

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

IZTOK DOVNIK

DIPLOMSKA NALOGA

UNIVERZITETNI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2013

Univerza v Ljubljani
*Fakulteta za **farmacijo***



IZTOK DOVNIK

**IZDELAVA IN VREDNOTENJE TRDNIH DISPERZIJ
KARVEDILOLA V MEZOPOROZNIH NOSILCIH, IZDELANIH
Z METODO SUŠENJA Z RAZPRŠEVANJEM**

**PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF
CARVEDILOL SOLID DISPERSIONS IN MESOPOROUS
CARRIERS USING SPRAY DRYING METHOD**

Ljubljana, 2013

Diplomsko delo sem opravljal na Fakulteti za farmacijo, na Katedri za farmacevtsko tehnologijo pod mentorstvom prof. dr. Odonu Planinška mag. farm. in somentorstvom asist. dr. Ilije Ilića mag. farm..

Zahvala

Zahvaljujem se mentorju prof. dr. Odonu Planinšku in somentorju asist. dr. Iliji Iliću za vse strokovne nasvete in razprave o problemih, s katerimi smo se srečevali tekom izvajanja diplomske naloge. Prav tako bi se zahvalil vsem zaposlenim na Katedri za farmacevtsko tehnologijo, ki so mi kakorkoli pomagali pri izvedbi diplomske naloge.

Zahvaljujem se farmacevtskemu podjetju Krka d. d., ki mi je s podelitvijo štipendije omogočila kvalitetnejše izobraževanje v vseh pogledih.

Posebna zahvala gre očetu Miranu, mami Jani, bratu Samotu, dedku Jožetu, dekletu Samanti in ostalim sorodnikom. Z vašo pomočjo, podporo in spodbudo sem dosegel zastavljene cilje.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelal pod mentorstvom prof. dr. Odonu Planinška mag. farm. in somentorstvom asist. dr. Ilije Ilića mag. farm..

Iztok Dovnik

KAZALO VSEBINE

KAZALO VSEBINE	I
KAZALO SLIK	II
KAZALO PREGLEDNIC	IV
KAZALO ENAČB	VI
SEZNAM OKRAJŠAV	VI
POVZETEK	VII
ABSTRACT	VIII
1. UVOD	1
1.1. Polimorfne modifikacije karvedilola	2
1.2. Porozni nosilni material za izdelavo trdnih disperzij	3
1.2.1.1. Kristalno vezana voda v Neusilinu	4
1.3. Trdne disperzije	4
1.3.1. Prednosti trdnih disperzij	5
1.3.2. Pomanjkljivosti trdnih disperzij	5
1.3.3. Metode priprave trdnih disperzij	5
1.3.3.1. METODE TALJENJA	6
1.3.3.2. METODE IZHLAPEVANJA TOPILA	8
1.3.4. Proučevanje trdnih disperzij	10
1.4. Mehanizem polnjenja por nosilca	11
1.5. Brunauer, Emmett in Teller (BET) metoda	13
2. NAMEN DELA	16
3. MATERIALI IN METODE	17
3.1. Materiali	17
3.2. APARATURE	21
3.3. METODE	22
3.3.1. Določanje maksimalne topnosti učinkovine pri različnih pH vrednostih	22
3.3.2. Izdelava trdnih disperzij	22
3.3.3. Pospešen test stabilnosti	22
3.3.4. Določanje vsebnosti učinkovine v trdnih disperzijah	23

3.3.5.	Diferenčna dinamična kalorimetrija (DSC).....	23
3.3.6.	Termogravimetrična analiza (TGA)	23
3.3.7.	Preizkus raztapljanja.....	23
3.3.8.	Morfološke lastnosti delcev (SEM).....	24
3.3.9.	Merjenje prave gostote	24
3.3.10.	Merjenje specifične površine in celokupnega volumna por (BET).....	24
3.3.11.	Stiskanje tablet.....	24
3.3.12.	Določanje močenja (stični kot).....	25
4.	REZULTATI IN RAZPRAVA	26
4.1.	Maksimalna topnost učinkovine.....	26
4.2.	Izdelava trdnih disperzij	26
4.3.	Vsebnost učinkovine v trdnih disperzijah	26
4.4.	Določanje kristaliničnosti ZU v trdnih disperzijah	29
4.5.	Morfološke lastnosti	30
4.6.	Raztapljanje trdnih disperzij.....	32
4.7.	Prave gostote trdnih disperzij	37
4.8.	Specifična površina, distribucija, volumen in napolnjenost por z učinkovino....	38
4.9.	Močenje trdnih disperzij.....	39
4.10.	Stabilnost trdnih disperzij.....	40
4.11.	Primerjava TD karvedilola z Neusilinom US2 in UFL2	43
4.12.	Tabletiranje trdne disperzije	44
5.	SKLEP.....	46
	LITERATURA	47
	PRILOGA.....	IX

KAZALO SLIK

Slika 1:	BCS klasifikacija zdravil.....	1
Slika 2:	Mehanizem adsorpcije plina v pore.	13
Slika 3:	Adsorpcijske izoterme.....	14
Slika 4:	Tipi histereznih zank	15
Slika 5:	TGA analiza Neusilina US2.....	27
Slika 6:	TGA analiza karvedilola.	27

Slika 7: TGA analiza TD ZU : US2 = 1 : 1.....	28
Slika 8: DSC krivulje TD karvedilola z US2.	29
Slika 9: DSC krivulje TD karvedilola z US2 izdelanih pri manjšem V acetona.....	30
Slika 10: Kristalna oblika karvedilola.	30
Slika 11: Morfološke lastnosti Neusilina US2 in TD karvedilola z Neusilinom US2.	31
Slika 12: Morfološke lastnosti TD karvedilola z Neusilinom US2 izdelanih pri manjšem V acetona.	31
Slika 13: Raztapljanje čiste učinkovine in fizikalne zmesi z US2.	32
Slika 14: Raztapljanje TD karvedilola z Neusilinom US2 v pH = 1,2.....	33
Slika 15: Raztapljanje TD karvedilola z Neusilinom US2 v pH = 6,8.....	33
Slika 16: Raztapljanje TD ZU : US2 = 1 : 1 izdelanih pri manjšem V acetona v pH = 1,2.34	
Slika 17: Raztapljanje TD ZU : US2 = 1 : 1 izdelanih pri manjšem V acetona v pH = 6,8.35	
Slika 18: Raztapljanje TD ZU : US2 = 3 : 1 izdelanih pri manjšem V acetona v pH = 1,2.35	
Slika 19: Raztapljanje TD ZU : US2 = 3 : 1 izdelanih pri manjšem V acetona v pH = 6,8.36	
Slika 20: Primerjava prave gostote in vsebnosti karvedilola v TD z Neusilinom US2.....	38
Slika 21: DSC krivulje TD karvedilola z Neusilinom US2 po izpostavitvi povišani T in RV za šest tednov.....	40
Slika 22: DSC krivulje TD karvedilola z Neusilinom US2 po izpostavitvi povišani T in RV za deset tednov.....	41
Slika 23: Raztapljanje TD ZU : US2 = 1 : 1 v pH = 6,8 po testiranju stabilnosti.	42
Slika 24: Raztapljanje TD ZU : US2 = 2 : 1 v pH = 6,8 po testiranju stabilnosti.	42
Slika 25: Raztapljanje TD ZU : US2 = 3 : 1 v pH = 6,8 po testiranju stabilnosti.	43
Slika 26: Raztapljanje učinkovine iz izdelanih tablet v pH = 1,2.	44
Slika 27: Raztapljanje učinkovine iz izdelanih tablet v pH = 6,8.	45
Slika 28: TGA analiza TD ZU : US2 = 1 : 2.....	IX
Slika 29: TGA analiza TD ZU : US2 = 1 : 2.....	IX
Slika 30: TGA analiza TD ZU : US2 = 2 : 1.....	IX
Slika 31: TGA analiza TD ZU : US2 = 3 : 1.....	X
Slika 32: TGA analiza TD ZU : UFL2 = 1 : 1.....	X
Slika 33: TGA analiza TD ZU : UFL2 = 1 : 2.....	X
Slika 34: TGA analiza TD ZU : UFL2 = 1 : 3.....	XI
Slika 35: TGA analiza TD ZU : UFL2 = 2 : 1.....	XI
Slika 36: TGA analiza TD ZU : UFL2 = 3 : 1.....	XI

Slika 37: TGA analiza Neusilina UFL2.	XII
Slika 38: DSC krivulje TD karvedilola z Neusilinom UFL2.	XIII
Slika 39: DSC krivulje TD karvedilola z Neusilinom UFL2 izdelanih pri manjšem V acetona.	XIII
Slika 40: Morfološke lastnosti Neusilina UFL2 in TD karvedilola z Neusilinom UFL2.	XIII
Slika 41: Morfološke lastnosti T karvedilola z UFL2 izdelanih pri manjšem V acetona.	XIV
Slika 42: Raztapljanje učinkovine in fizikalne zmesi učinkovine z UFL2.	XIV
Slika 43: Raztapljanje TD karvedilola z Neusilinom UFL2 v pH = 1,2.	XIV
Slika 44: Raztapljanje TD karvedilola z Neusilinom UFL2 v pH = 6,8.	XV
Slika 45: Raztapljanje TD ZU : UFL2 = 1 : 1 izdelanih pri manjšem V acetona v.	XV
Slika 46: Raztapljanje TD ZU : UFL2 = 1 : 1 izdelanih pri manjšem V acetona v pH = 6,8.	XV
Slika 47: Raztapljanje TD ZU : UFL2 = 3 : 1 izdelanih pri manjšem V acetona v pH = 1,2.	XVI
Slika 48: Raztapljanje TD ZU : UFL2 = 3 : 1 izdelanih pri manjšem V acetona v pH = 6,8.	XVI
Slika 49: Primerjava prave gostote in vsebnosti karvedilola v TD z UFL2.	XVII
Slika 50: DSC krivulje TD karvedilola z Neusilinom UFL2 po izpostavitvi povišani T in RV za šest tednov.	XVIII
Slika 51: Raztapljanje TD ZU : UFL2 = 1 : 1 v pH = 6,8 po testiranju stabilnosti.	XVIII
Slika 52: Raztapljanje TD ZU : UFL2 = 2 : 1 v pH = 6,8 po testiranju stabilnosti.	XVIII
Slika 53: Raztapljanje TD ZU : UFL2 = 3 : 1 v pH = 6,8 po testiranju stabilnosti.	XIX

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica I: Možni pristopi izboljšanja raztapljanja zdravilnih učinkovin.	2
Preglednica II: Polimorfne oblike karvedilola, tališča in načini priprave.	2
Preglednica III: Generacije trdnih disperzij.	4
Preglednica IV: Metode priprave trdnih disperzij.	6
Preglednica V: Glavni parametri procesa sušenja z razprševanjem.	10
Preglednica VI: Raziskave na področju TD.	11
Preglednica VII: Kemijske lastnosti karvedilola.	17
Preglednica VIII: Lastnosti Neusilin.	18

Preglednica IX: Izkoristki izdelave (%) TD karvedilola z Neusilinom US2.	26
Preglednica X: Določene vsebnosti učinkovine (%) v TD karvedilola z Neusilinom US2 z UV-VIS in TGA.	28
Preglednica XI: Določene vsebnosti (%) v TD karvedilola z Neusilinom US2 izdelanih pri manjšem V acetona z UV-VIS.	29
Preglednica XII: Deleži (%) raztopljene učinkovine iz TD karvedilola z Neusilinom US2.	36
Preglednica XIII: Deleži (%) raztopljene učinkovine iz TD karvedilola z US2 izdelanih pri različnih V acetona.	37
Preglednica XIV: Prave gostote učinkovine, Neusilina US2 in izdelanih TD karvedilola z Neusilinom US2.	37
Preglednica XV: Specifična površina, distribucija, volumen in napolnjenost por z učinkovino.	38
Preglednica XVI: Spreminjanje stičnega kota ($x \pm SD^\circ$) TD s časom ob uporabi tekočin z dodatkom različnih PAS.	40
Preglednica XVII: Deleži (%) raztopljene učinkovine iz TD z US2 in UFL2 ob času 0 ter po 6 in 10 tednih izpostavljenosti povišani T in RV.	43
Preglednica XVIII: Izkoristki izdelave (%) TD karvedilola z Neusilinom UFL2.	XII
Preglednica XIX: Določene vsebnosti učinkovine (%) v TD karvedilola z Neusilinom UFL2 z UV-VIS in TGA.	XII
Preglednica XX: Določene vsebnosti (%) v TD karvedilola z Neusilinom UFL2 izdelanih pri manjšem V acetona z UV-VIS.	XII
Preglednica XXI: Deleži (%) raztopljene učinkovine iz TD karvedilola z Neusilinom UFL2.	XVI
Preglednica XXII: Deleži (%) raztopljene učinkovine iz TD karvedilola z Neusilinom UFL2 izdelanih pri manjšem V acetona.	XVII
Preglednica XXIII: Prave gostote učinkovine, Neusilina UFL2 in izdelanih TD karvedilola z Neusilinom UFL2.	XVII
Preglednica XXIV: Deleži (%) raztopljene učinkovine iz TD karvedilola z Neusilinom UFL2 ob času 0 ter po 6 in 10 tednih izpostavljenosti povišani T in RV.	XIX

KAZALO ENAČB

Enačba 1: Modificirana Noyes-Whitneyeva enačba.	1
Enačba 2: Kapilarno število.....	12
Enačba 3: Darcy-jev transport tekočin v porozne materiale.....	12
Enačba 4: Jurinov zakon.....	12
Enačba 5: BET enačba.....	14
Enačba 6: Specifična površina por.	14
Enačba 7: Velikost por.	15
Enačba 8: Velikost por izračunana po BJH modelu.....	15

SEZNAM OKRAJŠAV

PAS	površinsko aktivna snov
SES	samoemulgirajoči sistem
SMES	samomikroemulgirajoči sistem
IUPAC	mednarodna zveza za čisto in uporabno kemijo
HPMC	hidroksipropilmetilceluloza
PEG	polietilen glikol
PVP	polivinilpirolidon
BET	Brunauer–Emmett–Teller metoda
BJH	Barrett- Joyner-Halenda model
ZU	zdravilna učinkovina
TGA	termogravimerija
DSC	diferenčna dinamična kalorimetrija
SEM	vrstični elektronski mikroskop
RV	relativna vlažnost
SDS	natrijev dodecilsulfat
CTAB	cetiltrimetil amonijev bromid
TD	trdna disperzija
c	koncentracija
T_g	temperatura steklastega prehoda
V	volumen

POVZETEK

V zadnjem času se odkriva veliko slabo vodotopnih zdravilnih učinkovin. Eden izmed pogosto uporabljenih fizikalnih pristopov, s katerim lahko izboljšamo profil raztapljanja slabo vodotopne učinkovine, je izdelava trdne disperzije. Namen diplomskega dela je bil izboljšati profil raztapljanja karvedilola, ki ga po biofarmacevtski klasifikaciji zdravil (BCS) uvrščamo v II. razred (slaba topnost, dobra permeabilnost). Trdne disperzije smo izdelali z metodo sušenja z razprševanjem. Uporabili smo mezoporozen Neusilin US2 in UFL2 ter organsko topilo aceton, v katerem smo pred dodatkom nosilcev in razprševanjem raztopili učinkovino. Spreminjali smo razmerje med zdravilno učinkovino in nosilcem (1 : 3, 1 : 2, 1 : 1, 2 : 1 in 3 : 1) in volumen acetona (100, 50 in 30 ml). Med procesom razprševanja se je kristalna oblika učinkovine pretvorila v amorfno obliko in se vgradila v pore nosilca. Izdelane trdne disperzije smo vrednotili z metodami SEM (vrstični elektronski mikroskop), DSC (diferenčna dinamična kalorimetrija) in BET (Brunauer-Emmett-Teller) ter jim določili helijeve gostote, močenje in fizikalno stabilnost. Ugotovili smo, da sta bila v procesu izdelave prisotna dva neželena procesa – nalaganje delcev učinkovine na površino nosilnega materiala in aglomeracija delcev. Proces sta bila bolj izrazita pri trdnih disperzijah z višjim deležem zdravilne učinkovine. Zaradi tega so imele te trdne disperzije v primerjavi s tistimi z nižjim deležem zdravilne učinkovine slabši profil raztapljanja in niso izkazovale stabilnosti, saj se je določen delež amorfne oblike učinkovine po šestih tednih izpostavljenosti povišani temperaturi ($T = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$) in relativni vlagi (75 %) pretvoril v dve različni kristalni obliki. Proučevanje vpliva manjšega volumna acetona, v katerem pred razprševanjem raztopimo učinkovino, je pokazalo, da se je pri trdnih disperzijah z manjšim deležem učinkovine v pore nosilnega materiala vgradilo več učinkovine, ki je imela tudi boljši profil raztapljanja. Iz trdne disperzije z razmerjem nosilca US2 in zdravilne učinkovine 1 : 1 smo izdelali tablete, ki so ustrezale vsebnosti enega odmerka učinkovine (25 mg). Učinkovina iz tablet je imela podoben profil sproščanja kot učinkovina v trdni disperziji. S tem smo pokazali, da priprava končne farmacevtske oblike iz izdelanih trdnih disperzij omogoči peroralno aplikacijo slabo vodotopnih učinkovin.

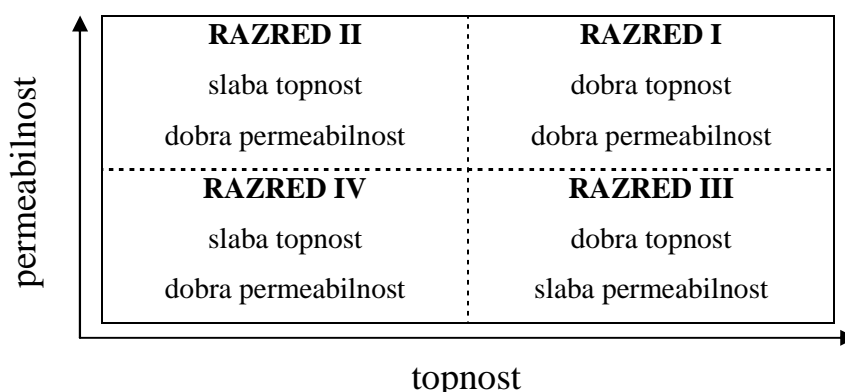
ABSTRACT

There has been an increase in the discoveries of poorly water-soluble drugs. The preparation of solid dispersion is a state of the art physical method to improve the dissolution profile of poorly water-soluble drugs. The aim of our thesis was to improve the dissolution profile of carvedilol, which is according to Biopharmaceutics Classification System (BCS) a class II drug (low solubility, high permeability). Solid dispersions were prepared with the spray drying method. We used mesoporous carriers Neusilin US2 and UFL2 and organic solvent acetone, which was used to dissolve the drug before the spray drying process and the addition of the carriers. We used different drug-carrier ratio (1:3, 1:2, 1:1, 2:1 and 3:1) and the acetone volume (100, 50 and 30 ml). During the spray process the crystal form of the drug transformed into amorphous form and incorporated itself into the carriers' pores. The characterisation of the prepared solid dispersion was performed with SEM (Scanning electron microscope), DSC (differential scanning calorimetry), BET (Brunauer-Emmett-Teller), true densities, wettability and stability methods. During preparation of solid dispersions we found two unwanted processes – drug particles loading to the surface area of the carrier material and particle agglomeration. Those processes were more noticeable in solid dispersions with a higher drug loads. Such solid dispersions had a worse dissolution profile and were not as stable when compared to the solid dispersions with a lower drug load. This is attributed to a partial transformation of amorphous form of the drug into two different crystal forms after the six weeks exposure to the increased temperature ($T=40^{\circ}\text{C}$) and relative humidity (75%). The influence of a smaller acetone volume, in which we dissolved the drug before spray drying, revealed that there was more drug incorporated into the carrier pores in the solid dispersions at lower drug loads and the dissolution profile of the drug was improved. From the solid dispersion with the ratio of drug and US2 carrier 1:1 we formulated tablets which corresponded to one dose of the drug (25mg). The drug in the tablets had a similar release profile as the drug in the solid dispersions. This led to the conclusion that the formulation of the final pharmaceutical form from the prepared solid dispersions enables the peroral application of poorly water-soluble drugs.

1. UVOD

V današnjem času je peroralna uporaba zdravil med najbolj razširjenimi. Gre za bolniku dobro poznano, enostavno in neinvazivno odmerjanje z nekaj slabostmi. Ob takšni aplikaciji je učinkovina izpostavljena metabolizmu prvega prehoda, pred absorpcijo pa se mora v prebavnem traktu raztopiti. Ker je topnost učinkovine v bioloških medijih poleg njene permeabilnosti najpomembnejši parameter, ki vpliva na biološko uporabnost, predstavlja to velik problem pri učinkovinah, ki so slabo vodotopne (1).

Z metodami kombinatorne kemije in rešetanjem visoke zmogljivosti odkrivamo vedno več v vodi in telesnih tekočinah slabo topnih učinkovin (2). O slabi topnosti govorimo, ko se raztopi manj kot 1 del snovi v 10000 delih vode kar odgovarja koncentraciji pod 100 µg/ml. Glede na topnost in permeabilnost delimo učinkovine po biofarmaceutskem sistemu klasifikacije (ang. Biopharmaceutics Classification System BCS) v 4 razrede, kot je prikazano na sliki 1 (3, 4, 5, 6).



Slika 1: BCS klasifikacija zdravil.

Hitrost raztapljanja opisujemo z modificirano Noyes-Whitneyevo enačbo (7).

$$\frac{dC}{dt} = \frac{D * A * (C_s - C)}{h}$$

Enačba 1: Modificirana Noyes-Whitneyeva enačba.

kjer je dC/dt hitrost raztapljanja učinkovine, A površina, ki je na voljo za raztapljanje, D difuzijski koeficient spojine, C_s topnost spojine v mediju za raztapljanje, C koncentracija spojine ob času t in h debelina difuzijske plasti v stiku s površino delca, ki se raztaplja.

Raztapljanje učinkovine lahko izboljšamo z različnimi fizikalnimi in kemijskimi pristopi (5, 6). Iz enačbe 1 lahko razberemo, da na povečanje hitrosti raztapljanja vpliva zmanjšanje velikosti delcev (\uparrow celokupna površina A), teoretično zmanjšanje debeline difuzijske plasti z zagotavljanjem »sink« pogojev (»sink« pogoji pomenijo, da je C vsaj 10x manjša od C_s , odvisni od permeabilnosti mukoze, sestave in volumna tekočin v prebavnem traktu) ali pa aplikacijo učinkovine po hrani, s čimer podaljšamo čas raztapljanja. Različni pristopi izboljšanja raztapljanja učinkovine so predstavljeni v preglednici I (1, 2).

Preglednica I: Možni pristopi izboljšanja raztapljanja zdravilnih učinkovin.

Kemijski pristopi	Fizikalni pristopi
<ul style="list-style-type: none"> - tvorba soli, - predzdravila 	<ul style="list-style-type: none"> - zmanjševanje velikosti delcev (nanokristali, mletje) - kompleksacija/solubilizacija s ciklodekstrini ali PAS - formulacije z lipidi in PAS (SES ali SMES) - psevdopolimorfi, kokristali - amorfizacija (trdne disperzije) - ustrežnejši pH formulacije - uporaba sotopila

1.1. Polimorfne modifikacije karvedilola

Ob polimorfizmu karvedilola je potrebno omeniti psevdopolimorfizem, saj karvedilol najdemo tudi v obliki hidratov oziroma solvatov. Oblike se med seboj razlikujejo v temperaturi tališča. Večinoma jih pripravimo s kristalizacijo iz različnih topil. Oblike I in II sta monotropni, kar pomeni, da ni nobene temperature, pri kateri bi bili obliki v ravnotežju. V primerjavi z oblikama I in II, karvedilol v obliki hidrata ali solvata dosega hitrejšo absorbcijo in s tem večjo biološko uporabnost. Obliko II smo uporabili pri izdelavi trdne disperzije (TD). Spodnja preglednica II prikazuje prisotne (psevdo)polimorfe karvedilola, njihova tališča in način priprave, s katerim je mogoče določeno obliko izdelati (8, 9, 10, 11, 12, 13).

Preglednica II: Polimorfne oblike karvedilola, tališča in načini priprave.

