlage med shranjevanjem lahko pride tudi do povečanja mobilnosti molekul, kar pospeši kristalizacijo učinkovine. Večina polimerov, ki jih uporabljamo za pripravo TD, lahko absorbira vlago, kar lahko povzroči ločitev faz, rast kristalov ter spremembo oblike učinkovine iz manj stabilne v bolj stabilno (2).

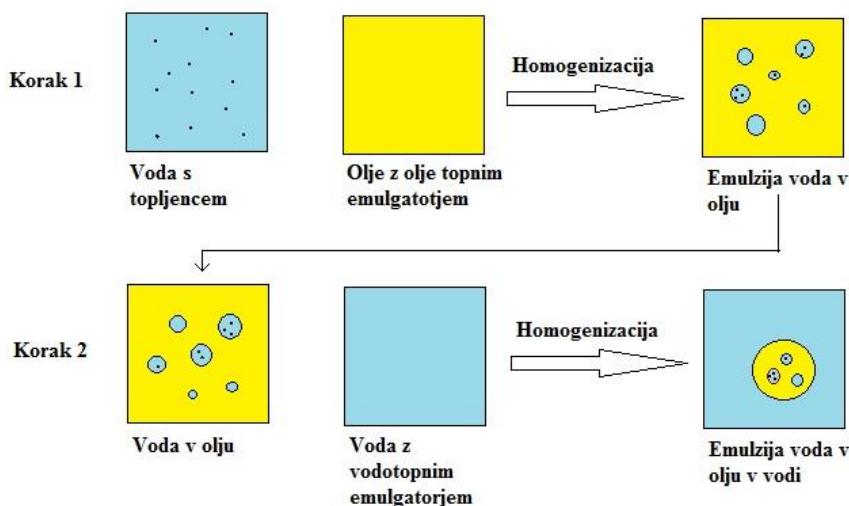
Problem priprave TD z metodo raztapljanja in odparevanja topila se kaže v toksičnosti organskih topil ter obremenitvi za okolje, ki jo ta predstavljajo. Poleg omenjenega težko najdemo topilo, v katerem sta dobro topna tako učinkovina kot PS. Glavno omejitev metod taljenja pa predstavlja uporaba visokih temperatur, ki lahko povzročijo razpad učinkovine in PS (7, 24).

Preglednica I: Prednosti in slabosti trdnih disperzij

Prednosti	Slabosti
Povečana hitrost raztapljanja in absorpcija	Zapletene metode izdelave, slaba ponovljivost
Zmanjšan predsistemiški metabolizem	Težave pri formulaciji FO
Zmanjšanje odmerkov	Fizikalna in kemijska nestabilnost
Bolj sprejemljivo za paciente kot tekoče formulacije	Omejitve glede povečanja proizvodne serije

1.3 MULTIPLE TRDNE DISPERZIJE

V farmacevtski tehnologiji je že uveljavljen pojem »multiple emulzije«, ki opisuje stanje, ko emulziji dveh vrst, olje v vodi in voda v olju, obstajata v sistemu istočasno in združujeta lastnosti obeh tipov emulzije (25). Slika 7 prikazuje dva koraka izdelave multiple emulzije voda v olju v vodi.



Slika 7: Koraka izdelave multiple emulzije voda v olju v vodi

Podobno kot pri multiplih emulzijah lahko pojem prenesemo tudi na multiple trdne disperzije. Trdna disperzija je disperzija ene ali več aktivnih komponent v inertnem nosilcu, ki je v trdnem agregatnem stanju (7). Pri multipli trdni disperziji učinkovino najprej raztopimo ali dispergiramo v izbrani tekoči pomožni snovi (hidrofilna površinsko aktivna snov, talina ...), nato pa s to raztopino oz. disperzijo impregniramo drugo pomožno snov (npr. porozni silicijev dioksid ...). Dobimo multiplo trdno disperzijo, kjer je učinkovina raztopljena oz. dispergirana v eni pomožni snovi znotraj por druge pomožne snovi.

1.4 POROZNI NOSILCI ZA PRIPRAVO TRDNIH DISPERZIJ

Porozni nosilci so zaradi svojih lastnosti, kot so enotna stabilna porozna struktura, velika specifična površina, velikost por z ozko porazdelitvijo velikosti, dobro definirane površinske lastnosti, ter zmožnost, da absorbirajo določene učinkovine ter omogočajo

njihovo sproščanje na predvidljiv in ponovljiv način, postali zanimivi za pripravo TD. Porozna struktura pomembno vpliva na sorpcijo, raztapljanje in difuzijo učinkovin. Porozni nosilci v formulacijah pomagajo pri zmanjševanju prašenja, povečajo pretočnost, povečajo stabilnost amorfne oblike učinkovine ter imajo vpliv na direktno stiskanje in prirejeno sproščanje (8, 9). Glede na interakcije z vodo porozne nosilce klasificiramo kot hidrofozne in hidrofilne. Nosilci, ki jih uporabljamo v farmacevtski industriji so: porozni silicijev dioksid (Sylisia 550[®], Syloid 244 FP), polipropilen (Accurel[®]), porozni kalcijev silikat (Florite[®]), magnezijev aluminijev metasilikat (Neusilin), porozna keramika (9).

1.5 KAPILARNOST IN IMPREGNACIJA POROZNIH POMOŽNIH SNOVI Z ZDRAVILNO UČINKOVINO

Izdelava trdnih disperzij in impregnacija v porozne nosilce kot način izboljšanja raztapljanja zdravilne učinkovine

Ena izmed možnosti izboljšanja raztapljanja zdravilne učinkovine je tudi spremembe fizikalne strukture, ki jo dosežemo z izdelavo TD s poroznimi nosilci. Kombinacija učinkovine s poroznim nosilcem stabilizira nestabilno amorfn obliko, saj z istovrstnim doseganjem fizikalnih in kemijskih sprememb, kot sta kombiniranje učinkovine s poroznim nosilcem (povečanje specifične površine) in amorfizacija lahko pričakujemo sinergizem obeh učinkov (8).

Pri impregnaciji poroznih nosilcev z raztopinami zdravilnih učinkovin gre za ujetje učinkovine v pore nosilca. Porozne nosilce lahko impregniramo s talino učinkovine, raztopino učinkovine v organskem topilu ali pa z bolj zapletenimi formulacijami, kot so SES. Impregnacija poroznih nosilcev z raztopinami omogoča zelo enakomerno porazdelitev majhnih količin vzorca, kar nam lahko pomaga pri regulaciji odmerka učinkovine. Metoda je primerna za velik nabor učinkovin z močnim učinkom, ki izkazujejo slabo vodotopnost. Prilagodimo lahko odmerek učinkovine, ki glede na količino nosilca znaša od 0,1 % do 10 %, poleg tega pa s samim procesom izdelave tudi nadziramo profil sproščanja. Produkta, ki jih dobimo z impregnacijo, lahko polnimo direktno v kapsule ter se s tem izognemo uporabi pomožnih snovi, ki bi jih drugače potrebovali pri tabeliranju (npr. drsilo, površinsko aktivne snovi, mazivo, razgrajevalo ...) (26).

Porozne pomožne snovi predstavljajo obetaven pristop za izboljšanje slabih lastnosti tekočih formulacij, kot so: problemi s stabilnostjo, težavno rokovanje, nenatančno

odmerjanje s strani pacientov ... Zaradi njihove kompleksne notranje zgradbe z veliko prostorov in votlin se tekočina ujame vanje z delovanjem kapilarnih sil. S kombiniranjem raztopin učinkovin s poroznim nosilcem tako lahko iz tekoče formulacije dobimo trdno. Objavljeni so že poskusi raziskovalcev, ki so s pomočjo praškastih pomožnih snovi, kot so celuloza, laktoza in silikati, iz raztopin zdravilnih učinkovin pripravili tako imenovane »liquisolidi«, ki so bili v obliki sipkih in stisljivih praškov. Patil in Paradkar sta pripravila tekoče SES z loratidinom, ki sta jih nato polnila v porozen Polistiren. Pri tem sta ugotovila, da Polistiren predstavlja potencialno uporaben nosilec za SES, pri čemer je potrebna majhna količina Polistirena za strditev tekočega SES, raztapljanje končne formulacije pa je v primerjavi s samo učinkovino izboljšano (22).

Kapilarni vlek in viskozne sile

Pomembno vprašanje, ki se pojavlja pri polnjenju poroznih nosilcev s tekočinami, je, ali so za tok kapljevine v pore odgovorne viskozne ali kapilarne sile. Na makroskopski ravni tok ene faze v porozni medij opisuje Darcy-jev zakon:

$$v = \frac{Q}{A} = -\frac{K}{\mu} \frac{\partial p}{\partial x},$$

kjer v predstavlja Darcyjevo hitrost, ki je pretok (Q), ulomljen s površino preseka por (A). K je permeabilnost poroznega medija, μ je dinamična viskoznost tekočine, $\partial p / \partial x$ pa predstavlja gradient tlaka.

Darcyjev zakon je veljaven le za počasen, stalen, enodimenzionalen, enofazen tok skozi homogen in izotropen porozni medij (27, 28). Na mikroskopski ravni, npr. v pori, Darcyjev zakon ni veljaven. Na makroskopski ravni ni jasne ločitve med učinki kapilarnih in viskoznih sil, medtem ko na mikroskopski ravni kapilarne sile določajo ravnotežje porazdelitve tekočine v posamezni pori (27). V vijugasti mreži zožanj in por poroznega medija je polje pretoka izrazito kompleksno in podvrženo opisu prek Stoaksovega zakona (27). Za majhne vrednosti hitrosti pronicanja velja, da prevladajo učinki kapilarnosti, ki jih lahko opišemo z enačbo:

$$C = \frac{\mu\nu}{\gamma},$$

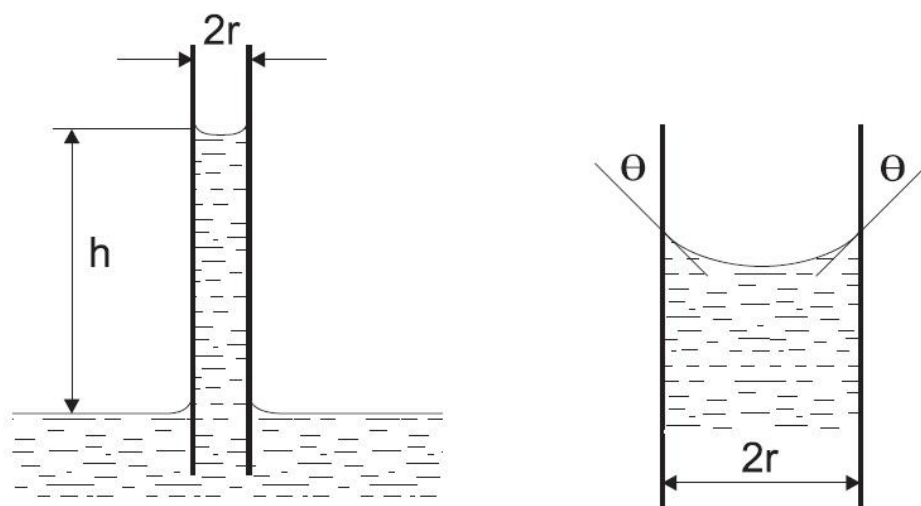
kjer je C kapilarno število, ki predstavlja relativni učinek viskoznih sil glede na površinsko napetost med tekočino in plinom oziroma dvema kapljevina, ki se med seboj ne mešata,

μ je viskoznost kapljevine, ki pronica v pore, v hitrost pronicanja tekočine, γ pa površinska napetost. Za vrednosti $C \ll 1$ je tok kvazi-statičen, kapilarnost predstavlja edini pomemben efekt pri pronicanju kapljevine v pore. $C \ll 1$ velja pri nizkih vrednostih viskoznosti kapljevine, kar pomeni, da pri višjih viskoznostih kapilarnost ne predstavlja več edinega pomembnega efekta. Pomemben vpliv tako izkazuje tudi viskoznost, ki pri višjih vrednostih omejuje tok kapljevine v pore.

V povezavi s kapilarnim dvigom je pomemben Jurinov zakon, ki opisuje višino dviga v odprti cilindrični kapilari v povezavi z njenim premerom z naslednjo enačbo:

$$h = \frac{2\gamma \cos \theta}{\rho g r},$$

h predstavlja višino tekočine, ρ njeno gostoto, θ kot močenja, r premer kapilare in g težnostni pospešek (28).



Slika 8: Kapilarni dvig

Tekočina se v stekleni kapilari dviga, če tekočina, v katero potopimo kapilaro, moči steklo (stični kot je manjši od 90°). V zelo ozkih kapilarah nastane konkaven meniskus. Tekočina v kapilari se dvigne, ker je tlak pod konkavnim meniskusom manjši od tlaka na ravni površini tekočine, v katero je kapilara pomočena. Tekočina se dvigne do višine, kjer je hidrostatski tlak enak padcu tlaka preko ukrivljene kapljice (Slika 8). Takrat je sila površinske napetosti enaka teži dvignjene tekočine. V primeru da kapljevina ne moči stekla, se gladina v kapilari spusti pod nivo gladine v posodi (29, 30).

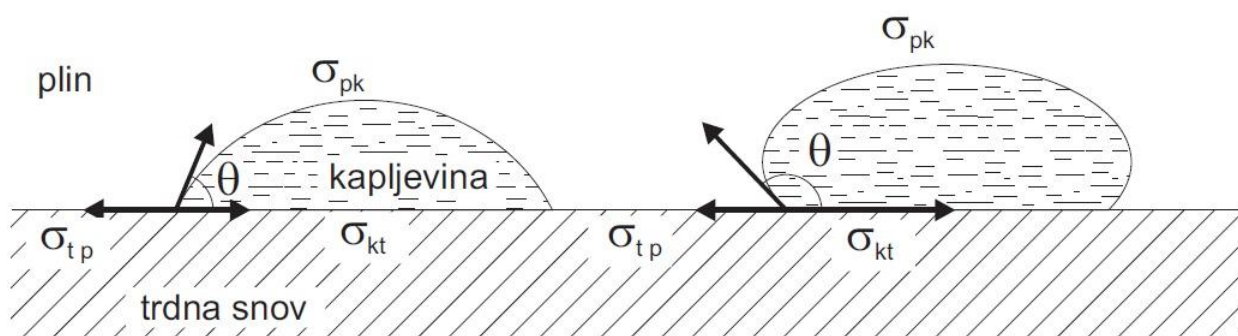
Jurinov zakon lahko posplošimo tudi na porozne nosilce, bolj natančno lahko vzpostavimo odnos med mikrostrukturo poroznega nosilca in višino dviga tekočine, vendar moramo pri tem upoštevati vpliv oblike kanalov v poroznem mediju (28).

Vse zgoraj našteje enačbe in procesi opisujejo prehod tekočine v pore porozne snovi. Poleg tega nas zanima tudi, kako tekočina, ki smo jo ujeli v pore poroznega nosilca, prehaja iz por, ter kakšen vpliv imajo karakteristike por na sproščanje učinkovine iz poroznega nosilca. Patil in Paradkar sta izdelala formulacije, pri čemer sta SES z loratidinom polnila v porozen Polistiren in pri testu raztapljanja ugotovila, da se profili sproščanja različnih frakcij velikosti delcev Polistirena med seboj razlikujejo. Razlike v profilih sproščanja so pripisali razlikam v dolžini por v Polistirenu, profil sproščanja SES iz por Polistirena pa so opisali z Poiseuilleovo enačbo za kapilarno difuzijo:

$$Q = \frac{(\delta P \cdot d^4)}{(128 \eta L)}$$

kjer Q predstavlja hitrost sproščanja, ∂P zmanjšanje tlaka vzdolž kapilare, d premer kapilare, η viskoznost v pore ujete tekočine, ter L dolžino kapilare (22).

