Univerza *v Ljubljani*
Fakulteta *za farmacijo*

BLANKA RAMOVŠ (CESAR)

VPLIV POLISAHARIDNEGA NOSILCA NA PROCES IZDELAVE IN LASTNOSTI TRDNIH SAMO-MIKROEMULGIRAJOČIH SISTEMOV

THE INFLUENCE OF POLYSACCHARIDE CARRIER ON MANUFACTURING PROCES AND PROPERTIES OF SOLID SELF-MICROEMULSIFYING DRUG DELIVERY SYSTEMS

Ljubljana, 2013

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

Zahvaljujem se vsem, ki so verjeli vame, upali z mano in me dobronamerno usmerjali pri nastajanju diplomske naloge. Hvala staršem za spodbudo in Nejcu za potrpežljivost skozi vsa leta študija. Njim, ki me spremljajo z ljubeznijo, posvečam to diplomsko delo.

IZJAVA

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom doc. dr. Alenke Zvonar, mag. farm.

Blanka Ramovš

VSEBINA

POVZETEK ..... **III**

ABSTRACT ..... **IV**

SEZNAM OKRAJŠAV ..... **V**

1. UVOD **1**

1.1 NA LIPIDIH OSNOVANI SISTEMI 1

1.1.1 Samo-mikroemulgirajoči sistemi *3*

1.2 TRDNI SAMO-MIKROEMULGIRAJOČI SISTEMI 6

1.3 PRETVORBA SMES V TRDNO OBLIKO 7

1.3.1 Trdni nosilci *7*

1.3.2 Tehnološki postopki za pretvorbo SMES v trdno obliko *9*

1.3.3 Sušenje z razprševanjem (»spray drying«) *11*

2. NAMEN DELA **17**

3. MATERIALI IN METODE **18**

3.1 MATERIALI 18

3.1.1 Sestavine tekočega SMES *18*

3.1.2 Trdni nosilci *20*

3.1.3 Ostale uporabljene kemikalije *23*

3.1.4 Uporabljene naprave *23*

3.2 METODE 25

3.2.1 Priprava samo-mikroemulgirajočega sistema (SMES) *25*

3.2.2 Priprava disperzije za razprševanje *26*

3.2.3 Pretvorba SMES v trdno obliko *28*

3.2.4 Merjenje velikosti kapljic *30*

3.2.5 Določanje vsebnosti modelne učinkovine v trdnem SMES *31*

3.2.6 Učinkovitost vgradnje modelne učinkovine v trdni SMES *31*

3.2.7 Tekočinska kromatografija visoke ločljivosti *32*

3.2.8 Preskus sproščanja modelne učinkovine iz trdnih SMES in iz fizikalnih zmesi *33*

3.2.9 Diferenčna dinamična kalorimetrija *36*

4. REZULTATI IN RAZPRAVA **37**

4.1 PRETVORBA SMES V TRDNO OBLIKO 37

4.1.1 pH disperzije za razprševanje *37*

4.1.2 Viskoznost disperzije za razprševanje in izkoristek sušenja *39*

4.2 VREDNOTENJE TRDNIH SMES 42

4.2.1 Samo-mikroemulgirajoče lastnosti 42

4.2.2 Vsebnost in učinkovitost vgradnje modelne učinkovine 44

4.2.3 Preskus sproščanja 47

4.2.4 DSC analiza 53

5. SKLEP 57

6. LITERATURA 59

POVZETEK

Številne nove zdravilne učinkovine zaradi slabe vodotopnosti izkazujejo nizko in variabilno biološko uporabnost po peroralni aplikaciji. Ker slednja še vedno zagotavlja najboljšo komplianco pacientov, v farmaciji intenzivno iščemo načine za izboljšanje raztapljanja učinkovin. Med tovrstnimi pristopi je tudi njihova vgradnja v samo-mikroemulgirajoče sisteme (SMES). Značilno zanje je, da v prisotnosti vodnega medija ob rahlem stresanju spontano tvorijo mikroemulzijo z velikostjo kapljic pod 100 nm, v katerih je zdravilna učinkovina raztopljena. Želimo, da se ta bistvena lastnost ohrani tudi po uspešni pretvorbi tekočega sistema v trdno agregatno stanje, pri čemer prednosti tekočih SMES (povečano topnost in biološko uporabnost ZU) združimo s prednostmi trdne farmacevtske oblike (z nizkimi proizvodnimi stroški, z enostavnejšo procesno kontrolo, z boljšo ponovljivostjo procesa, z večjo stabilnostjo in z natančnostjo odmerjanja, z enostavnim prenosom in shranjevanjem ter z boljšo komplianco pacientov).