Oblika	Temperatura tališča	Način priprave (kristalizacija iz topila)
oblika I	- 123-126 °C	- MeOH, etil acetat
oblika II	- 114-115 °C	- MeOH, EtOH absolutni, 1-propanol, izopropanol, n-butanol, etilenglikol, etil-acetat, butil acetat, toluen, izobutil metil keton, aceton/heksan, kloroform/heksan,

		dikloroetan/heksan, EtOH/heksan diklorometan/heksan, THF/heksan,
oblika III	- 100 °C (96-110 °C)	- EtOH/voda, MeOH/voda, piridin/voda, dioksan/voda, heksan/voda
oblika IV	- 104 °C	- raztopimo v metil etil ketonu, ki mu po kapljicah dodajamo cikloheksan
oblika V	- 67 °C (rekristalizacija), 115 °C (tališče)	- raztopimo v metil etil ketonu, ki mu po kapljicah dodajamo heksan
oblika VI karvedilol solvat	- 74 °C (glavni vrh), 112 °C (manjši vrh)	- raztopino v etil acetatu sejemo z obliko II : nastanek oblike VI - sušenje pri 55 °C 16 ur: dobimo obliko II in VI - 4 tedne na sobni temp.: dobimo oblike I, II in VI
oblika VII	- 68,8-72,4 °C - 73 °C (polimorfna modifikacija v obliko II), 114 °C (temperatura tališča oblike II)	- etil acetat/voda
oblika IX	- 94,5-96,2 °C - 80 °C (manjši vrh), 99 °C (glavni vrh)	- etil acetat/voda
karvedilol hemihidrat	- 94-96 °C	- sušenje z razprševanjem (spray congealing): zmes oblike II, MACROGOLA 6000 in PLURONICA F68 - voda, voda/MeOH
karvedilol HCl hidrat	- 118 °C (dehidracija), 135 °C (tališče)	- sol s HCl

1.2. Porozni nosilni material za izdelavo trdnih disperzij

V farmacevtske namene najpogosteje uporabljamo v nevodotopne porozne nosilne materiale, kot so porozni silicijev dioksid (Syloid[®], Sylsya[®]), polipropilenska pena v prahu (Accurel[®]), porozni kalcijev silikat (Florite[®]), porozna keramika, kalcijev karbonat (CaCO₃) in magnezijev aluminometasilikat (Neusilin[®]). Glavne lastnosti poroznih nosilnih materialov so velika specifična površina, na katero se lahko adsorbira učinkovina, velik volumen in ozka porazdelitev velikosti por. Po IUPAC nomenklaturi jih glede na velikost por delimo v tri razrede, in sicer: mikroporozni (od 0,3 do 2 nm), mezoporozni (od 2 do 50 nm) in makroporozni (nad 50 nm) (14). Kljub svoji nevodotopnosti lahko v vodi izkazujejo bodisi hidrofoben bodisi hidrofilen značaj. Hidrofoben značaj omogoča, da jih uporabimo za izdelavo plavajočih dostavnih sistemov ali sistemov z zadržanim sproščanjem učinkovine, hidrofilne pa uporabljamo predvsem za izboljšanje raztapljanja v vodi slabo topnih učinkovin in kot nosilne sisteme encimov (15, 16).

1.2.1.1. Kristalno vezana voda v Neusilinu

Pri določanju vsebnosti TD z Neusilinom s TGA metodo je potrebno upoštevati tudi vodo, ki jo veže Neusilin (vezavna kapaciteto za vodo znaša 2,4-3,1 ml_{vode}/g_{Neusilina}). Delež vode je potrebno odšteti od celokupnega padca mase pri izgorevanju (17). Krupa s sodelavci opisuje prisotnost kristalno vezane vode v Neusilinu. S termogravimetrično analizo v povezavi z masnim detektorjem (TGA-QMS) so izmerili 30 % padec mase vzorca čistega Neusilina pri segrevanju od 25 °C do 800 °C. Neusilin pri segrevanju ni razpadel, zato je padec mase posledica le dehidracije. Izhlapenje vode poteka vse do 500 °C saj so na QMS spektru vidni trije signali (100 °C, 200 °C in 400 °C). Voda je lahko adsorbirana na površino delcev, ujeta med samimi delci ali pa kristalno vezana, na kar kaže signal pri 400 °C (18).

1.3. Trdne disperzije

TD so sestavljene iz najmanj dveh različnih komponent v trdnem agregatnem stanju. Večinoma gre za hidrofilno, inertno, amorfno ali kristalno ogrodje in hidrofobno učinkovino, ki je dispergirana v obliki amorfni ali kristalnih delcev. Glede na dispergirano učinkovino v ogrodju delimo trdne disperzije v več razredov: amorfni oborjeni delci v kristalnem nosilcu, trdna raztopina (kontinuirana, nekontinuirana), enostavna evtektična zmes, amorfna raztopina, amorfna suspenzija, kompleksna spojina ali kombinacija naštetega (1). Glede na tip ogrodja delimo TD v tri generacije prikazane v preglednici III (4, 19, 20):

Preglednica III: Generacije trdnih disperzij.

Generacija	Tip ogrodja	Materiali
1. generacija	kristalno ogrodje	- sečnina - sladkorji - organske kisline
2. generacija	amorfno polimerno ogrodje	- polivinilpirolidon - polimetakrilati - polivinil acetat - polietilen glikol - celulozni derivati - ciklodekstrini
3. generacija	ogrodje iz površinsko aktivne snovi, polimera ali zmesi obojega	- poloksamer 408 - Gelucire 44/14) - Tween 80 - HPMC-poloksamer - inulin

1.3.1. Prednosti trdnih disperzij

Izdelava TD ima številne prednosti pred ostalimi fizikalnimi (solubilizacija, zmanjšanje velikosti delcev) in kemijskimi pristopi (tvorba soli, predzdravila) izboljšanja raztapljanja učinkovine. Solubilizacija učinkovin vodi v izdelavo tekočih farmacevtskih oblik, ki so pri bolnikih manj priljubljene od trdnih farmacevtskih oblik. Z mletjem velikost delcev zmanjšamo na približno 2-5 μm , kar običajno ni dovolj za vidno izboljšanje raztapljanja. Takšni delci imajo slabše pretočne lastnosti in težijo k aglomeraciji. Tvorba soli ni možna pri uporabi nevtralnih učinkovin, prav tako pa je neučinkovita, kadar se sol pretvori v prvotno obliko šibke kisline ali baze ob stiku s fiziološkimi pogoji (21, 22). Po drugi strani ob tvorbi TD na hitrejše raztapljanje učinkovine iz nosilnega materiala vpliva zmanjšanje velikosti delcev in s tem povečanje specifične površine. Ugodno je tudi izboljšano močenje delcev učinkovine zaradi direktnega stika s hidrofилnim ogrodjem in pretvorba kristalne oblike učinkovine v amorfno (23). Posledica vseh teh lastnosti TD je povečana hitrost raztapljanja in metastabilna topnost, kar vodi v povečano absorpcijo ter možnost zmanjšanja predsistemskega metabolizma (1).

1.3.2. Pomanjkljivosti trdnih disperzij

Pri izdelavi in uporabi trdnih disperzij se soočimo tudi z nekaterimi problemi. Med te uvrščamo: nedefinirano in drago izdelavo (povišana temperatura vpliva na razgradnjo učinkovine, velika poraba topil, ki so lahko toksična), težave pri povečanju proizvodne serije (ang. »scale-up«), težave pri izdelavi ustrezne farmacevtske oblike (npr. pomožne snovi so higroskopne, delci disperzije so lahko lepljivi s slabimi pretočnimi lastnostmi, premehkih delcev ne moremo stiskati) in fizikalno-kemijska nestabilnost (npr. PEG lahko povzroči oksidacijo učinkovine) (1, 4, 20). Med postopkom izdelave in shranjevanja lahko učinkovina pri povišani temperaturi in vlažnosti iz amorfne oblike preide nazaj v kristalno. Vlaga poveča mobilnost molekul učinkovine, kar pospeši proces kristalizacije. Tudi samo nosilno ogrodje lahko veže vlago, kar vodi v ločitev faz, rast kristalov in pretvorbo manj stabilnih oblik učinkovine v stabilnejše. Vse to vpliva na slabši profil raztapljanja učinkovine (20, 22).

1.3.3. Metode priprave trdnih disperzij

Trdne disperzije lahko pripravimo z metodami taljenja, izhlapevanja topila ali kombinacijo obeh metod, kar prikazuje preglednica IV (1, 20, 22):

Preglednica IV: Metode priprave trdnih disperzij.

METODE TALJENJA	METODE IZHLAPEVANJA TOPILA
<ul style="list-style-type: none"> - enostavno taljenje - iztiskanje taline - granuliranje s talino - razprševanje s strjevanjem - polnjenje kapsul s talinami 	<ul style="list-style-type: none"> - sušenje z razprševanjem - sušenje z zamrzovanjem - uporaba superkritičnih fluidov - koprecipitacija - izparevanje pri znižanem tlaku - evaporacijsko obarjanje v vodno raztopino - elektrostatsko sukanje

1.3.3.1. METODE TALJENJA

Sekiguchi in Obi sta prva opisala pripravo trdnih disperzij z metodo taljenja. Pripravila sta evtektične zmesi sulfatazola z različnimi nosilnimi materiali. Nastalo talino sta ohlajala in dobljen produkt zmlela. Prednost te metode je odsotnost topil, slabost pa izpostavljenost učinkovine povišanim temperaturam in visoka viskoznost staljenega polimernega nosilnega materiala. To lahko privede do razpada učinkovine in nepopolnega mešanja med nosilnim materialom in učinkovino. Zato so uvedli nove postopke priprave, ki so opisani v nadaljevanju (21, 22, 23).

Iztiskanje taline (angl. » hot melt extrusion«)

Pri postopku iztiskanja talin zmes nosilnega materiala in učinkovine stalimo, mešamo in transportiramo v ekstrudorju s pomočjo vijačnega mešalnika z enim ali dvema vijakoma. Nastala talina se pri iztiskanju ohladi in zmelje (22). Pri izdelavi lahko uporabimo superkritični ogljikov dioksid, ki deluje kot začasno mehčalo. S tem dosežemo lažje in hitrejše iztiskanje taline (24, 25, 26).

Meltrex™

Meltrex™ je patentiran postopek izdelave trdnih disperzij. Posebnost te tehnologije je uporaba ekstrudorja z dvema transportnima vijakoma in dvema lijakoma, v katerih lahko uravnavamo temperaturo v širokem temperaturnem intervalu. Proces omogoča krajši čas zadrževanja taline v ekstrudorju in s tem manjšo temperaturno obremenitev učinkovine ter konstanten masni pretok taline skozi ekstrudor. Z inertno atmosfero in eliminacijo vlage iz zmesi ta tehnika nudi zaščito učinkovin dovzetnih za oksidacijo in hidrolizo (22).

Granuliranje s talino

Postopek granuliranja s talino izvajamo v hitrovrtčih mešalnikih (angl. »high-shear mixers«) na tri različne načine. Prvi način je, da dodamo staljen nosilni material, ki vsebuje učinkovino, v segrete pomožne snovi. Drugi je, da dodamo samo staljen nosilni material v segreto zmes učinkovine in pomožnih snovi. Lahko pa segrevamo nosilni material, učinkovino in pomožne snovi skupaj (22). Po ohladitvi izdelane granule omogočajo izboljšano raztapljanje učinkovine predvsem zaradi povečane specifične površine in amorfizacije učinkovine (1).

Razprševanje s strjevanjem (angl. »spray-congealing«)

Proces razprševanja s strjevanjem je proces, ki poteka na enaki strojni opremi kot proces sušenja z razprševanjem. Razlika je le v tem, da pri sušenju z razprševanjem kapljici dovajamo energijo, tukaj pa jo odvezamo. Učinkovino najprej raztopimo ali dispergiramo v talini nosilnega materiala, ki jo dovajamo do šobe in razpršujemo v hladilno komoro. Pri tem pride do prenosa toplote med segretim kapljicami taline in hladnim vstopnim zrakom, kar povzroči strjevanje kapljic v sipke praškaste delce. Ker so ti delci sferični z gladko površino, imajo tipično dobre pretočne lastnosti in so primerni za polnjenje v kapsule ali stiskanje v tablete. Prednost metode je tudi v tem, da se izognemo uporabi toksičnih organskih topil. Zaradi višjih temperatur v fazi priprave taline, proces ni primeren za termolabilne učinkovine. Pomembni procesni parametri so temperatura taline, temperatura vstopnega zraka, temperatura in tlak zraka za atomizacijo ter hitrost dovajanja taline (27).

Polnjenje kapsul s talinami

Pri tej metodi talino trdne disperzije polnimo neposredno v trdne želatinske kapsule in jo nato ohladimo na sobno temperaturo. V kapsuli nastane čep, iz katerega se po stiku s topilom v prebavni cevi sproščajo sestavine disperzije. Temperatura polnjenja ne sme preseči 70 °C, ker vpliva na lastnosti kapsule. Slabost metode je nastanek plasti učinkovine na površini ogrodja trdne disperzije zaradi hitrega raztapljanja pomožne snovi. Težavi se lahko izognemo z dodatkom površinsko aktivnih snovi (1, 4).

1.3.3.2. METODE IZHLAPEVANJA TOPILA

Pri metodah izhlapevanja topila nosilni material in učinkovino raztopimo v hlapnem topilu, ki ga kasneje izparimo. Ker organsko topilo izpareva pri relativno nizkih temperaturah, ni možnosti za temperaturni razpad učinkovine, kar je prednost teh metod. Slabost je možnost zaostanka toksičnih topil, če ta popolnoma ne izparijo (22, 23). Tachibani in Nakamura sta bila prva, ki sta učinkovino in nosilni material raztopila v istem topilu in ga nato izparila pri znižanem tlaku (21). Velikokrat je učinkovina hidrofobna in slabo topna, nosilni material pa hidrofilen (npr. PEG). Zato je pogosto težko najti topilo, v katerem bi lahko brez težav raztopili obe komponenti.

Metoda koprecipitacije (angl. »co-precipitation«)

Pri metodi koprecipitacije netopilo po kapljicah dodajamo raztopini nosilnega materiala in učinkovine. Netopilo povzroči sočasno obarjanje obeh komponent v delce, ki jih na koncu filtriramo in posušimo (22).

Metoda izparevanja pri znižanem tlaku

Za izparevanje pri znižanem tlaku lahko uporabimo rotavapor (vrteči vakuumski evaporator) ali vakuumski sušilnik. Učinkovino in nosilni material raztopimo v hlapnem topilu ali kombinaciji topil, ki jih izparimo. Suh preostanek na koncu zmeljemo, da dobimo delce ustreznih velikosti (23).

Sušenje z zamrzovanjem (angl. »freeze-drying«)

Metoda sušenja z zamrzovanjem poteka v treh fazah: zamrzovanje raztopine, primarno in sekundarno sušenje. Raztopino učinkovine (običajno vodne raztopine) in nosilca najprej s primerno hitrostjo zamrznemo, da se izločijo drobni ledeni kristali vode. Zamrznitev mora biti dovolj hitra, ker topilo navadno hitreje kristalizira kot topljenec, ki zato ostane amorfen. V drugi fazi pustimo led sublimirati pod znižanim tlakom v vakuumu, pri čemer na mestu ledenih kristalov ostanejo le pore. S sekundarnim sušenjem odstranimo vodo, ki se ni odstranila z zamrzovanjem in sublimacijo (28).

Superkritični fluidi

Superkritični fluid je snov v območju nad kritičnim tlakom in kritično temperaturo. Izkazuje se kot enofazni sistem, saj sta gostota plina in tekočine v tej točki enaka. Vendar

ima fizikalno-kemijske lastnosti podobne tako plinom (stisljivost, difuzivnost) kot tekočinam (gostota) (29). Tehnologijo uporabljamo za frakcioniranje polimerov, čiščenje površinsko aktivnih spojin in drugih farmacevtskih surovin, za izvajanje polimerizacij in drugih kemijskih reakcij ter kristalizacije in obarjanja. Omogoča izdelavo majhnih delcev z veliko specifično površino, ki imajo dobre pretočne lastnosti in majhno vsebnost rezidualnih topil (1). Ogljikov dioksid uporabljamo, ker ima relativno nizek kritični tlak (73,8 bara) in kritično temperaturo (31,0 °C). Je netoksičen, negorljiv, enostaven za recikliranje, poceni in primeren za obdelavo termolabilnih učinkovin. To mu omogoča enostavno pripravo farmacevtskih izdelkov (30). Ločimo več tehnologij izdelave s superkritičnimi fluidi kot so: metoda hitre ekspanzije iz superkritične raztopine (RESS- angl. »rapid expansion of supercritical solution«); metodi, ko superkritični fluid uporabimo kot netopilo (GAS- angl. »gas antisolvent« ali SAS- angl. »supercritical antisolvent«); metoda obarjanja iz raztopin nasičenih s plinom (PGSS- angl. »precipitation from gas saturated solutions«) in metoda spremembe raztopine v disperzijo s superkritičnimi fluidi (SEDS- angl. »solution enhanced dispersion by supercritical fluids«) (31).

Evaporacijsko obarjanje v vodno raztopino (EPAS-angl. »evaporative precipitation into aqueous solution«)

Metoda je primerna za nevodotopne učinkovine. Učinkovino raztopimo v organskem topilu z nizkim vreliščem, jo nato vodimo skozi šobo pri temperaturi višji od vrelišča topila in razpršujemo v segreto vodno raztopino. Hitro izparevanje drobnih kapljic povzroči nasičenje in hitro nukleacijo, zaradi česar je velika verjetnost, da bodo nastali amorfni delci. V organsko topilo, vodo ali mešanico obeh dodamo površinsko aktivno snov, ki omogoča optimizacijo tvorbe delcev in njihovo stabilizacijo. Šoba je potopljena v vodno raztopino, kar zagotavlja hiter stik delcev učinkovine s hidrofilno površinsko aktivno snovjo, ki prepreči kristalizacijo in rast delcev ter vpliva na izboljšanje raztapljanja posušenih delcev. Prednost te metode je manjši delež pomožnih snovi, zaradi česar so te trdne disperzije primerne tudi za paranteralno aplikacijo (1).

Elektrostatska metoda s sukanjem (angl. electrostatic spinning method«)

Elektrostatska metoda s sukanjem je postopek, pri kateri raztopino učinkovine in polimera črpamo skozi cev, v kateri ju izpostavimo električni napetosti med 5 in 30 kV. Ko električne sile presežejo medfazno napetost med raztopino učinkovine, nosilnega materiala

in zraka, nastanejo vlakna s premerom v nanometrskem ali mikrometrskem območju. Njihov premer je odvisen od medfazne napetosti, dielektrične konstante, hitrosti pretoka raztopine in velikosti električne napetosti. Ko topilo izpari, vlakna zberemo na situ. Slabost procesa je nizko število uporabnih pomožnih snovi, ki so sposobne tvoriti nitke (1, 4).

Sušenje z razprševanjem (angl. »spray drying«)

Sušenje z razprševanjem je proces, ki raztopine ali disperzije pretvarja v trden produkt. Prva uporaba je opisana že v patentu Percy-ja iz leta 1872. Značilnost procesa je hitro in enostavno izparevanje topila, zato je proces zelo primeren za industrijsko izdelavo trdnih disperzij. Proces je sestavljen iz štirih glavnih faz: razprševanje raztopine ali disperzije, stik kapljic s segretim plinom (N_2 v primeru uporabe organskih topil), izparevanje topila in zbiranje posušenih delcev v ciklonu. Ob neustreznih nastavitvah se pogosto srečamo z nastankom lepljivega produkta, ki se lepi na stene procesne komore in ciklona. Lepljiv produkt je posledica prenizke (zaostanek topil) ali previsoke (T nad T_g polimernega nosilca) vstopne temperature (4). Preglednica V podaja glavne parametre sušenja z razprševanjem in njihov pomen za proces in/ali produkt (32, 33).

Preglednica V: Glavni parametri procesa sušenja z razprševanjem.

PARAMETER	POMEN
vstopna temperatura ($^{\circ}C$)	- $\uparrow T$ vodi v hitrejšo izparevanje topila in stabilnejši amorfni produkt - omejitve pri termolabilnih učinkovinah
izstopna temperatura ($^{\circ}C$)	- določa končno vsebnost vlage v produktu
pretok sušilnega plina (m^3/h)	- \downarrow pretok \rightarrow \downarrow ostankov topil - \uparrow pretok \rightarrow \downarrow delci produkta
hitrost črpalke (ml/min)	- \uparrow hitrost \rightarrow \uparrow kapljice in \uparrow kristaliničnost - \uparrow hitrost \rightarrow \downarrow topnost v vodnih medijih
tlak stisnjenega plina v šobi (rotameter mm)	- \uparrow tlak \rightarrow \downarrow kapljice
viskoznost disperzije	- \uparrow viskoznost \rightarrow nepravilno formiranje kapljic - \downarrow viskoznost \rightarrow \downarrow energije se porabi med procesom
temperatura disperzije	- $\uparrow T$ disperzije \rightarrow lažje se disperzija osuši
površinska napetost disperzije	- \uparrow površinska napetost \rightarrow \uparrow velikost kapljic, ki dosejajo \downarrow hitrost

1.3.4. Proučevanje trdnih disperzij

Izdelava TD in s tem doseženo izboljšano raztapljanje slabo vodotopnih učinkovin je bila in je predmet proučevanja mnogih znanstvenikov. Z različnimi metodami izdelave in

uporabo različnih nosilnih materialov, si prizadevajo izdelati stabilne TD čim večjega števila slabo vodotopnih učinkovin. V spodnji preglednici VI so prikazane nekatere metode in kombinacije učinkovin, nosilnih materialov in topil, ki so jih uporabili za izdelavo TD (6, 32, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43).

Preglednica VI: Raziskave na področju TD.

ZNANSTVENIK	METODA	UČINKOVINA	NOSILEC	TOPILO
Yan Y.-D.	sušenje z razprševanjem	valsartan	HPMC	voda (suspenzija)
Park Y.-J.	sušenje z razprševanjem	ibuprofen	HPMC	voda
Ambike A. A.	sušenje z razprševanjem	simvastatin	PVP	diklorometan
Pokharkar V. B.	sušenje z razprševanjem	karvedilol	PVP	diklorometan
Tung N. T.	sušenje z razprševanjem	rebamipid	PVP-VA64	etanol/diklorometan
Frizon F.	sušenje z razprševanjem	loratidin	PVP K30	etanol
Van Eerdenbrugh B.	sušenje z razprševanjem	itakonazol	Aerosil® 200	voda (suspenzija)
Djuris J.	iztiskanje taline	karbamazepim	Soluplus®	/
Zajc N.	iztiskanje taline	nifedipin	manitol	/
Qi S.	iztiskanje taline	paracetamol	Eudragit® E	/
Zhang Y.	sonikacija/izhlapevanje topila	karvedilol	c-MCM	aceton
Ke P.	mletje	indometacin	PVP	/
Bahl D.	mletje	indometacin	Neusilin US2	/
Vadner H. A	mletje	aceklofenak	Neusilin US2	/
Planinšek O.	izparevanje topila pri znižanem tlaku	karvedilol	Sylysia 350	aceton
De Zordi N.	superkritični fluidi (SAS metoda s CO ₂)	furosemid	PVP	etanol

Na tržišču se že nahajajo zdravila izdelana na osnovi TD. Nekatera izmed njih so: Sporanox® (itakonazol), Intelence® (etravirin), Prograf® (takrolimus), Crestor® (rosuvastatin), Gris-PEG® (griseofulvin), Cesamet® (nabilon), Norvir® (ritonavir), Zithromax® (azitromicin) in Implanon® (etonogestrel) (20, 44).

1.4. Mehanizem polnjenja por nosilca

Mehanizem polnjenja por nosilca določajo viskozne, kapilarne in tudi gravitacijske sile (45). Na makroskopski ravni (velikost por večja od 1 µm) vplivajo na transport tekočine v pore viskozne in kapilarne sile, medtem ko na mikroskopski predvsem kapilarne. Katere sile prevladujejo, lahko določimo s kapilarnim številom, ki ga izračunamo po enačbi 2.

$$C = \frac{\mu * v}{\gamma}$$

Enačba 2: Kapilarno število.

kjer je C kapilarno število, μ viskoznost tekočine, v hitrost transporta tekočine v pore in γ površinska napetost.

Če je $C \ll 1$, prevladujejo kapilarne sile, v nasprotnem pa viskozne (46).

Leta 1856 je H. Darcy preučeval pretok vode skozi peščen stolpec in razvil enačbo 3, s katero na makroskopski ravni opisujemo transport tekočin v porozne materiale.

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

Enačba 3: Darcy-jev transport tekočin v porozne materiale.

kjer je $\frac{\partial p}{\partial x}$ gradient tlaka na dolžini pore, μ viskoznost tekočine, K permeabilnost medija, v Darcy-jeva hitrost transporta tekočine, Q pretok tekočine in A površina preseka por.

Zakon velja v primeru, ko lahko tok tekočine opišemo kot Stokesov pretok (tok je stalno počasen in laminaren) (47, 48). Gravitacijske sile so pomembne pri kapilarnem dvigu, ki ga opišemo z Jurinovim zakonom (značilno za cilindrične pore) oziroma z enačbo 4.

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

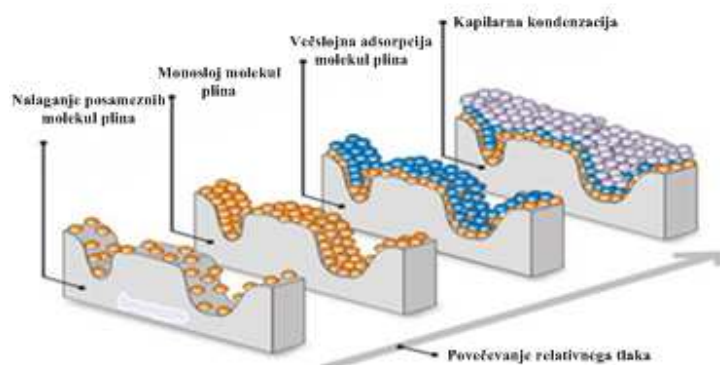
Enačba 4: Jurinov zakon.

kjer je h višina tekočine v kapilari, ρ gostota tekočine, θ kot močenja, r polmer kapilare, g težnostni pospešek in γ površinska napetost tekočine (49).

Neusilin je mezoporozni nosilni material, za katerega lahko predpostavimo, da ima cilindrične pore (17). Zato so kapilarne sile tiste najpomembnejše, ki določajo mehanizem polnjenja por Neusilina z učinkovino. Jurinov zakon je tisti, s katerim lahko opišemo polnjenje por pri TD, ki smo jih izdelali s sušenjem z razprševanjem (49).