Močenje



Slika 9: Primer kapljevine, ki moči podlago (levo) in kapljevine, ki podlage ne moči (desno)

Ko kapljica miruje, oklepa tangenta na gladino kapljice ob stiku s trdno snovjo kot močenja (θ), ki je odvisen od površinskih napetosti med plinom in kapljevino (γ_{pk}), med kapljevino in trdno snovjo (γ_{kt}), ter med trdno snovjo in plinom (γ_{tp}). Kadar je trdna snov raje v stiku s kapljevino kot s plinom, velja $\gamma_{tp} > \gamma_{kt}$ in ker je γ_{pk} vedno pozitivna, je v tem primeru $\cos\theta > 0$ oz. $\theta < 90^\circ$. V tem primeru kapljevina moči površino trdne snovi. V

nasprotnem primeru, ko je trdna snov raje v stiku s plinom kot tekočino, je $\theta > 90^\circ$ in kapljevina ne moči površine trdne snovi (Slika 9) (29). Dva mejna primera sta, ko je $\theta = 180^\circ$ in kapljevina ne moči trdne snovi, ter ko je $\theta = 0^\circ$ in kapljevina absolutno moči trdno snov (Slika 6) (30).

2 NAMEN DELA

Namen dela je izboljšanje raztapljanja v vodi težko topne zdravilne učinkovine – karvedilola z izdelavo multiple trdne disperzije. Izdelali bomo raztopino karvedilola s hidrofilno oziroma polarno pomožno snovjo in jo nato pri povišani temperaturi polnili v porozno pomožno snov.

1. Najprej bomo izbrali hidrofilne oziroma površinsko aktivne snovi, ki se v vodi hitro raztapljajo, hkrati pa je modelna zdravilna učinkovina v njih pri povišani temperaturi dobro topna. Kot drugi kriterij izbire pomožne snovi bomo uporabili njeno viskoznost in iskali takšne, ki imajo tudi po raztopitvi karvedilola nizko viskoznost. Tretji kriterij izbire pomožne snovi bo velikost stičnega kota in hitrost pronicanja raztopine učinkovine v porozno pomožno snov.
2. Izdelali bomo trdne disperzije modelne učinkovine s poroznim silicijevim dioksidom. Trdne disperzije bomo izdelali z metodo, ki je najbolj podobna metodi granuliranja s talinami, tako da bomo polnili pore poroznega nosilca s talino pomožne snovi, v kateri je raztopljena učinkovina. Za pripravo TD bomo uporabili različne pomožne snovi: PEG 400, PEG 4000 in Tween 80.
3. Raztapljanje same učinkovine in njeno sproščanje iz multiplih trdnih disperzij bomo vrednotili s preizkusom sproščanja po Ph. Eur. 7th Ed. Lastnosti trdnih disperzij bomo vrednotili še z diferenčno dinamično kalorimetrijo (DSC), merjenjem specifične površine (BET) in analizo morfologije delcev z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM).

3 EKSPERIMENTALNO DELO

3.1 MATERIALI

Pri eksperimentalnem delu smo uporabljali:

Spojine:

- karvedilol (Krka, Slovenija),
- Syloid 244 FP EU (Grace Davison, ZDA),
- PEG 400 (Fluka analytics, Švica),
- PEG 4000 (Fluka analytics, Švica),
- Tween 80 (Fluka analytics, Švica),
- Span 80 (Fluka analytics, Švica),
- Lutrol F127 (BASF the chemical company, Nemčija),
- Lutrol F68 (BASF the chemical company, Nemčija),
- Gelucire 44/14 (Gattefosse, Francija),
- natrijev dihidrogenfosfat dihidrat; $\text{Na}_2\text{PO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ (Merck, Nemčija),
- natrijev hidroksid, NaOH (Merck, Nemčija),
- klorovodikovo kislino; HCl, 37% (Merck, Nemčija).

Topila:

- metanol; MeOH (Methanol HPLC gradient grade, PAI-ACS, Panreac, Španija)
- prečiščeno vodo

Laboratorijski pribor:

- steklovino (čase, merilne valje, epruvete, bučke ...),
- pipete,
- steklene in plastične kapalke,
- škarje,
- uro,
- brizge, igle,
- termometer,
- filtre Minisart® RC 25 0,45µm (Sartorius, Nemčija),
- parafilm (Pechiney Chichago, USA).

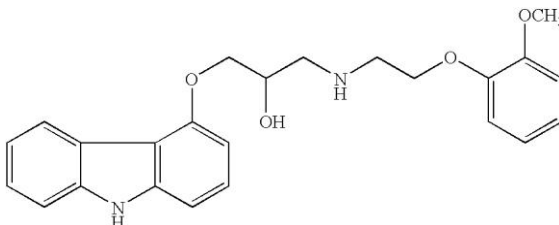
3.1.1 Modelna učinkovina

3.1.1.2 Osnovni podatki

KARVEDILOL

IUPAC poimenovanje: $(\pm)$ -[3-(9H-karbazol-4-iloksi)-2-hidroksipropil][2-(metoksifenoksi)etil]amin

Strukturna formula:



Molekulska formula: $C_{24}H_{26}N_2O_4$

Molska masa: 406,84 g/mol

Temperatura tališča: 114–115° C (29)

Topnost v vodi: 0.583 mg/L (29)

Opis: Bel, do skoraj bel, kristaliničen prašek. Praktično netopen v vodi in v razredčenih kislinah, zmerno topen v alkoholih. Izkazuje polimorfizem (32).

3.1.1.2 Delovanje in uporaba

Modelna učinkovina – karvedilol je neselektivni zaviralec adrenergičnih receptorjev α in β z vazodilatacijskim učinkom, ima pa tudi antioksidativne in antiproliferativne lastnosti (33). Uporablja se za zdravljenje esencialne hipertenzije, kronične stabilne angine pectoris, kroničnega srčnega popuščanja ter za zdravljenje po miokardnem infarktu z dokazano disfunkcijo levega prekata. Priporočen največji dnevni odmerek učinkovine je 2 x 25 mg (34).

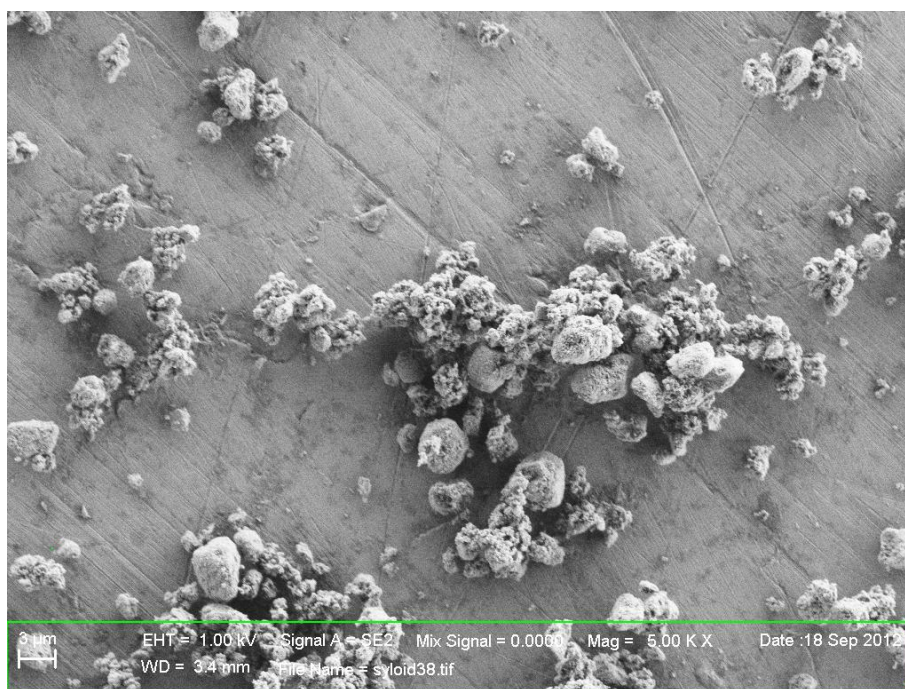
Karvedilol je racemat dveh stereoizomernih oblik. Enantiomer S(-) je odgovoren za zaviranje receptorjev β , kar znižuje arterijski krvni tlak ter zmanjšuje srčno frekvenco in minutni volumen srca. Oba enantiomera, S(-) in R(+), izkazujeta enako zaviranje receptorjev α_1 , ki povzroči periferno vazodilatacijo in zmanjša sistemski upor. Zaradi teh učinkov razbremeni srčno mišico in preprečuje nastanek angine pectoris (34).

Absolutna biološka uporabnost karvedilola je pri človeku približno 25 % in je stereoselektivna, 30 % za R(+) obliko in 15 % za S(-) obliko. Hrana ne vpliva na BU ali maksimalno serumsko koncentracijo, podaljša pa čas, ki je potreben za doseganje le-te. Učinkovina je zelo lipofilna, 98 % do 99 % se je veže na plazemske beljakovine. Obsežno se presnovi v jetrih z oksidacijo in konjugacijo, presnovki pa se večinoma izločijo preko žolča. Učinek prvega prehoda po peroralnem dajanju znaša približno 60–75 %. (33)

3.1.2 Porozni silicijev dioksid (Syloid 244 FP)

Syloid 244 FP je sintetičen amorfen silicijev dioksid brez vonja in okusa, ki se uporablja kot pomožna snov v farmacevtski in prehrabeni industriji. Nahaja se v obliki belega sipkega praška z visoko čistoto (min 99,0 % SiO_2). Povprečna velikost delcev znaša od 2.5 do 3.7 μm , povprečni volumen por pa je 1,6 ml/g produkta. Odlikujeta ga tudi velika specifična površina in velika afiniteta do vlage (35).

Slika 10 prikazuje delce Syloida 244 FP pod 5000-kratno povečavo, posnete z elektronskim vrstičnim mikroskopom (SEM).



Slika 10: Elektronsko mikroskopska slika delcev Syloida 244 FP

3.2 APARATURE:

Pri eksperimentalnem delu smo uporabili naslednje aparature:

- tehtnico, Mettler Toledo AG 285, Švica,
- tehtnico, Mettler Toledo XS 205 Dual range, Švica,
- tehtnico, And GH-300,
- napravo za raztapljanje Erweka DT6,
- spektrofotometer Hewlett Packard, 8453, UV-Visible spectroscopy system, Nemčija,
- pH meter, MC226, Mettler Toledo, Švica,
- diferenčni dinamični kalorimeter Mettler Toledo differential scanning calorimeter DSC1, opremljen s programsko opremo STAR[®] software v9.30, Švica,
- magnetno mešalo, IKA, RCT basic,
- grelno kaloto, IKA,
- modularni reometer, Anton Paar, Physica MCR 301 s termostatom Julabo AWC 100,
- merilec temperature, Voltcraft IR 1200-50D,
- Drop shape analyzer, Krüss DSA 100,
- ultrazvočno kadičk, Sonis 4, Iskra pio,
- termostat Julabo,
- vodno kopel Julabo F12,
- instrumentalno tabletirko na ekscenter Kilian SP 300,
- vrstični elektronski mikroskop SEM Supra 35 VP, Carl Zeiss,
- aparaturo za merjenje specifične površine in poroznosti TriStar 3000 s programsko opremo V4.00, Micrometrics, ZDA.

3.3 METODE

3.3.1 Raztapljanje pomožnih snovi v vodi in topnost učinkovine v pomožnih snoveh

Ocena hitrosti raztapljanja pomožnih snovi za izdelavo multiplih trdnih disperzij v vodi

Hitrost raztapljanja PS v vodi smo ocenjevali tako, da smo v 100 ml bučko zatehtali 0.1 g določene PS, dodali magnet ter s prečiščeno vodo dopolnili do oznake. Nato smo postavili

bučko v termostatisirano vodno kopel (38 °C) in med mešanjem vizualno opazovali, v kolikšnem času se PS raztopi.

Ocena topnosti modelne učinkovine v posameznih pomožnih snoveh

Topnost karvedilola v izbranih PS smo ocenili tako, da smo 10 ml oz. 10 g, če je bila snov pri sobni temperaturi v trdnem agregatnem stanju, natehtali v čašo. Čašo smo nato postavili v termostatisirano vodno kopel, dodajali karvedilol, mešali s stekleno palčko ter opazovali, kdaj se ves karvedilol raztopi. Začeli smo pri temperaturi 25°C ter jo postopoma dvigali do 60 oz. 70 °C, ki sta bili naši ciljni temperaturi za polnjenje raztopin v porozni silicijev dioksid.

3.3.2 Priprava vzorcev in merjenje viskoznosti

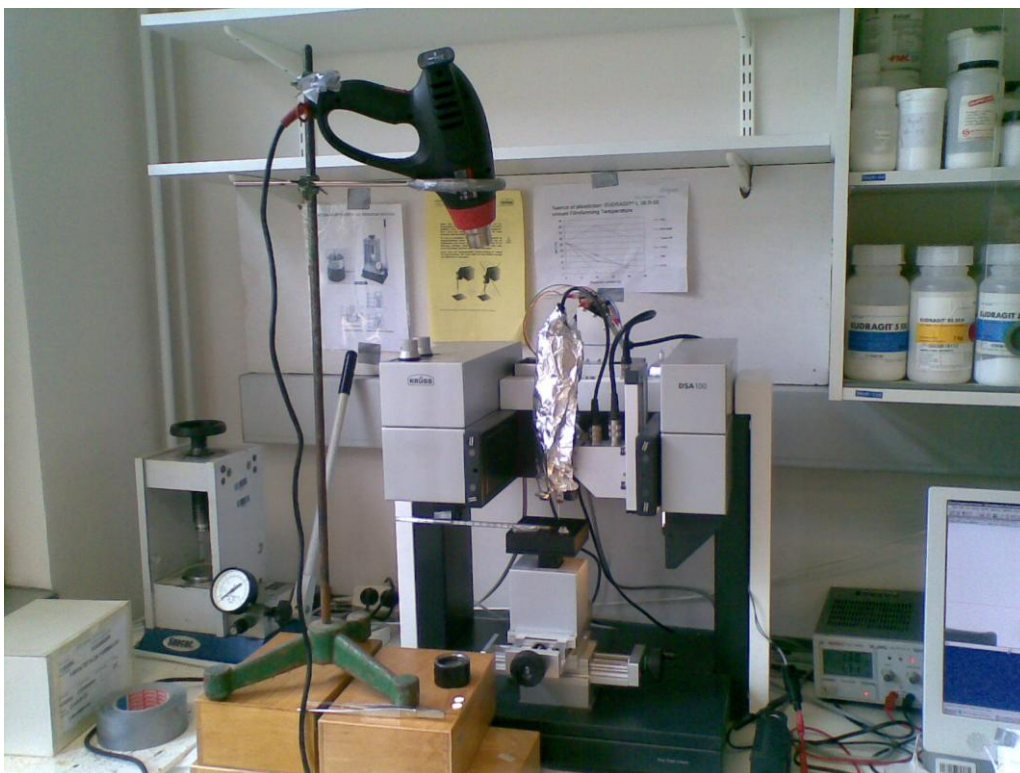
Viskoznost talin (raztopin talin) pomožnih snovi smo merili z modularnim viskozimetrom Anton Paar, Physica MCR 301 s termostatom Julabo AWC 100. Pripravili smo vzorce čistih pomožnih snovi ter vzorce PS z dodatkom karvedilola ter jim v treh paralelah izmerili viskoznost v temperaturnem razponu od 25 °C do 70 °C oz. pri snoveh, ki so pri sobni temperaturi trdne, od temperature tališča do 80 °C. Vsebnost karvedilola v vzorcih je bila enaka, kot smo jo nato uporabili za polnjenje poroznega silicijevega dioksida, in sicer 200 mg/ml za PEG 400, 133 mg/ml za Tween 80 in 200 mg/g za PEG 4000.

3.3.3 Merjenje stičnega kota in hitrost pronicanja raztopin učinkovine v porozni silicijev dioksid

Z instrumentalno tabletirko na ekscenter Kilian SP 300 smo izdelali tablete čistega Syloida 244 FP. Tabletirali smo ročno pri silah med 1,2 in 1,9 kN (položaj zgornjega pečata 6,1 mm in položaj spodnjega pečata 7,0 mm).