V diplomskem delu smo pripravili tekoči SMES s 6 in 18% vsebnostjo modelne učinkovine (naproksen) brez oz. z dodanima aerosilom in magnezijevim stearatom (1 % m/m). Tekoči sistem smo s postopkom sušenja z razprševanjem pretvorili v trdno obliko. V ta namen smo uporabili polisaharidne nosilce maltodekstrin (MD), hidroksipropilmetil celulozo (HPMC) ter njuno kombinacijo (MD+HPMC). Vrednotili smo njihov vpliv na proces izdelave in lastnosti trdnih SMES. Najvišjo vsebnost modelne učinkovine v trdnem SMES smo dosegli z nosilcem MD – cca. 5,4 %. Z DSC-analizo smo potrdili, da ZU v izdelanih trdnih formulacijah ostane v raztopljenem stanju ali v amorfni obliki. Ugotovili smo, da tako sam proces pretvorbe v trdno obliko kot tudi izbira nosilca vplivata na učinkovitost samo-mikroemulgiranja izdelanih formulacij. Sistemi, pri katerih smo kot trdni nosilec uporabili MD in MD+HPMC, so po dispergiranju v vodi ohranili samo-mikroemulgirajoče lastnosti. Pri sistemih z MD kot nosilcem se je to odražalo tudi v hitrejšem sproščanju modelne učinkovine v mediju s pH 1,2. Sisteme z nosilcem HPMC glede na velikost nastalih kapljic (100–250 nm) uvrščamo med samoemulgirajoče sisteme – SES. Iz slednjih, se je modelna učinkovina sproščala počasneje, vendar v večjem obsegu. V vseh primerih se je modelna ZU iz trdnih SMES sproščala hitreje in v večjem obsegu napram raztapljanju kristalinične učinkovine.

Ključne besede: *samo-mikroemulgirajoči sistem (SMES), sušenje z razprševanjem, maltodekstrin, hidroksipropilmetil celuloza, trdni SMES;*

ABSTRACT

Several new drug substances show low and variable bioavailability with oral route due to poor aqueous solubility. Since oral route still ensures the best patience compliance, pharmacy is intensively looking for new methods to improve the dissolution rate. One of the approaches is a self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS). Its main characteristic is that in presence of aqueous media and upon mild agitation it spontaneously forms microemulsion with droplet size bellow 100 nm in which the drug substance is dissolved. This key feature is desired to be preserved after successful transformation of liquid SMEDDS to solid form. This combines the benefits of liquid SMEDDS (enhanced solubility and bioavailability of drug) with the benefits of solid dosage forms (low productions costs, convenience of process control, better process reproducibility, higher stability, enhanced precise dosing, easy transport and storage, better patient compliance).

We have developed liquid SMEDDS containing a poorly water-soluble model drug substance (naproxen) in content 6 and 18% with and without added colloidal silica and magnesium stearate (1 % m/m). In the process of spray drying the liquid system was transformed into the solid form. To this end polysaccharide carriers maltodextrin (MD), hydroxypropylmethyl cellulose (HPMC) and their combination (MD+HPMC) were used. Their influences on the manufacturing process and properties of solid SMEDDS have been evaluated. The highest content of model ingredient in a solid SMES was achieved with carrier MD – about 5.4 %. By the DSC analysis it was confirmed that the model drug produced in the solid formulations remains in a dissolved state or in an amorphous form. The results show that the conversion into a solid form as well as the choice of the carrier influence the efficiency of self-microemulsifying process of solid formulations. Systems, which used MD and MD+HPMC as a solid carrier, retained self-microemulsifying properties after dispersion in water. With MD as carrier this was also reflected in a faster release of the model substance in the buffer at pH 1.2. Based on the size of the formed droplets the HPMC carrier systems are classified as self-emulsifying drug delivery systems – SEDDS. The model substance was released from them more slowly but to a greater extent. In all cases, the model drug released from solid SMEDDS more rapidly and to a greater extent compared to dissolving crystalline substance.

Key words: *Self-microemlsifying drug delivery system (SMEDDS), spray drying, maltodextrin, hidroxypropylmethyl cellulose, solid SMEDDS;*

SEZNAM OKRAJŠAV

BCS	biofarmacevtski klasifikacijski sistem
BU	biološka uporabnost
DE	glukozni ekvivalent
FO	farmacevtska oblika
GIT	gastro-intestinalni trakt
HLB	hidrofilno-lipofilno ravnotežje
HPLC	tekočinska kromatografija visoke ločljivosti
HPMC	hidroksipropilmetil celuloza
MD	maltodekstrin
MD+HPMC	zmes MD in HPMC v razmerju 2 : 1, kot samostojni nosilec
MD+HPMC(15 g)	zmes MD in HPMC v razmerju 2 : 1, kot samostojni nosilec (15 g)
MK	maščobna kislina
MM	molekulska masa
PAS	površinsko aktivna snov
PEG	polietilenglikol
S(M)ES	samo-(mikro)emulgirajoči sistem
ZU	zdravilna učinkovina

1. UVOD

Rezultat sodobnega racionalnega načrtovanja učinkovin so številne nove kemijske entitete, od katerih jih je kar 40–70 % slabo vodotopnih (1, 2). Ta neugodna fizikalno-kemijska lastnost učinkovin se najbolj pokaže v njihovi nizki biološki uporabnosti (BU) in visoki inter- ter intraindividualni variabilnosti po peroralnem vnosu (3). Ker peroralna aplikacija zdravil zagotavlja najboljšo komplianco pacientov, se znanstveniki po svetu že desetletja intenzivno ukvarjajo z iskanjem rešitev, s katerimi bi problem slabe topnosti učinkovin lahko dokončno omejili na raven, ki ne bi predstavljala ovire za potencialno visoko učinkovitost končnega zdravila. Med konvencionalnimi pristopi za izboljšanje vodotopnosti so zmanjšanje velikosti delcev, modifikacije kristalne rešetke v metastabilne polimorfe, tvorba soli in kokristalov in vključevanje pH modifikatorjev v FO. Sodobnejši načini za povečanje topnosti pa so vključevanje učinkovine v ciklodekstrine, izdelava trdnih disperzij in pretvorba kristalne v amorfno obliko, izdelava nanodelcev ter oblikovanje na lipidih osnovanih sistemov (2). Prav slednjim se zaradi izjemnega komercialnega uspeha zdravila Sandimmune Neoral® s ciklosporinom A v zadnjih dveh desetletjih namenja veliko pozornosti (4).