1.5. Brunauer, Emmett in Teller (BET) metoda

Pomemben podatek pri izdelanih TD je delež učinkovine, ki se vgradi v pore nosilnega materiala. Z metodami plinske adsorpcije, od katerih najpogosteje uporabljamo Brunauer, Emmett in Teller metodo (BET), lahko trdnim disperzijam določimo specifično površino, velikost in volumen por, na podlagi katerih sklepamo o deležu učinkovine, ki se med procesom izdelave trdnih disperzij vgradi v pore nosilnega materiala. Za mikroporozne materiale je značilen samo proces polnjenja por, medtem ko pri mezoporoznih prihaja tudi do kapilarne kondenzacije (50). Nalaganje plina (najpogosteje N_2) v pore poteka po mehanizmu predstavljenem na sliki 2. Najprej se začnejo adsorbirati posamezne molekule plina, ki s časom zapolnijo celotno površino – govorimo o enem sloju (omogoča določitev specifične površine snovi). Ob poviševanju relativnega tlaka se molekule plina nadalje nalagajo in ustvarjajo nove sloje – govorimo o večslojnem nalaganju. V določenem trenutku je zapolnjen celotni volumen por – kapilarna kondenzacija (omogoča določitev volumna in velikost por) (51).

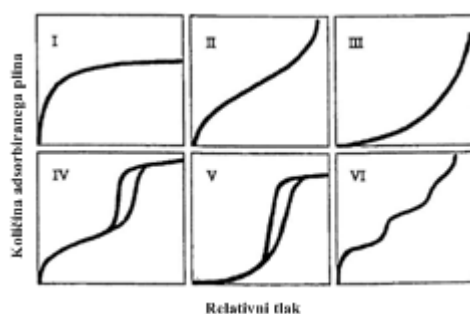


Slika 2: Mehanizem adsorpcije plina v pore.

Po IUPAC-u poznamo šest tipov adsorpcijskih izoterm plina na trdno površino (slika 3) (50, 52, 53):

- I: značilna za mikroporozne materiale, ki ne dopuščajo nadaljnje adsorpcije, ko so zapolnjene mikropore; dosežemo plato
- II: značilna za neporozne materiale ali materiale z mezo- in makroporami; prevoj se pojavi ob prvem adsorbiranem sloju,
- III: odsotnost kolena kaže na zelo šibke interakcije med površino por in plinom,
- IV: pojavi se pri poroznih materialih z velikostjo por med 1,5 in 100 nm. Naklon pri višjih tlakih kaže na povečano nalaganje plina do zapolnitve por; prevoj se pojavi ob prvem adsorbiranem sloju; prisotna histerezna zanka kaže na kapilarno kondenzacijo,
- V: šibke interakcije med plinom in površino por, ki so velikostnega razreda med 1,5 in 100 nm; prisotna histerezna zanka kaže na kapilarno kondenzacijo,

- VI: značilna za neporozne materiale s homogeno površino.



Slika 3: Adsorpcijske izoterme.

BET je klasična metoda določanja specifične površine snovi, ki jo izvedemo v območju relativnih tlakov med 0,05 in 0,3. Pri tem se adsorbira ena plast, ki nam na podlagi BET enačbe omogoči določitev specifične površine por. Metoda je primerna za adsorpcijske izoterme II, IV in VI, kjer so interakcije med površino por in plinom večje od interakcij med plinom in adsorbiranim slojem plina. BET model predstavlja enačba 5.

$$\frac{P_n}{V_a(P_0 - P_n)} = \frac{1}{V_m C} + \frac{C - 1}{V_m C} * \frac{P_n}{P_0}$$

Enačba 5: BET enačba.

kjer je $\frac{P_n}{P_0}$ relativni tlak, V_a adsorbiran in V_m volumen enega sloja, C konstanta (51, 53).

Celotno površino (S_t) in specifično površino (S) por izračunamo s pomočjo enačbe 6.

$$S_t = \frac{V_m N A}{M} \quad S = \frac{S_t}{W}$$

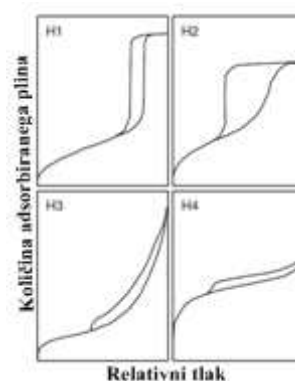
Enačba 6: Specifična površina por.

kjer je N Avogadrovo število ($6,023 * 10^{23}$), M molekulska masa plina, A površina prečnega prereza molekule plina in W masa vzorca (52).

Pomemben podatek, ki ga dobimo pri meritvi je konstanta C . Visoka vrednost le te kaže na močne interakcije med plinom in površino por, medtem ko nizka vrednost < 5 na šibke interakcije. Vzrok negativni vrednosti konstante je nepravilna meritev ali enoslojna adsorpcija, kot jo opisuje Langmuir-jev model (50). Langmuir-jev model ne opisuje resničnega stanja, saj je omejen na mikroporozne materiale (izoterma tipa I) (53).

Za določanje specifične površine lahko uporabimo tudi t-plot ali BJH model. T-plot metoda omogoča določitev specifične površine in volumna mikropor ter celotnega volumna por. Meritev lahko izvedemo pri relativnih tlakih med 0,2 in 0,5, saj je v tem območju odnos med celokupno debelino adsorbiranih slojev plina in naraščajočim relativnim tlakom (od nastanka prvega sloja pa do kapilarne kondenzacije) linearen. BJH model prav tako omogoča določitev specifične površine, volumna in velikosti por. Model je modificirana Kelvinova enačba. Enačba predpostavlja tlak, pri katerem bo ob nalaganju plina v cilindričnih porah določenih velikosti prišlo do spontane kondenzacije (adsorpcijska krivulja) in izhlapevanja (desorpcijska krivulja) (53). Govorimo o tako imenovani histerezni zanki, ki je značilna za določene tipe adsorpcijskih izoterm (npr. tip IV in V). Po IUPAC-u ločimo štiri tipe histereznih zank, ki so prikazane na sliki 4 (50):

- H1: mezoporozni materiali s cilindričnimi porami
- H2: cilindrične in sferične pore, ki so mrežasto povezane
- H3: materiali z režastimi porami; delci se združujejo v agregate
- H4: materiali z ozkimi režastimi porami



Slika 4: Tipi histereznih zank.

Velikost (radij) por lahko v primeru cilindričnih por izračunamo po enačbi 7.

$$r_p = \frac{2V}{A}$$

Enačba 7: Velikost por.

kjer je V celotni volumen por in A celotna površina por (53).

Če pore niso cilindrične, lahko radij por izračunamo s pomočjo enačbe 8 po BJH modelu.

$$r_p = r_k + t \quad r_k(^{\circ}A) = \frac{4,15}{\log \frac{P_0}{P}}$$

Enačba 8: Velikost por izračunana po BJH modelu.

kjer je r_k Kelvinov radij por in t debelina adsorbiranega sloja (53).

2. NAMEN DELA

Namen našega dela je izboljšati topnost in hitrost raztapljanja v vodnih medijih slabo topne učinkovine karvedilol z izdelavo trdne disperzije z metodo sušenja z razprševanjem:

- uporabili bomo mezoporozna nosilca Neusilin US2 in UFL2 ter organsko topilo aceton, v katerem bomo pred dodatkom nosilcev in razprševanjem raztopili učinkovino. Spreminjali bomo razmerje ZU : nosilec (1 : 3, 1 : 2, 1 : 1, 2 : 1 in 3 : 1) in volumen acetona (100, 50 in 30 ml),
- izdelanim trdnim disperzijam bomo določili vsebnost (UV-VIS spektrofotometer in TGA), kristaliničnost (DSC), izdelali bomo profile hitrosti raztapljanja učinkovine v dveh izbranih medijih - raztopini HCl s pH = 1,2 in fosfatnem pufru s pH = 6,8, določili morfološke lastnosti (SEM), pravo gostoto (helijev piknometar) in vgrajevanje učinkovine v pore (BET),
- izvedli bomo pospešen test stabilnosti. Izdelane trdne disperzije bomo izpostavili povišani temperaturi in vlagi ter določili vpliv na kristaliničnost in profile hitrosti raztapljanja učinkovine v izbranih medijih,
- iz najbolj obetavne formulacije bomo stisnili tablete z vsebnostjo 25 mg učinkovine, kar ustreza enemu terapevtskemu odmerku, in določili profil hitrosti raztapljanja sproščene učinkovine iz tablet v izbranih medijih,
- proučili bomo vpliv izbranih površinsko aktivnih snovi (anionski SDS, neionski Tween 80 in kationski CTAB) na močenje učinkovine, mezoporoznega nosilca in izdelanih trdnih disperzij.

3. MATERIALI IN METODE

3.1. Materiali

Med izvedbo eksperimentalnega dela smo uporabljali:

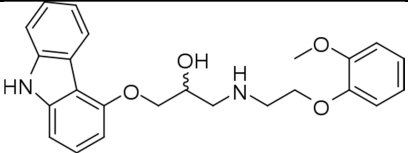
Učinkovina:

- učinkovina karvedilol, tovarna zdravil Krka d.d., Novo mesto.

Karvedilol je bel, do skoraj bel, kristalen prašek, ki je dobro topen v dimetilsulfoksidu, topen v metilen kloridu in metanolu, zmerno topen v etanolu, slabo topen v etiletru in skoraj netopen v vodi (54).

Vsebuje sekundarnoaminsko skupino s $pK_a = 7,8$, kar kaže na slabšo topnost v nevtralnih in alkalnih medijih (pri $pH = 9,0$ je topnost v vodi manj kot $1 \mu\text{g/ml}$, pri $pH = 7,0$ pa približno $23 \mu\text{g/ml}$). Topnost v vodi se povečuje z manjšanjem pH -ja in doseže plato blizu $pH = 5,0$, kjer je topnost blizu $100 \mu\text{g/ml}$ pri sobni temperaturi. Pri nizkih pH -jih med 1 in 4 v različnih pufrskih sistemih je topnost omejena z nastankom protonirane oblike učinkovine oziroma tvorbe »in situ« soli (npr. sol s klorovodikovo kislino v želodčnem mediju). Kemijske lastnosti karvedilola so prikazane v preglednici VII (8).

Preglednica VII: Kemijske lastnosti karvedilola.

Mednarodno nelastniško ime (INN)	karvedilol
Kemijsko ime (IUPAC)	(±)-[3-(9H-carbazol-4-yloxy)-2-hydroxypropyl][2-(2-methoxyphenoxy)ethyl]amine
Molekulska formula	$C_{24}H_{26}N_2O_4$
Molekulska masa	406,47 g/mol
Strukturna formula	

Karvedilol ima kiralni center in se nahaja bodisi kot posamezen stereoizomer ali kot racemat. Spada v skupino zaviralcev adrenergičnih receptorjev alfa in beta. Je neselektiven zaviralec receptorjev beta z vazodilacijskim, antioksidativnim in antiproliferativnim učinkom. Enantiomer S(-) zavira adrenergične receptorje alfa₁ in beta₂, enantiomer R(+) pa selektivno zavira le receptorje alfa₁. S kardioselektivnim zaviranjem adrenergičnih

receptorjev beta znižuje arterijski krvni tlak ter zmanjšuje srčno frekvenco in minutni volumen srca. Z zaviranjem alfa₁ receptorjev povzroča periferno vazodilatacijo in zmanjša sistemski žilni upor. Največji priporočeni odmerek je 25 mg 2-krat na dan. Po zaužitju se hitro in skoraj v celoti absorbira, nato pa se veže na plazemske beljakovine. Učinek na krvni tlak in srčni utrip je najbolj izrazit 1 do 2 uri po zaužitju. Biološka uporabnost znaša skromnih 30 %, predvsem na račun metabolizma prvega prehoda skozi jetra (jetrni encimi CYP2D6 in CYP2C9). Nastali trije aktivni presnovki zavirajo adrenergične receptorje beta (4'hidroksifenilni derivat deluje kar 13-krat močneje kot karvedilol). Aktivni presnovki delujejo v primerjavi s karvedilolom le šibko vazodilacijsko. Uporablja se za zdravljenje esencialne hipertenzije, kronične stabilne angine pektoris, kroničnega srčnega popuščanja in po miokardnem infarktu z dokazano disfunkcijo levega prekata (9, 55).

Porozna nosilca za pripravo trdnih disperzij:

- Neusilin[®] US2 in UFL2 (magnezijev aluminometasilikat, empirična formula: $Al_2O_3 \cdot MgO \cdot 1.7SiO_2 \cdot xH_2O$), Fuji Chemical Industry CO., LTD., Japonska.

Je sintetičen, nevtralen, amorfen mezoporozni nosilni material v obliki praška (UFL2) ali granul (US2). Je netopen v vodi in etanolu, pri segrevanju pa je obstojen vse do 700 °C. Primeren je za izdelavo trdnih farmacevtskih oblik, kot so npr. tablete tako z direktnim stiskanjem kot z vlažnim granuliranjem. To omogočajo dobre pretočne lastnosti (predvsem US2) in dejstvo, da z razliko od magnezijevega aluminijevega silikata z vodo ne tvori gela. Navajajo, da ga lahko zaužijemo 1 g/dan oziroma celo 4 g/dan, če ga uporabimo kot antacid. Ostale pomembnejše lastnosti so naštet v spodnji preglednici VIII (17).

Preglednica VIII: Lastnosti Neusilin.

Lastnosti	UFL2	US2
<i>velikost por (nm)</i>	5-6	5-6
<i>prava gostota (g/cm³)</i>	2,2	2,2
<i>specifična površina (m²/g)</i>	300	300
<i>nasipna gostota (g/ml)</i>	0,06-0,11	0,13-0,18
<i>zbita gostota (g/ml)</i>	0,10-0,17	0,16-0,22
<i>velikost delcev (μm)</i>	/	44-177
<i>kapaciteta vezave vode (ml/g)</i>	2,4-3,1	2,4-3,1
<i>kapaciteta vezave olja (ml/g)</i>	2,7-3,4	2,7-3,4

Organsko topilo za pripravo trdnih disperzij:

- aceton za analizo (CH_3COCH_3), Merck, Nemčija.

Organsko topilo pri določevanju vsebnosti:

- metanol za analizo (CH_3OH), Merck, Nemčija.

Organsko topilo za čiščenje laboratorijske opreme:

- 2-propanol ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$), Merck, Nemčija,
- 2-propanol ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$), Sigma-Aldrich, Nemčija.

Reagenti in kemikalije za pripravo medijev za test raztapljanja:

- natrijev dihidrogenfosfat monohidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), Merck, Nemčija,
- natrijev dihidrogenfosfat dihidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), Merck, Nemčija,
- klorovodikova kislina (37 % HCl), Merck, Nemčija,
- natrijev hidroksid-pelete (NaOH), Merck, Nemčija,
- prečiščena voda.

Pomožna snov za izdelavo tablet (polnilo, vezivo):

- Avicel PH-200 (mikrokristalna celuloza).

Površinsko aktivne snovi pri vrednotenju močljivosti:

- natrijev dodecilsulfat (SDS), Merck, Nemčija,
- cetiltrimetil amonijev bromid (CTAB), Merck, Nemčija,
- Polisorbat 80 (Tween 80), Fluka Analytics, Švica.

Laboratorijski pribor:

- steklovina (čaše, bučke, erlenmajerice, merilni valji, epruvete, pipete, polnilni čolnički, penicilinke, itd...),
- patena, pestilo,
- spatule,
- žličke, igle,
- brizge, kapalke,

- termometer,
- aluminijasti DSC lončki,
- lončki polikristalnega aluminijevega oksida za TGA
- lepilni trak za pripravo vzorcev SEM

Filtri:

- Minisart[®] RC25 0,45 μm (hidrofilen), Sartorius, Nemčija,
- Minisart[®] SRP25 0,20 μm (hidrofoben, politetrafluoroetilen-PTEF membrana), Sartorius, Nemčija,
- FIL001-EW-A 1 μm , Quality Lab Accessories, ZDA.

Priprava medijev za test raztapljanja:**Raztopina klorovodikove kisline s pH = 1,2**

V 5000 ml bučo smo nalili približno 4500 ml prečiščene vode in v digestoriju dodali 42,5 ml 37 % HCl. Bučo smo nato s prečiščeno vodo dopolnili do oznake in izmerili pH.

Fosfatni pufer s pH = 6,8

V 5000 ml bučo smo natehtali 34 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ali 30 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Dodali smo približno 4500 ml prečiščene vode in pustili mešati na magnetnem mešalu, dokler se ni vse raztopilo. Nato smo preverili pH, ga uravnali z vodno raztopino NaOH ($50\text{g}_{\text{NaOH}}/0,5\text{l}_{\text{H}_2\text{O}}$) in bučo s prečiščeno vodo dopolnili do oznake.

3.2. APARATURE

- analitska tehtnica AG 245, Mettler Toledo, Švica,
- analitska tehtnica XS 205 Dual Range, Mettler Toledo, Švica,
- analitska tehtnica AND GH-300, A&D Instruments LTD, Italija,
- analitska tehtnica AX623 M-pact, Sartorius, Nemčija,
- magnetno mešalo _ _RO15 power, IKA[®] -WERKE, Nemčija,
- magnetno mešalo ROTAMIX 560 MMH, Tehnica, Slovenija,
- magnetno mešalo IKA[®] RTC basic,
- BÜCHI Mini Spray Dryer B-290, Švica,
- BÜCHI Dehumidifer B-296, Švica,
- BÜCHI Inert Loop B-295, Švica,
- ultrazvočna kadička Sonis 4 in Sonis 2, Iskra pio d.o.o., Slovenija,
- stresalnik VIBROMIX 313 EVT, Tehnica, Slovenija,
- spektrofotometer Hewlett Packard8453, UV-Visible spectroscopy system, Nemčija
- pH meter SevenCompact, Mettler Toledo, Švica
- aparat za test raztapljanja Vankel VK 7000 in vzorčevalnik VK 8000
- stiskalnica za zapiranje DSC lončkov,
- diferenčni dinamični kalorimeter DSC1, opremljen s programsko opremo STARe Software v9.30, Mettler Toledo, Švica,
- termogravimetrični analizator TGA, opremljen s programsko opremo STARe Software v9.30, Mettler Toledo, Švica,
- vrstični elektronski mikroskop SEM, FE-SEM Supra 35 VP, Carl Zeiss, Švica,
- aparat za merjenje BET površine in poroznosti TriStar 3000 s programsko opremo V4.00, Micrometrics, ZDA,
- helijev piknometar AccuPyc 1330, Micrometitics, ZDA,
- vakuumski sušilnik Heraeus,
- komora za test stabilnosti,
- stiskalnica Specac, Anglija in aparat za vrednotenje močljivosti Drop Shape Analyzer DSA 100, KRÜSS, Nemčija,
- instrumentirana tabletirka na ekscenter Kilian SP 300,
- aparat za merjenje trdnosti tablet, Tablet hardness tester VK 200, Vanderkamp[®].

3.3. METODE

3.3.1. Določanje maksimalne topnosti učinkovine pri različnih pH vrednostih

Maksimalno topnost učinkovine smo določili v raztopini HCl s pH = 1,2 in fosfatnem pufru s pH = 6,8. Pripravili smo nasičene raztopine učinkovine ter jih pustili na stresalniku VIBROMIX 313 EVT pri sobni temperaturi 24 ur. Koncentracijo raztopljene učinkovine smo določili z UV-VIS spektrofotometrom z merjenjem absorbance pri valovni dolžini 332 nm na podlagi umeritvene premice. Uporabili smo kiveto iz kvarčnega stekla in potjo žarka 1 cm. Pred merjenjem absorbance smo nasičene raztopine filtrirali skozi filter Minisart® RC25 0,45 µm.

3.3.2. Izdelava trdnih disperzij

Trdne disperzije smo izdelali z metodo sušenja z razprševanjem iz organskega topila. Uporabili smo učinkovino karvedilol, mezoporozna nosilca Neusilin US2 in UFL2 in organsko topilo aceton. V pripravljene suspenziji za razprševanje smo spreminjali razmerje ZU : nosilec (1 : 3, 1 : 2, 1 : 1, 2 : 1 in 3 : 1) in volumen acetona (100, 50 in 30 ml), v katerem smo učinkovino raztopili. Natehtali smo 2 g učinkovine in jo pustili mešati na magnetnem mešalu v ustreznem volumnu acetona toliko časa, da se je vsa raztopila. Nato smo raztopini dodali ustrezno količino nosilca glede na izbrano razmerje. Enakomerno dispergirano trdnih delcev nosilca smo zagotovili z mešanjem suspenzije tekom celotnega procesa razprševanja. Proces razprševanja smo izvajali v dušikovi atmosferi pri naslednjih pogojih: aspirator (100 % ~ 40 m³/h), T_{vhodna} = 60 °C, pretok disperzije za razprševanje skozi šobo (15 % ~ 4,5 ml/min), rotameter (50 mm) – kar odgovarja pretoku zraka skozi šobo približno 60 l/h.

3.3.3. Pospešen test stabilnosti

Vzorci izdelanih trdnih disperzij smo v komori izpostavili povišani temperaturi T = 40 °C in relativni vlažnosti RV = 75 %. Po 6 (TD z US2 in UFL2) in 10 (TD z US2) tednih smo za vsak vzorec opravili DSC analizo in test raztapljanja, da smo preverili vpliv na kristaliničnost (prehod amorfno → kristalno) in posledično na hitrost raztapljanja učinkovine.

3.3.4. Določanje vsebnosti učinkovine v trdnih disperzijah

Natehtali smo približno 15 mg vzorca, ga raztopili v 200 ml metanola, mešali na magnetnem mešalu 2 uri in nato pustili še 15 minut v ultrazvočni kadički. Koncentracijo učinkovine v trdnih disperzijah smo določali z UV-VIS spektrofotometrom z merjenjem absorbance pri valovni dolžini 332 nm na podlagi umeritvene premice. Uporabili smo kiveto iz kvarčnega stekla in potjo žarka 1 cm. Pred merjenjem absorbance smo raztopino filtrirali skozi filter Minisart® SRP25 0,20 µm (organsko topilo metanol). V potrditev pravilnosti določene vsebnosti, smo vsebnost določili tudi s termogravimetrično analizo.

3.3.5. Diferenčna dinamična kalorimetrija (DSC)

Termično analizo učinkovine, fizikalnih zmesi in vzorcev trdnih disperzij smo izvedli z diferenčnim dinamičnim kalorimetrom Mettler Toledo DSC1, opremljenim s programsko opremo STARe Software v9.30. 5-10 mg vzorca smo natehtali v odprte aluminijaste DSC 40 µl lončke in jih s hitrostjo segrevanja 5 K/min segrevali od 0 do 131 °C. Meritve so bile izvedene v dušikovi atmosferi s pretokom dušika 40 ml/min. Aparatura je bila kalibrirana z indijem.

3.3.6. Termogravimetrična analiza (TGA)

V potrditev pravilnosti določene vsebnosti z UV-VIS spektrofotometrom smo izvedli termogravimetrično analizo učinkovine, mezoporoznih nosilcev US2 in UFL2, fizikalnih zmesi in trdnih disperzij z aparaturo TGA Mettler Toledo, opremljenim s programsko opremo STARe Software v9.30. Vzorec smo natehtali v lonček iz aluminijevega oksida in s hitrostjo segrevanja 10 K/min ali 20 K/min segrevali od 30 do 1000 °C. Meritve so bile izvedene v kisikovi atmosferi. Aparatura je bila kalibrirana z indijem.

3.3.7. Preizkus raztapljanja

Preizkuse raztapljanja smo izvajali v raztopini HCl s pH = 1,2 in fosfatnem pufru s pH = 6,8 z USP II napravo VK 7000 z avtomatskim vzorčevalnikom VK 8000. Preizkus posameznega vzorca smo izvedli v treh paralelkah. Raztapljali smo mase trdnih disperzij, pripadajoče fizikalne zmesi, učinkovino in tablete, ki ustrezajo enkratnemu odmerku učinkovine 25 mg. Raztapljali smo 2 uri pri naslednjih pogojih: $V_{\text{medija}} = 900$ ml, $T = 37 \pm 0,5$ °C, hitrost vesel 50 obratov na minuto, $V_{\text{vzorčenja}} = 5$ ml. Vzorčili smo ob času $t = 1, 3, 5, 7, 10, 15, 30, 45, 60$ in 120 min. Volumna odvzetih vzorcev nismo nadomeščali, ampak smo to upoštevali pri izračunu deleža raztopljenе učinkovine v posamezni časovni

točki. Vzorce smo po odvzemu filtrirali skozi 1 μm filter FIL001-EW-A. Koncentracijo učinkovine v vzorcu smo določili z UV-VIS spektrofotometrom z merjenjem absorbance pri valovni dolžini 332 nm na podlagi umeritvene premice.

3.3.8. Morfološke lastnosti delcev (SEM)

Morfološke lastnosti učinkovine, izdelanih trdnih disperzij in mezoporoznih nosilcev smo preučevali z vrstičnim elektronskim mikroskopom Supra 35 VP. Posušene vzorce smo nalepili na dvostranski ogljikov lepilni trak in jih nato vrednotili. Meritev smo izvedli pri napetosti na elektronskem topu 1 kV in uporabljenem detektorju SE2.

3.3.9. Merjenje prave gostote

Pravo gostoto trdnih disperzij, mezoporoznih nosilcev in učinkovine smo izmerili s helijevim piknometrom AccuPyc 1330. Stehtali smo prazno celico za vzorec, jo napolnili do dveh tretjin volumna in jo ponovno stehtali. Celico smo vstavili v piknometer in opravili meritev.