Stični kot in hitrost pronicanja kapljice smo izmerili z merilnikom stičnega kota Krüss DSA 100. Oboje smo izvajali pri dveh različnih temperaturah: sobni in pri 70 °C oziroma 60 °C za PEG 4000. Za merjenje pri povišani temperaturi smo morali ogreti brizgo, iglo in tableto Syloida 244 FP, kar smo naredili s pomočjo segretega zraka (Slika 11). Na merilno mizico smo pritrdili termometer, s katerim smo nadzirali temperaturo mizice. Temperaturo tablete iz Syloida 244 FP, brizge in igle smo merili z IR merilcem temperature Voltcraft IR

1200-50D. Volumen kapljice, ki smo ji merili hitrost pronicanja, je bil $0,3 \mu\text{L}$. Po nanosu kapljice smo z merilcem stičnega kota posneli posnetek pronicanja kapljice v Syloid 244 FP ter s pomočjo programske opreme določili stični kot ter čas, ki ga je kapljica porabila, da je v celoti poniknila v Syloid 244 FP.



Slika 11: Oprema za merjenje časa pronicanja in stičnega kota pri povišanih temperaturah kapljev.

3.3.4 Priprava zmesi modelne učinkovine in pomožne snovi ter izdelava multiplih trdnih disperzij

Pripravili smo raztopine karvedilola v treh različnih PS, vse v treh paralelah. Pri PEG 400 smo zmes pripravili tako, da smo na vodni kopeli ($60\text{ }^{\circ}\text{C}$) segreli 2 ml PEG, ter v njem raztopili 400 mg karvedilola. Zmesi PEG 4000 in Tween 80 smo pripravljali pri nekoliko višji temperaturi ($70\text{ }^{\circ}\text{C}$). V 2 g PEG 4000 in v 3 ml Tween 80 smo raztopili po 400 mg karvedilola.



Slika 12: Sestava opreme za izdelavo trdne disperzije

S tako izdelanimi raztopinami smo nato polnili Syloid 244 FP. V stekleno bučko smo natehtali 2 g Syloida 244 FP, dodali magnet, bučko vpeli v grelno kaloto ter nastavili temperaturo grelne plošče na 100 °C. Med 15-minutnem mešanjem se je vsebina bučke segrela, zato smo takrat začeli počasi s stekleno kapalko dodajati na 60 oziroma 70 °C ogreto raztopino karvedilola z izbrano PS. Ko smo dodali vso raztopino, smo izključili grelno ploščo, pokrili zgornji del bučke z aluminijasto folijo in pustili, da se je pripravljena trdna disperzija med spontanim ohlajanjem mešala še nadaljnjih 15 minut (Slika 12).

3.3.5 Vrednotenje multiplih trdnih disperzij

Določanje vsebnosti učinkovine v multipli trdni disperziji

Vsebnost učinkovine v multipli trdni disperziji smo določali spektrofotometrično pri valovni dolžini 332 nm. V 25 ml bučko smo zatehtali točno določeno količino trdne disperzije, jo raztopili v metanolu in mešali. Po pol ure mešanja smo raztopino filtrirali skozi filter Minisart® SR 0,45 µm. Nato smo na osnovi umeritvene premice učinkovine v metanolu izmerili njeno koncentracijo. Absorbanco vzorcev smo merili s kiveto iz kvarčnega stekla in potjo žarka 1,0 cm.

Priprava medijev za preizkus sproščanja:Klorovodikova kislina pH = 1.2

V 1000 ml bučko smo nalili približno 900 ml prečiščene vode, nato pa smo v digestoriju z merilno pipeto dodali 8,5 ml 37 % koncentrirane HCl. Bučko smo nato s prečiščeno vodo dopolnili do oznake ter premešali vsebino na magnetnem mešalu.

Fosfatni pufer pH = 6.8

V 1000 ml bučko smo zatehtali 6,8 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ ter jo dopolnili s prečiščeno vodo do oznake. Med mešanjem na magnetnem mešalu smo nato preverili pH raztopine in ga uravnali z raztopino NaOH. Raztopino NaOH smo pripravili tako, da smo 0,9 g NaOH raztopili v 100 ml prečiščene vode.

Preizkus sproščanja učinkovine v mediju s pH 1.2 in v fosfatnem pufru pH 6.8

Preizkus sproščanja smo izvedli po Ph. Eur 7th Ed., poglavje 2.9.3 (36). Uporabili smo napravo Erweka DT 6 z vesli. S preizkusom smo vrednotili po dva vzorca multiplih TD z vsako pomožno snovjo, hkrati pa smo za primerjavo raztapljali tudi 25 mg odmerkov same učinkovine ter raztopine učinkovine v PS s poroznim nosilcem. Količina multiple trdne disperzije, ki smo jo raztapljali, je vsebovala 25 mg učinkovine (enkratni odmerek).

Učinkovino, trdne disperzije in raztopine učinkovine v PS s poroznim nosilcem smo raztapljali v pufrih z dvema različnima vrednostma, kislem mediju s pH = 1.2 in fosfatnem mediju s pH = 6.8. Vzorce smo raztapljali 2 h pri ustreznih pogojih: volumen posode 1000 ml, $T_{\text{medija}} = 37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ in frekvenca vrtenja mešal 50 obratov na minuto.

Vzorčili smo ročno z brizgo (10 ml) in iglo ob časih 1, 2, 3, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 120 min. Po odvzetju smo vzorec filtrirali skozi filter Minisart® SR 0,45 μm . Medija nismo nadomeščali, ampak smo odvzem vzorcev računsko upoštevali pri izdelavi profila sproščanja. Koncentracijo učinkovine odvzetih vzorcev smo določili UV spektrofotometrično z merjenjem absorbance pri valovni dolžini 332 nm ter računanjem s pomočjo umeritvene premice učinkovine v posameznem mediju za raztapljanje.

Morfologija delcev (SEM)

Morfologijo delcev izdelanih trdnih disperzij in Syloida 244 FP smo preučevali z vrstično elektronsko mikroskopijo (SEM). Vzorce smo nalepili na dvostranski ogljikov lepilni trak in jih nato analizirali z vrstičnim elektronskim mikroskopom SEM Supra 35 VP (Carl Zeiss, Nemčija) pri napetosti 1 kV.

Termična analiza (DSC)

Za termično analizo pomožnih snovi, učinkovine, zmesi učinkovine in PS ter vzorcev trdnih disperzij smo uporabili diferenčni dinamični kalorimeter Mettler Toledo Differential Scanning Calorimeter DSC1, opremljen s programsko opremo STARe Software v9.30.

3 do 5 mg čistih snovi ali 5 do 10 mg raztopin oziroma multiplih TD smo zatehtali in zaprli v aluminijasti lonček ter jih segrevali od 60 do 130 °C s hitrostjo 10 K/min. Meritve so bile izvedene v dušikovi atmosferi s pretokom dušika 40 ml/min. Kalorimeter je bil kalibriran z indijem.

Merjenje specifične površine (BET metoda adsorpcije dušika)

Merjenje specifične površine smo izvedli na Kemijskem inštitutu z aparaturo Micrometrics TriStar 3000 s programsko opremo V4.00, ki omogoča merjenje specifične površine in poroznosti s tehniko plinske adsorpcije dušika (37). Med 15 in 25 mg vzorca Syloida 244 FP in multiplih trdnih disperzij smo pred analizo čez noč sušili v vakuumskem sušilniku na sobni temperaturi, meritev pa je bila izvedena pri temperaturi 77 K. Specifično površino vzorcev smo izračunali iz podatkov o adsorpciji v intervalu relativnega tlaka od 0.05 do 0.3 z uporabo multitočkovne Brunauer-Emmett-Teller (BET) enačbe. Celokupen volumen por smo ocenili s pomočjo »t-plot« metode po Lippensu in de Boeru. Distribucijo velikosti por smo dobili s pomočjo adsorpcijskih vej dušikovih izoterm z uporabo Barrett-Joyner-Halenda (BJH) modela (38).

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 PREFORMULACIJA MULTIPLIH TRDNIH DISPERZIJ

Ocena raztapljanja pomožnih snovi z nizkim tališčem v vodi

Pri izbiri PS z nizkim tališčem, ki smo jih uporabili za izdelavo multiplih trdnih disperzij, smo kot prvi kriterij uporabili topnost. Najprej smo preverili hitrost raztapljanja PS v vodi, saj ima hitrost raztapljanja PS v vodi pomemben vpliv na topnost končnega izdelka in hitrost sproščanja učinkovine iz multiple TD. V primeru da se PS v vodi zelo počasi raztaplja, to lahko vpliva na počasno sproščanje učinkovine. Rezultati ocene hitrosti raztapljanja so podani v Preglednici II. Za hitro raztapljanje velja, da se je pomožna snov raztopila v manj kot 15 minutah, medtem ko je pomožna snov, ki se raztaplja počasi, še po 1 uri ostala neraztopljena. Ugotovili smo, da se Gelucire 44/14 in Span 80 pri danih pogojih v vodi počasi raztapljata, zato ti dve PS nismo izbrali za izdelavo multiplih TD.

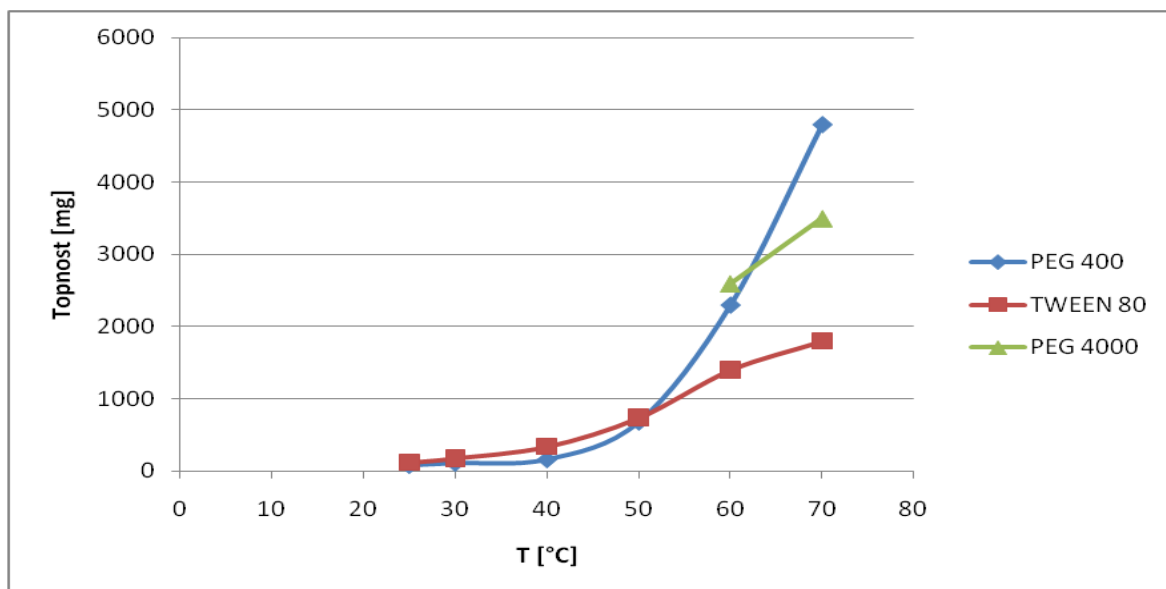
Ocena topnosti karvedilola v pomožnih snoveh pri različnih temperaturah

Preglednica II: Ocena hitrosti raztapljanja PS v vodi in topnosti karvedilola v izbranih PS pri različnih temperaturah (znak / pomeni, da topnosti nismo določili).

Pomožna snov	Ocena hitrosti raztapljanja PS v vodi	Ocena topnosti karvedilola v tekoči PS pri 25 °C [mg/10 ml oz 10 g]	Ocena topnosti karvedilola v tekoči PS pri 70 °C [mg/10 ml oz 10 g]
PEG 400	hitro	80	4800
PEG 4000	hitro	trden	3500
Lutrol F127	hitro	/	/
Lutrol F68	hitro	/	/
Gelucire 44/14	počasi	/	/
Span 80	počasi	/	/
Tween 80	hitro	120	1800

Kot drugi kriterij za izbiro PS smo uporabili topnost karvedilola v PS, pri čemer smo ocenili, koliko mg karvedilola se raztopi v 10 ml oz 10 g (če je bila PS v trdnem agregatnem stanju) PS pri temperaturah od 25 do 70 °C. Na tem mestu smo iz nabora PS

izločili še Lutrol F127 in Lutrol F68, saj je bila njuna talina izredno viskozna in belo obarvana, zaradi česar posledično ne bi mogli opazovati raztapljanja karvedilola v njej. Rezultati so podani v Preglednici II.



Slika 13: Topnost karvedilola v izbranih PS v odvisnosti od temperature

Na podlagi rezultatov smo se odločili, da multiple TD pripravimo z naslednjimi PS: PEG 400, PEG 4000 in Tween 80. Te PS imajo ustrezno hitrost raztapljanja v vodi, ki naj ne bi omejevala sproščanja učinkovine, obenem pa je karvedilol pri višjih temperaturah v njih dovolj topen za doseganje želenih odmerkov v končni formulaciji (Slika 13).

Viskoznost

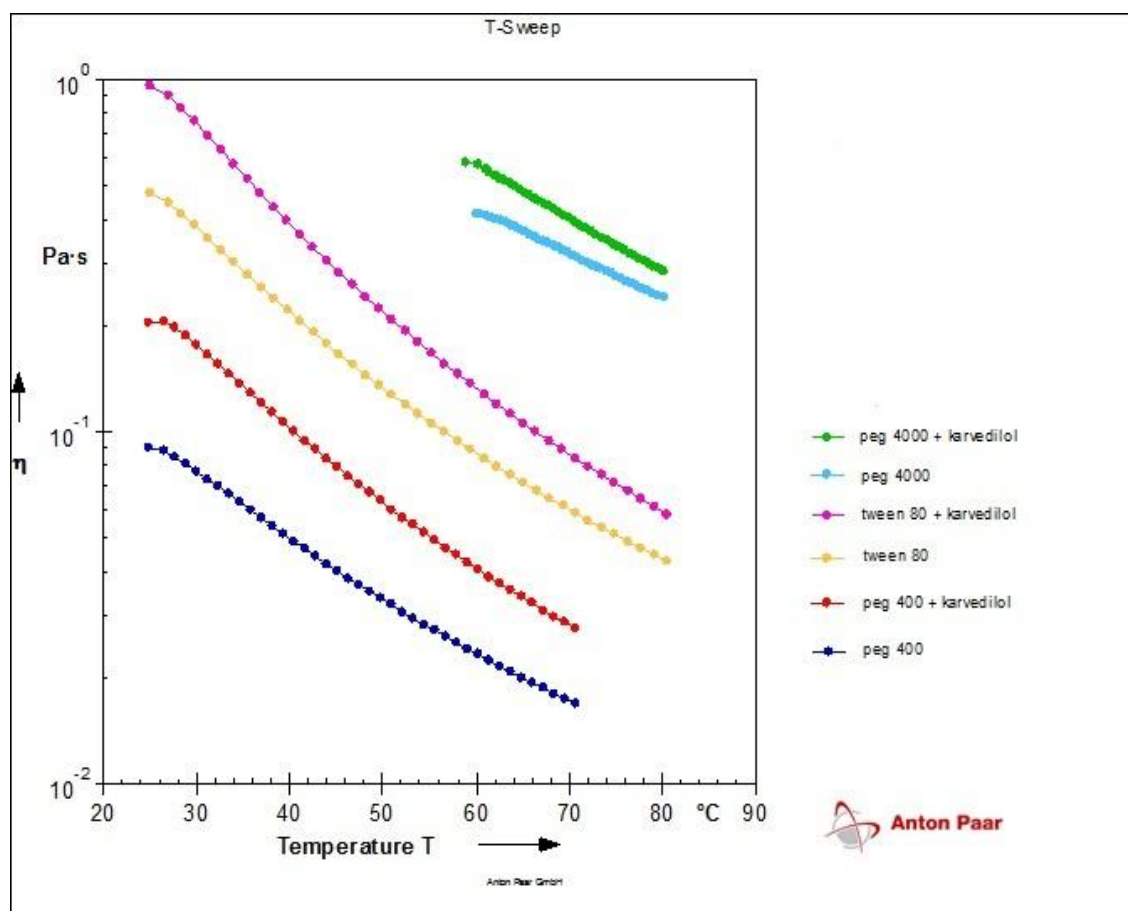
Pomemben kriterij pri izbiri pomožnih snovi predstavlja tudi viskoznost, zato smo pomožnim snovem, ki so izkazovale primerno raztapljanje v vodi, in se je učinkovina v njih dobro raztapljala, izmerili tudi viskoznost z in brez dodatka karvedilola pri različnih temperaturah.