1.1 NA LIPIDIH OSNOVANI SISTEMI

Dobro poznavanje fizikalnih in biofarmacevtskih lastnosti učinkovine je najpomembnejši začetni korak pri razvoju novega zdravila. Biofarmacevtski klasifikacijski sistem (BCS), v katerem so učinkovine razvrščene v štiri razrede glede na njihovo dobro/slabo topnost in dobro/slabo permeabilnost, je uporabno odločitveno orodje pri razvoju formulacije. V razred II BCS se uvrščajo slabo topne in dobro permeabilne spojine, za katere je značilna slaba BU kot posledica nizke topnosti in/ali hitrosti raztapljanja v prebavnih sokovih (2). Spoznanje, da so nekatera zdravila bolj učinkovita, če jih zaužijemo s hrano, je vodilo do znanstvene hipoteze na lipidih osnovanih sistemov (5). Vemo, da se v vodi slabo topne, hidrofobne in hkrati dovolj lipofilne učinkovine dobro raztapljajo v lipidni podlagi, izkazalo pa se je še, da lahko ostanejo raztopljene v lipidnih kapljicah tudi po dispergiranju sistema v vodnem mediju prebavnega trakta (6). Zaključimo lahko, da je z lipidnimi nosilnimi sistemi možno dostaviti že raztopljeno učinkovino na mesto absorpcije, se na ta način izogniti kritičnemu omejitvenemu dejavniku ter doseči ponovljiv absorpcijski profil, kot ga izkazujejo dobro topne in dobro permeabilne učinkovine iz razreda I BCS (4, 7).

Na lipidih osnovani sistemi so raznolika skupina formulacij, od enostavnih oljnih raztopin do bolj kompleksnih mešanic gliceridov, lipofilnih in hidrofilnih površinsko aktivnih snovi (PAS) ter hidrofilnih sotopil (5). Da bi olajšal izbiro najbolj ustrezne formulacije za posamezno učinkovino, je avstralski profesor Colin W. Pouton s svojimi sodelavci prvi objavil klasifikacijski sistem na lipidih osnovanih sistemov, v katerem se slednji razvrščajo v štiri razrede po padajočem deležu lipofilnih komponent. V razred I sodijo najenostavnejše lipidne raztopine iz rastlinskih olj, ki vsebujejo le trigliceride in/ali mešane gliceride. Tovrstne formulacije veljajo za varne (angl.: »generally recognized as safe« - GRAS), imajo pa omejeno solubilizacijsko kapaciteto in so primerne le za raztapljanje zelo lipofilnih učinkovin z logP > 4 ali visoko potentnih učinkovin. V vodnem mediju prebavnega trakta se same ne dispergirajo. Za to je potrebna encimska razgradnja lipidov in tvorba mešanih micelov. V razred II so vključeni lipidni sistemi, ki običajno vsebujejo od 40–80 % lipidov s srednjedolgoverižnimi trigliceridi in/ali mešanimi gliceridi, katerim je v 20–60 % dodan hidrofobni emulgator s HLB < 12. Slednji izboljša solubilizacijsko kapaciteto sistema in hkrati v stiku z vodnim medijem pod določenimi pogoji omogoča spontan nastanek emulzije tipa O/V z velikostjo kapljic od 100–250 nm. Samoemulgirajoči sistemi (SES), ki namesto hidrofobnega vsebujejo hidrofilni emulgator (HLB > 12) in hidrofilna sotopila (etanol, propilenglikol, etilenglikol …), sodijo v razred III. Ta se deli v dve podskupini, ki se razlikujeta po hidrofilnosti. Razred IIIA ohranja relativno velik delež lipidnih komponent (40–80 %), katerim je namesto hidrofobnega emulgatorja dodan hidrofilni emulgator (20–40 %), poleg pa je v 0–40 % lahko prisotno še hidrofilno sotopilo. Ti sistemi pri visokih koncentracijah PAS spontano tvorijo fino emulzijo tipa O/V, ki je motnega videza in z velikostjo kapljic od 100–250 oz. 300 nm. Sistem IIIB, ki vsebuje višji delež hidrofilnih PAS (20–50 %) in sotopil (20–50 %) in ima bolj izražen hidrofilni značaj, uvrščamo med samo-mikroemulgirajče sisteme (SMES). Iz njih v stiku z vodnim medijem ob rahlem mešanju spontano nastanejo bistre mikro- oz. nanoemulzije z velikostjo kapljic pod 100 oz. 50 nm (5, 3). Tovrstni SES in SMES imajo veliko solubilizacijsko kapaciteto za raztapljanje in vgradnjo učinkovin z vrednostmi logP med 2 in 4. Četrti razred na lipidih osnovanih sistemov (razred IV) ima visoko solubilizacijsko kapaciteto za mnoge zdravilne učinkovine, saj ne vsebuje lipidnih komponent, ampak so sestavljeni izključno iz hidrofilnih PAS ali njihove mešanice s hidrofilnimi sotopili, ki po dispergiranju v vodi tvorijo micele. Za razliko od sistemov iz razreda II imajo formulacije iz razredov III in IV to pomanjkljivost, da hidrofilna sotopila v določenem obsegu v stiku z vodnim medijem