3.3.10. Merjenje specifične površine in celokupnega volumna por (BET)

Izmerili smo specifično površino in celokupni volumen por izbranih trdnih disperzij z Neusilinom US2 in samega Neusilina US2. Meritve smo izvedli na Kemijskem inštitutu z aparaturo TriStar 3000 s programsko opremo V4.00, Micrometrics s tehniko plinske adsorpcije dušika pri temperaturi 77,35 K. Pred meritvijo smo vzorce 16 ur sušili v vakuumskem sušilniku pri sobni temperaturi. Specifično površino vzorcev smo izračunali iz podatkov o adsorpciji v intervalu relativnega tlaka od 0,03 do 0,3 z uporabo multitočkovne Brunauer-Emmett-Teller enačbe (BET). Celokupni 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.

3.3.11. Stiskanje tablet

Tablete smo izdelali z instrumentirano tabletirko na udarec Kilian SP 300 iz trdne disperzije, ki se je po vseh analizah izkazala za najboljšo. Kot polnilo smo uporabili Avicel PH 200. Izdelali smo tablete z maso 400 mg in vsebnostjo učinkovine 25 mg, kar ustreza enkratnemu odmerku. Tabletirali smo pri naslednjih procesnih parametrih: položaj zgornjega pečata 9,25 mm, položaj spodnjega pečata 12,30 mm, hitrost 15 tablet/min, povprečna sila stiskanja 4,3 kN in povprečna sila na spodnjem pečatu 3,2 kN. Izdelanim

tabletam smo določili tudi trdnost z aparaturo za merjenje trdnosti tablet, Tablet hardness tester VK 200.

3.3.12. Določanje močenja (stični kot)

Stični kot močenja smo določali neposredno (metoda sedeče kapljice) z merilnikom stičnega kota Kruss DSA 100. Učinkovino, trdno disperzijo ZU : US2 = 1 : 1 (tudi 1 : 3 in 3 : 1, ko smo kot tekočino uporabili fosfatni pufer s pH = 6,8) in Neusilin US2 smo s stiskalnico Specac (15 sekund pri sili 80 kN in 30 sekund pri sili 100 kN) stisnili v tanko ploščico. Ploščico smo položili na merilno mizico in nanjo spustili kapljico volumna 0,5 μ L. Kot tekočine smo uporabili fosfatni pufer s pH = 6,8, pripravili smo pa tudi fosfatne pufre s pH = 6,8 z dodatkom površinsko aktivnih snovi SDS, CTAB in Tween 80 (5 g/l oz. 0,5 %). S pomočjo programske opreme smo določili stični kot ob času 0, 5, 10 in 60 s za posamezen primer.

4. REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1. Maksimalna topnost učinkovine

Pripravili smo nasičeni raztopini učinkovine v mediju HCl s pH = 1,2 in fosfatnem pufru s pH = 6,8. Ker nas je zanimala termodinamska oziroma ravnotežna topnost, smo pripravljene raztopine, pred spektrofotometrično meritvijo koncentracije, pustili na stresalniku 24 h. V mediju HCl so se delci učinkovine lepo dispergirali, medtem ko smo v fosfatnem pufru opazili aglomeracijo delcev. Vpliv tega je viden na določeni posamezni maksimalni topnosti. V mediju HCl s pH = 1,2 smo določili topnost 73 mg/l, v fosfatnem pufru s pH = 6,8 pa 29 mg/l, kar je v skladu s podatki iz literature (8).

4.2. Izdelava trdnih disperzij

TD smo izdelali z metodo sušenja z razprševanjem. Gre za metodo izdelave, ki je zaradi svojih procesnih karakteristik zelo primerna za industrijsko izdelavo TD. Izkoristki izdelave so podani v preglednici IX:

Preglednica IX: Izkoristki izdelave (%) TD karvedilola z Neusilinom US2.

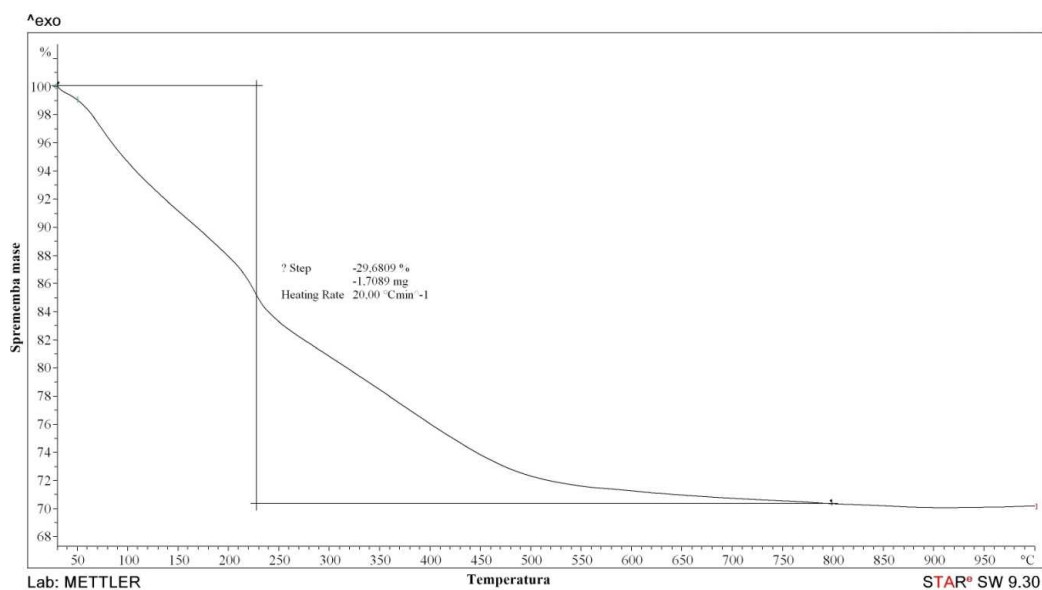
ZU : nosilec (V aceton)	1 : 3 (100 ml)	1 : 2 (100 ml)	1 : 1 (100 ml)	2 : 1 (100 ml)	3 : 1 (100 ml)	1 : 1 (50 ml)	1 : 1 (30 ml)	3 : 1 (50 ml)	3 : 1 (30 ml)
nosilec US2	81,9	84,2	81,3	67,3	55,6	80,1	78,3	58,5	57,4

Izkoristki se manjšajo z višanjem deleža učinkovine v TD. V teh primerih se je produkt lepil in nalagal na steno procesne komore in ciklona. Lepljenje na stene je bilo, ob izgubi najmanjših delcev preko filtra, glavni vzrok izgub v procesu izdelave. Odstopanj pri izkoristkih TD izdelanih pri manjšem volumnu acetona (50 in 30 ml) v primerjavi z ostalimi TD ni bilo opaziti. Trdnih disperzij ZU : US2 = 1 : 3 pri manjšem V nismo uspeli izdelati, ker sta se zaradi prevelike viskoznosti disperzije mašili šoba in cevka črpalke.

4.3. Vsebnost učinkovine v trdnih disperzijah

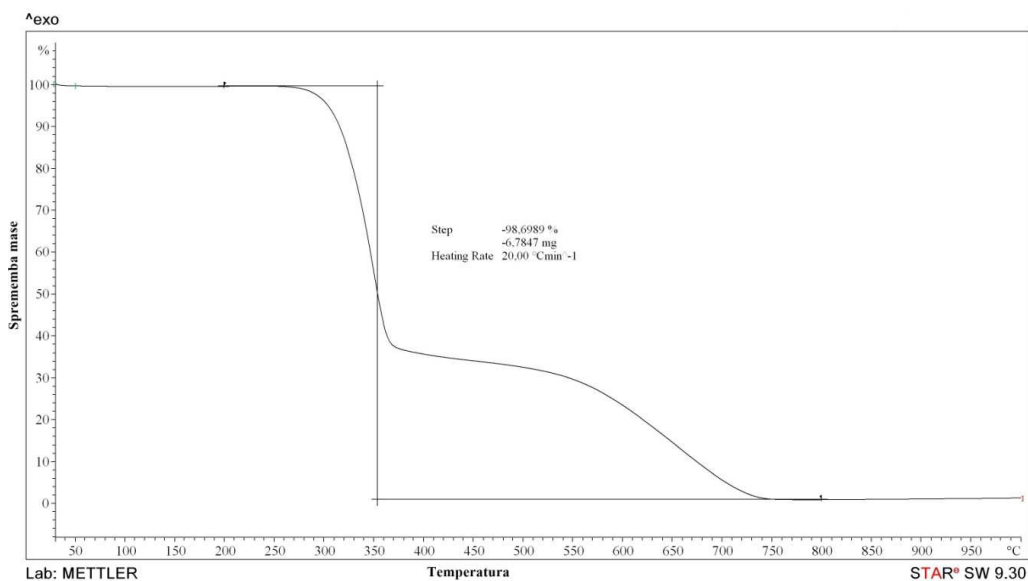
Vsebnost učinkovine v TD smo določili na dva načina, in sicer z UV-VIS spektrofotometrijo ter TGA analizo (le pri TD izdelanih pri volumnu acetona 100 ml). Pri TGA analizi čistega Neusilina US2 je masa vzorca konstantno padala skozi celotno

meritev (slika 5), kar je v nasprotju s podatki iz literature o stabilnosti Neusilina pri segrevanju do 700 °C (17).



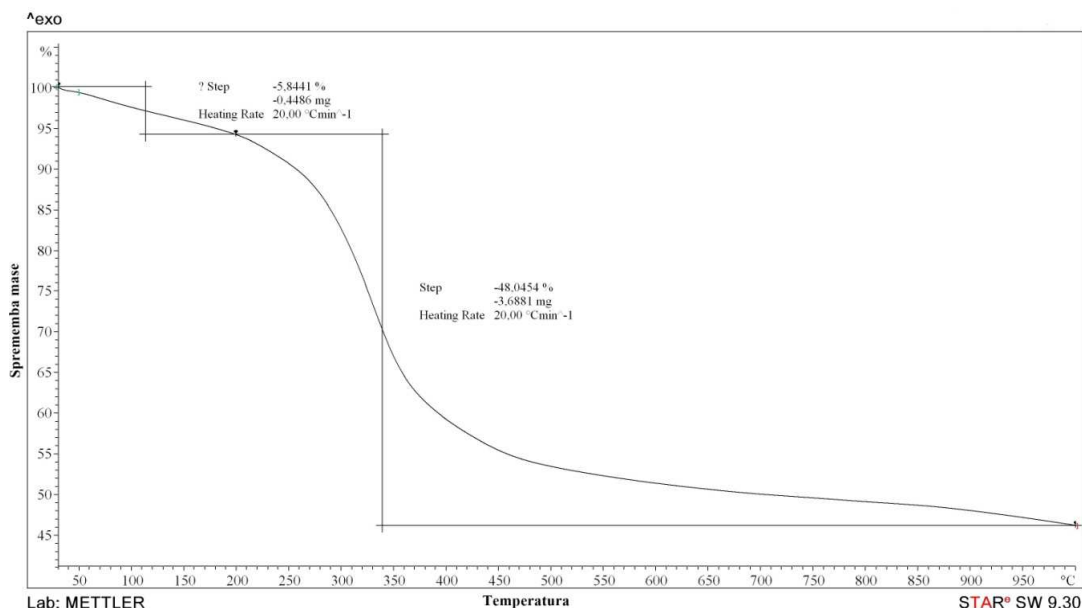
Slika 5: TGA analiza Neusilina US2.

Pri TGA analizi TD masa ni padala samo zaradi izgorevanja učinkovine, ampak tudi na račun Neusilina US2. To spremembo mase, ki je znašala 29,601 %, smo pripisali adsorbirani in kristalno vezani vodi v Neusilinu, kar je v skladu s podatki iz literature (18). Vsebnost učinkovine v TD s TGA zaradi tega nismo določili direktno iz TGA termograma, ampak ob dodatnih izračunih z upoštevanjem izparele vode iz nosilca med segrevanjem. Slika 6 prikazuje TGA analizo čistega karvedilola, slika 7 pa TD ZU : US2 = 1 : 1.



Slika 6: TGA analiza karvedilola.

Razpad karvedilola se začne pri temperaturi višji od 200 °C in poteka do približno 350 °C, na kar se začne razpad razpadnih produktov do mase 0 mg pri približno 750 °C.



Slika 7: TGA analiza TD ZU : US2 = 1 : 1.

Primer izračuna vsebnosti za TD ZU : US2 = 1 : 1

- teoretična vsebnost Neusilina US2 v TD je 50 %
- Δm pri čistem US2 je 29,601 %
- Δm 200-1000 °C je 48,045 %
- Δm 0-200 °C je 5,844 % (ta Δ je odstranjena voda, saj karvedilol začne razpadat pri 200 °C)
- teoretično imamo v tem primeru $0,5 * 29,601 \% = 14,801 \% \Delta m$ na račun Neusilina
- če od 14,841 % odštejemo 5,844 % dobimo 8,996 %, kar je Δm na račun vode med 200-1000 °C
- če sedaj od spremembe mase med 200-1000 °C 48,045 % odštejemo 8,996 % dobimo 39,049 %, kar je sprememba mase na račun učinkovine oziroma vsebnost učinkovine

Preostali TGA diagrami so predstavljeni v Prilogi.

Preglednica X: Določene vsebnosti učinkovine (%) v TD karvedilola z Neusilinom US2 z UV-VIS in TGA.

Nosilec	US2	
	TGA	UV-VIS
ZU : nosilec		
1 : 3	16,3	19,8
1 : 2	23,2	26,7
1 : 1	39,0	42,9
2 : 1	54,4	52,9
3 : 1	66,0	55,5

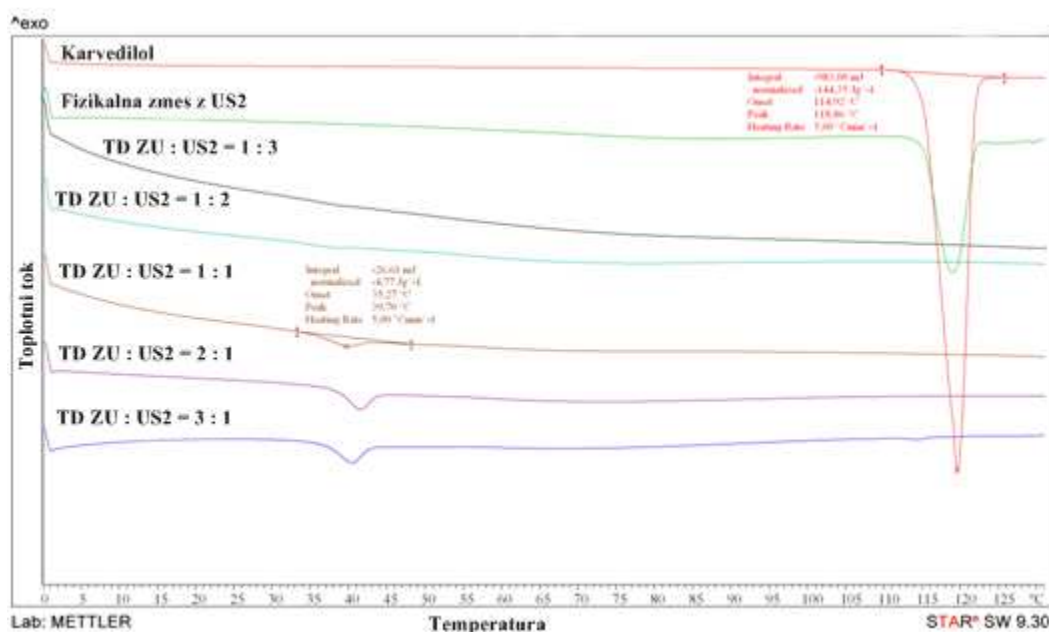
Preglednica XI: Določene vsebnosti (%) v TD karvedilola z Neusilinom US2 izdelanih pri manjšem V acetona z UV-VIS.

Nosilec	US2
ZU : nosilec	UV-VIS
1 : 1 (30 ml)	46,5
1 : 1 (50 ml)	40,2
3 : 1 (30 ml)	55,4
3 : 1 (50 ml)	61,7

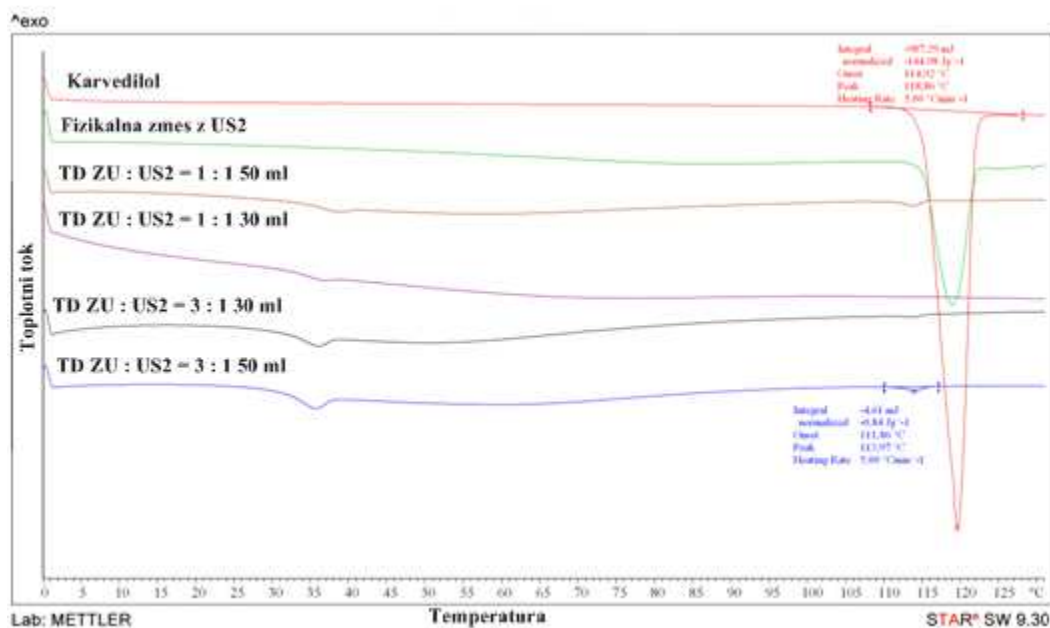
Iz preglednice X je razvidno, da smo z UV-VIS in s TGA (ob upoštevanju vode v Neusilinu) določili zelo podobne vsebnosti učinkovine v posameznih TD. Do manjših razlik in odstopanj določenih vsebnosti od teoretičnih vsebnosti je prišlo zaradi heterogenosti produkta, izgubi ZU na filtre (se ne naloži v nosilec) in zaostanka ZU na nosilcu pri metodi za vsebnost. Vsebnosti učinkovine v TD so bile nekoliko višje v primerih, ko smo učinkovino pred razprševanjem raztopili v manjšem volumnu acetona (preglednica XI). Iz tega smo sklepali, da V acetona bistveno ne vpliva na vsebnost učinkovine v TD,

4.4. Določanje kristaliničnosti ZU v trdnih disperzijah

Kristaliničnost v izdelanih TD (tudi tistih izdelanih pri manjšem V acetona) smo preverjali z diferenčno dinamično kalorimetrijo (DSC). Rezultati so prikazani na spodnjih DSC krivuljah (sliki 8 in 9).



Slika 8: DSC krivulje TD karvedilola z US2.

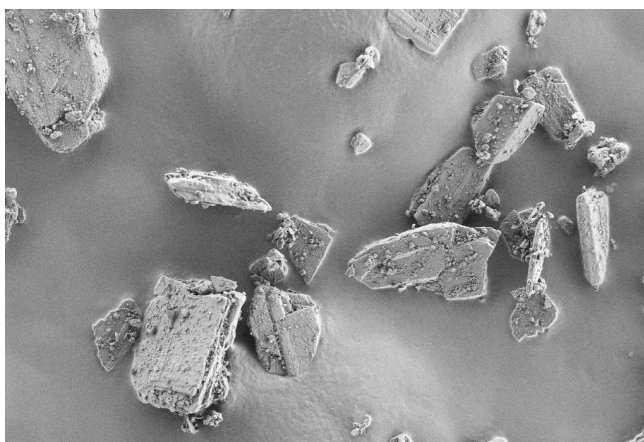


Slika 9: DSC krivulje TD karvedilola z US2 izdelanih pri manjšem V acetona.

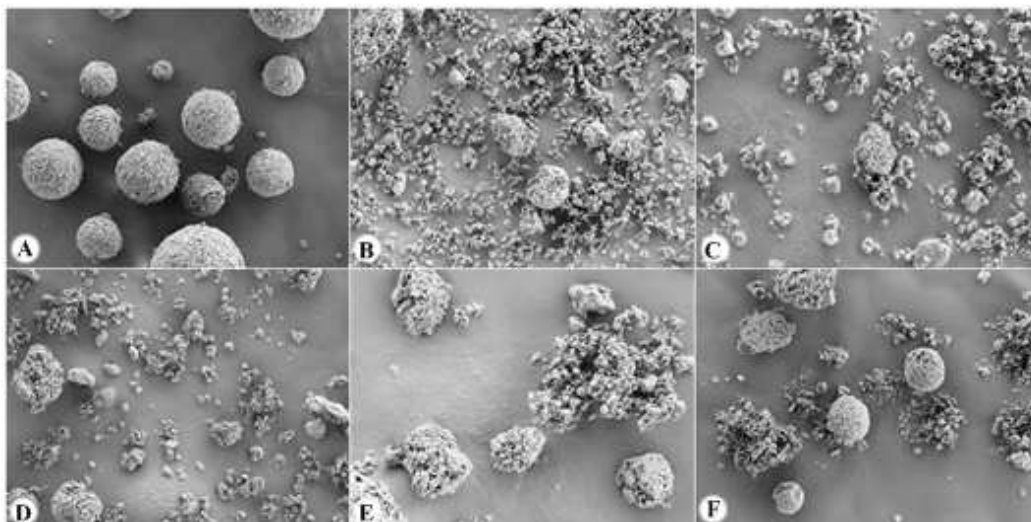
Kristalni obliki učinkovine in fizikalni zmesi učinkovine z US2 smo določili $T_{\text{tališča}}$ pri 115 °C, kar odgovarja obliki II karvedilola. Izdelane TD niso imele signala v območju taljenja kristalne učinkovine, imele pa so steklast prehod (T_g), značilen za amorfne snovi, kjer smo opazili tudi entalpijo relaksacije pri $T = 38$ °C, kar je v skladu s podatki iz literature za T_g karvedilola (56). To pomeni, da je bila učinkovina v izdelanih TD prisotna v amorfni obliki. Enak trend smo opazili tudi pri TD izdelanih pri manjšem V acetona.

4.5. Morfološke lastnosti

Na slikah 10, 11 in 12 so prikazane morfološke lastnosti učinkovine karvedilola (kristalna oblika), Neusilina US2 in vseh izdelanih TD karvedilola z Neusilinom US2, ki smo jih določili z vrstičnim elektronskim mikroskopom pri povečavah od 500x do 5000x.

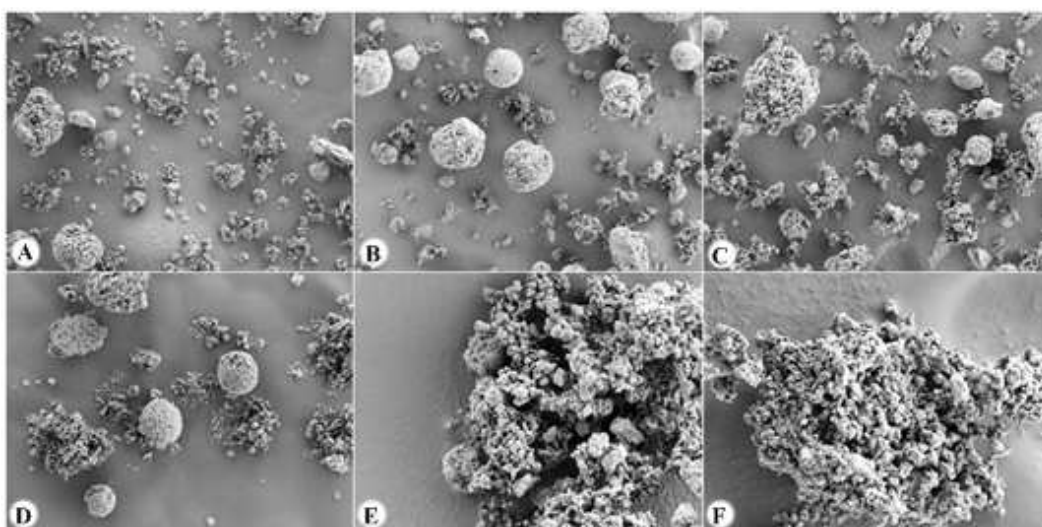


Slika 10: Kristalna oblika karvedilola.



Slika 11: Morfološke lastnosti Neusilina US2 in TD karvedilola z Neusilinom US2.
 a) čisti Neusilin US2 (1000x), b) TD ZU : US2 = 1 : 3 (1000x), c) TD ZU : US2 = 1 : 2 (2000x), d) TD ZU : US2 = 1 : 1 (1000x), e) TD ZU : US2 = 2 : 1 (2000x), f) TD ZU : US2 = 3 : 1 (1000x)

Na sliki 11 pod točko a) vidimo granule Neusilina US2. TD z US2 niso bile več pravilnih kroglastih oblik, kot je sam nosilec, ampak so se razbile ali sprijele v večje aglomerate. Do razbitja in krušenja je prišlo v procesu sušenja z razprševanjem pri prehodu skozi šobo ob povišanem tlaku. To je še posebej opazno pri TD z višjim deležem US2. Pri TD z višjim deležem učinkovine je prisoten proces aglomeracije (ZU tudi zunaj por). Učinkovina deluje kot aglomeracijsko sredstvo, kar povzroči zlepljenje delcev poroznega nosilnega materiala, posledica pa je tudi večja velikost delcev ob uporabi višjih deležev učinkovine.