Ustrezna PS je tista, ki tudi po dodatku karvedilola izkazuje dovolj nizko viskoznost, da lahko pronica v pore poroznega nosilca. V predhodnih študijah so ugotovili, da viskoznost igra pomembno vlogo pri polnjenju poroznega nosilca z raztaljeno učinkovino. Sher in sodelavci so polnili porozni Accurel MP 1000® s talino karvedilola, pri čemer so uporabili metodo taljenja. Ugotovili so, da v primeru da je viskoznost učinkovine previsoka, ta ne more prodirati v pore poroznega nosilca in se nalaga na površino (9).

Preglednica III: Viskoznost PS brez in z raztopljenim karvedilolom pri različnih temperaturah

	PEG 400	PEG 400 + karvedilol (200 mg/ml)	Tween 80 (200 mg/ml)	Tween 80 + karvedilol (133 mg/ml)	PEG 4000 + karvedilol (200 mg/g)
T [°C]	η [mPa·s]	η [mPa·s]	η [mPa·s]	η [mPa·s]	η [mPa·s]
25	90,4	203	475	956	/
60	23,2	40,6	88,9	128	417
70	/	/	58,6	83,9	317

Glede na rezultate (Preglednica III, Slika 14) vidimo, da je najbolj viskozna PS staljeni PEG 4000, sledi ji Tween 80, najmanj viskozna PS pa je PEG 400. Raztopine karvedilola v pomožnih snoveh imajo višjo viskoznost od čistih pomožnih snovi.



Slika 14: Viskoznost PS in raztopin PS s karvedilolom v odvisnosti od temperature

Močenje porozne silike s talinami pomožnih snovi

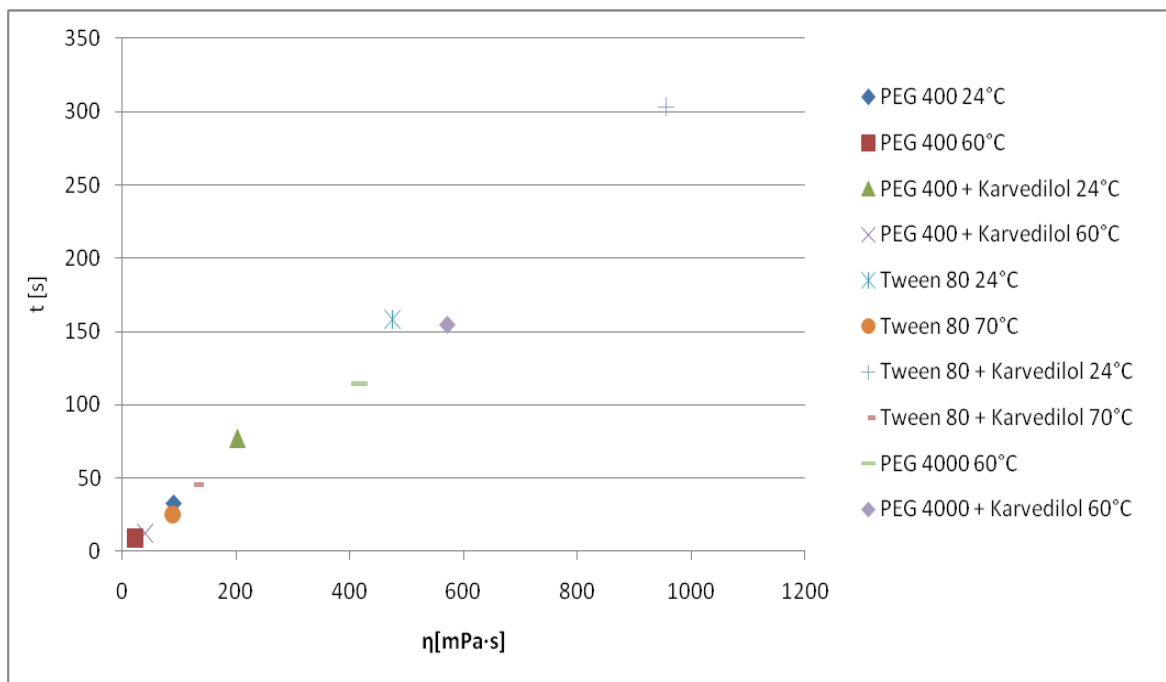
Z merjenjem hitrosti pronicanja smo želeli potrditi, da manj viskozne PS v Syloid 244 FP pronikajo hitreje kot bolj viskozne. Z višanjem temperature se niža viskoznost in se posledično povečuje hitrost pronicanja kapljavine v porozen medij. Iz rezultatov lahko vidimo, da ima med čistimi pomožnimi snovmi najvišjo hitrost pronicanja PEG 400, sledi ji Tween 80, najnižjo hitrost pa ima staljen PEG 4000. Raztopine karvedilola v pomožnih snoveh izkazujejo nižjo hitrost pronicanja kot čiste pomožne snovi. Rezultati meritev so zbrani v Preglednici IV.

Preglednica IV: Hitrost pronicanja PS v Syloid 244 FP z in brez karvedilola pri različnih temperaturah

	PEG 400	PEG 400 + Tween 80	Tween 80	PEG 4000	PEG 4000
		karvedilol	+		+
			karvedilol		karvedilol
T [°C]	Hitrost pronicanja [μl/min]	Hitrost pronicanja [μl/min]	Hitrost pronicanja [μl/min]	Hitrost pronicanja [μl/min]	Hitrost pronicanja [μl/min]
25	0,550	0,233	0,114	0,059	/
60	2,022	1,463	/	/	0,157
70	/	/	0,714	0,398	/

Na sliki 15 so zbrani rezultati meritev časa pronicanja v Syloid 244 FP vseh pomožnih snovi z in brez dodatka karvedilola. Opazimo linearno odvisnost časa pronicanja od viskoznosti vzorca. Od premice najbolj odstopata vzorca s PEG 4000.

PEG 4000 je pri sobni temperaturi v trdnem agregatnem stanju, njegovo tališče znaša 53–56 °C. Za merjenje hitrosti pronicanja smo najprej raztalili PEG 4000, da smo z njim lahko napolnili brizgo. Problematično je bilo vzdrževanje PEG 4000 na konstantni temperaturi 60 °C, zaradi nihanja temperature pa rezultati meritev bolj odstopajo od premice kot v primeru PEG 400 in Tween 80 (Slika 15).

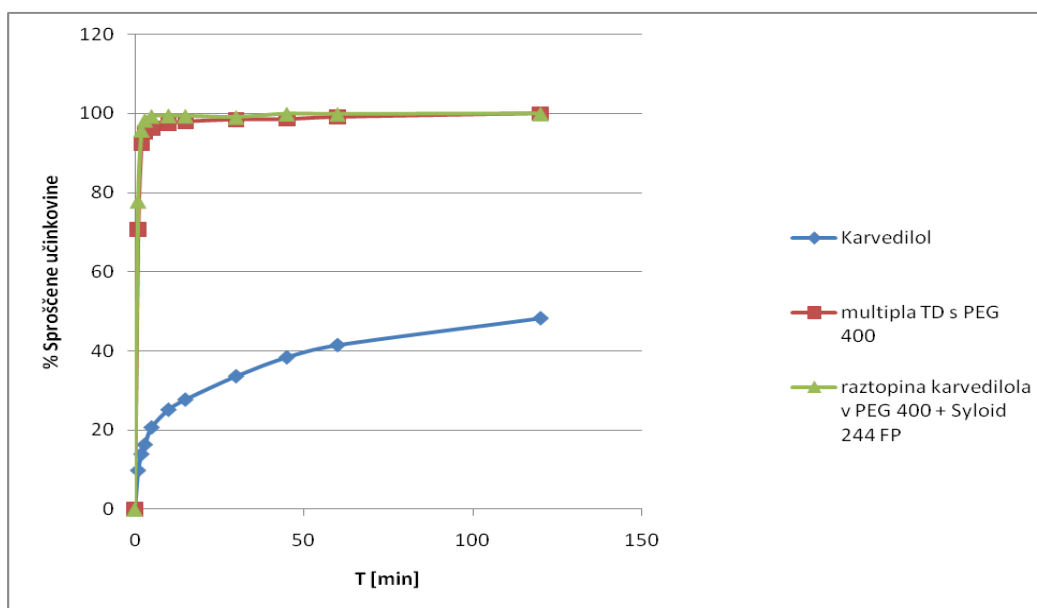


Slika 15: Odvisnost časa pronicanja (od sprostitve do popolnega pronicanja kapljice v nosilec) tekočih vzorcev s pomožnimi snovmi brez ali s karvedilolom od viskoznosti

4.2 VREDNOTENJE MULTIPLIH TRDNIH DISPERZIJ

4.2.1 MULTIPLE TRDNE DISPERZIJE S PEG 400

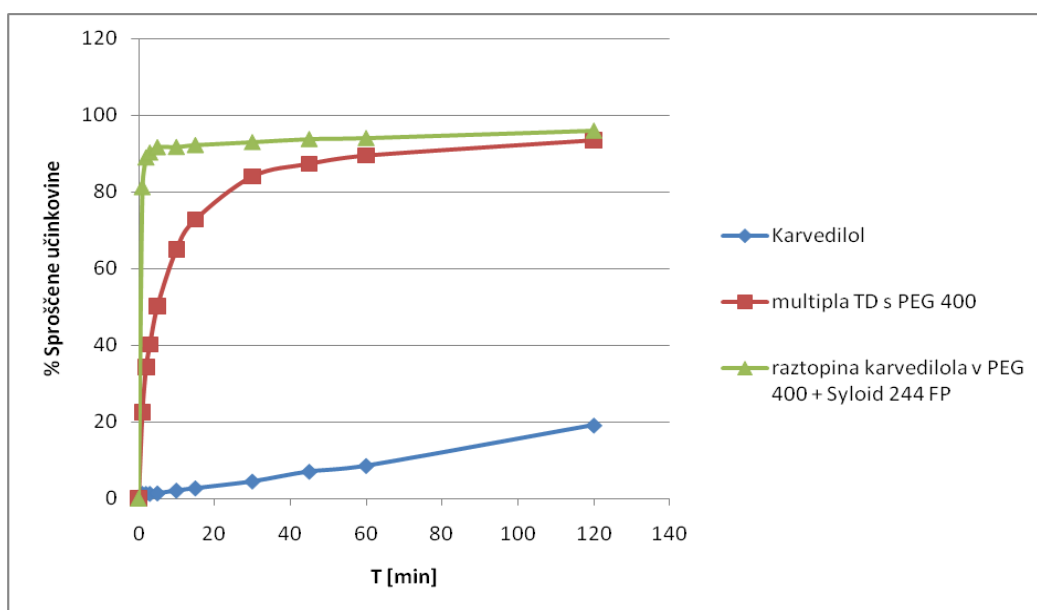
4.2.1.1 Raztapljanje



Slika 16: Raztapljanje karvedilola, sproščanje karvedilola iz raztopine s PEG 400 in iz multiple trdne disperzije s Syloidom 244FP v mediju s pH = 1.2

Slika 16 prikazuje primerjavo raztapljanja kristalne oblike karvedilola, učinkovine iz raztopine karvedilola v PEG 400 ter iz multiple trdne disperzije s PEG 400 in s Syloidom 244 FP v mediju s pH = 1.2. Iz rezultatov je razvidno, da smo s formulacijo multiple trdne disperzije izboljšali raztapljanje čiste učinkovine.

Tekom preizkusa raztapljanja (120 min) se je iz multiple trdne disperzije sprostila vsa učinkovina, medtem ko se je raztopilo le okrog 48 % kristalne oblike učinkovine. Poleg tega se je iz TD že po prvih nekaj minutah sprostilo več kot 90 % učinkovine. Hkrati smo ugotovili, da sta hitrost in obseg raztapljanja raztopine karvedilola v PEG 400 primerljiva s hitrostjo in obsegom raztapljanja iz multiple trdne disperzije.



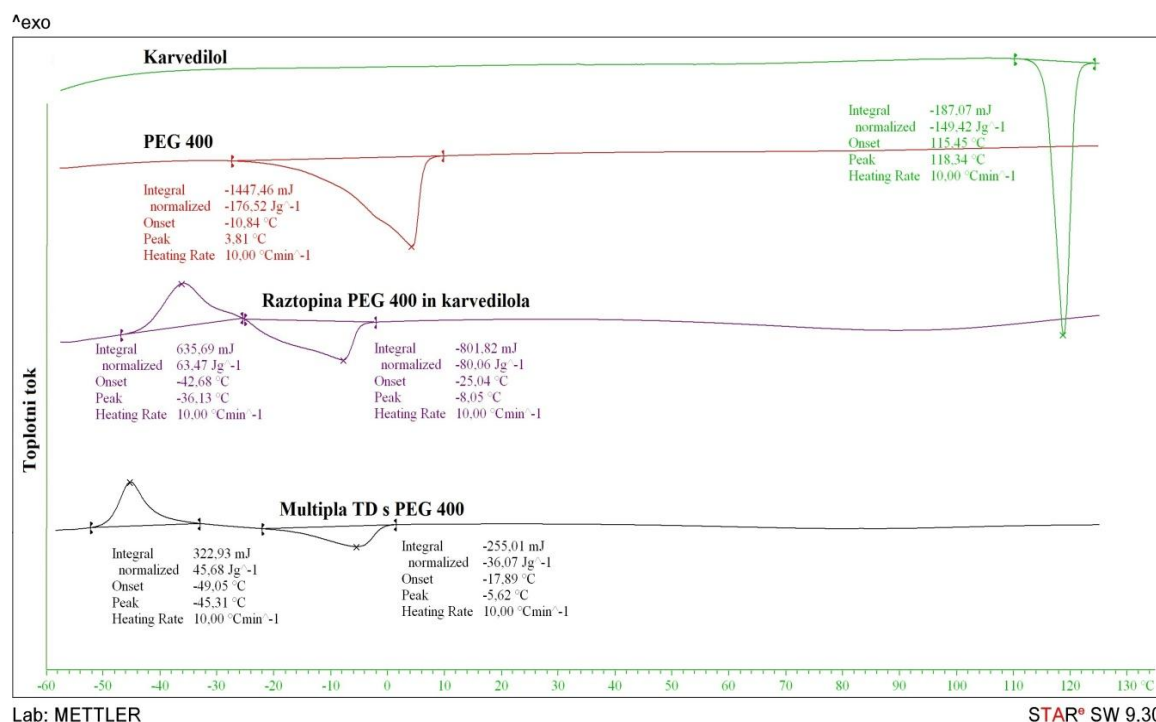
Slika 17: Raztapljanje karvedilola, sproščanje karvedilola iz raztopine s PEG 400 in iz multiple trdne disperzije s Syloidom 244FP v mediju s pH = 6.8

V mediju s pH = 6.8 smo dobili podobne rezultate kot v kislem (Slika 17). Hitrost in obseg raztapljanja smo z izdelavo multiple trdne disperzije izrazito povečali, saj se je iz multiple TD v dveh urah sprostilo več kot 90 % učinkovine, medtem ko se je kristalne učinkovine raztopilo le okoli 20 %. Iz rezultatov vidimo, da se je okrog 90 % učinkovine iz raztopine karvedilola v PEG 400 sprostilo v prvih nekaj minutah, medtem ko se je učinkovina iz multiple trdne disperzije raztapljala počasneje, a na koncu vseeno dosegla enak obseg kot učinkovina v raztopini PEG. Razliko bi lahko pripisali upočasnjeni difuziji PEG 400 in učinkovine iz por.