izgubijo solubilizacijsko kapaciteto. Zato pri njih obstaja zmerna do velika verjetnost, da se v sistemu raztopljena učinkovina po dispergiranju v prebavnem traktu obori, kar lahko v končni fazi izniči glavni namen lipidne formulacije, da ohrani učinkovino v raztopljeni obliki, vse dokler se ta ne absorbira (5, 8). Na lipidih osnovani sistemi povečujejo BU učinkovin ne le preko izboljšanja njihovega raztapljanja, temveč tudi preko nekaterih drugih pomožnih mehanizmov. Znano je, da vnos velikih količin lipidov, ki vsebujejo dolgoverižne MK ter monogliceride, spodbuja absorpcijo lipofilnih učinkovin v limfni obtok. Slednje se na ta način v večjem obsegu izognejo prvemu prehodu skozi jetra. Tudi nekatere PAS, ki so prisotne v lipidnih formulacijah, lahko povečajo BU tako, da zavirajo enterocitne sekretorne prenašalce (npr. P-glikoprotein) in encime predsistemskega metabolizma (CYP450) v steni prebavnega trakta, vplivajo na fluidnost membrane, reverzibilno odprejo tesne stike in tako znatno povečajo permeabilnost epitelija (1, 3, 9, 10, 11, 12).

1.1.1 Samo-mikroemulgirajoči sistemi

Izmed lipidnih formulacij se v zadnjih nekaj letih največ pozornosti namenja samo-mikroemulgirajočim sistemom. SMES so po definiciji izotropne zmesi zdravilne učinkovine, naravnih ali sinteznih lipidov, emulgatorjev in enega ali več hidrofilnih topil, sotopil in koemulgatorjev, ki v stiku z vodnim medijem ob rahlem mešanju spontano tvorijo optično transparentno in termodinamsko stabilno mikroemulzijo tipa O/V (3, 6, 9, 11). V SMES vgrajena učinkovina po peroralnem vnosu hitro zapusti želodec in se, raztopljena v drobnih emulzijskih kapljicah (velikosti < 100 oz. 50 nm), razporedi po prebavnem traktu in s tem znatno zmanjša izpostavljenost prebavnega trakta morebitnim dražečim in toksičnim učinkom učinkovine, hkrati pa zagotovi relativno veliko medfazno površino za porazdeljevanje učinkovine med oljno fazo in vodnim medijem (13, 5). Mehanizem samoemulgiranja še ni povsem pojasnjen. Ena od najpogostejših razlag je, da do spontanega nastanka (mikro)emulzije pride takrat, ko je sprememba entropije zaradi dispergiranja sistema večja od energije, ki je ob tem potrebna za povečanje mejne površine olje-voda. Prosta Gibbsova energija je v tem primeru negativna ali zelo nizko pozitivna, zato mikroemulzija nastane spontano že ob rahlem mešanju, ki ga *in vivo* predstavlja peristaltično gibanje prebavne cevi. Pri tem se zaradi prisotnih emulgatorjev napetost na medfazi olje-voda tako zniža, da se medfaza prekine in nastanejo kapljice mikroemulzije,

ki so na površini obdane z gelsko plastjo tekočih kristalov, nastalih med procesom. Le-ti naj bi bili vzrok za veliko fizikalno stabilnost sistema (6, 9, 11).

Za proces samo(mikro)emulgiranja je nadalje značilno, da je specifičen za točno določeno kombinacijo in razmerje med lipidi, PAS in koncentracijo PAS (6). To v začetni fazi načrtovanja formulacije dosežemo z ustreznim izborom pomožnih snovi in z načrtovanjem (psevdo)trikomponentnega diagrama, ki določi optimalno razmerje med izbranimi komponentami in območje nastanka mikroemulzije. Pomembno pri tem je, da je celoten predformulacijski postopek vseskozi podrejen fizikalno-kemijskim in biofarmacevtskim lastnostim izbrane učinkovine (12). Ta v končni fazi lahko spremeni optimalno razmerje med sestavinami SMES in zaradi tvorbe kompleksov z nekaterimi komponentami sistema ter penetracije učinkovine v monosloj PAS na medfazi vpliva na proces in učinkovitost samoemulgiranja (6, 11).

Izbor pomožnih snovi je olajšan z uporabo Poutonovega klasifikacijskega sistema na lipidih osnovanih sistemov. Med lipidi prvega izbora so različno nasičena dolgoverižna in srednjedolgoverižna trigliceridna rastlinska olja. Kljub njihovi splošni varnosti se pogosteje uporabljajo delno hidrolizirana rastlinska olja, ki vsebujejo mešane mono-, di- in trigliceride v različnih deležih, z dolgimi ali srednjedolgimi verigami. Slednji imajo v splošnem boljšo sposobnost raztapljanja in samoemulgiranja. V novejših SMES se uporabljajo predvsem novi polsintezni derivati srednjedolgoverižnih trigliceridov, ki jih lahko opišemo kot amfifilne spojine z lastnostmi PAS (11, 9, 6, 3). Gre za poliglikolizirane mešane gliceride, ki jih pridobivamo z delnim preestrenjem hidrogeniranih/nehidrogeniranih rastlinskih olj s polietilenglikolom (PEG) ali zaestrenjem maščobnih kislin s polialkoholi (6, 14).