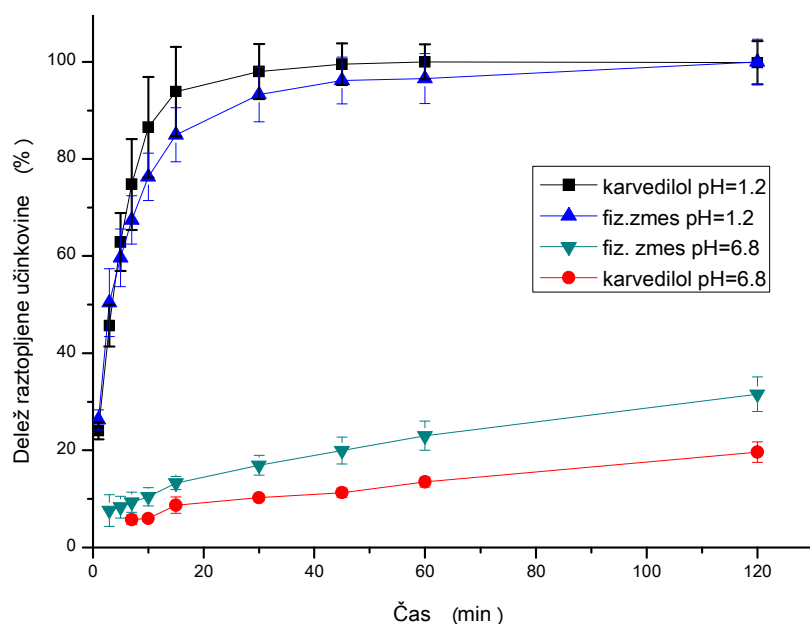
Slika 12: Morfološke lastnosti TD karvedilola z Neusilinom US2 izdelanih pri manjšem V acetona.

a) TD ZU : US2 = 1 : 1 (100 ml, 1000x), b) TD ZU : US2 = 1 : 1 (50 ml, 500x), c) TD ZU : US2 = 1 : 1 (30 ml, 1000x), d) TD ZU : US2 = 3 : 1 (100 ml, 1000x), e) TD ZU : US2 = 3 : 1 (50 ml, 5000x), f) TD ZU : US2 = 3 : 1 (30 ml, 5000x)

Proces aglomeracije in povečevanja delcev produkta je bil v še večji meri prisoten pri TD izdelanih pri manjšem V acetona, predvsem pri TD ZU : US2 = 3 : 1. To je lepo vidno na sliki 12 pod točkama e) in f). Delci poroznega nosilnega materiala so si zaradi manjšega volumna topila, v katerem so dispergirani, bližje drug drugemu, kar učinkovini dodatno olajša njeno funkcijo veziva in zlepljanje teh delcev.

4.6. Raztapljanje trdnih disperzij

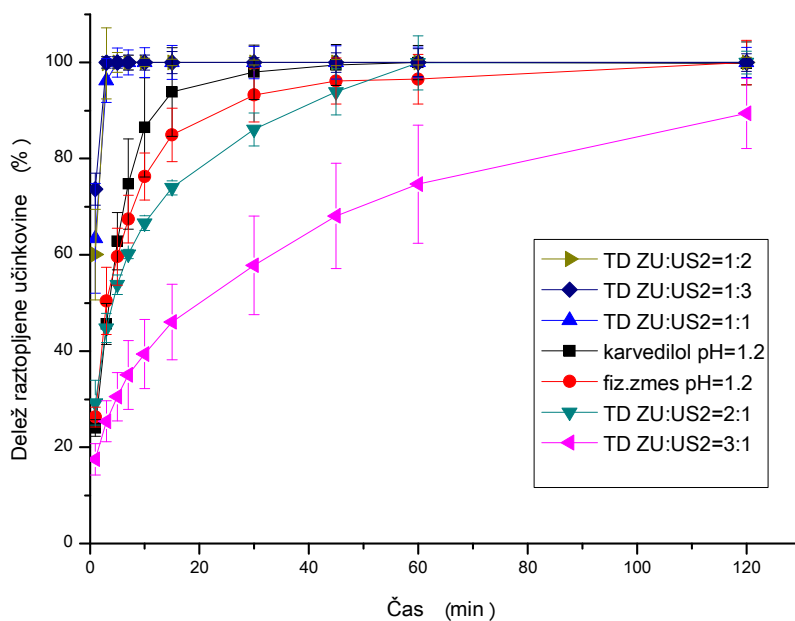
Preizkuse raztapljanja smo izvedli na kristalni obliki učinkovine, fizikalni zmesi učinkovine s poroznim nosilnim materialom in izdelanih TD v medijema HCl s pH = 1,2 in fosfatnem pufru s pH = 6,8. Odmerek je ustrezal enkratnemu terapevtskemu odmerku učinkovine, ki znaša 25 mg. Profil raztapljanja čiste učinkovine in fizikalne zmesi z Neusilinom US2 v obeh medijih je prikazan na sliki 13.



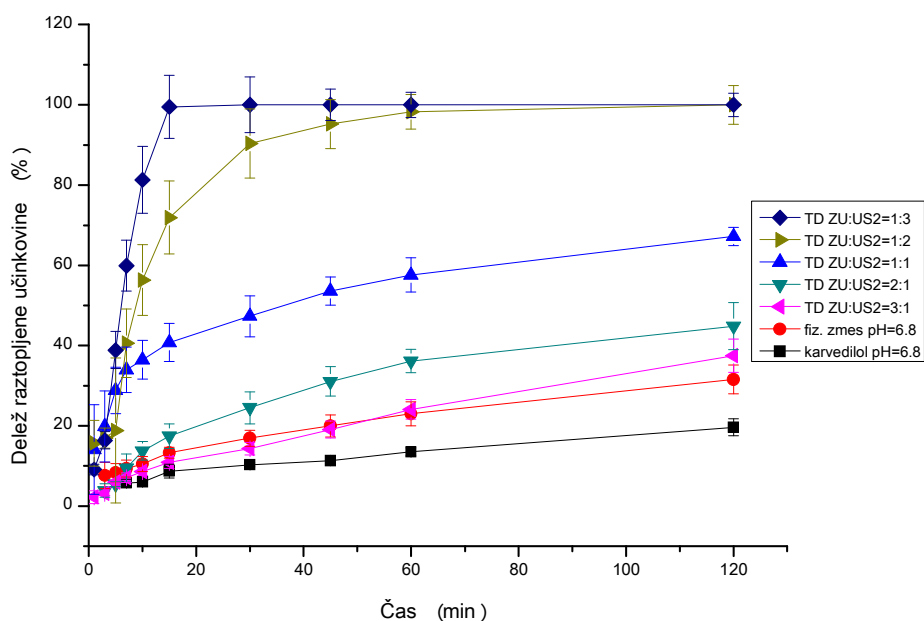
Slika 13: Raztapljanje čiste učinkovine in fizikalne zmesi z US2.

Raztapljanje je bistveno hitrejše v kislem mediju, kot v fosfatnem pufru s pH = 6,8. Ta ugotovitev je skladna s pH odvisno topnostjo karvedilola, saj je ta bistveno bolj topen v kislem kot v nevtralnem mediju. V vseh treh primerih se je pri pH = 1,2 v 20 min raztopila

vsa učinkovina, medtem ko se je v fosfatnem pufru s $\text{pH} = 6,8$ v 2 h raztopilo samo 19,7 % in 31,6 % (fizikalna zmes z US2) učinkovine, kar je bistveno manj. Glede na rezultate raztapljanja lahko zaključimo, da je nevtralni medij (fosfatni pufer s $\text{pH} = 6,8$) bolj diskriminatoren za razlikovanje med profili raztapljanja, saj opazimo očitni trend naraščanja hitrosti raztapljanja od razmerij 3 : 1 proti 1 : 3. Sliki 14 in 15 predstavljata raztapljanje TD karvedilola z Neusilinom US2 v $\text{pH} = 1,2$ in $\text{pH} = 6,8$.

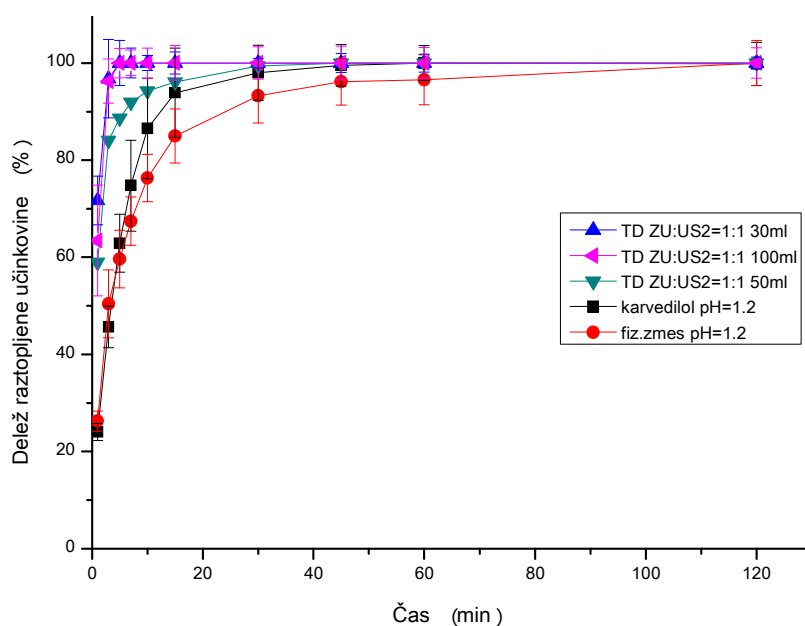


Slika 14: Raztapljanje TD karvedilola z Neusilinom US2 v $\text{pH} = 1,2$.



Slika 15: Raztapljanje TD karvedilola z Neusilinom US2 v $\text{pH} = 6,8$.

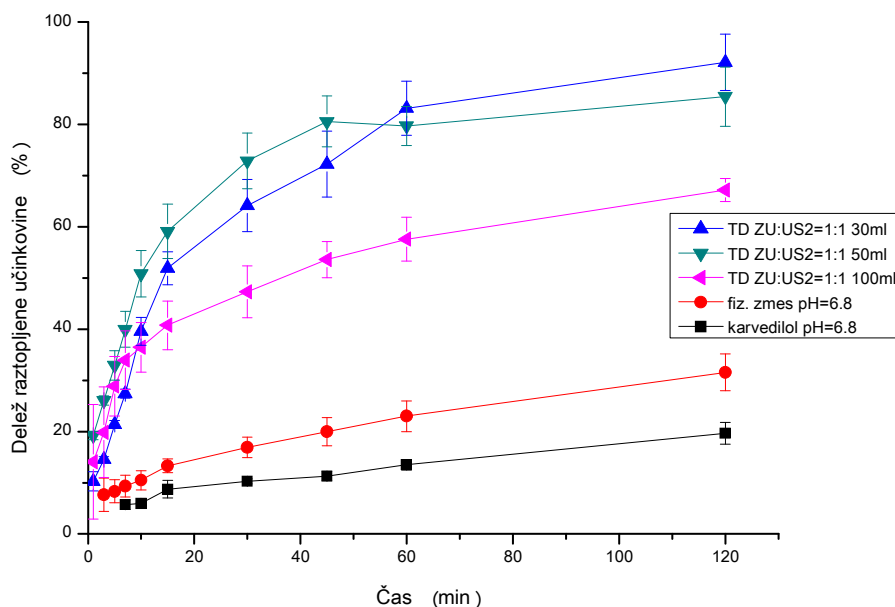
Vidimo, da se je vsa učinkovina iz TD z US2 v raztopini HCl s pH = 1,2 v celoti raztopila, razen v primeru TD ZU : US2 = 3 : 1. Vse TD imajo v fosfatnem pufru s pH = 6,8 boljši profil raztapljanja, kot fizikalna zmes karvedilola z US2 in sama kristalna oblika karvedilola. Glavna dejavnika za to sta adsorpcija učinkovine na hidrofilni nosilec, kar izboljša močenje, in amorfna oblika učinkovine, v kateri se učinkovina naloži v pore in na površino nosilca. Pri TD z višjim deležem učinkovine prihaja pri izdelavi do aglomeracije delcev (manjša stična površina z medijem vodi v počasnejše raztapljanje) in izrazitejšega nalaganja učinkovine na površino poroznega nosilnega materiala (hitrejši in lažji prehod amorfne v kristalno obliko), zato imajo te TD slabše profile raztapljanja. Ob primerjavi profilov raztapljanja TD s fizikalnimi zmesmi lahko zaključimo, da imajo TD z razmerjem ZU : US2 manjšim ali enakim od 1 : 1 bistveno hitrejše raztapljanje. Izdelava TD je v teh primerih smiselna in upravičena, saj zelo verjetno zagotovimo hitrejše delovanje in izboljšanje biološke razpoložljivosti slabo vodotopne učinkovine (farmacevtske oblike s takojšnjim sproščanjem in hitrim delovanjem).



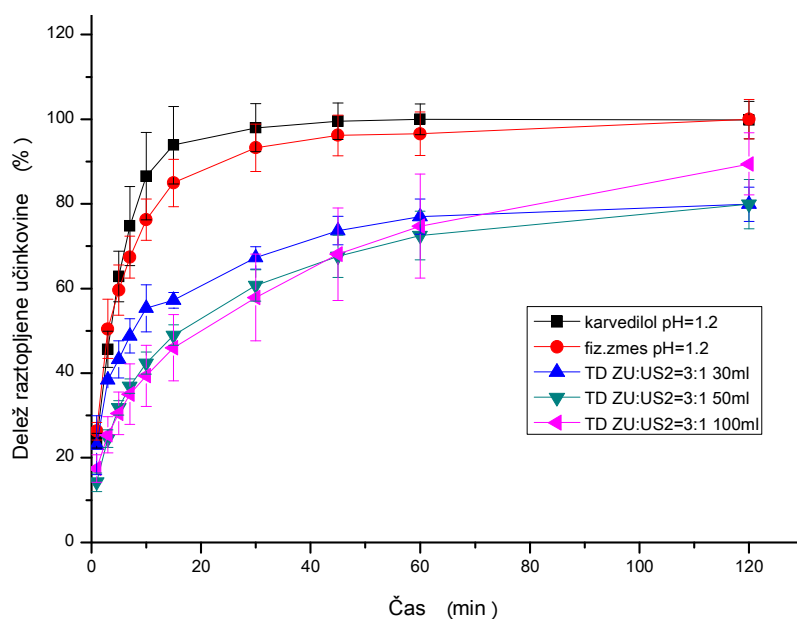
Slika 16: Raztapljanje TD ZU : US2 = 1 : 1 izdelanih pri manjšem V acetona v pH = 1,2.

Slike 16-19 prikazujejo raztapljanje TD ZU : US2 = 1 : 1 in 3 : 1 izdelanih pri manjšem V acetona. Ker se pri teh dveh razmerjih v fosfatnem pufru s pH = 6,8 iz TD izdelanih pri 100 ml acetona ni raztopila vsa učinkovina, smo preverili vpliv manjšega V acetona na kristaliničnost in količino vgrajene učinkovine v pore ter posledično vpliv na sam profil

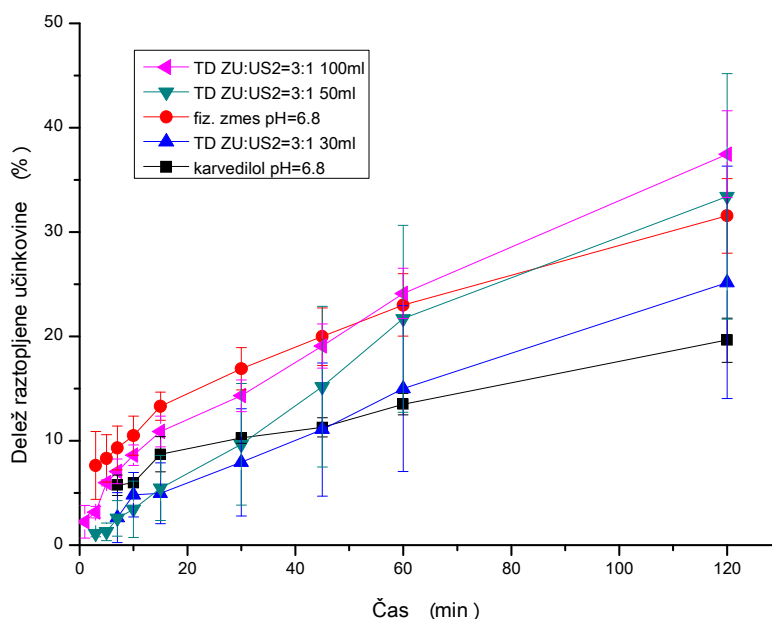
raztapljanja. Pri tem je pomembno, da se ozke pore ne zapolnijo popolnoma. V tem primeru bi se učinkovina začela nalagati na površino Neusilina US2. Zmanjšala bi se specifična površina snovi, ki je v stiku z medijem za raztapljanje, kar bi vodilo v počasnejše raztapljanje.



Slika 17: Raztapljanje TD ZU : US2 = 1 : 1 izdelanih pri manjšem V acetona v pH = 6,8.



Slika 18: Raztapljanje TD ZU : US2 = 3 : 1 izdelanih pri manjšem V acetona v pH = 1,2.



Slika 19: Raztapljanje TD ZU : US2 = 3 : 1 izdelanih pri manjšem V acetona v pH = 6,8.

Vpliv V acetona je viden pri raztapljanju v fosfatnem pufru s $pH = 6,8$. Pri TD ZU : US2 = 1 : 1 se je delež raztopljene učinkovine višal z manjšanjem V acetona. Verjetno se v pore v tem primeru vgradi večja količina amorfne oblike učinkovine, ki pa ni prevelika, da bi povzročila zaprtje por in upočasnila raztapljanje. Ravno obraten efekt smo opazili pri TD ZU : US2 = 3 : 1, kjer se je delež raztopljene učinkovine po 2 h v obeh medijih ($pH = 1,2$ in $6,8$) nižal z manjšanjem V acetona. Za to razmerje je že pri V acetona 100 ml opazno nalaganje učinkovine na površino nosilnega materiala in zapiranje por. Pri manjšem V acetona se vse samo še poslabša, saj se učinkovina najverjetneje v še debelejšem sloju naloži na površino nosilnega materiala (debelejši čep, ki zapira poro), kar dodatno poslabša raztapljanje. Preglednici XII in XIII prikazujeta delež raztopljene učinkovine iz TD po 2 h iz obeh medijev.

Preglednica XII: Deleži (%) raztopljene učinkovine iz TD karvedilola z Neusilinom US2.

Nosilec	US2	
	$pH = 1,2$	$pH = 6,8$
ZU : nosilec		
1 : 3	100	100
1 : 2	100	100
1 : 1	100	67,2
2 : 1	100	44,8
3 : 1	89,4	37,5

Preglednica XIII: Deleži (%) raztopljene učinkovine iz TD karvedilola z US2 izdelanih pri različnih V acetona.

Nosilec	US2	
	<i>pH</i> = 1,2	<i>pH</i> = 6,8
ZU : nosilec		
1 : 1 (30 ml)	100	92,1
1 : 1 (50 ml)	100	85,4
3 : 1 (30 ml)	79,9	25,2
3 : 1 (50 ml)	79,9	33,4

4.7. Prave gostote trdnih disperzij

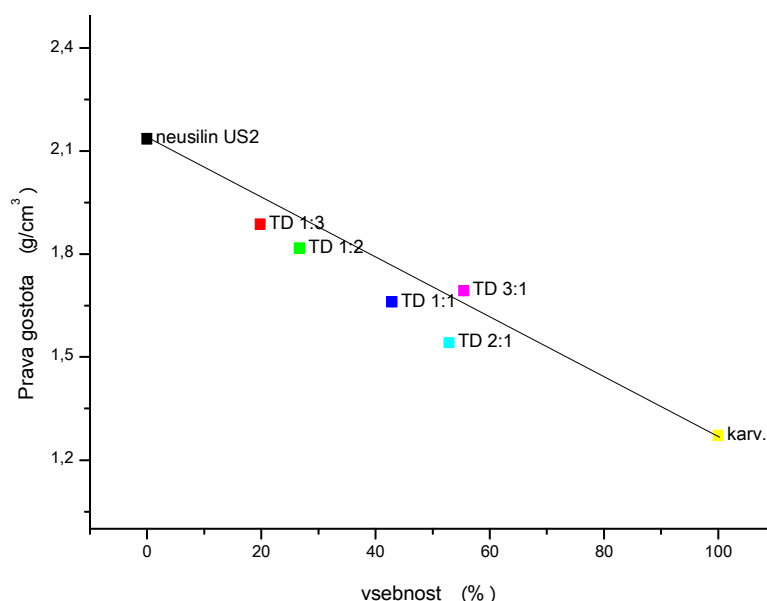
Prava gostota izključuje vse vrste por in predstavlja intrinzično lastnost trdne snovi. Kadar imamo zmes dveh snovi z različnima pravima gostotama pričakujemo, da bo prava gostota zmesi proporcionalna deležem obeh snovi. S helijevo piknometrijo smo določili pravo gostoto učinkovini, izdelanim trdnim disperzijam in poroznim nosilcem. Rezultati so prikazani v spodnji preglednici XIV.

Preglednica XIV: Prave gostote učinkovine, Neusilina US2 in izdelanih TD karvedilola z Neusilinom US2.

Vzorec		Prava gostota ρ (g/cm ³)
<i>karvedilol</i>		1,2718
<i>US2</i>		2,1359
TD ZU : US2	1 : 3	1,8872
	1 : 2	1,8171
	1 : 1	1,6603
	2 : 1	1,5413
	3 : 1	1,6933

Izmerjene prave gostote učinkovine in Neusilina US2 so v skladu s podatki iz literature (17). Razviden je trend spreminjanja pravih gostot TD glede na razmerje med ZU in nosilcem. TD z višjimi deleži ZU se s pravo gostoto približujejo ZU in obratno. Prave gostote smo primerjali z vsebnostjo, ki smo jo določili z UV-VIS analizo (slika 20). Vidimo, da vrednosti pravih gostot TD odstopajo in so nižje od pričakovanih. V primeru TD ZU : US2 = 3 : 1 je najverjetneje prišlo do napake, saj smo zaradi pomanjkanja količine vzorca meritev izvedli pri nižji masi vzorca, kot je predpisana za samo meritev. Odstopanja lahko razložimo z nalaganjem učinkovine na površino poroznega nosilnega materiala pri izdelavi TD. Kadar to nalaganje povzroči zaprtje por, pričakujemo nižjo

izmerjeno gostoto od pričakovane, saj helij (velikost atoma helija $r = 0,315 \text{ \AA}$) ne more prodreti v te zaprte pore. Posledica je lažno večji volumen in s tem lažno manjša pravo gostoto TD.



Slika 20: Primerjava prave gostote in vsebnosti karvedilola v TD z Neusilinom US2.

4.8. Specifična površina, distribucija, volumen in napolnjenost por z učinkovino

Na podlagi analize morfoloških lastnosti, raztapljanjem in določitvijo pravih gostot TD smo sklepali, da se učinkovina v procesu izdelave TD ni nalagala samo v pore nosilnih materialov, ampak tudi na površino zunaj por. Do ocene napolnjenosti por smo prišli z izračuni s pomočjo podatkov, ki smo jih dobili z BET metodo, t-plot analizo in BJH metodo, ki so prikazani v preglednici XV.

Preglednica XV: Specifična površina, distribucija, volumen in napolnjenost por z učinkovino.

TD ZU : US2 in US2	BET površina (m ² /g)	Volumen por (cm ³ /g)	Povprečna velikost por (nm)	Napolnjenost por (%)	ZU v porah (g _{ZU} /g _{US2})
US2	317,4	1,16	12,7		
1 : 3	192,1	0,74	13,6	35,8	0,53
1 : 1	109,7	0,41	13,1	64,4	0,95
3 : 1	78,6	0,31	13,9	73,0	1,08
1 : 1 (50 ml)	111,3	0,40	13,1	65,7	0,97
1 : 1 (30 ml)	82,9	0,31	14,3	72,8	1,07

Primer izračuna napolnjenosti por z učinkovino, mase učinkovine v porah in deleža učinkovine v porah za TD ZU : US2 = 1 : 1

$$\rho_{\text{karv}} = 1,2718 \text{ g/cm}^3$$

$$V_{\text{porUS2}} = 1,157813 \text{ cm}^3/\text{g}$$

$$V_{\text{porTD11}} = 0,412122 \text{ cm}^3/\text{g}$$

$$m_{\text{ZUvTD11}} = 0,747 \text{ gZU/gUS2}$$

$$m_{\text{ZUmaxvporah}} = \rho_{\text{karv}} * V_{\text{porUS2}} = 1,4225 \text{ gZU/gUS2} \text{ (maksimalna količina ZU, ki lahko napolni pore US2)}$$

$$V_{\text{ZU}} = V_{\text{porUS2}} - V_{\text{porTD11}} = 0,745691 \text{ cm}^3/\text{g} \text{ (sprememba volumna por ob izdelavi TD)}$$

$$m_{\text{ZUvporah}} = \rho_{\text{karv}} * V_{\text{ZU}} = 0,9484 \text{ gZU/gUS2} \text{ (dejanska količina ZU, ki se nahaja v porah US2)}$$

$$\%_{\text{nap}} = V_{\text{porTD11}} / V_{\text{porUS2}} = 0,6440 \text{ (64,40 \%)} \text{ (delež napolnjenosti por)}$$

Rezultati BET analize kažejo, da se specifična površina z izdelavo TD močno zmanjša, kar je še posebej značilno za TD z višjim deležem učinkovine. Pri takšnih TD se V por opazno zmanjšuje, medtem ko na povprečno velikost por izdelava TD bistveno ne vpliva. Ti rezultati potrjujejo nalaganje učinkovine v pore mezoporoznega nosilca. Izračunani deleži napolnjenosti por so pokazali, da se je največ učinkovine vgradilo v pore pri TD z najvišjim deležem učinkovine (ZU : US2 = 3 : 1). Skladno z višjim deležem napolnjenosti por sta se manjšali BET površina in velikost por. Z izračunom deleža napolnjenosti por pri TD ZU : US2 = 1 : 1 izdelanih pri manjšem V acetona smo pokazali, da je vgrajevanje učinkovine v pore nekoliko boljše pri manjših V acetona, v katerih smo raztopili učinkovino pred razprševanjem.