4.2.1.2 Termična analiza (DSC)

Slika 18 prikazuje DSC krivulje kristalne oblike karvedilola, PEG 400, raztopine karvedilola v PEG 400 ter multiple trdne disperzije s PEG 400. Glede na krivulje na sliki 16 lahko podamo oceno temperature tališča posameznih snovi, in sicer tališče karvedilola pri 115,5 °C, PEG 400 pri -10,8 °C, raztopine karvedilola v PEG 400 pri -25,4 °C ter multiple trdne disperzije s PEG 400 pri -17,9 °C.

Pri krivulji raztopine karvedilola v PEG 400 (200 mg/ml) lahko najprej opazimo endotermo pretvorbo trdno-trdno pri -42,7 °C, ki je na krivulji samega PEG 400 nismo opazili in se lahko zgodi pri temperaturi pod -60 °C, kjer smo tudi začeli izvajati naše meritve. Zaradi tega sklepamo, da se zaradi dodatka karvedilola endotermna pretvorba trdno-trdno PEG 400 pojavi pri višji temperaturi. Poleg tega se je po dodatku karvedilola znižala tudi temperatura tališča PEG 400 z -10,8 °C na -25,0 °C. Podobne spremembe, sprememba temperature endotermne pretvorbe trdno-trdno in znižanje temperature tališča, opazimo tudi na krivulji, ki predstavlja multiplo TD s PEG 400, kjer temperatura endotermne pretvorbe trdno-trdno znaša -49,1 °C in temperatura tališča -17,9 °C. Ker je talilni vrh karvedilola v vzorcu raztopine in multiple TD odsoten, sklepamo, da se v teh dveh primerih učinkovina nahaja v amorfni obliki oziroma je raztopljena v PEG.



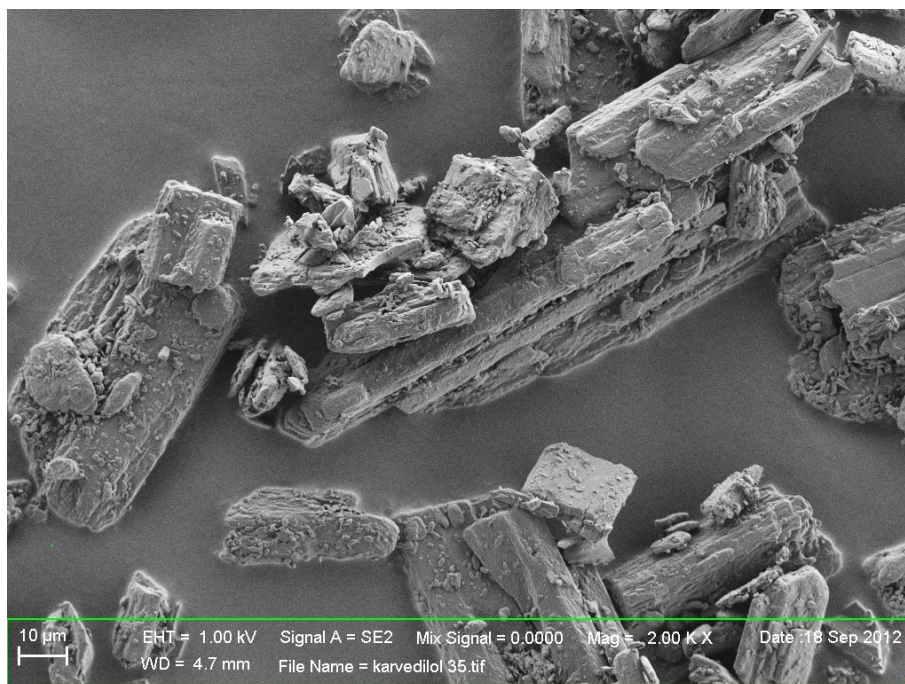
Slika 18: DSC krivulje karvedilola, PEG 400, raztopine PEG 400 in karvedilola ter multiple TD s PEG 400

Tališče disperzije v porah je nekoliko višje od tališča raztopine karvedilola v PEG 400 (–17,9 °C namesto –25,0 °C), vendar bistveno nižje od sobne temperature, kar pomeni, da je učinkovina, raztopljena v PEG400, raztopljena tudi v disperziji s poroznim nosilcem.

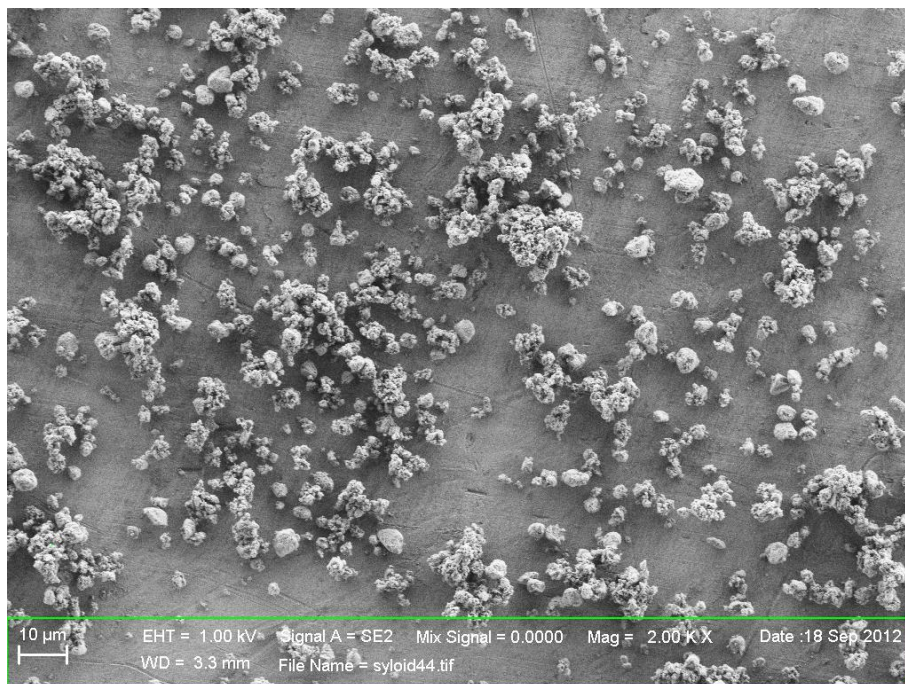
4.2.1.3 Morfologija delcev

Slika 19 prikazuje kristalno obliko delcev karvedilola, slika 20 delce poroznega Syloida 244 FP (povprečna velikost delcev od 2.5 do 3.7 μm) in slika 21 delce multiple trdne disperzije s PEG 400 pri 2000-kratni povečavi, posneto z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM).

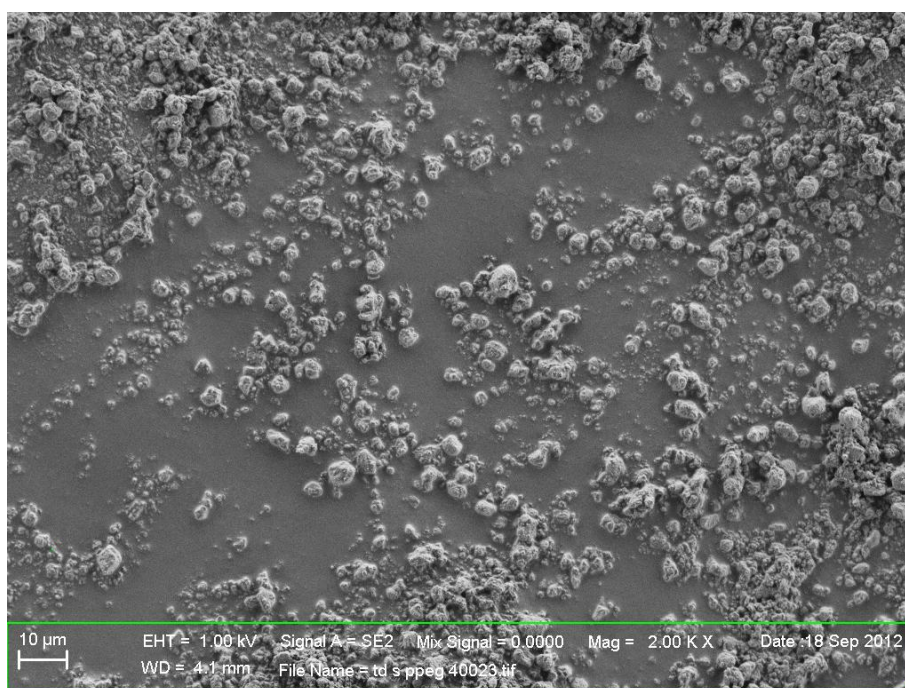
Če primerjamo elektronsko mikroskopske slike delcev Syloida 244 FP (slika 20) in multiple trdne disperzije s PEG 400 (slika 21), vidimo, da so opazne rahle spremembe površine delcev. V primeru Syloida 244 FP lahko iz mikroskopske slike vidimo večjo poroznost delcev kot pri delcih multiple trdne disperzije. Spremembo bi lahko pripisali napolnjenju por. Iz slike je tudi razvidno, da so delci multiple TD in delci Syloida 244 FP približno enake velikosti, kar pomeni, da raztopina karvedilola v PEG 400, s katero smo polnili Syloid 244 FP, ni povzročila aglomeracije delcev, ampak se je le v manjši meri nalagala na površino delcev in v večji porazdelila v pore.



Slika 19: Elektronsko mikroskopska slika kristalnih delcev karvedilola,



Slika 20: Elektronsko mikroskopska slika delcev Syloida 244 FP



Slika 21: Elektronsko mikroskopska slika delcev multiple trdne disperzije s PEG 400

4.2.1.4 Specifična površina (BET metoda adsorpcije dušika)

V preglednici V so primerjalno zbrani rezultati specifične površine in celokupnega volumna por za Syloid 244 FP in multiplo trdno disperzijo s PEG 400 kot pomožno snovjo.

Iz rezultatov vidimo, da je specifična površina vzorca multiple TD veliko manjša od specifične površine vzorca Syloida 244 FP. Zmanjšana specifična površina je posledica nalaganja raztopine karvedilola v PEG 400 na površino poroznega nosilca, predvsem pa sorpcije te raztopine v pore nosilca.

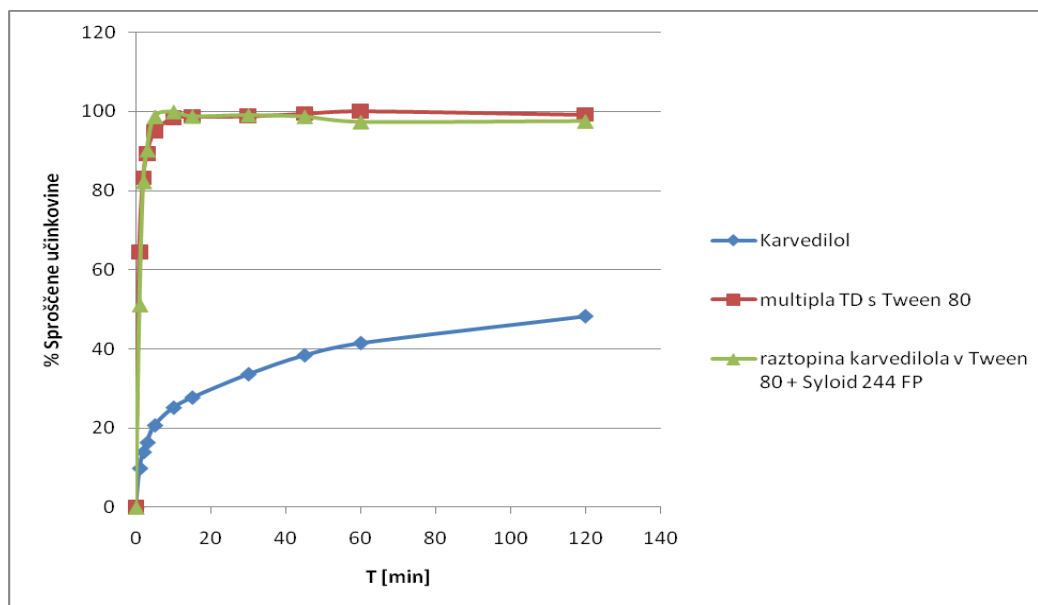
Preglednica V: Rezultati BET analize Syloida 244 FP in multiple TD s PEG 400

			Syloid 244 FP0	multipla TD s PEG 400
Specifična površina [m ² /g]			331,1491	21,3464
Celokupni volumen	por		1,550498	0,128748
[cm ³ /g]				

Poleg zmanjšane specifične površine smo ugotovili tudi manjši celokupni volumen por, kar prav tako potrjuje, da so se pore Syloida 244 FP zapolnile z raztopino karvedilola v PEG 400.

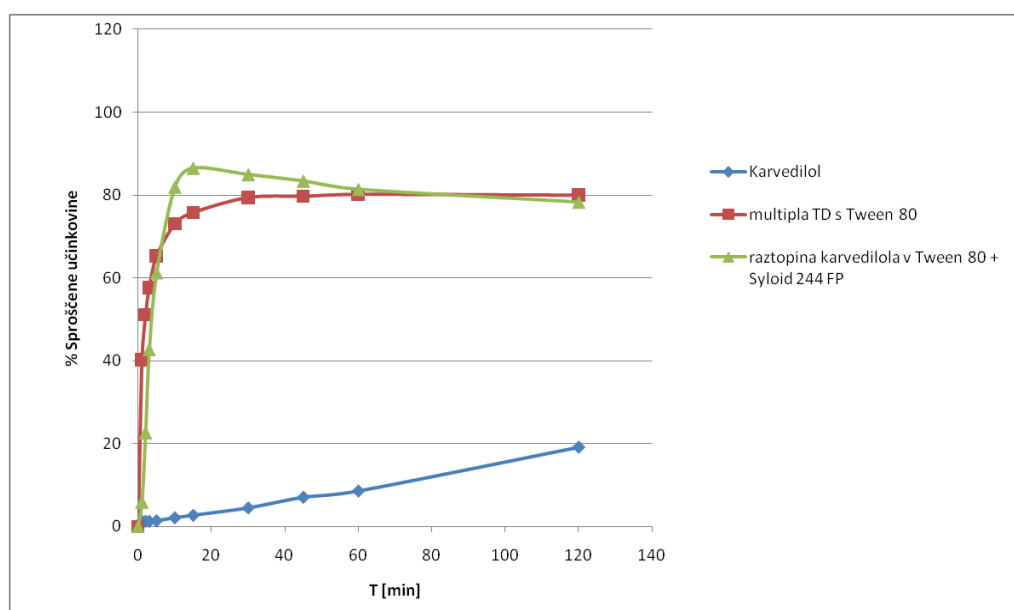
4.2.2 MULTIPLE TRDNE DISPERZIJE S TWEEN 80

4.2.2.1 Raztapljanje



Slika 22: Raztapljanje karvedilola, sproščanje karvedilola iz raztopine s Tween 80 in iz multiple trdne disperzije s Syloidom 244FP v mediju s pH = 1.2

Na sliki 22 je prikazana primerjava raztapljanja kristalne oblike karvedilola, učinkovine iz raztopine karvedilola v Tween 80 ter iz multiple trdne disperzije s Tween 80 in s Syloidom 244 FP v mediju s $\text{pH} = 1.2$. Podobno kot pri multipli TD s PEG 400, smo s formulacijo multiple trdne disperzije s Tween 80 izboljšali hitrost in obseg raztapljanja karvedilola v primerjavi s kristalno obliko. Hitrost in obseg raztapljanja raztopine karvedilola v Tween 80 sta primerljiva s hitrostjo in obsegom raztapljanja iz multiple trdne disperzije, saj se iz obeh v prvih minutah sprosti več kot 90 % karvedilola oziroma ves karvedilol v času trajanja preizkusa (120 min).