PAS je ključna komponenta sistema, ki v ustrezni koncentraciji omogoči raztapljanje velike količine hidrofobne ZU, prepreči njeno obarjanje, poskrbi za hiter nastanek mikroemulzije in dobro razporeditev le-te po prebavnem traktu. Običajno je optimalna vsebnost emulgatorjev v SMES med 30 in 60 %. Odločujoči dejavnik pri izbiri in količini PAS je njegova varnost. Na splošno velja pravilo, da PAS vedno dodamo v najnižji še ustrezni koncentraciji, pri čemer imajo prioriteto naravni neionski emulgatorji z relativno visoko vrednostjo HLB. Med temi najpogosteje izberemo etoksilirane poliglikolizirane gliceride ter polisorbate (polioksietilen-(20)-sorbitan monooleat) (11, 3, 15). Poleg povečanja topnosti ZU, PAS izboljšajo BU vgrajenih učinkovin tudi s povečanjem

permeabilnosti črevesnega epitelija, reverzibilnim odprtjem tesnih stikov in inhibicijo P-glikoproteina in/ali encimov CYP450 v enterocitih (6).

Organska sotopila (npr. etanol, propilenglikol in polietilenglikol) so dodana v SMES, da bi dodatno izboljšala topnost ZU in hidrofilnega emulgatorja v sami formulaciji. Kljub temu je njihova uporaba omejena, saj v stiku z vodo izgubijo solubilizacijsko kapaciteto in povzročijo neželeno obarjanje ZU v prebavnem traktu. Ker so hidrofilni in hlapni, se porazdeljujejo v ovojnico želatinskih kapsul, hlapijo ali iztečejo iz kapsule in tako povzročijo obarjanje učinkovine že v sami FO (11).

SMES imajo poleg številnih že naštetih prednosti tudi nekaj slabosti oz. omejitev, ki so povzete v preglednici I.

Preglednica I: Prednosti in slabosti SMES (14, 16)

PREDNOSTI SMES	**SLABOSTI SMES**
Preko številnih mehanizmov povečana BU, ki omogoča manjši odmerek ZU.	Velika vsebnost PAS in potencialna fizikalno-kemijska in fiziološka nekompatibilnost.
Bolj ponovljiv absorpcijski in plazemski profil – manjša inter- in intrasubjektivna variabilnost ter eliminiran vpliv hrane.	Izguba solubilizacijske kapacitete topil in obarjanje ZU v GIT.
Možnost ciljane dostave ZU skozi absorpcijsko okno GIT.	Hlapnost sotopil, porazdelitev v ovojnico želatinske kapsule, obarjanje ZU v FO.
Zaščita občutljivih makromolekul (peptidov, hormonov, encimskih substratov …) pred vplivi prebavnih procesov.	Pomanjkanje predvidljivih in vitro modelov za vrednotenje formulacij.
Zmanjšan dražeč učinek ZU na GIT.	
Enostavna proizvodnja in povečanje njenega obsega.	
Tekoče in trdne FO (praški, tablete, pelete).	

1.2 TRDNI SAMO-MIKROEMULGIRAJOČI SISTEMI

Ker je večina pomožnih snovi pri sobni temperaturi tekočih in poltrdnih, so tudi SMES običajno pripravljeni v tekoči obliki in polnjeni v mehke ali trdne želatinske kapsule. Tovrstne formulacije imajo precej slabosti in omejitev, pri čemer so najbolj izpostavljeni zahtevni tehnološki postopki in visoki proizvodni stroški, kemična in fizikalna nestabilnost formulacij, slabše rokovanje (17, 18). Prav zato je na področju oblikovanja SMES trenutno najbolj aktualna njihova pretvorba v trdno obliko in na ta način združitev prednosti tekočih SMES (povečana topnost in BU učinkovin) in trdnih FO. Slednje odlikujejo nizki proizvodni stroški, enostavnejša procesna kontrola in boljša ponovljivost procesa, poleg teh pa še ostale praktične prednosti kot so večja stabilnost, povečanje natančnosti odmerjanja, enostaven prenos in shranjevanje ter posledično boljša komplianca pacientov (17, 18).

Izraz trdni SMES označuje trdno FO s samo-mikroemulgirajočimi lastnostmi, med katerimi so tudi mehke oz. trdne želatinske kapsule s tekočim SMES. Kljub temu izraz pogosteje uporabljamo za samo-(mikro)emulgirajoče trdne delce (prahove, zrnca, pelete, nanodelce), ki običajno vstopijo v nadaljnje procese oblikovanja trdnih samo-(mikro)emulgirajočih FO, med katerimi so tablete, kapsule, mikrokapsule, suhe emulzije, tablete in pelete s prirejenim sproščanjem, tudi svečke in vsadki (19). Izmed vseh so zaenkrat na trgu prisotne le samo-(mikro)emulgirajoče kapsule (9).