4.9. Močenje trdnih disperzij

Kot tekočine za določanje stičnega kota smo uporabili fosfatni pufer s pH = 6,8 (medij za raztapljanje), pripravili smo pa tudi fosfatne pufre s pH = 6,8 z dodatkom površinsko aktivnih snovi SDS (anionski surfaktant), CTAB (kationski surfaktant) in Tween 80 (neionski surfaktant) (5 g/l oz. 0,5 %). Stični kot smo izmerili ob času 0, 5, 10 in 60 s glede na kontakt tekočina-trdno za posamezne primere, ki so predstavljeni v preglednici XVI. Ko smo kot tekočino uporabili fosfatni pufer, smo na karvedilolu določili stični kot 63,5° (po 1 min za 3° manjši kot) in na Neusilinu US2 43,5° (po 1 min za 5° manjši kot). V vseh analiziranih vzorcih je stični kot padal s časom, kar pomeni, da je tekočina močila in pronicala v vzorec (stisnjena ploščica). Očitnih razlik v močenju TD iz rezultatov ni moč razbrati. Kljub temu se ob času 0 in 5 s vidi grob trend padanja stičnega kota od TD z razmerjem 3 : 1 proti TD z razmerjem 1 : 3, kar potrjuje sklep o nalaganju učinkovine na površino Neusilina US2 pri TD z višjim deležem učinkovine. Dodatek različnih PAS ne

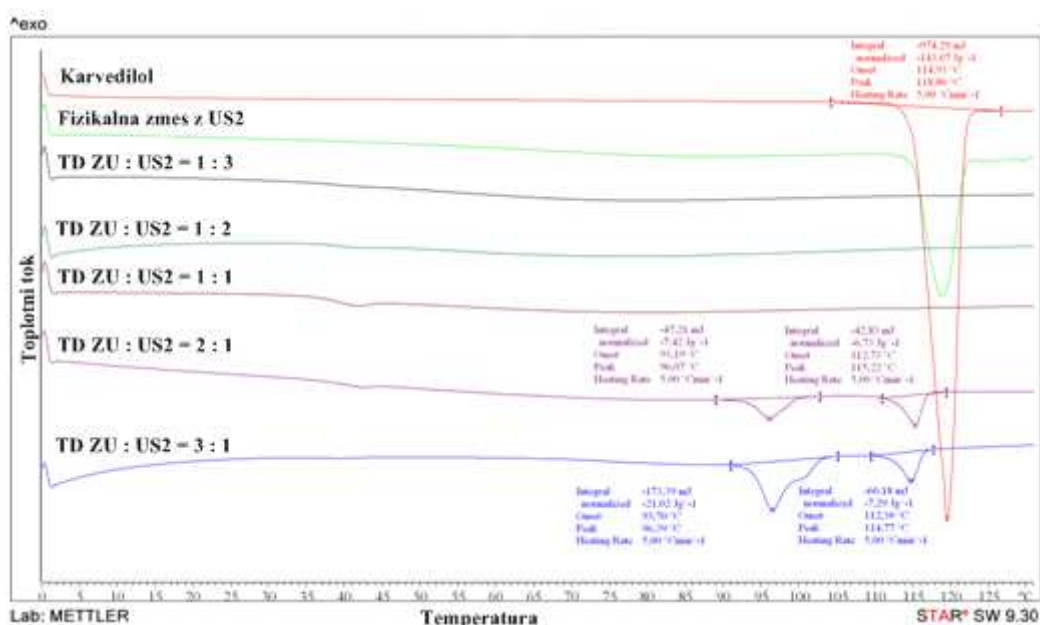
vpliva na močenje, čeprav je pri CTAB ob času 0 s nekoliko višji stični kot v primerjavi z SDS in Tween 80.

Preglednica XVI: Spreminjanje stičnega kota ($\alpha \pm SD^\circ$) TD s časom ob uporabi tekočin z dodatkom različnih PAS.

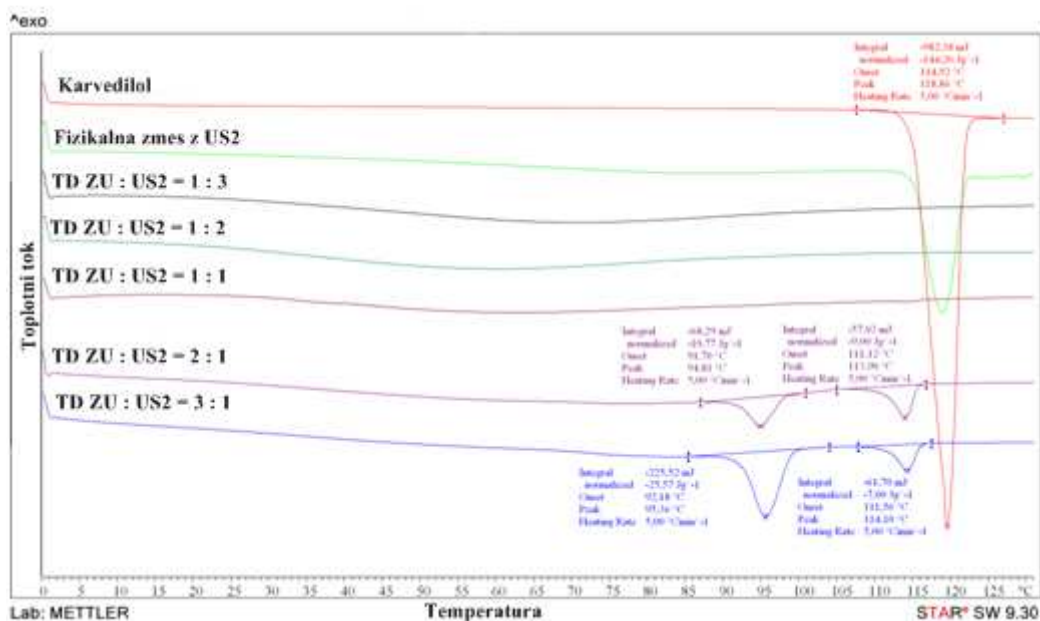
TD ZU : US2/tekočina	0 s	5 s	10 s	60 s
TD 1 : 3/fosf. pufer	59,3 ± 1,5	50,8 ± 1,5	50,0 ± 0,4	48,3 ± 1,5
TD 1 : 1/SDS	59,1 ± 0,8	57,9 ± 0,7	56,8 ± 1,0	54,0 ± 1,2
TD 1 : 1/CTAB	64,5 ± 0,9	60,4 ± 0,6	58,5 ± 0,7	50,5 ± 1,2
TD 1 : 1/Tween 80	62,0 ± 1,2	57,2 ± 0,9	54,1 ± 0,6	48,7 ± 1,9
TD 1 : 1/fosf. pufer	62,2 ± 0,7	53,8 ± 0,7	52,2 ± 1,0	50,7 ± 1,3
TD 3 : 1/fosf. pufer	64,4 ± 2,2	55,2 ± 2,1	52,3 ± 1,4	50,7 ± 1,8

4.10. Stabilnost trdnih disperzij

Za TD je znano, da se amorfna oblika učinkovine, vgrajena v nosilni material pri stresnih pogojih, torej pri povišani T in RV, velikokrat pretvori v kristalno obliko. Zato smo preverili fizikalno stabilnost izdelanih TD. TD smo za šest in deset tednov izpostavili povišani temperaturi T = 40 °C in relativni vlažnosti RV = 75 %. Po 6 in 10 tednih smo za vsak vzorec opravili DSC analizo in test raztapljanja, s čimer smo preverili vpliv na kristaliničnost (prehod amorfne v kristalno obliko) in posledično na hitrost raztapljanja učinkovine. Rezultati DSC analiz so prikazani na slikah 21 in 22.



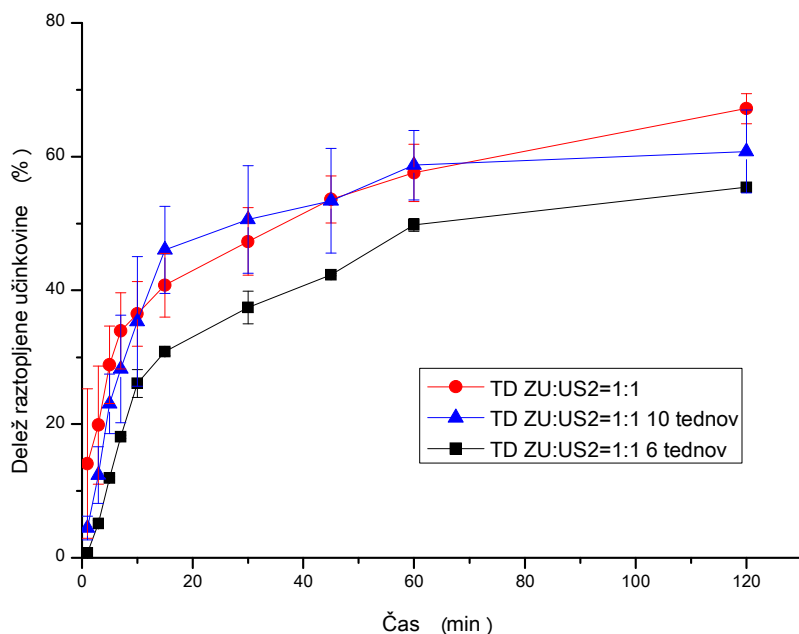
Slika 21: DSC krivulje TD karvedilola z Neusilinom US2 po izpostavitvi povišani T in RV za šest tednov.



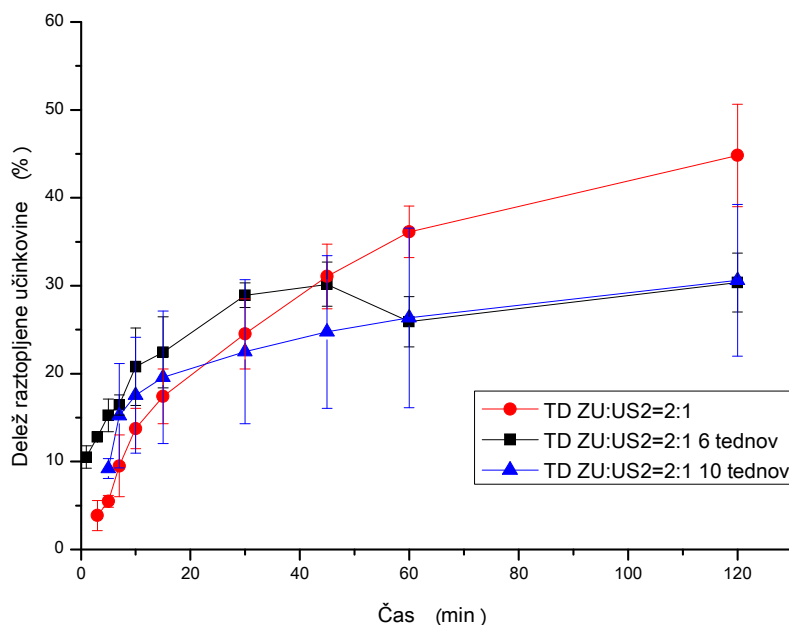
Slika 22: DSC krivulje TD karvedilola z Neusilinom US2 po izpostavitvi povišani T in RV za deset tednov.

Iz DSC krivulj je vidno, da je bila učinkovina v TD z razmerji ZU : US2 = 1 : 3, 1 : 2 in 1 : 1 po šestih oziroma desetih tednih še vedno v amorfni obliki, saj ni bilo vidnega vrha v območju taljenja kristalnih oblik karvedilola. Učinkovina pa ni ostala amorfna v TD z razmerjema ZU : US2 = 2 : 1 in 3 : 1, saj sta bila po šestih oziroma desetih tednih vidna kar dva vrha v območju taljenja kristalnih oblik karvedilola. To je pomenilo, da se je določen delež amorfne oblike karvedilola po izpostavitvi stresnim pogojem pretvoril v dve kristalni obliki karvedilola. Na podlagi $T_{\text{tališča}}$ za oba signala iz DSC-ja smo sklepali, da gre za obliko II ($T_{\text{tališča}} = 114\text{-}118\text{ °C}$) in karvedilol hemihidrat ($T_{\text{tališča}} = 94\text{-}96\text{ °C}$). Iz DSC krivulj nestabilnih TD z US2 je bilo moč razbrati, da se delež amorfne učinkovine, ki se je pretvoril v obliko II, med šestim in desetim tednom ni bistveno povečal (ni bistvene razlike v specifični talilni entalpiji). Znatno pa se je povečal delež nastalega karvedilol hemihidrata, na kar kaže višja specifična talilna entalpija ob desetem tednu v primerjavi s šestim tednom. Na podlagi rezultatov lahko rečemo, da so TD z nižjim deležem ZU bolj stabilne, saj se večina ZU vgradi v pore, kjer se zaradi steričnih ovir težje pretvori v kristalno obliko. Ravno obratno je pri TD z višjim deležem ZU, kjer se učinkovina nalaga tudi na površino Neusilina US2 in se lažje pretvori v kristalno obliko. Rezultat potrjuje našo tezo, da se pri TD z višjim deležem učinkovine le-ta v večji meri nalaga na površino, kar dokazujejo tudi ostali rezultati (npr. prava gostota, BET, itd.)

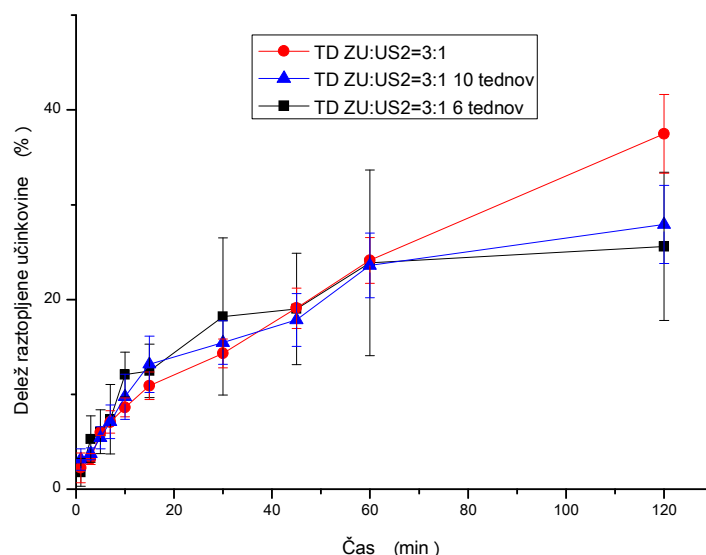
Na spodnjih slikah so prikazani samo profili raztapljanja učinkovine iz TD ZU : US2 = 1 : 1, 2 : 1 in 3 : 1 po testiranju stabilnosti v fosfatnem pufru s pH = 6,8, ker so tukaj vidne razlike v deležu raztopljene učinkovine ob času 0, 6 in 10 tednov. V raztopini HCl s pH = 1,2 se v vseh primerih raztopi 100 % kljub izpostavljenosti stresnim pogojem.



Slika 23: Raztapljanje TD ZU : US2 = 1 : 1 v pH = 6,8 po testiranju stabilnosti.



Slika 24: Raztapljanje TD ZU : US2 = 2 : 1 v pH = 6,8 po testiranju stabilnosti.



Slika 25: Raztapljanje TD ZU : US2 = 3 : 1 v pH = 6,8 po testiranju stabilnosti.

Preglednica XVII: Deleži (%) raztopljenih učinkovine iz TD z US2 in UFL2 ob času 0 ter po 6 in 10 tednih izpostavljenosti povišani T in RV.

Nosilec ZU : nosilec	US2					
	pH = 1,2			pH = 6,8		
	0	6	10	0	6	10
1 : 3	100	100	100	100	100	100
1 : 2	100	100	100	100	91,8	95,8
1 : 1	100	100	100	67,2	61,6	60,7
2 : 1	100	100	100	44,8	30,4	30,6
3 : 1	89,4	100	100	37,5	25,6	27,9

Iz preglednice XVII in slik 23, 24 ter 25 opazimo, da se je delež raztopljenih učinkovine iz TD z Neusilinom US2 v fosfatnem pufru s pH = 6,8 po 6 in 10 tednih izpostavljenosti stresnim pogojem, bistveno zmanjšal pri TD ZU : nosilec = 2 : 1 in 3 : 1. Med 6 in 10 tednom v deležu raztopljenih učinkovine ni bistvenih razlik. Slabši profil raztapljanja potrjuje DSC analiza, kjer je vidno, da je prišlo do pretvorbe amorfnih oblik v dve kristalni obliki. Pri TD (1 : 3, 1 : 2 in 1 : 1) ni bilo bistvenih sprememb v deležu raztopljenih učinkovine, kar nakazuje na dobro fizikalno stabilnost teh disperzij.

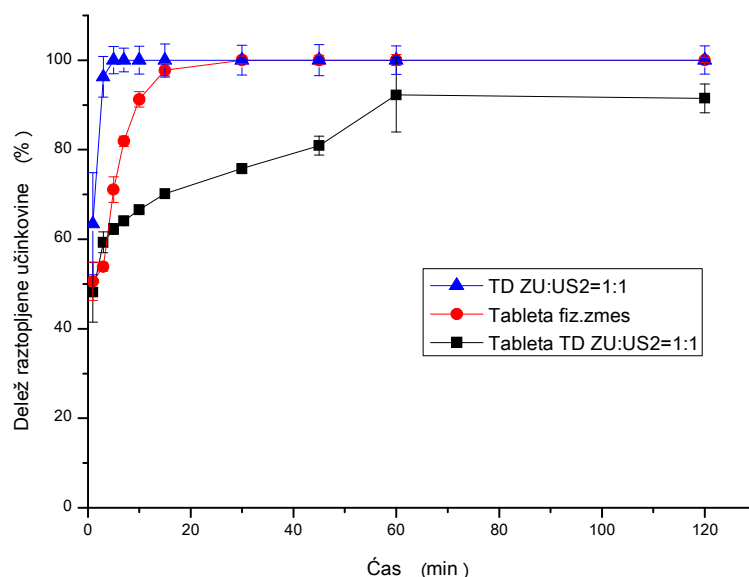
4.11. Primerjava TD karvedilola z Neusilinom US2 in UFL2

Med TD karvedilola z Neusilinom US2 in UFL2 ni pomembnih razlik. V obeh primerih smo posameznim TD določili podobne vsebnosti učinkovine, amorfnost (le pri TD

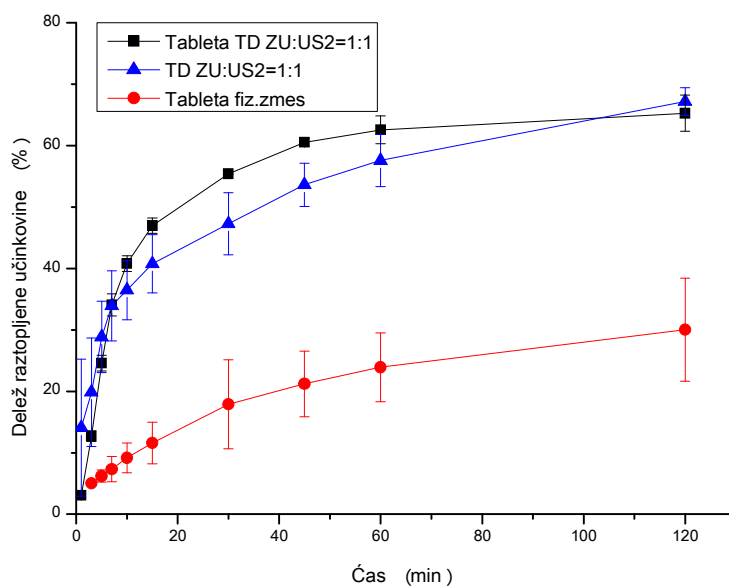
ZU : UFL2 = 3 : 1 je bil določen delež učinkovine tudi v kristalni obliki; UFL2 ima manjšo vezavno kapaciteto za vgradnjo amorfnе ZU kot US2) in količino vgrajene učinkovine v pore nosilnega materiala, podobne profile raztapljanja, morfološke lastnosti in obnašanje pri povišani T in RV. Do manjših razlik je prihajalo samo v izkoristkih izdelave. Ti so bili pri TD z US2 nekoliko višji od tistih pri TD z UFL2. Do tega je prišlo zaradi lastnosti delcev Neusilina US2. Ti so večji, okrogli in jih je manj, kar je neugodno za lepljenje oziroma stik s steklom. Eksperimentalni rezultati TD karvedilola z Neusilinom UFL2 so prikazani v Prilogi.

4.12. Tabletiranje trdne disperzije

Končni cilj diplomskega dela je bila aplikacija TD v konkretno, preferenčno trdno in enoodmerno farmacevtsko obliko. Fizikalno zmes US2 in izdelano TD ZU : US2 = 1 : 1, ki se je po opravljenih vseh analizah izkazala za najboljšo (stabilna, velik delež vgrajene učinkovine v pore, manjša količina potrebnega Neusilina kot pri 1 : 3 in 1 : 2), smo z instrumentirano tabletirko na udarec Kilian SP 300 stisnili v tablete. Izdelali smo 400 mg tablete z vsebnostjo učinkovine 25 mg (kot polnilo smo uporabili mikrokristalno celulozo Avicel PH 200) s povprečno trdnostjo 108 N. Določili smo profila sproščanja učinkovine iz tablet v medijema raztopine HCl s pH = 1,2 in fosfatnem pufru s pH = 6,8.



Slika 26: Raztapljanje učinkovine iz izdelanih tablet v pH = 1,2.



Slika 27: Raztapljanje učinkovine iz izdelanih tablet v pH = 6,8.

Kot vidimo na slikah 26 in 27, so bili profili raztapljanja učinkovine zelo podobni tistim, ko smo raztapljali TD ZU : US2 = 1 : 1. Torej tabletiranje ne spremeni profila sproščanja učinkovine. Do manjšega odstopanja pri sproščanju učinkovine iz tablete, v primerjavi s trdno disperzijo, prihaja samo v raztopini HCl s pH = 1,2. Najverjetnejši vzrok temu je v nepopolnem razpadu tablete.

5. SKLEP

Z metodo sušenja z razprševanjem smo uspešno izdelali TD ZU : nosilec pri več razmerjih od 1 : 3 do 3 : 1 in različnih V acetona (100, 50 in 30 ml). V celoti gledano so se izkoristki manjšali z višanjem deleža učinkovine v TD, zaradi povečanega lepljenja na stene procesne steklovine, pri čemer V acetona ni vplival na sam izkoristek. Opazne so bile tudi manjše razlike v izkoristkih glede na uporabljen nosilni material. Ti so bili manjši pri TD izdelanih z UFL2, ker so delci pri US2 večji, okrogli in jih je manj, kar je neugodno za lepljenje oziroma stik s steklom. Kristaliničnost vgrajene učinkovine v pore Neusilina smo preverili s termično analizo. Povsod je bila v amorfni obliki, razen pri najvišjem razmerju ZU : nosilec 3 : 1 in to le pri UFL2. UFL2 ima manjšo vezavno kapaciteto za vgradnjo amorfnе ZU kot US2. Določene vsebnosti učinkovine v TD z UV-VIS in TGA so bile blizu teoretičnim. Manjša odstopanja so se pojavila zaradi izgube učinkovine na filtre v procesu izdelave in zaostanka učinkovine na nosilcu pri določevanju vsebnosti in heterogenosti vzorca, pri čemer V acetona ni bistveno vplival na vsebnost učinkovine v TD. Analize SEM, DSC, BET in določanje prave gostote ter močljivosti izdelanih trdnih disperzij so pokazale, da sta bila v procesu izdelave prisotna dva neželena procesa – nalaganje delcev učinkovine na površino nosilnega materiala (zaprtje por) in aglomeracija delcev (nastanek večjih delcev TD). Aglomeracija delcev (manjša stična površina z medijem vpliva na počasnejše raztapljanje) in nalaganje učinkovine na površino poroznega nosilnega materiala (hitrejši in lažji prehod amorfnе oblike v kristalno pri povišani T in RV) sta bila v večji meri prisotna pri TD z višjim deležem učinkovine ter izdelanih pri manjšem V acetona (ZU : nosilec = 2 : 1 in 3 : 1 pri 50 in 30 ml). Te TD so imele v fosfatnem pufru s pH = 6,8, ki velja za bolj diskriminatoren medij, slabši profil raztapljanja v primerjavi s tistimi z nižjim deležem učinkovine. Te TD se po šestih tednih izpostavljenosti stresnim pogojem T = 40 °C in RV = 75 % niso izkazale za fizikalno stabilne, saj se je določen delež amorfnе oblike učinkovine (najverjetneje učinkovina na površini nosilca) pretvoril v dve kristalni obliki (oblika II in karvedilol hemihidrat). Za TD z nižjih deležem učinkovine pa smo ugotovili, da so stabilne najmanj 10 tednov. Pri izdelavi TD z uporabo manjšega V acetona se je povečal delež vgrajene učinkovine v pore, ampak le pri razmerjih ZU : nosilec manjših ali enakih 1 : 1. Pore TD z višjim deležem učinkovine so polne ali zaprte že pri V acetona 100 ml. V tem primeru z zmanjševanjem V acetona stimuliramo dodatno nalaganje učinkovine na površino nosilca, s čimer ustvarjamo

še debelejšje čepe nad porami, in s tem samo še slabšamo raztapljanje. TD z razmerjem ZU : US2 = 1 : 1 smo uporabili za izdelavo tablet, zaradi njene stabilnosti, velikega deleža vgrajene učinkovine v pore in manjše količine potrebnega Neusilina pri izdelavi. Učinkovina iz tablet ima primerljiv profil sproščanja kot učinkovina iz same TD. Proces sušenja z razprševanjem ima veliko procesnih parametrov (vstopna in izstopna T, hitrost črpalke, vlažnost in pretok plina, itd.), ki vplivajo na lastnosti izdelanega produkta. Poleg teh parametrov bi bilo v prihodnje zelo smiselno proučiti, kako na lastnosti TD vpliva izbira drugih nosilnih materialov, dodatek polimerov ali PAS, sprememba topil, itd.