Slika 23: Raztapljanje karvedilola, sproščanje karvedilola iz raztopine s Tween 80 in iz multiple trdne disperzije s Syloidom 244FP v mediju s $\text{pH} = 6.8$

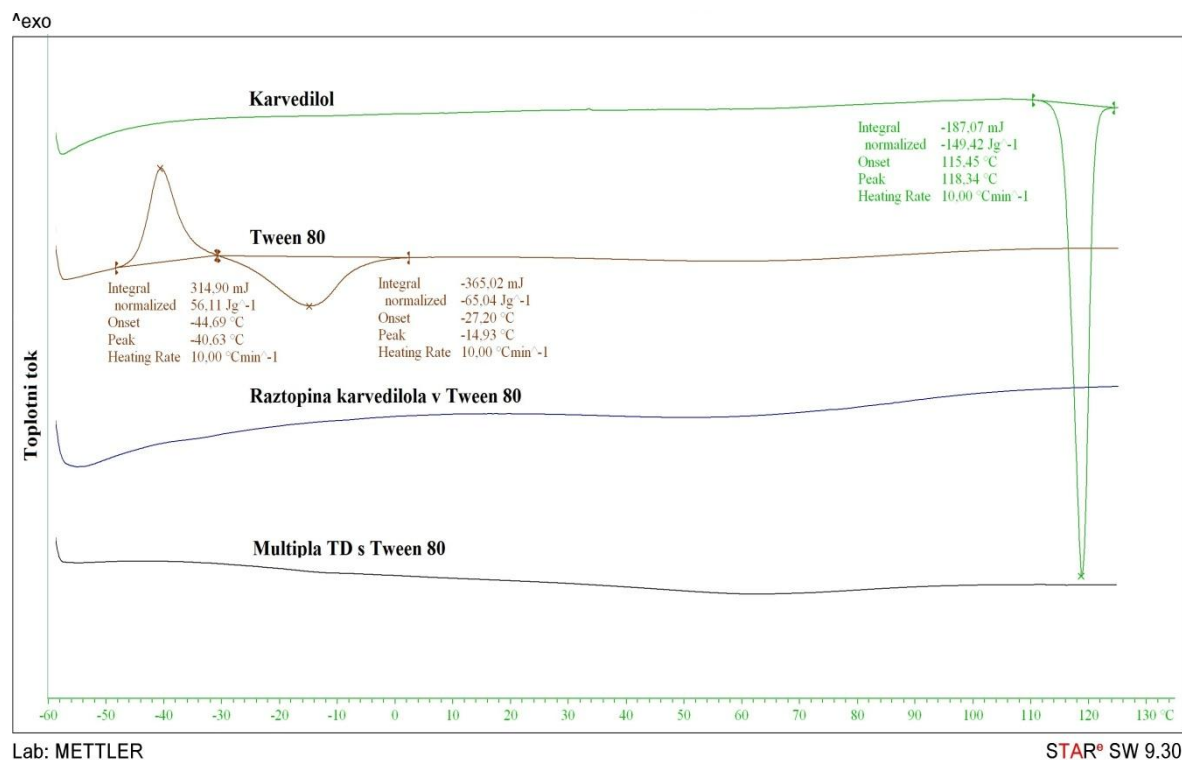
Na sliki 23 je prikazana primerjava raztapljanja kristalne oblike karvedilola, učinkovine iz raztopine karvedilola v Tween 80 ter iz multiple trdne disperzije s Tween 80 in s Syloidom 244 FP v mediju s $\text{pH} = 6.8$. Iz rezultatov je razvidno, da se je z izdelavo multiple trdne disperzije izboljšalo raztapljanje karvedilola tudi v tem mediju. V tem primeru se profil sproščanja multiple trdne disperzije s Tween 80 ter profil sproščanja raztopine karvedilola v Tween 80 ne ujemata tako dobro kot v mediju s $\text{pH} = 1.2$. Sproščanje karvedilola iz raztopine, prav tako kot iz multiple TD, ne preseže 80 %. Karvedilol se iz multiple TD s Tween 80 sprosti hitro ter v prve pol ure doseže plato pri 80 % celotne količine učinkovine. Drugače je pri sproščanju karvedilola iz raztopine, saj v prvih 15 minutah

preizkusa doseže maksimum sproščanja (85 % odmerka), medtem ko je po dveh urah sproščene le še okrog 80 % učinkovine.

4.2.2.2 DSC analiza

Slika 24 prikazuje DSC krivulje karvedilola, Tween 80, raztopine Tween 80 v karvedilolu ter multiple trdne disperzije s Tween 80. Ocena temperature tališča glede na krivulje na sliki 24 znaša 115,3 °C za karvedilol in -27,2 °C za Tween 80.

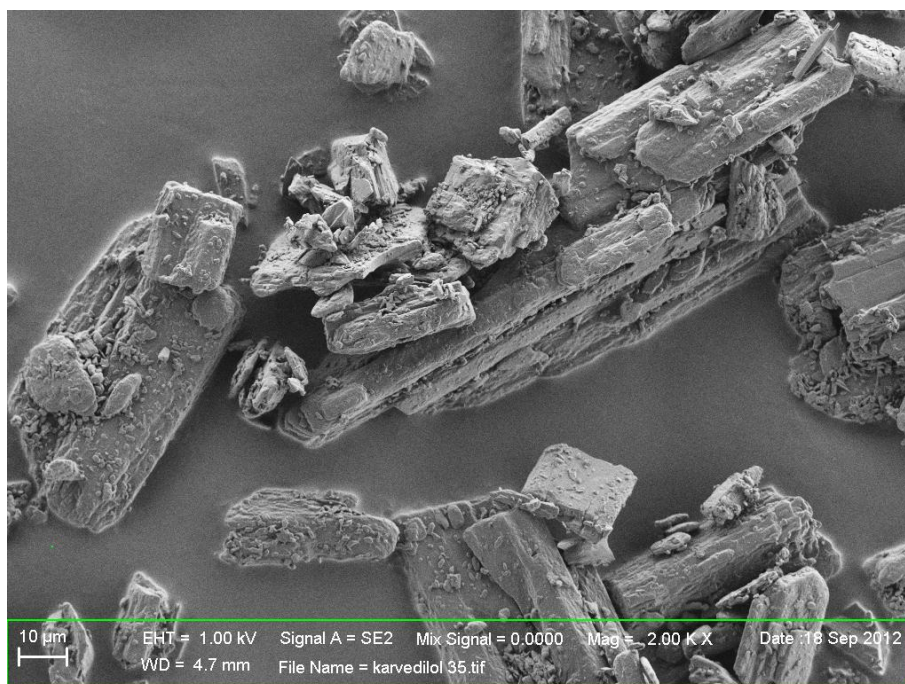
Na krivulji, ki predstavlja čisti Tween 80, lahko jasno vidimo dva vrha. Prvi vrh pri temperaturi -44,7 °C predstavlja endotermni prehod trdno-trdno Tween 80, drugi vrh pri temperaturi -27,2 °C pa njegovo tališče. V nasprotju z raztopino karvedilola v PEG 400 ter multiplo TD s PEG 400, kjer smo izmerili znižano temperaturo tališča, pri raztopini karvedilola v Tween 80 in multipli TD s Tween 80 ne opazimo termičnih prehodov. Tudi v primeru multiple TD s Tween 80 je talilni vrh karvedilola v vzorcu raztopine in multiple TD odsoten. To lahko pomeni, da se je temperatura tališča znižala na vrednost, ki je nižja od -60 °C, saj analize pod to vrednostjo nismo izvedli. Druga možnost je, da se v obeh primerih učinkovina nahaja v amorfni obliki.



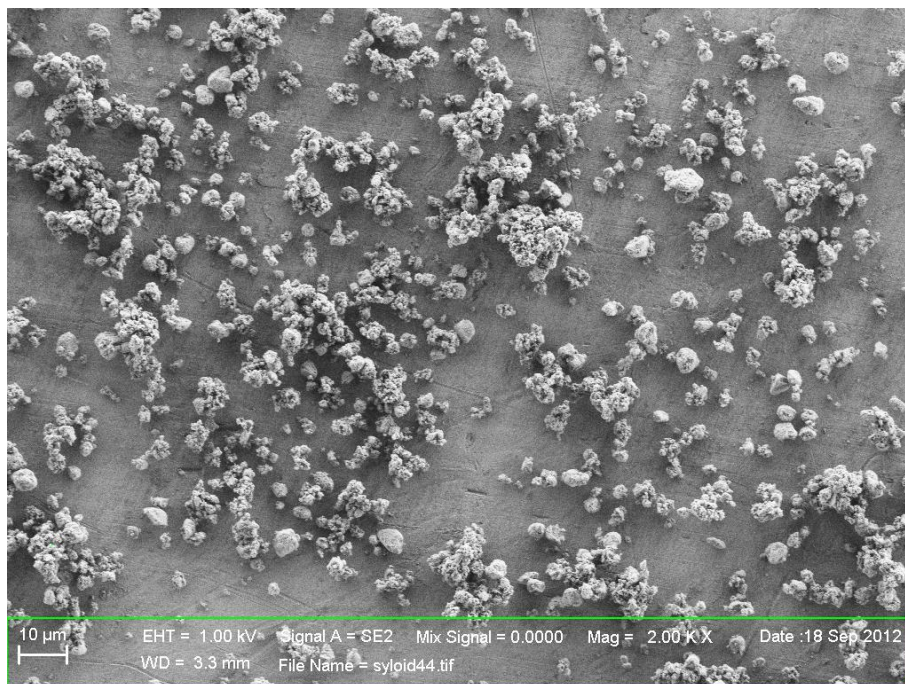
Slika 24: DSC krivulje karvedilola, Tween 80, raztopine Tween 80 in karvedilola ter multiple TD s karvedilolom

4.2.2.3 Morfologija delcev

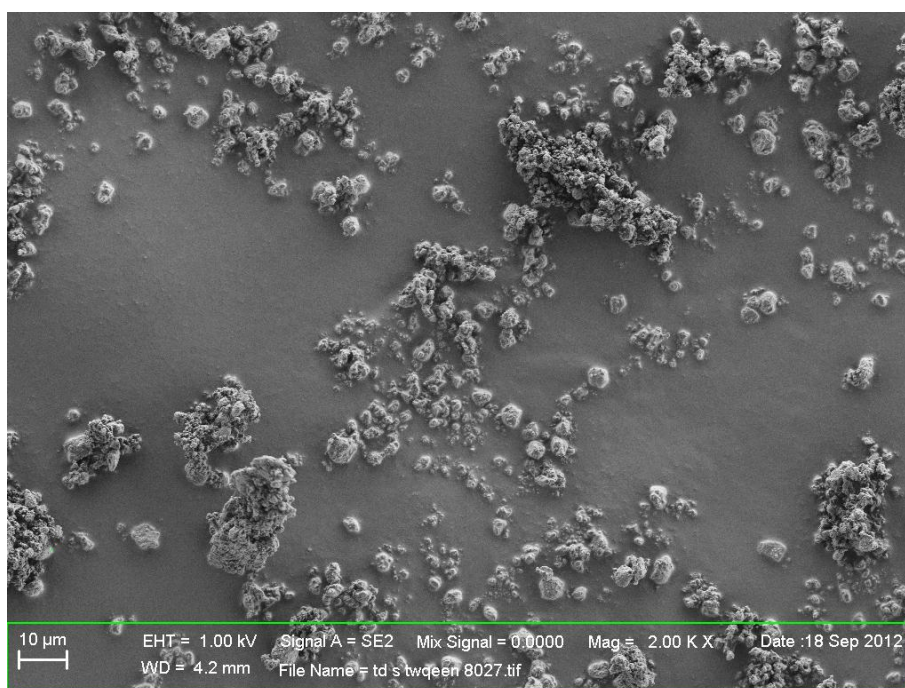
Slika 25 prikazuje kristalno obliko delcev karvedilola, slika 26 delce Syloida 244 FP, na sliki 27 pa lahko vidimo delce multiple trdne disperzije s Tween 80 kot pomožno snovjo. Vse slike so posnete z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM) pri 2000-kratni povečavi. Primerjava elektronsko mikroskopskih slik Syloida 244 FP (slika 26) in multiple TD s Tween 80 (slika 27) kaže majhno spremembo površine delcev, podobno kot pri multiplih TD s PEG 400, kar bi lahko pripisali napolnjenju por. Iz primerjave slik vidimo tudi, da so delci multiple TD s Tween 80 in delci Syloida 244 FP približno enake velikosti, kar lahko pomeni, da se je raztopina karvedilola v Tween 80 porazdelila v pore Syloida 244 FP. Poleg tega opazimo, da delci multiple TD s Tween 80 tvorijo manjše aglomerate, kar lahko pomeni, da se je raztopina deloma le naložila na površini delcev Syloida 244 FP in jih povezala med seboj. Na sliki delcev multiple trdne disperzije ni opaziti delcev karvedilola.



Slika 25: Elektronsko mikroskopska slika kristalnih delcev karvedilola



Slika 26: Elektronsko mikroskopska slika kristalnih delcev Syloida 244 FP



Slika 27: Elektronsko mikroskopska slika delcev multiple trdne disperzije s Tween 80

4.2.2.4 Specifična površina (BET metoda adsorpcije dušika)

Preglednica VI prikazuje primerjavo rezultatov specifične površine in celokupnega volumna por za Syloid 244 FP in multiplo trdno disperzijo s Tween 80 kot pomožno

snovjo. Iz rezultatov je razvidno, da je specifična površina vzorca multiple TD s Tween 80 veliko manjša od specifične površine vzorca Syloida 244 FP, celo bolj, kot je bila zmanjšana specifična površina delcev multiple TD s PEG 400 (Preglednica V). Sklepamo, da je za manjšo specifično površino vzorca odgovorno napolnjenje por z raztopino karvedilola v Tween 80.

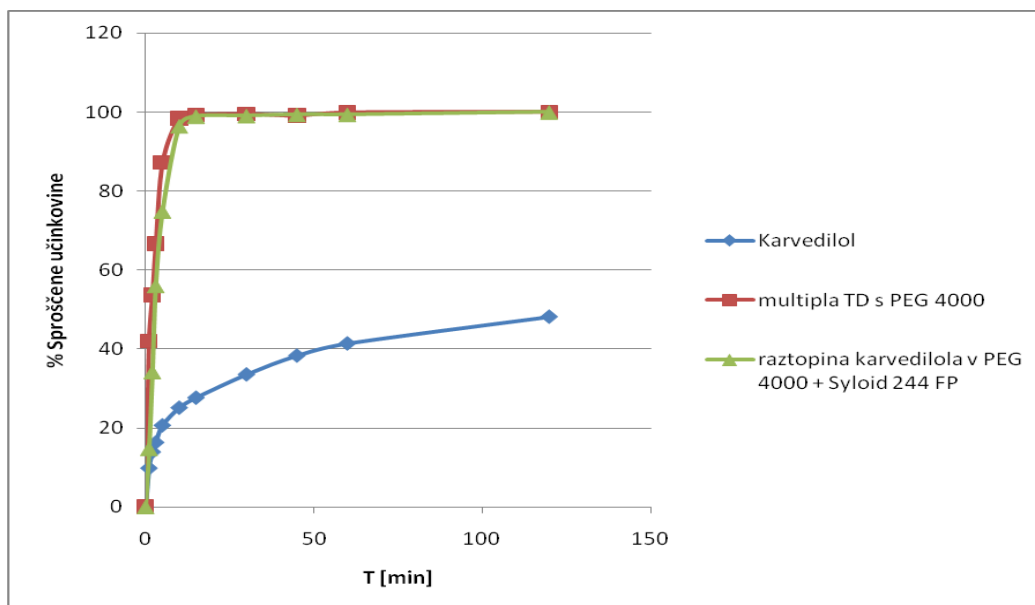
Preglednica VI: BET analize Syloida 244 FP in multiple TD s Tween 80

			Syloid 244 FP	multipla TD s Tween 80
Specifična površina [m ² /g]			331,1491	13,7860
Celokupni	volumen	por	1,550498	0,079501
[cm ³ /g]				

Ugotovili smo tudi manjši celokupni volumen por, kar prav tako nakazuje na to, da so se pore Syloida 244 FP zapolnile z raztopino karvedilola v Tween 80.