V nadaljevanju poglavja se bomo osredotočili na pretvorbo tekočih SMES v trdno obliko. Opisali bomo najpomembnejše skupine trdnih nosilcev, navedli najpogostejše tehnološke postopke ter izpostavili njihove glavne prednosti in omejitve. Podrobno bomo predstavili metodo sušenja z razprševanjem.

1.3 PRETVORBA SMES V TRDNO OBLIKO

Pretvorba SMES v trdno obliko zajema tako polnjenje trdnih ali mehkih kapsul s tekočim jedrom kot tudi ostale tehnike za pretvorbo tekočega SMES v trdne delce, med katerimi so razprševanje s strjevanjem, sušenje z razprševanjem, adsorpcija na trdne nosilce, granuliranje s talinami, iztiskanje talin ter metode s superkritičnimi tekočinami (10). Vsem tem tehnikam je skupen princip vgradnje tekočega SMES v oz. na trden kemično inertni nosilec in tvorba prahov, zrnc ali pelet, ki povečajo fizikalno stabilnost tekočega oz. poltrdnega lipidnega matriksa in olajšajo nadaljnje polnjenje kapsul ali stiskanje tablet (18).

1.3.1 Trdni nosilci

Znano je, da inertni trden nosilec pomembno vpliva na izbiro tehnološkega postopka in na fizikalne lastnosti (morfologijo trdnih delcev, sposobnost redispergiranja in velikost nastalih kapljic …) nastalega trdnega SMES. Slednji lahko zaradi postopka pretvorbe v trdno agregatno stanje v najslabšem primeru tudi izgubi samo-(mikro)emulgirajoče lastnosti in tako ne zagotovi povečanega raztapljanja učinkovine v prebavnem traktu ter povečane BU. Bistvene lastnosti nosilca, ki jih je potrebno vzeti v obzir pri načrtovanju uspešne pretvorbe tekočega v trdni SMES, so kapaciteta vgradnje učinkovine, pretočne lastnosti, stisljivost, površinske lastnosti, adsorpcijska kapaciteta, higroskopnost oz. sposobnost zaščite učinkovin pred vlago (20). Zaradi pogoste uporabe silicijevega dioksida je poznavanje drugih nosilcev dokaj okrnjeno, zato se v zadnjem času pojavlja težnja predvsem po empiričnem preizkušanju različnih nosilcev za različne tehnike pretvorbe specifičnih SMES z izbranimi ZU.

Trdni nosilci imajo pri pretvorbi vlogo ali adsorbenta ali t.i. inkapsulanta – ogrodja nastalih mikrodelcev oz. mikrokapsul. V osnovi jih lahko razdelimo v dve skupini: 1. »v vodi netopni, porozni silicijevi adsorbenti« in 2. »vodotopni nosilci (polisaharidni, polimerni, proteinski)« (18).

Porozni silicijevi nosilci prednjačijo pred ostalimi zaradi svoje biokompatibilnosti, kemične inertnosti in ostalih pozitivnih fizikalnih lastnosti, ki omogočajo pretvorbo lipidnih sistemov v dobro pretočne in stisljive prahove, ki lahko takoj vstopijo v nadaljnje procese oblikovanja trdnih FO. Fizikalne lastnosti, zaradi katerih tovrstne nosilce označujemo kot adsorbente, so velikost delcev (0,007–177 μm), velikost por (5–150 nm),

velika specifična površina (50–400 m^2/g) in adsorpcijska kapaciteta za olja (90–430 g/100 g). Primeri silicijevih pomožnih snovi, ki jih uporabljamo kot trdne nosilce, so: Aerosil® (različne serije SiO_2 z velikostjo primarnih delcev < 20 nm), Syloid® in Sylysia® (mikronizirani porozni silikagel), Neosyl® (oborjeni SiO_2), Neusilin® (magnezijev aluminometasilikat), Florite® in Hubersorb® (kalcijevi silikati) (18).

Polisaharidni nosilci vključujejo ogljikove hidrate z nižjo molekulsko maso (manitol, sorbitol, saharozo, laktozo, trehalozo) in višjemolekularne spojine (maltodekstrine, ciklodekstrine, dekstrine, arabski gumi, modificiran škrob). Pri načrtovanju formulacije je potrebno upoštevati, da gre za higroskopne in kristalinične snovi, ki so nagnjene k delni ali popolni pretvorbi v amorfno obliko, ki ji lahko sledi ponovna kristalizacija. Manitol, ki ni higroskopen, se uporablja za vgradnjo na vlago občutljivih ZU (18).

Polimerni nosilci zaradi svoje amfifilne narave izkazujejo tako topnost v vodi kot tudi veliko solubilizacijsko moč za lipofilne komponente, kar jim pri oblikovanju formulacije prinaša zelo raznoliko vlogo (trdni nosilec, emulgator, zaviralec obarjanja in promotor supernasičenja učinkovine …). Kljub prednostim pa je glavna omejitev pri njihovi uporabi ta, da nekateri polimeri v višjih koncentracijah tvorijo visokoviskozne vodne raztopine, kar je lahko neugodno za nadaljnje tehnološke postopke, ki vključujejo njihovo razprševanje skozi šobo. Večina polimernih nosilcev (z izjemo poloksamerov) je izrazito higroskopnih, kar je neugodno za učinkovine, občutljive na vlago. Primeri polimernih nosilcev so poloksameri (Pluronic), hidroksipropilmetil celuloza (HPMC), mikrokristalna celuloza, natrijeva karboksimetil celuloza (CMC) in polivinilpirolidon (PVP) (18).