LITERATURA

1. Planinšek O. Sodobni pristopi k izdelavi trdnih disperzij z izboljšano biološko uporabnostjo zdravil. *Farm Vestn*, 2009; 60: 169-176
2. Leuner C., Dressman J. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2000; 50: 47-60
3. Amidon, G.L., Lennernäs, H., Shah, V.P., Crison, J.R. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm. Res.* 1995; 12: 413–420.
4. Ahuja N. et al. Solid dispersions-preparation methods, pharmaceutical applications and evaluation techniques: a review. *Novel Science International Journal of Pharmaceutical Science*. 2012; 1(2): 103-114
5. Kawabata Y., Wada K., Nakatani M., Yamada S., Onoue S. Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011; 420: 1-10.
6. Planinšek O., Kovačič B., Vrečer F. Carvedilol dissolution improvement by preparation of solid dispersions with porous silica. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011; 406: 41-48
7. Noyes-Whitneyeva enačba. Dostopano na (junij 2013):
http://en.wikipedia.org/wiki/Arthur_Amos_Noyes

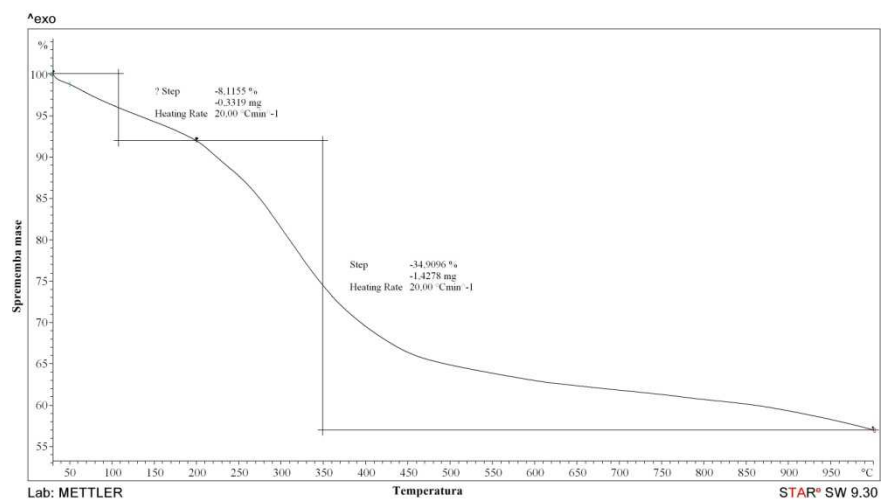
8. Brook S. C. et al.. Carvedilol phosphate salts and/or solvates there of, corresponding compositions, and/or methods of treatment. Unites States Patent, 7,893,100 B2, patent vložen 2007
9. Hildesheim J, Finogueev S et al. Carvedilol. WIPO Patent Application, WO/200/00216A1, patent vložen 2001
10. Grčman M, Smrkolj M, Zupet R. New crystalline forms of carvedilol. WIPO Patent Application, WO/2005/021504 A2, patent vložen 2004
11. Kor I., Wizek S. Crystalline solids of carvedilol and processes for their preparation. WIPO Patent Application , WO/2003/059807 A2, patent vložen 2003
12. Beyer P, Reinholz E: Thermodynamically stable modification of 1-(4 carbazolyloxy)- 3-[2-(2-methoxyphenoxy)ethylamino]-2-propanole, process for its preparation and pharmaceutical compositions containing it. European Patent Application, EP0893440, patent vložen 1999.
13. Bubendorf A.G., Gabel R.D. et al. Pseudopolymorphic forms of carvedilol. WIPO Patent Application, WO/2003/029214 A1, patent vložen 2002
14. Ukmar T., Mali G., Planinšek O. Sistemi s prirejenim sproščanjem na osnovi mezoporoznih ogrodij. Farmaceutski vestnik. 2009; 60: 313-318
15. Sher P., Ingavle G., Ponrathnam S., Pawar A.P. Low density porous carrier Drug adsorption and release study by response surface methodology using different solvents. International Journal of Pharmaceutics. 2007; 331: 72-83
16. Sharma S., Pawar A. Low density multiparticulate system for pulsatile release of meloxicam. International Journal of Pharmaceutics. 2006; 313: 150–158
17. Neusilin. Dostopano na (avgust 2013): <http://www.neusilin.com/product/index.php>
18. Krupa A., Dorota M., Jachowicz R., Mozgawa W. Solid-state interaction of ibuprofen and Neusilin US2. Thermochemica Acta. 2010; 509: 12-17
19. Dhirenda, K., Lewis, S., Udupa N., Atin, K.. Solid dispersions: A review. Pak J. Pharm Sci. 2009; 22(2): 234-246
20. Tiwari R., Tiwari G., Srivastava B., Rai A.K..Solid Dispersions: An Overview To Modify Bioavailability Of Poorly Water Soluble Drugs. International Journal of PharmTech Research. 2009; 1 (4): 1338-1349
21. Saffoon N. et. al. Enhancement of Oral Bioavailability and Solid Dispersion: A Review. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 1 (7); 2011: 13-20

22. Vasconcelos T., Sarmento B., Costa P. Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs. *Drug Discov Today*. 2007; 12: 1068-75
23. Frizon F. et. al. Dissolution rate enhancement of loratadine in polyvinylpyrrolidone K-30 solid dispersions by solvent methods. *Powder Technology*. 2013; 235: 532-539
24. Verreck G. et al. Hot stage extrusion of p-amino salicylic acid with EC using CO₂ as a temporary plasticizer. *Int. J. Pharm.* 2006; 327: 45–50
25. Verreck, G. et al. The effect of pressurized carbon dioxide as a temporary plasticizer and foaming agent on the hot stage extrusion process and extrudate properties of solid dispersions of itraconazole with PVP-VA 64. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2005; 26: 349–358
26. Verreck G. et al. The effect of supercritical CO₂ as a reversible plasticizer and foaming agent on the hot stage extrusion of itraconazole with EC 20 cps. *J. Supercrit Fluids*. 2007; 40: 153–162
27. Ilić I., Dreu R, Burjak M., Homar M, Kerč J., Srčič S. Microparticle size control and glimepiride microencapsulation using spray congealing technology. *International Journal of Pharmaceutics*. 2009; 381: 176–183
28. Abdelwahed W., Degobert G., Stainmesse S., Fessi H.. Freeze-drying of nanoparticles: Formulation, process and storage considerations. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2006; 58: 1688–1713
29. Pasquali I., Bettini R., Giordano F. Supercritical fluid technologies: An innovative approach for manipulating the solid-state of pharmaceuticals. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2008; 60: 399-410
30. Yasuji T., Takeuchi H., Kawashima Y. Particle design of poorly water-soluble drug substances using supercritical fluid technologies. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2008; 60: 388–398
31. Yeo SD., Kirana E. Formation of polymer particles with supercritical fluids: A review. *J. of Supercritical Fluids*. 2005; 34: 287–308
32. Paudel A., et. al. Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations Review Article *International Journal of Pharmaceutics*. 2013; 453: 253-284
33. Patel R. P., Patel M. P., Suthar A. M. Spray drying technology: an overview. *Indian Journal of Science and Technology*. 2009; 2 (10): 44-47

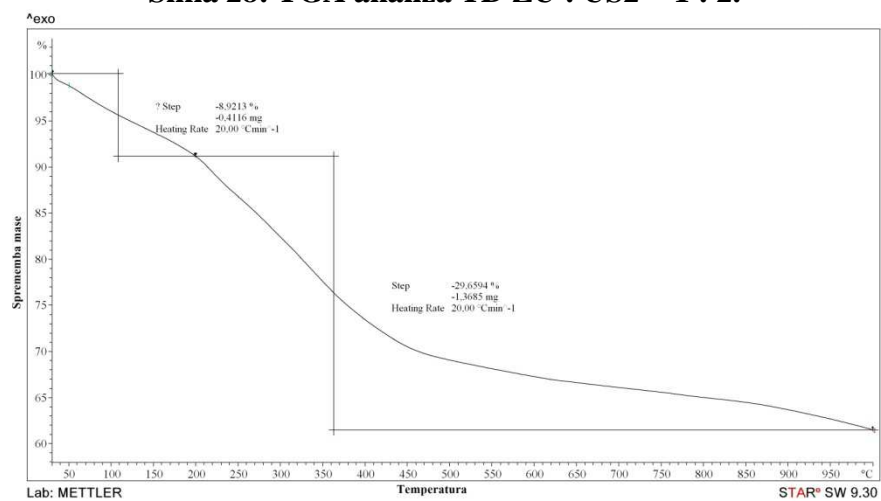
34. Frizon F., et.al. Dissolution rate enhancement of loratadine in polyvinylpyrrolidone K-30 solid dispersions by solvent methods. *Powder Technology*. 2013; 235: 532–539
35. Eerdenbrugh Van B., et.al. Itraconazole/TPGS/Aerosil®200 solid dispersions Characterization, physical stability and in vivo performance. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2009; 38: 270–278
36. Djuris J., et.al. Preparation of carbamazepine–Soluplus_ solid dispersions by hot-melt extrusion, and prediction of drug–polymer miscibility by thermodynamic model fitting. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2013; 84: 228–237
37. Zajc N., et.al. Physical properties and dissolution behaviour of nifedipine/mannitol solid dispersions prepared by hot melt method. *International Journal of Pharmaceutics*. 2005; 291: 51–58
38. Qi S., et.al. Characterisation of solid dispersions of paracetamol and EUDRAGIT® E prepared by hot-melt extrusion using thermal, microthermal and spectroscopic analysis. *International Journal of Pharmaceutics*. 2008; 354: 158–167
39. Zhang Y., et.al. Carboxylated mesoporous carbon microparticles as new approach to improve the oral bioavailability of poorly water-soluble carvedilol. *International Journal of Pharmaceutics*. 2013; 454: 403– 411
40. Ke P., et.al. Investigation of preparation methods on surface/bulk structural relaxation and glass fragility of amorphous solid dispersions. *International Journal of Pharmaceutics*. 2012; 422: 170– 178
41. Vadner H. A., et.al. Preparation and Characterization of Co-Grinded Mixtures of Aceclofenac and Neusilin US2 for Dissolution Enhancement of Aceclofenac. *PharmSciTech*. 2009; 10: 606-614
42. Bahl D., Bogner H. R.. Amorphization of Indomethacin by Co.Grinding with Neusilin US2: Amorphization Kinetics, Physical Stability and Mechanism. *Pharmaceutical Research*. 2006; 23: 2317-2325
43. De Zordi N., et.al. Applications of supercritical fluids to enhance the dissolution behaviors of Furosemide by generation of microparticles and solid dispersions. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2012; 81: 131–141
44. Shah S., et.al.. Melt extrusion with poorly soluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics*. 2013; 453: 233– 252

45. Or D. Scaling of capillary, gravity and viscous forces affecting flow morphology in unsaturated porous media *Original Advances in Water Resources*. 2008; 31: 1129-1136
46. Lenormand R. Liquids in porous media. *Journal of Physics: Condensed Matter*. 1990; 2: 79-88
47. Teng H., Zhao T. S. An extension of Darcy's law to non-Stokes flow in porous media. *Chemical Engineering Science*. 2000; 55: 2727-2735
48. Kausik Bal, Jintu Fan, M.K. Sarkar, Lin Ye. Differential spontaneous capillary flow through heterogeneous porous media. *International Journal of Heat and Mass Transfer*. 2011; 54: 3096-3099
49. I. Sam Saguy, Marabi A., Wallach R. New approach to model rehydration of dry food particulates utilizing principles of liquid transport in porous media *Trends in Food Science & Technology*. 2005; 16: 495-506
50. Horikawa T, Nicholson D. Capillary condensation of adsorbates in porous materials. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2011; 169: 40-58
51. Vrielink L. BET: a practical approach. University of Twente. Faculty of Science and Technology, IMPACT. 2007
52. Specifična površina in poroznost. Dostopano na (avgust 2013): http://www.tcd.ie/CMA/misc/Surface_area_and_porosity.pdf
53. Določanje mikro- in mezopor z plinsko adsorpcijo. Dostopano na (avgust 2013): www.skic.dicp.ac.cn/yiqi/Seminar%20JSD%20-%20II.ppt
54. Carvedilol. *European Pharmacopoeia*, 7th Ed.
55. Coryol SmPC. Dostopano na (junij 2013): www.zdravila.net
56. Yanzhuo Zhang et.al. Carboxylated mesoporous carbon microparticles as new approach to improve the oral bioavailability of poorly water-soluble carvedilol *International Journal of Pharmaceutics*. 2013; 454: 403-411

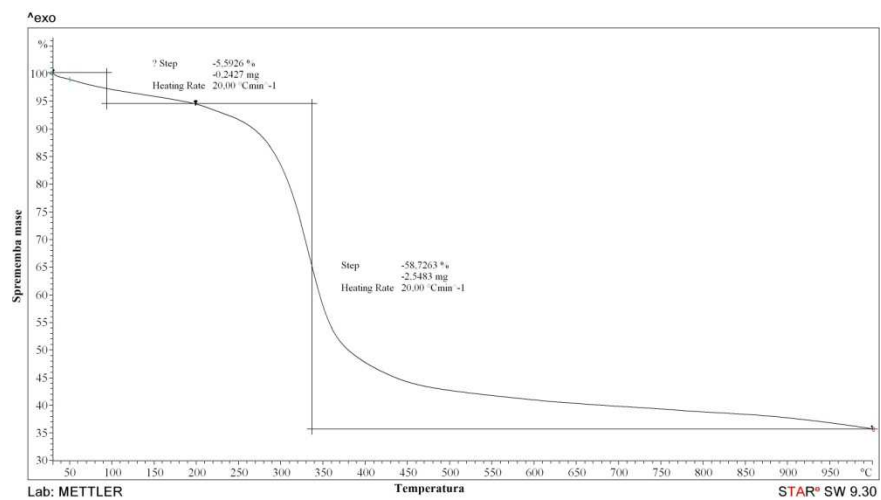
PRILOGA



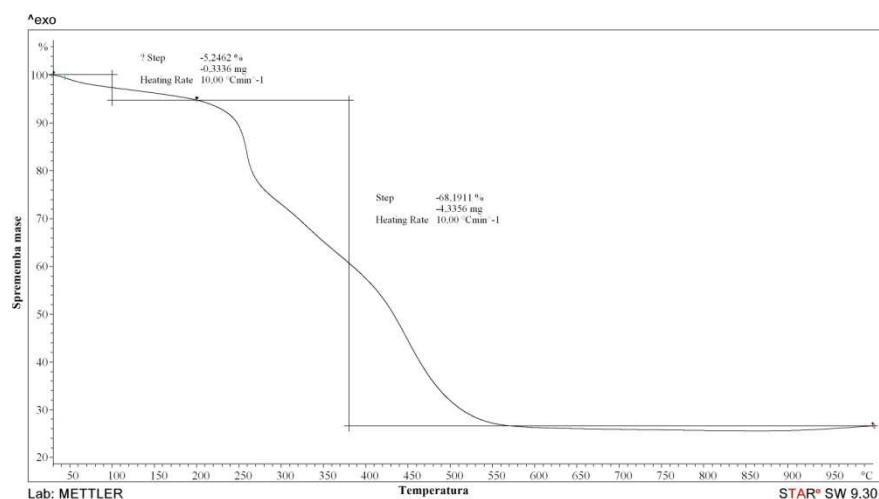
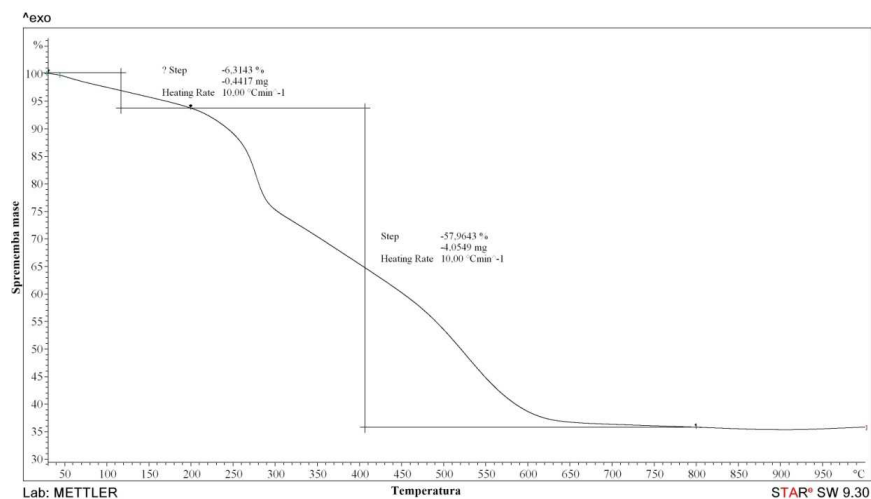
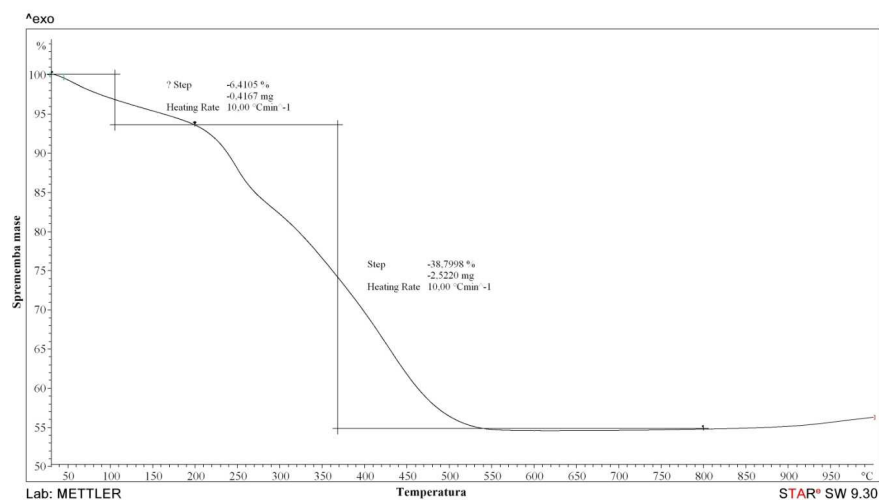
Slika 28: TGA analiza TD ZU : US2 = 1 : 2.

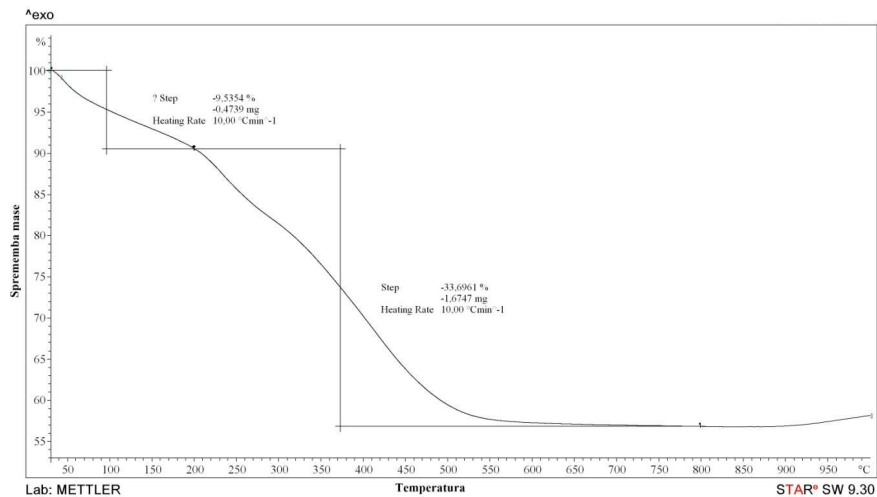
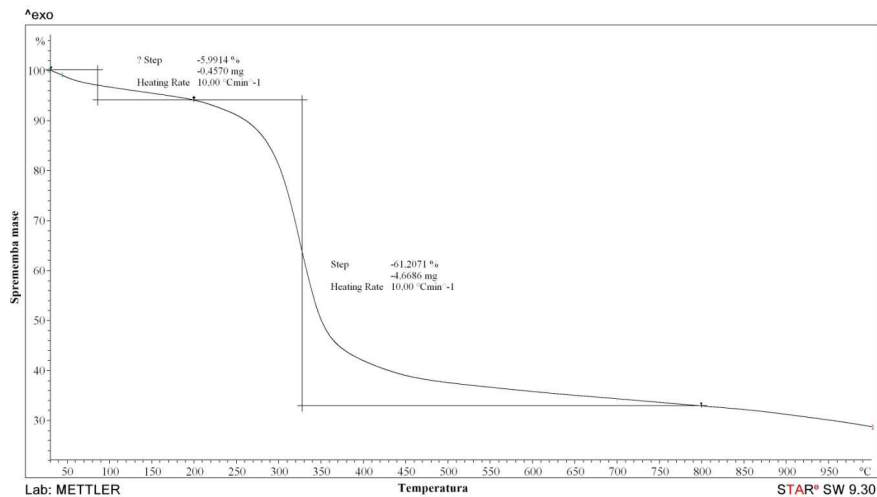
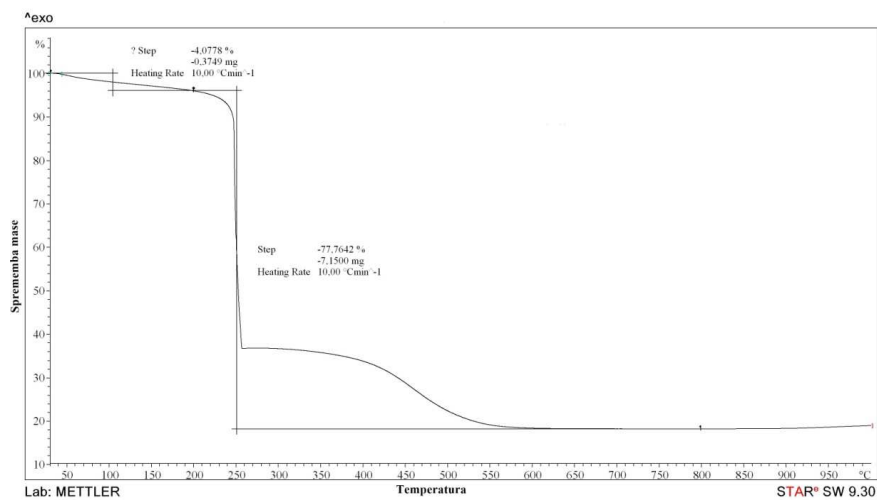


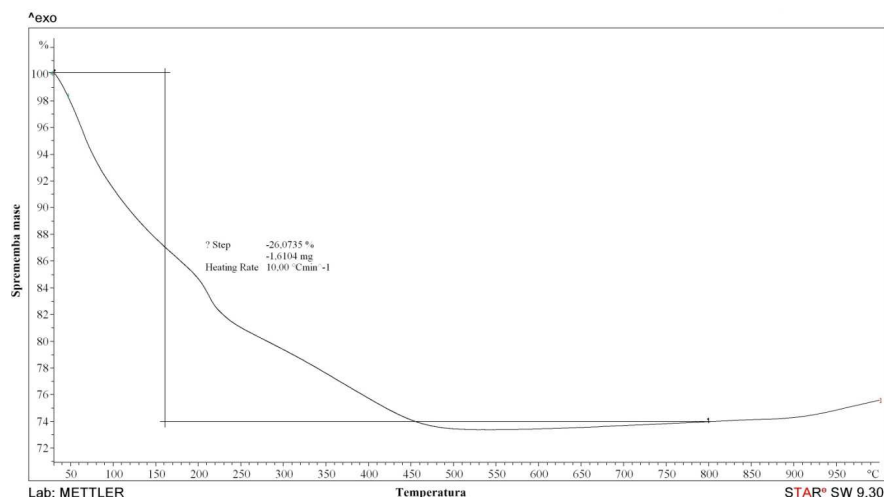
Slika 29: TGA analiza TD ZU : US2 = 1 : 2.



Slika 30: TGA analiza TD ZU : US2 = 2 : 1.