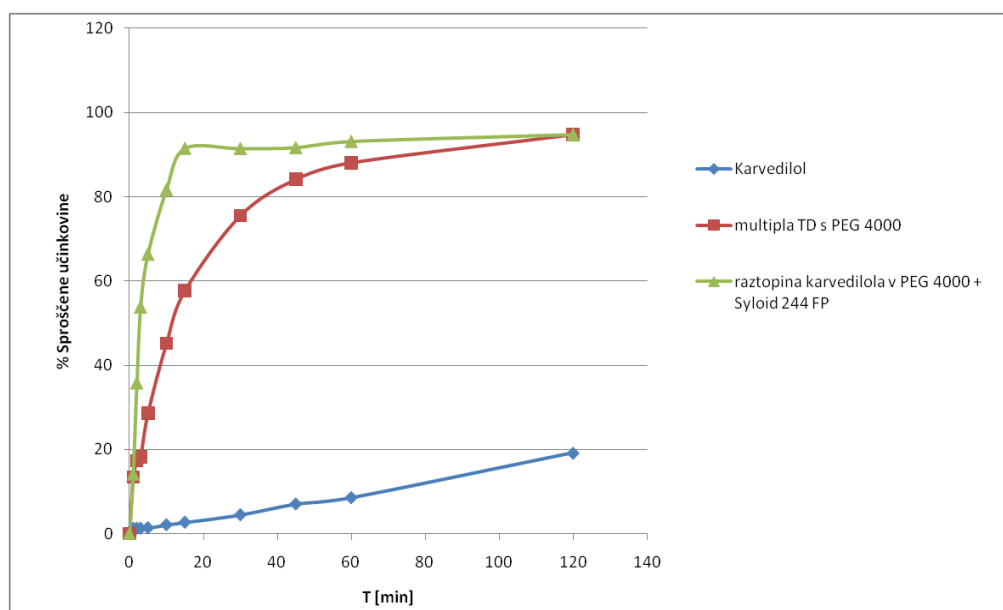
4.2.3 MULTIPLE TRDNE DISPERZIJE S PEG 4000

4.2.3.1 Raztapljanje



Slika 28: Raztapljanje karvedilola, sproščanje karvedilola iz raztopine s PEG 4000 in iz multiple trdne disperzije s Syloidom 244FP v mediju s pH = 1.2

Na sliki 28 je prikazana primerjava raztapljanja kristalne oblike karvedilola, učinkovine iz trdne disperzije karvedilola v PEG 4000 ter iz multiple trdne disperzije s PEG 4000 in s Syloidom 244 FP v mediju s pH = 1.2. Tako kot pri multiplih TD s PEG 400 in Tween 80 tudi pri multipli trdni disperziji s PEG 4000 dobimo skorajda identičen profil sproščanja karvedilola iz raztopine kot iz multiple TD. V obeh primerih se več kot 90 % učinkovine sprosti v prvih nekaj minutah preizkusa raztapljanja, plato pa dosežeta pri 10 minutah in približno 100 % sproščene učinkovine. Iz teh rezultatov je razvidno, da smo tudi pri izdelavi multiplih TD s PEG 4000 kot pomožno snovjo izboljšali raztapljanje karvedilola, saj se tekom preizkusa raztopi le okrog 48 % kristalne oblike učinkovine.



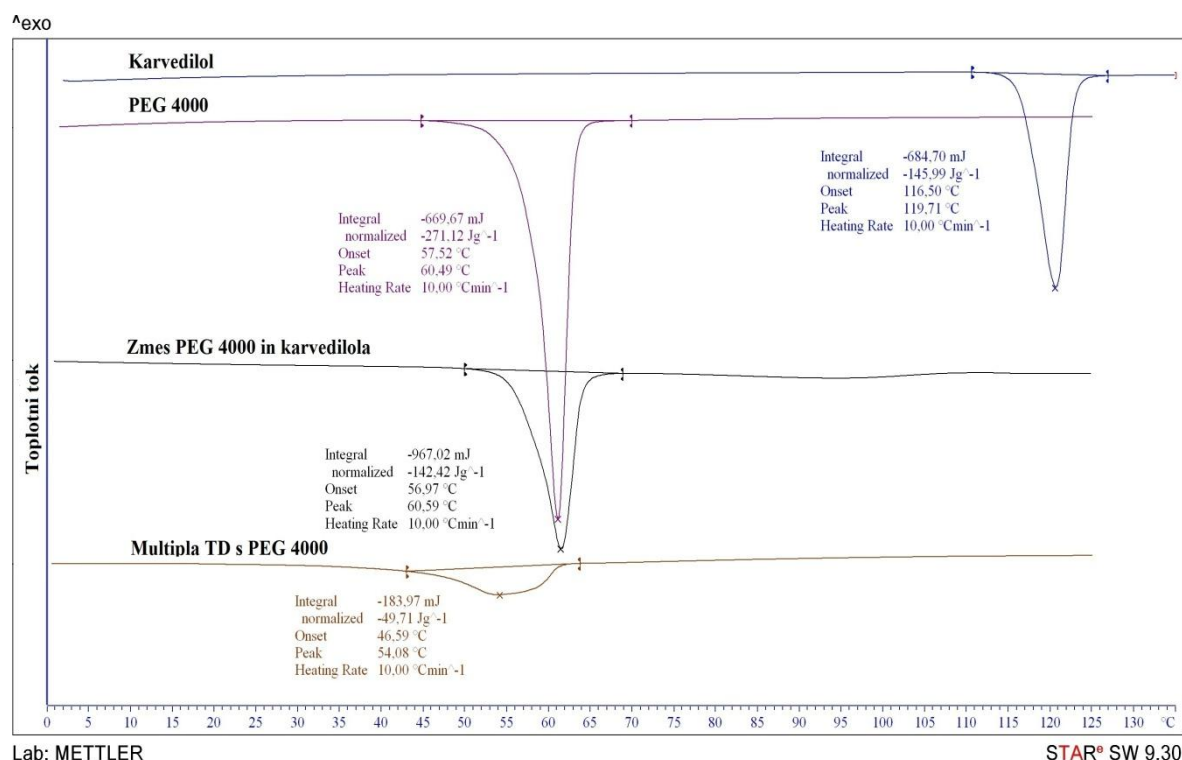
Slika 29: Raztapljanje karvedilola, sproščanje karvedilola iz raztopine s PEG 4000 in iz multiple trdne disperzije s Syloidom 244FP v mediju s pH = 6.8

Slika 29 prikazuje primerjavo raztapljanja kristalne oblike karvedilola, učinkovine iz trdne disperzije karvedilola v PEG 4000 ter iz multiple trdne disperzije s PEG 4000 in s Syloidom 244 FP v mediju s pH = 6.8. Tudi v tem primeru smo s izdelavo multiplih TD povečali hitrost in obseg raztapljanja, saj se tako iz raztopine karvedilola v PEG 4000 kot iz multiple TD s PEG 4000 tekom preizkusa sprosti več kot 95 % učinkovine, medtem ko se raztopi le okrog 20 % učinkovine v kristalni obliki. Rezultati preizkusa raztapljanja so najbolj primerljivi z rezultati, ki smo jih dobili pri uporabi PEG 400 kot pomožne snovi. V obeh primerih se profil sproščanja multiple trdne disperzije z izbrano PS ter profil sproščanja raztopine karvedilola v PS v mediju s pH = 6.8 ne ujemata tako dobro kot v

mediju s $\text{pH} = 1.2$. Karvedilol se iz multiple TD sprošča enakomerno in v dveh urah doseže 95 %, medtem ko se karvedilol iz raztopine sprostí hitro in že po 15 min doseže 90 % sproščene učinkovine ter počasi tekom preizkusa doseže maksimum sproščene učinkovine, in sicer 95 %. Razliko bi lahko pripisali upočasnjeni difuziji PEG 4000 in učinkovine iz por.

4.2.3.2 DSC analiza

Na sliki 30 so prikazane DSC krivulje karvedilola, PEG 4000, raztopine karvedilola v PEG 4000 ter multiple trdne disperzije s PEG 400. Glede na krivulje na sliki 30 lahko podamo oceno temperature tališča posameznih snovi in sicer tališče karvedilola pri $116,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, PEG 4000 pri $57,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, raztopine karvedilola v PEG 4000 pri $57,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter v multipli TD s PEG 4000 pri $46,6\text{ }^{\circ}\text{C}$.



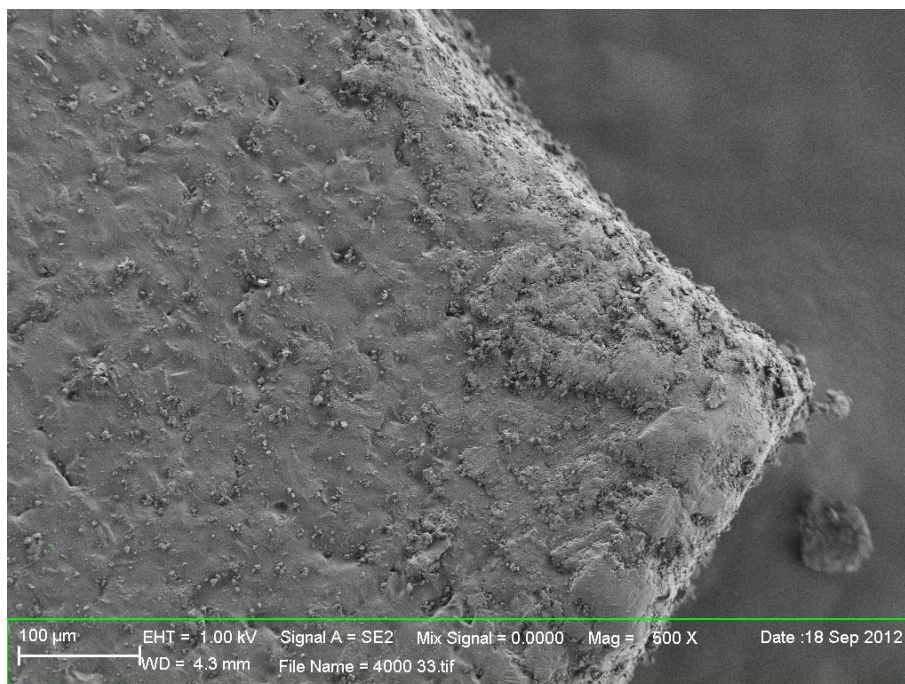
Slika 30: DSC krivulje karvedilola, PEG 4000, zmesi PEG 4000 in karvedilola ter multiple TD s PEG 4000

Za razliko od DSC krivulj pomožni snovi, raztopin karvedilola v PS ter multipli TD (slika 18, slika 24) na tej sliki ne vidimo vrhov, ki bi predstavljali endotermne pretvorbe

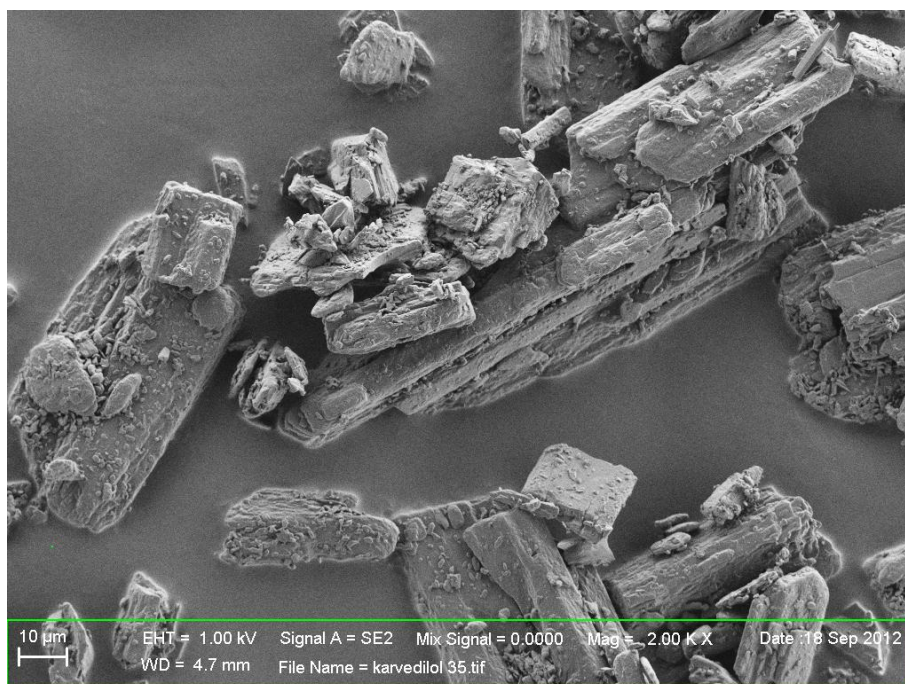
trdno-trdno. Poleg tega se po dodatku karvedilola PEG 4000 ne spremeni temperatura tališča, saj sta temperaturi tališča čistega PEG 4000 in disperzije karvedilola v PEG 4000 (200 mg/g) praktično enaki. Tališče se zniža samo v primeru formulacije multiple TD, in sicer s 57,5 °C, kolikor znaša temperatura tališča čistega PEG 4000, na 46,6 °C za multiplo TD s PEG 4000. Tudi tukaj opazimo odsotnost talilnega vrha za karvedilol na krivulji raztopine karvedilola v PEG 4000 in multiple TD s PEG 4000, zato predvidevamo, da se v teh dveh primerih učinkovina nahaja v amorfni obliki oziroma je raztopljena v polietilenglikolu.

4.2.3.3 Morfologija delcev

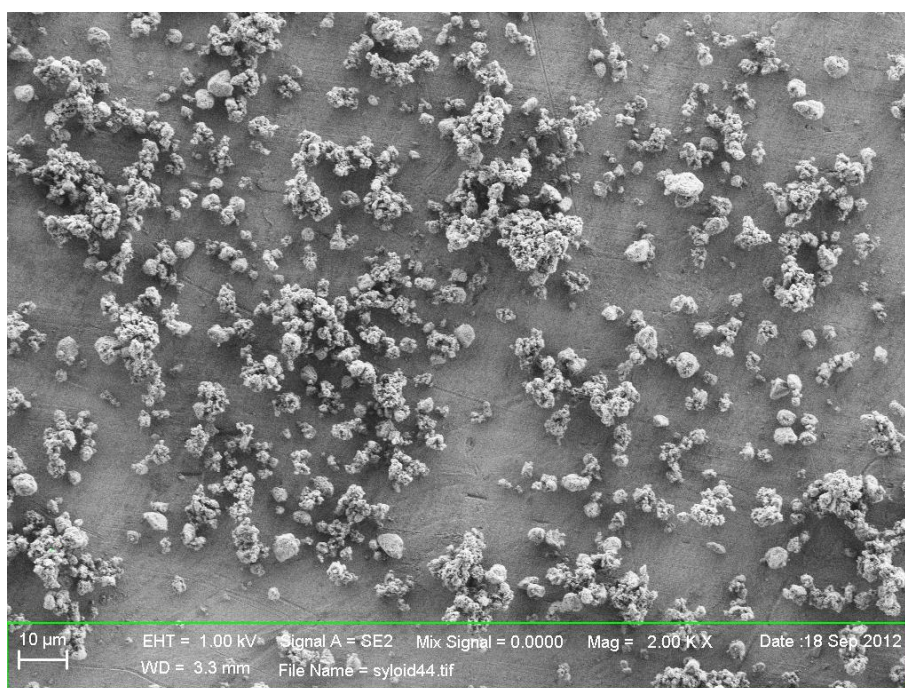
Slika 31 prikazuje delce PEG 4000, slika 32 kristalno obliko delcev karvedilola, slika 33 delce Syloida 244 FP, na sliki 34 pa lahko vidimo delce multiple trdne disperzije s PEG 4000 kot pomožno snovjo. Vse slike so posnete z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM) pri 2000-kratni povečavi.