Proteinski nosilci, med katere uvrščamo npr. želatino, se manj pogosto uporabljajo pri pretvorbi tekočih lipidnih sistemov v trdno obliko. Domnevno je vzrok za to predvsem slaba stisljivost in nabrekanje želatine. Kljub temu so z njo v nekaterih študijah pripravili trdni SMES v obliki mikrokapsul (18).

1.3.2 Tehnološki postopki za pretvorbo SMES v trdno obliko

Polnjenje kapsul s tekočim ali poltrdnim SMES je najpogostejši tehnološki postopek za pretvorbo tovrstne tekoče ali poltrdne lipidne formulacije v trdno obliko za peroralno aplikacijo. Glavni omejitveni dejavnik pri odločitvi za izbor tega postopka je kompatibilnost snovi sistema z ovojnico kapsule, saj so med pomožnimi snovmi primerna le olja, lipofilne in hidrofilne PAS, za razliko od hidrofilnih sotopil, ki so za ta postopek neustrezna. Med ključnimi procesnimi parametri je temperatura polnjenja, ki mora biti najmanj za 2 °C višja od T, pri kateri se bistveno poveča navidezna viskoznost zmesi učinkovine in pomožnih snovi med ohlajanjem. Velja, da je najvišja temperatura polnjenja 70 °C za trde kapsule in 40 °C za mehke želatinske kapsule. Glavne prednosti metode so enostavna proizvodnja, primernost za nizke odmerke visoko potentnih učinkovin, možnost vgradnje visokih odmerkov ZU (več kot 50 %) ter pretvorbe velikega deleža (do 99 %) lipidne formulacije v trdno FO (10).

Razprševanje s strjevanjem je proces, pri katerem staljeno lipidno formulacijo razpršujemo v komoro, kjer se drobne kapljice taline v stiku s hladnim zrakom hitro strdijo v obliki sferičnih delcev, ki se kot fin prašek zberejo na dnu komore. Glavni procesni parametri so temperatura tališča pomožnih snovi (med 50 in 80 °C), viskoznost lipidne formulacije za razprševanje in temperatura hladnega zraka v komori, ki mora zagotoviti hitro in popolno kristalizacijo oz. strditev kapljic. Prednost metode je možnost pretvorbe velikega deleža lipidov (do 99 %) v trdno agregatno stanje, njena glavna omejitev pa relativno nizka učinkovitost vgradnje ZU, ki po podatkih v literaturi ne presega 30 % (10).

Adsorpcija na trdne nosilce je metoda, pri kateri tekočo lipidno formulacijo dodajamo trdnemu nosilcu in z enostavnim mešanjem v pateni ali mešalniku pretvorimo tekoči SMES v dobro pretočni prašek. Možni nosilci so mikroporozne anorganske substance in koloidni anorganski adsorbenti z veliko specifično površino (silicijev dioksid, silikati, magnezijev trisilikat, magnezijev hidroksid, smukec), premreženi polimeri (krospovidon, z natrijem premrežena karboksimetil celuloza, zamreženi polimetilmetakrilat) ali nanodelci kot adsorbenti (porozni silicijev dioksid (Sylysia 550), ogljikove nanocevke, fulereni, oglje in bambusovo oglje). Prednosti metode so, da lahko dosežemo dobro enakomernost vsebnosti in relativno veliko učinkovitost adsorpcije lipidov na nosilec (do 70 %), poleg teh pa še enostavnost postopka, minimalni proizvodni stroški in olajšano nadaljnje stiskanje tablet ali polnjenje kapsul. Njena pomanjkljivost je nizka kapaciteta vgradnje ZU

v končno FO, kar je posledica redčenja lipidne formulacije ob dodatkih trdnega nosilca in pomožnih snovi za tabletiranje (10, 19).

Granuliranje s talinami je enostopenjski proces, pri katerem na zmes prahov razpršujemo talino veziva (t.i. »pump on« metoda) ali tej zmesi dodamo trdne delce veziva (t.i. »pump in« metoda), ki se zaradi trenja med intenzivnim mešanjem raztalijo in v obliki tekočih mostičkov povežejo z ostalimi prahovi v aglomerate (zrnca, pelete). Kot vezivo, ki se zmehča oz. stali pri relativno nizkih temperaturah, lahko pri tem postopku uporabimo različne trdne in poltrdne lipidne pomožne snovi. Parametri, ki omogočajo nadzor procesa, so hitrost in čas mešanja, velikost delcev veziva ali viskoznost taline veziva. Glavne prednosti metode pa so enostavnost procesa, odsotnost topil in potencialna možnost vgradnje visokega deleža ZU, do 85 % teoretično in dejansko po podatkih iz literature do 66 % (10).