**Slika 31: TGA analiza TD ZU : US2 = 3 : 1.****Slika 32: TGA analiza TD ZU : UFL2 = 1 : 1.****Slika 33: TGA analiza TD ZU : UFL2 = 1 : 2.**

**Slika 34: TGA analiza TD ZU : UFL2 = 1 : 3.****Slika 35: TGA analiza TD ZU : UFL2 = 2 : 1.****Slika 36: TGA analiza TD ZU : UFL2 = 3 : 1.**



Slika 37: TGA analiza Neusilina UFL2.

Preglednica XVIII: Izkoristki izdelave (%) TD karvedilola z Neusilinom UFL2.

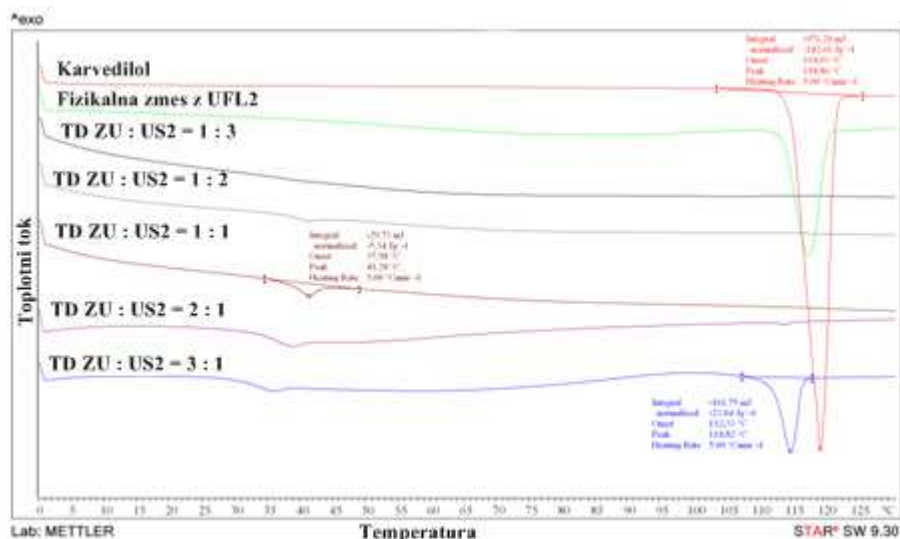
ZU : nosilec (V aceton)	1 : 3 (100 ml)	1 : 2 (100 ml)	1 : 1 (100 ml)	2 : 1 (100 ml)	3 : 1 (100 ml)	1 : 1 (50 ml)	1 : 1 (30 ml)	3 : 1 (50 ml)	3 : 1 (30 ml)
nosilec UFL2	80,1	79,7	75,5	60,2	52,5	76,8	79,5	42,2	54,2

Preglednica XIX: Določene vsebnosti učinkovine (%) v TD karvedilola z Neusilinom UFL2 z UV-VIS in TGA.

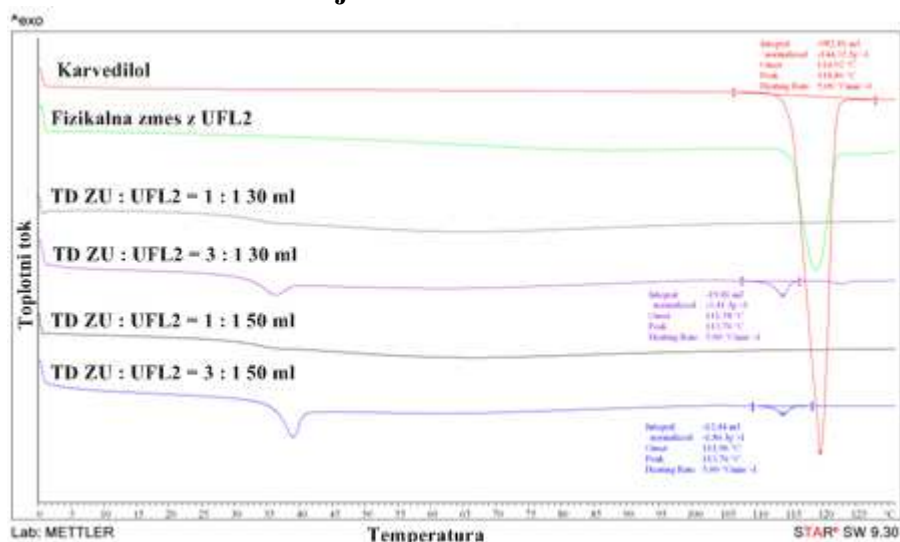
Nosilec	UFL2	
	TGA	UV-VIS
ZU : nosilec		
1 : 3	23,7	20,6
1 : 2	27,8	28,5
1 : 1	51,2	43,1
2 : 1	58,5	56,2
3 : 1	75,3	65,1

Preglednica XX: Določene vsebnosti (%) v TD karvedilola z Neusilinom UFL2 izdelanih pri manjšem V acetona z UV-VIS.

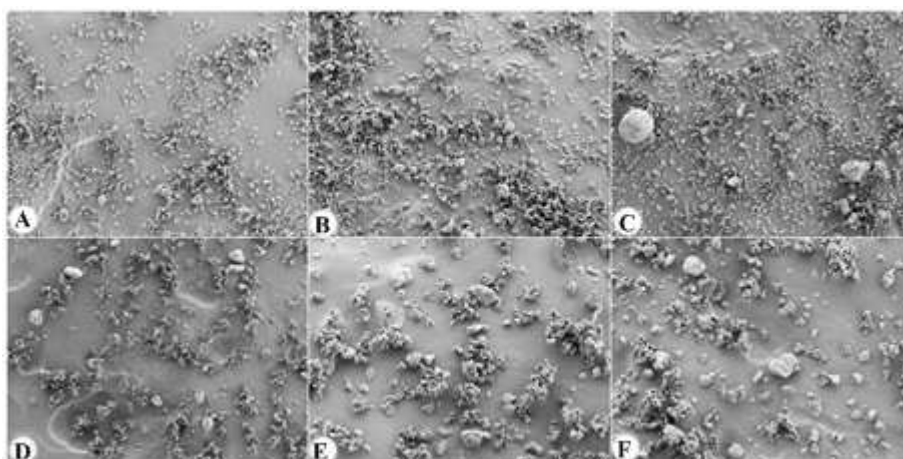
Nosilec	UFL2
ZU : nosilec	UV-VIS
1 : 1 (30 ml)	46,2
1 : 1 (50 ml)	44,7
3 : 1 (30 ml)	64,9
3 : 1 (50 ml)	64,7



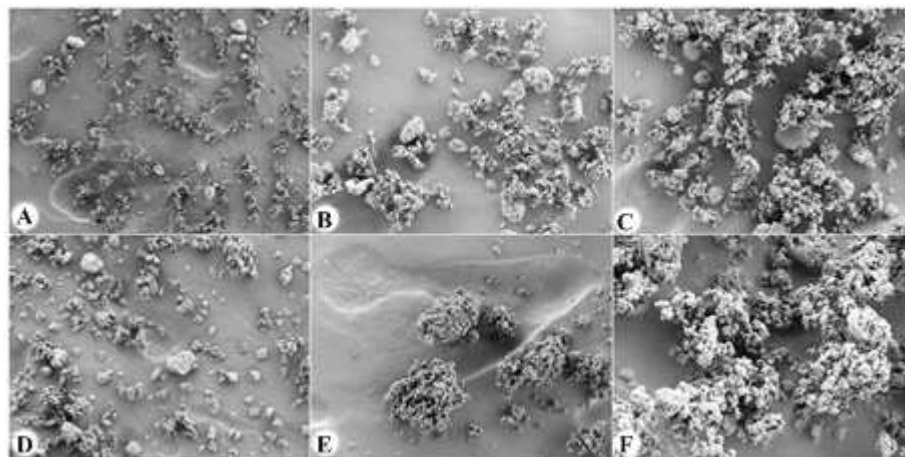
Slika 38: DSC krivulje TD karvedilola z Neusilinom UFL2.



Slika 39: DSC krivulje TD karvedilola z Neusilinom UFL2 izdelanih pri manjšem V acetona.

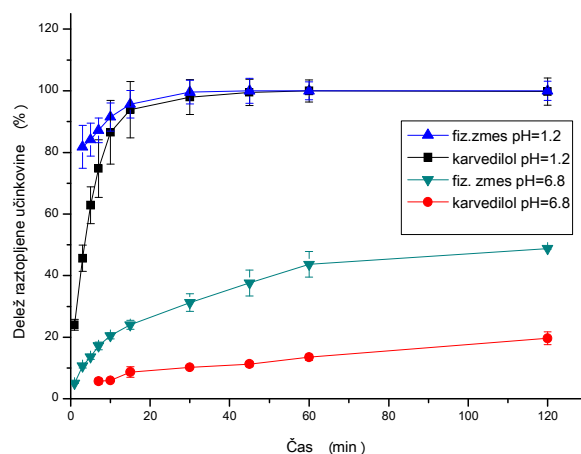


Slika 40: Morfološke lastnosti Neusilina UFL2 in TD karvedilola z Neusilinom UFL2. a) čisti Neusilin UFL2 (1000x), b) TD ZU : UFL2 = 1 : 3 (1000x), c) TD ZU : UFL2 = 1 : 2 (1000x), d) TD ZU : UFL2 = 1 : 1 (500x), e) TD ZU : UFL2 = 2 : 1 (1000x), f) TD ZU : UFL2 = 3 : 1 (1000x)

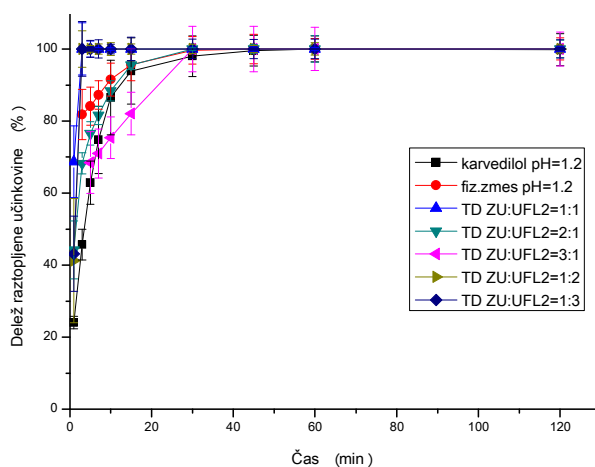


Slika 41: Morfološke lastnosti T karvedilola z UFL2 izdelanih pri manjšem V acetona.

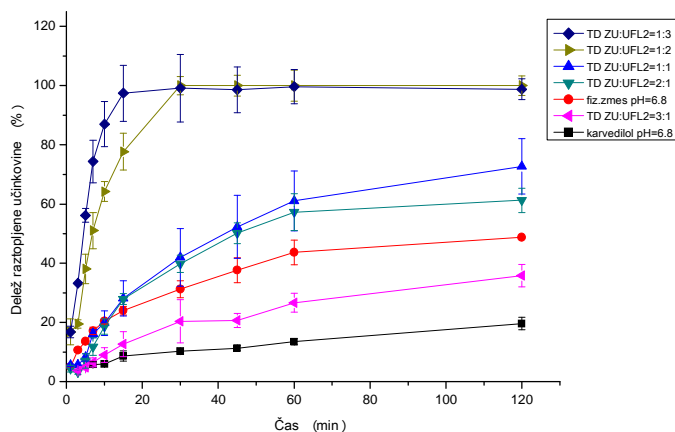
a) TD ZU : UFL2 = 1 : 1 (100 ml, 500x), b) TD ZU : UFL2 = 1 : 1 (50 ml, 2000x), c) TD ZU : UFL2 = 1 : 1 (30 ml, 2000x), d) TD ZU : UFL2 = 3 : 1 (100 ml, 1000x), e) TD ZU : UFL2 = 3 : 1 (50 ml, 1000x), f) TD ZU : UFL2 = 3 : 1 (30 ml, 5000x)



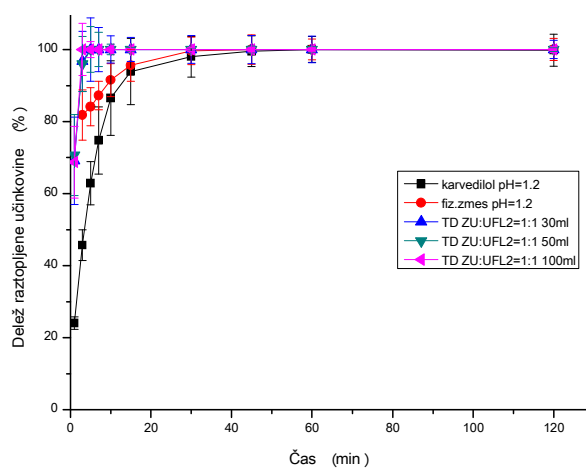
Slika 42: Raztapljanje učinkovine in fizikalne zmesi učinkovine z UFL2.



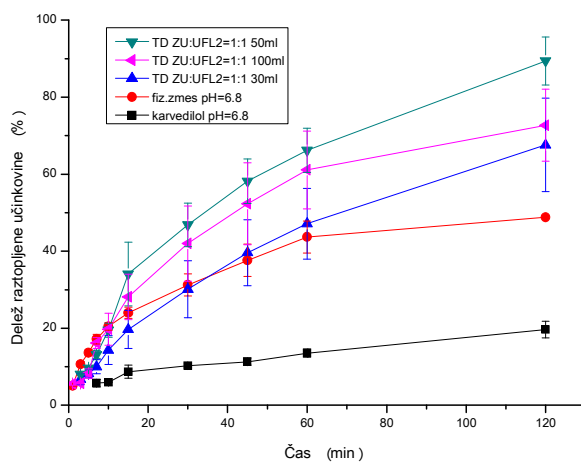
Slika 43: Raztapljanje TD karvedilola z Neusilinom UFL2 v pH = 1,2.



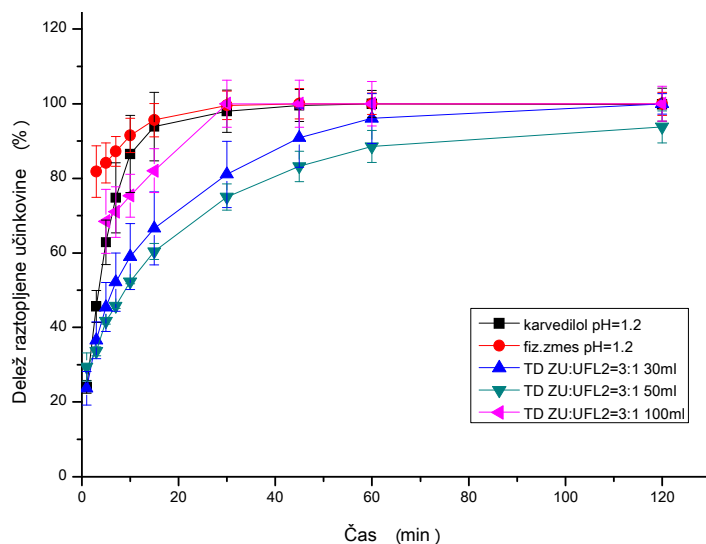
Slika 44: Raztapljanje TD karvedilola z Neusilinom UFL2 v pH = 6,8.



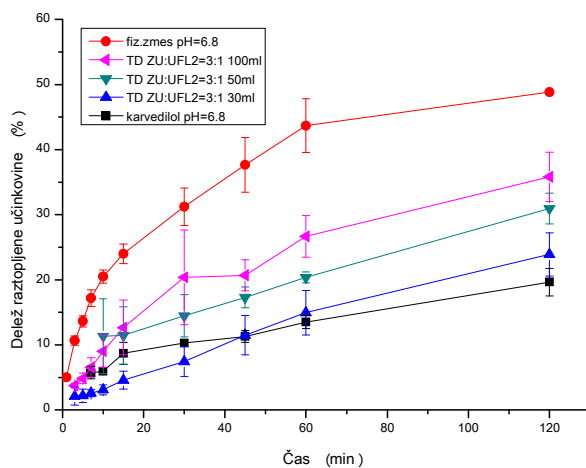
Slika 45: Raztapljanje TD ZU : UFL2 = 1 : 1 izdelanih pri manjšem V acetona v pH = 1,2.



Slika 46: Raztapljanje TD ZU : UFL2 = 1 : 1 izdelanih pri manjšem V acetona v pH = 6,8.



Slika 47: Raztapljanje TD ZU : UFL2 = 3 : 1 izdelanih pri manjšem V acetona v pH = 1,2.



Slika 48: Raztapljanje TD ZU : UFL2 = 3 : 1 izdelanih pri manjšem V acetona v pH = 6,8.

Preglednica XXI: Deleži (%) raztopljene učinkovine iz TD karvedilola z Neusilinom UFL2.

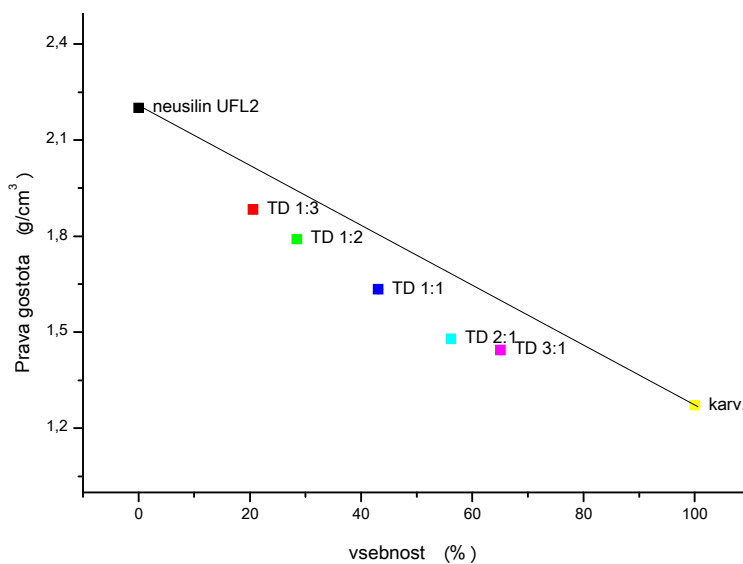
Nosilec	UFL2	
	pH = 1,2	pH = 6,8
ZU : nosilec		
1 : 3	100	98,8
1 : 2	100	100
1 : 1	100	72,7
2 : 1	100	61,3
3 : 1	100	35,8

Preglednica XXII: Deleži (%) raztopljene učinkovine iz TD karvedilola z Neusilinom UFL2 izdelanih pri manjšem V acetona.

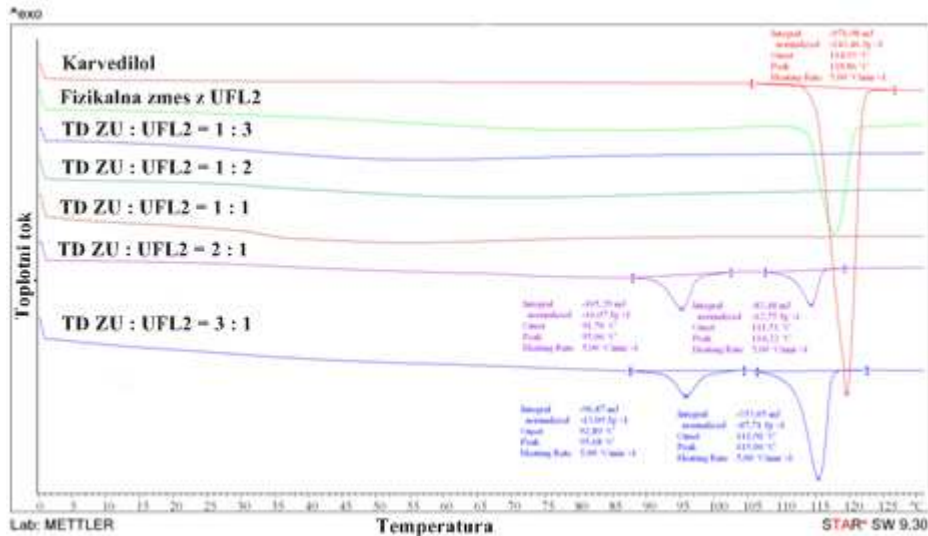
Nosilec	UFL2	
	<i>pH</i> = 1,2	<i>pH</i> = 6,8
ZU : nosilec		
1 : 1 (30 ml)	100	67,6
1 : 1 (50 ml)	100	89,4
3 : 1 (30 ml)	100	23,9
3 : 1 (50 ml)	93,9	30,9

Preglednica XXIII: Prave gostote učinkovine, Neusilina UFL2 in izdelanih TD karvedilola z Neusilinom UFL2.

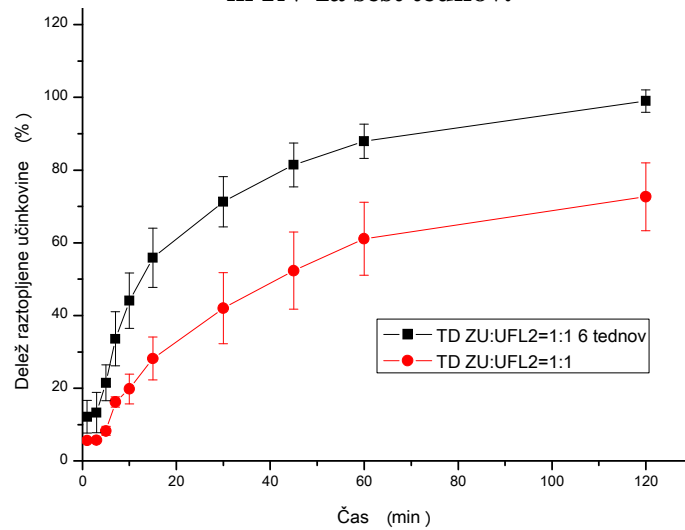
Vzorec	Prava gostota ρ (g/cm ³)	
<i>karvedilol</i>	1,2718	
<i>UFL2</i>	2,2000	
TD ZU : UFL2	1 : 3	1,8830
	1 : 2	1,7906
	1 : 1	1,6340
	2 : 1	1,4791
	3 : 1	1,4442



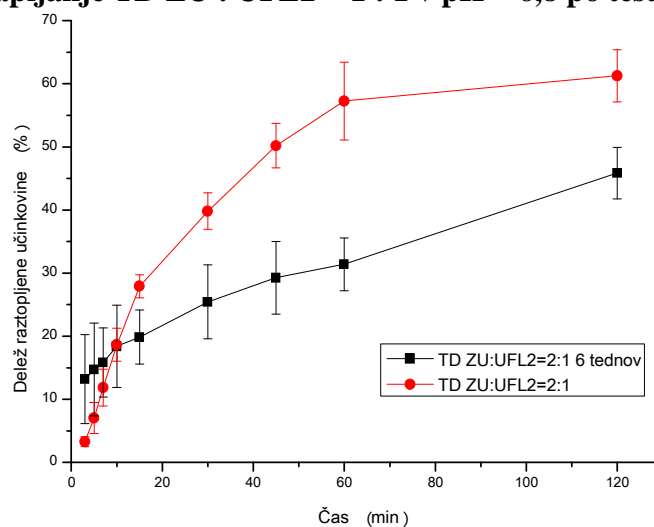
Slika 49: Primerjava prave gostote in vsebnosti karvedilola v TD z UFL2.



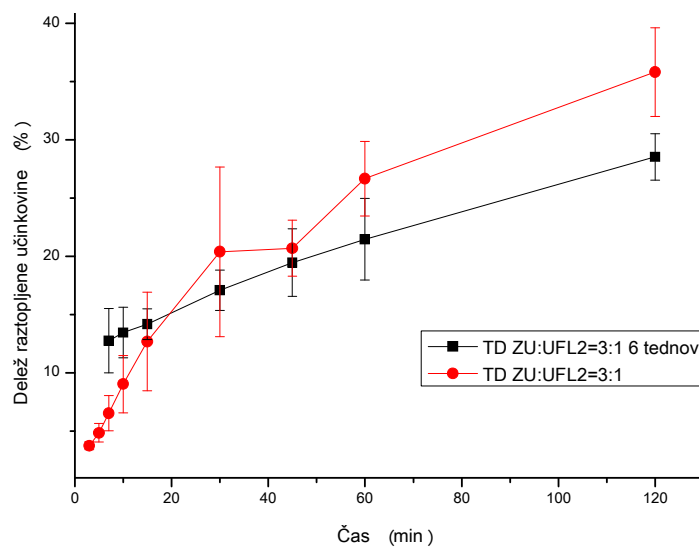
Slika 50: DSC krivulje TD karvedilola z Neusilinom UFL2 po izpostavitvi povišani T in RV za šest tednov.



Slika 51: Raztapljanje TD ZU : UFL2 = 1 : 1 v pH = 6,8 po testiranju stabilnosti.



Slika 52: Raztapljanje TD ZU : UFL2 = 2 : 1 v pH = 6,8 po testiranju stabilnosti.



Slika 53: Raztapljanje TD ZU : UFL2 = 3 : 1 v pH = 6,8 po testiranju stabilnosti.

Preglednica XXIV: Deleži (%) raztopljene učinkovine iz TD karvedilola z Neusilinom UFL2 ob času 0 ter po 6 in 10 tednih izpostavljenosti povišani T in RV.

Nosilec	UFL2			
	<i>pH = 1,2</i>		<i>pH = 6,8</i>	
	<i>0</i>	<i>6</i>	<i>0</i>	<i>6</i>
1 : 3	100	100	98,8	99,1
1 : 2	100	100	100	100
1 : 1	100	100	72,7	-
2 : 1	100	100	61,3	45,9
3 : 1	100	100	35,8	33,9