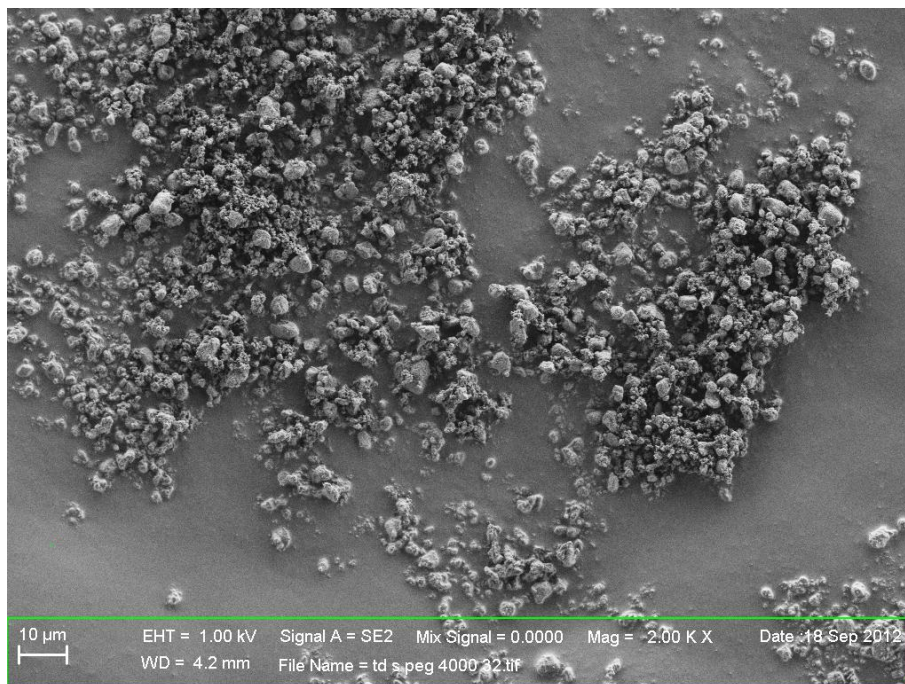
Slika 31: Elektronsko mikroskopska slika delcev PEG 4000



Slika 32: Elektronsko mikroskopska slika kristalnih delcev karvedilola



Slika 33: Elektronsko mikroskopska slika kristalnih delcev Syloida 244 FP



Slika 34: Elektronska mikroskopska slika delcev trdne disperzije s PEG 4000

Pri primerjavi elektronsko mikroskopske slike delcev Syloida 244 FP (Slika 33) in multiple TD s PEG 4000 (slika 34) je opazna sprememba površine delcev, podobno kot pri multiplih TD s PEG 400 in Tween 80, kar bi lahko pripisali napolnjenju por. Na sliki multiple TD s PEG 4000 opazimo, da so delci aglomerirali, za kar je lahko odgovorna disperzija karvedilola v PEG 4000, ki bi lahko pri prehitri ohladitvi in strditvi delovala kot vezivo in povezala delce Syloida 244 FP, namesto da bi se porazdelila v porah. Poleg tega smo že s prostim očesom opazili, da je v vzorcu multiple TD prisotnih več aglomeratov oz. večjih delcev, kot bi želeli. PEG 4000 je pri sobni temperaturi v trdnem agregatnem stanju, njegova temperatura tališča pa znaša 53–56 °C. Poleg tega ima PEG 4000 najvišjo viskoznost od vseh uporabljenih PS, in sicer ta pri temperaturi polnjenja (70 °C) znaša 312 mPa·s brez in 397 mPa·s z dodatkom karvedilola, zaradi česar ima tudi najnižjo hitrost pronicanja od vseh uporabljenih PS. Zaradi visoke viskoznosti bi lahko prišlo do težav pri prodiranju v pore, posledično pa bi se raztopina karvedilola v PEG 4000 lahko vsaj deloma nalagala na površino delcev Syloida 244 FP ter jih pri ohladitvi povezala med seboj. Do ohladitve delcev bi lahko prišlo že med samo izdelavo disperzije, saj nismo mogli zagotoviti, da bi bili čisto vsi delci Syloida 244 FP segreti na vsaj 70 °C. Pri hladnejših delcih (tistih, ki so bili ogreti na temperaturo, nižjo od temperature tališča PEG 4000), bi lahko zaradi hitre ohladitve prišlo do fazne transformacije v trdno agregatno stanje že na

površini Syloida 244 FP. S podobnimi težavami so se srečevali Sher in sodelavci pri polnjenju Accurel MP 100[®] s talino čistega ibuprofena, kjer sta jih prav tako ovirali previsoka viskoznost taline ter hitra fazna transformacija, zaradi česar se je ta nalagala na površino delcev namesto v pore poroznega nosilca (9).

4.2.3.4 Specifična površina (BET metoda adsorpcije dušika)

V preglednici VII so primerjalno zbrani rezultati specifične površine in celokupnega volumna por za Syloid 244 FP in multiplo trdno disperzijo s PEG 4000 kot pomožno snovjo. Tako kot v prejšnjih dveh primerih je iz rezultatov razvidno, da je specifična površina vzorca multiple TD veliko manjša od specifične površine vzorca Syloida 244 FP, vendar manj, kot je bila zmanjšana specifična površina delcev multiple TD s PEG 400 ali Tween 80 (Preglednica V, VI). Sklepamo, da je za manjšo specifično površino vzorca odgovorno napolnjenje por z raztopino karvedilola v PEG 4000. Razlog za večje zmanjšanje specifične površine v primeru multiple TD s PEG 400 in multiple TD s Tween 80 je najverjetneje večja viskoznost raztopine karvedilola v PEG 4000, zaradi česar ta težje prodira v pore Syloida 244 FP ter se v manjši meri porazdeli tudi po površini delcev, kar je bilo odgovorno za tvorbo aglomeratov. Poleg omenjenega je prišlo tudi do adhezije na stene posode, zaradi česar je prišlo do izgub. Zaradi nalaganja raztopine karvedilola v PEG 4000 na površino delcev Syloida 244 FP ter nastanka aglomeratov bi lahko tudi predpostavili, da je manjše zmanjšanje specifične površine posledica nepopolno napolnjenih por, saj se je lahko raztopina strdila še preden je popolnoma prodrla v pore.

Preglednica VII: BET analize Syloida 244 FP in multiple TD s PEG 4000

	Syloid 244 FP0	multipla TD s PEG 4000
Specifična površina [m²/g]	331,1491	46,2424
Skupni volumen por [cm³/g]	1,550498	0,250610

Poleg zmanjšane specifične površine smo ugotovili tudi manjši celokupni volumen por, kar prav tako nakazuje na to, da so se pore Syloida 244 FP v manjši meri zapolnile z raztopino karvedilola v PEG 4000 kot v primeru drugih dveh proučevanih mutiplih disperzij.

5 SKLEP

Z izdelavo trdnih disperzij s poroznim nosilcem smo izboljšali raztapljanje modelne učinkovine in s tem verjetno tudi njeno biološko uporabnost. Učinkovina se je iz vseh disperzij sproščala v večjem obsegu in hitreje v primerjavi z njeno kristalno obliko (najbolje s PEG 400 in Tween 80 ter manj s PEG 4000). Hkrati je bilo raztapljanje učinkovine iz trdne disperzije primerljivo z raztapljanjem iz raztopine učinkovine v pomožni snovi. Izboljšano sproščanje učinkovine iz multiplih trdnih disperzij je lahko posledica amorfizacije učinkovine, zmanjšanja delcev in s tem povečane specifične površine ter izboljšanja močljivosti.

S pomočjo termične analize (DSC) smo ugotovili, da se v primeru izdelave multiple trdne disperzije ter pri raztopini karvedilola v pomožni snovi pri vseh formulacijah učinkovina nahaja v amorfni obliki. Poleg tega rezultati termičnih lastnosti multiplih trdnih disperzij kažejo, da je učinkovina tudi v porah raztopljena v pomožni snovi.

Tudi pri vrednotenju multiplih trdnih disperzij z elektronskim mikroskopom smo ugotovili, da so si disperzije med seboj primerljive. Pri primerjavi elektronskih mikroskopskih slik multiplih trdnih disperzij (z vsemi pomožnimi snovmi) ter elektronskih mikroskopskih slik Syloida 244 FP nismo opazili bistvenega povečanja velikosti delcev ali izrazitih sprememb na površini delcev, kar nakazuje na to, da se je raztopina karvedilola v izbrani PS porazdelila pretežno v pore Syloida 244 FP. Izjema je bila le multipla trdna disperzija s PEG 4000, kjer so delci tudi aglomerirali. Zaradi visoke viskoznosti in visoke temperature tališča PEG 4000 bi lahko prišlo do težav pri prodiranju v pore, zaradi česar bi se raztopina karvedilola v PEG lahko vsaj deloma nalagala na površini delcev Syloida 244 FP ter jih pri ohladihvi povezala med seboj.

Glede na rezultate merjenja specifične površine lahko rečemo, da je multipla trdna disperzija s Tween 80 pokazala najboljše rezultate. Njena specifična površina se je v primerjavi s specifično površino Syloida 244 FP najbolj zmanjšala, kar je lahko povezano z njenim najboljšim prodiranjem v pore, medtem ko je multipla trdna disperzija s PEG 4000 pokazala najmanjše zmanjšanje specifične površine. PEG 4000 je zaradi svoje visoke viskoznosti ter visoke temperature tališča predstavljala pomožno snov, ki je najtežje prodirala v pore Syloida 244 FP. Posledično je bilo sproščanje učinkovine iz te multiple trdne disperzije najmanj izboljšano.

6 LITERATURA

1. Dhirendra K, Lewis S, Udupa N, Atin K. Solid dispersions: A review. *Pak J Pharm Sci* 2009; 22(2): 234–246.
2. Tiwari R, Tiwari G, Srivastava B, Rai AK. Solid Dispersions: An Overview to Modify Bioavailability of Poorly Water soluble Drugs. *Int J Pharm Tech Res* 2009; 1: 1338–1349.
3. Leuner C, Dressman D. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersion. *Eur J Pharm Biopharm* 2000; 50: 47–60.
4. Dannenfelser RM, He H, Joshi Y et al. Development of Clinical Dosage Forms for a Poorly Water Soluble Drug I: Application of Polyethylene Glicol-Polysorbate 80 Solid Dispersion Carrier System. *J Pharm Sci* 2004; 93: 1165–1175.
5. The Biopharmaceutics Classification System (BCS) Guidance. Dostopno na (12.9. 2012):
<http://www.fda.gov/AboutFDA/CentersOffices/OfficeofMedicalProductsandTobacco/CDER/ucm128219.htm>
6. Ghaste RP, Chougule DD, Shah RR, Ghodake DS. Solid dispersion: An overview. *Pharmainfo.net*. Dostopno na: <http://www.pharmainfo.net/reviews/solid-dispersions-overview> (november, 2009).
7. Planinšek O. Sodobni pristopi k izdelavi trdnih disperzij z izboljšano biološko uporabnostjo učinkovin. *Farm Vest* 2009; 53: 169–176.
8. Watanabe T, Wakiyama N, Usui F, Ikeda M, Isobe T, Senna M. Stability of amorphous indomethacin compounded with silica. *Int J Pharm* 2001; 226: 81–91.
9. Sher P, Ingavle G, Ponrathnam S, Pawar AP. Low density porous carriers based conceptual drug delivery system. *Microporous and Mesoporous Materials* 2007; 102: 290–298.
10. Breitenbach J. Melt extrusion: from process to drug delivery technology. *Eur J Pharm Biopharm* 2002, 54: 107–117.
11. Chokshi R, Hossein Z. Hot-Melt Extrusion Technique: A Review. *Iranian J Pharm Research* 2004, 3: 3–16.
12. Ilić I, Dreu R, Burjak M, Homar M, Kerč J, Srčić S. Microparticle size control and glimepiride microencapsulation using spray congealing technology. *Int J Pharm* 2009; 381: 176–183.

13. Seo A, Schaefer T. Melt agglomeration with polyethylene glycol beads at a low impeller speed in a high shear mixer. *Eur J Pharm Biopharm* 2001; 52: 315–325.
14. Vilhelmsen T, Eliassen H, Schaefer T. Effect of a melt agglomeration process on agglomerates containing solid dispersions. *Int J Pharm* 2005; 303: 132–142.
15. Schaefer T, Mathiesen C. Melt pelletization in a high shear mixer IX. Effects of binder particle size. *Int J Pharm* 1996; 139: 139–148.
16. Paudel A et al. Manufacturing of solid dispersion of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations. *Int J Pharmaceut* (2012). Dostopno na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.07.015>
17. Tsinontides SC, Rajniak P, Pham D, Hunke WA, Placek J, Reynolds SD. Freeze drying – principles for successful scale up to manufacturing. *Int J Pharm* 2004; 280: 1–16.
18. Taki S, Badens E, Charbit G. Controlled release system formed by supercritical anti-solvent coprecipitation of a herbicide and a biodegradable polymer. *J Supercrit Fluids* 2001; 21: 61–70.
19. Neamnark A, Rujiravanit R, Supaphol P. Electrospinning of hexanoyl chitosan. *Carbohydrate Polymers* 2006; 66: 298–305.
20. Bahl D, Bogner RH. Amorphization of Indomethacin by Co-grinding with Neusilin US2: Amorphization Kinetics, Physical Stability and Mechanism. *Pharmaceutical Research* 2006; 23,10.
21. Seth NS. Formulation and Evaluation of Solid Dispersion of Olanzapine. *Int J Pharm Sci Reas* 2011; 2(3): 691–697.
22. Patil P, Paradkar A. Porous Polystyrene Beads as Carriers for Self-Emulsifying System Containing Loratidine. *AASP Pharm Sci Tech* 2006; 1, Article 28.
23. Serajuddin ATM. Solid dispersions of Poorly Water-Soluble Drugs: Early Promises, Subsequent Problems, and Recent Breakthroughs. *J Pharm Sci* 1999; 88: 1058–1066.
24. Zajc N, Obreza A, Bele M, Srčić S. Physical Properties and Dissolution Behaviour of nifedipine/mannitol solid dispersion prepared by hot melt method. *Int J Pharm* 2005; 291: 51–58.
25. Akhtar N, Ahmad M, Kahn HMS, Akram J, Mahmood A, Uzair M. Formulation and characterization of a multiple emulsion containing 1% L-ascorbic acid. *Bull. Chem. Soc. Ethiop* 2010; 24 (1): 1–10.

26. Muzzio F. Formulation and Manufacture of Pharmaceuticals by Impregnation onto Porous Carriers. Rutgers Technology: 10–093. Dostopno na: <http://otc.rutgers.edu/pdf/Muzzio-10-093.pdf>.
27. Cense AW, Berg S. The viscous-capillary paradox in 2-phase flow in porous media. Predavanja za emdnarodni simpozij Society of Core Analysts, Noordwijk, Nizozemska, september, 2009.
28. Bragard J, Lebon G. Capillary Ascension in Porous MEdia: A Scaling Law. Transport in Porous Media 1994; 16: 253–261.
29. Inštitut za biofiziko. Predavanja za Vajo 2: Površinska napetost. Dostopno na: <http://biofiz.mf.uni-lj.si/studij/literatura/vaja2.pdf>
30. Fakulteta za Farmacijo. Vaje iz fizikalne farmacije. 3. vaja: Močenje, medfazna napetost, prosta površinska energija in koeficient razprostiranja. 2009.
31. DrugBank. Carvedilol. Dostopno na: <http://www.drugbank.ca/drugs/DB01136>
32. Carvedilol. European Pharmacopoeia, 7th Ed.
33. SmPC (Povzetek glavnih značilnosti zdravila) za Dilatrend[®] tablete. Dostopno na: <http://www.zdravila.net/> (junij, 2011)
34. SmPC (Povzetek glavnih značilnosti zdravila) za Coryol[®] tablete. Dostopno na: <http://www.zdravila.net/> (marec, 2011)
35. Syloid[®] 244 FP, Grace Davison Discovery Science. Product description. Dostopno na: http://www.discoverysciences.com/uploadedFiles/Preparative_and_Process/M318_Syloid244FP_EU.pdf
36. European Pharmacopoeia 7th Edition, 2.9.3 Dissolution test for solid dosage forms; 256–263.
37. Particle and surface Science Pty. Limited. Opis aparature TriStar 3000. Dostopno na: http://www.particleandsurfacesciences.com/products/micromeritics/equip_surface_area/3000/3000.html
38. Planinšek O, Kovačič B, Vrečar F. Carvedilol dissolution improvement by preparation of solid dispersion with porous silica. Int J Pharm 2011; 406: 41–48.