Iztiskanje talin je postopek, pri katerem plastičen material potisnemo skozi matrico pod kontroliranimi pogoji temperature, tlaka in hitrosti iztiskanja in na ta način oblikujemo produkt enotne oblike in gostote. Temu lahko sledi proces rezanja in krogličenja, pri čemer kot končni produkt dobimo pelete. V primeru, ko uporabljamo S(M)ES oz. lipidne pomožne snovi, ki posredujejo zmesi plastične lastnosti, v končni fazi dobimo samo-(mikro)emulgirajoče pelete. Metoda omogoča visoko učinkovitost vgradnje ZU (do 60 %) in enakomernost vsebnosti nizkoodmernih učinkovin z visoko jakostjo (10).

Metode, ki temeljijo na uporabi superkritičnih fluidov, se uporabljajo predvsem za oblaganje trdnih delcev učinkovine ali izdelavo trdnih disperzij. Postopek pridobivanja trdnih delcev vključuje raztapljanje ZU in lipidnih pomožnih snovi v organskem topilu (npr. metanolu) in nato še v superkritičnem topilu (npr. superkritičnem CO_2). Temu sledi postopno znižanje temperature in tlaka, kar povzroči zmanjšanje topnosti lipidne formulacije in njeno strjevanje v obliki obloge na površini delca učinkovine oz. nosilca. Pomembni vidiki metode so topnost komponent v superkritičnem fluidu, stabilnost učinkovine pri procesnih pogojih, energijska in okoljska vprašanja, ki zadevajo odparevanje topila. Metoda sicer omogoča pretvorbo velikega deleža lipidov (99 %), pri čemer pa je učinkovitost vgradnje ZU relativno nizka, kar je primerno za vgradnjo visokopotentnih učinkovin v nizkih odmerkih (10).

1.3.3 Sušenje z razprševanjem (»spray drying«)

Sušenje z razprševanjem je enostopenjski proces, ki omogoča pretvorbo tekočih disperzij (raztopin, emulzij, suspenzij) v suhe trdne delce praška z želenimi lastnostmi. Prvič je bil postopek omenjen že leta 1860, prvi patent pa je bil prijavljen leta 1872. Od takrat je razvoj usmerjen v nenehno izpopolnjevanje strojne opreme, z možnostjo spremljanja in nadzorovanja vedno novih procesnih spremenljivk pa se je pozornost raziskovalcev preusmerila na ciljno načrtovanje lastnosti končnega produkta. Po 150 letih intenzivnih raziskav in razvoja je danes ta tehnika visokotehnološki in vsestranski operativni proces v številnih industrijskih panogah (21). V farmaciji se postopek uporablja tako za enostavno sušenje rastlinskih ekstraktov kot tudi za bolj specifične metode mikrokapsuliranja, pripravo trdnih disperzij, suhih emulzij, trdnih samo-(mikro)emulgirajočih sistemov, nano disperzij; metoda je docela uveljavljena tudi na področju načrtovanja lastnosti delcev učinkovin in pomožnih snovi (t.i. »particle engineering«) (22).

Pretvorba S(M)ES v trdno obliko z metodo sušenja z razprševanjem temelji na odstranjevanju vode iz emulzijskega sistema O/V, ki nastane z dodatkom S(M)ES v vodno raztopino nosilca. Med sušenjem voda iz razpršenih kapljic izhlapeva, trdni delci nosilca pa obdajo kapljice oljne faze emulzije z raztopljeno učinkovino (23). Nastanejo sferični delci nano- oz. mikrometrskih velikosti. Znano je, da je prav v primeru trdnih S(M)ES prirast velikosti trdnih delcev glede na izhodne emulzijske kapljice najmanjši. Z vidika morfoloških lastnosti trdnih delcev s SMES, delci s polisaharidnimi ali polimernimi nosilci izkazujejo bolj gladko površino s plitvimi udrtinami, medtem ko imajo delci, ki so pripravljeni s silicijevimi nosilci, bolj grobo oz. hrapavo površino (18). S tem postopkom bistveno povečamo fizikalno stabilnost sistema, cilj pa je, da pri tem ohranimo samo(mikro)emulgirajoče lastnosti in vse prednosti tekočega S(M)ES (23).

Sušenje z razprševanjem temelji na razprševanju tekoče disperzije v komoro s krožečim vročim sušilnim medijem (najpogosteje zrak, redkeje inertni plin), ki povzroči izhlapevanje topila in nastanek trdnih delcev. Postopek vključuje štiri glavne procesne faze: *(1) razprševanje toka tekočine v drobne kapljice, (2) mešanje razpršenih kapljic z vročim zrakom, (3) izhlapevanje topila in nastanek trdnih delcev* ter *(4) ločitev posušenih delcev od nosilne zračne mase sušilnega zraka* (22). Vsaka izmed faz, ki potekajo pri izbranih procesnih pogojih, pomembno vpliva na učinkovitost sušenja in na lastnosti končnega produkta.

Disperzijo za razprševanje dovedemo do razprševalnega elementa najpogosteje s pomočjo peristaltične črpalke. Nastavljena hitrost črpanja je neposredno sorazmerna vstopnemu volumnu disperzije (24).

Pri črpanju je pomembna ustrezna viskoznost disperzije, ki zagotavlja enakomeren pretok skozi dovodno cevko brez mašenja (21). Ostale fizikalne lastnosti disperzije, kot so površinska napetost, gostota, stabilnost, koncentracija trdnega nosilca ali polimera in njegovo razmerje z učinkovino, pa vplivajo na primarne lastnosti delcev (poroznost, velikost in obliko delcev, naboj na površini delcev, ostanek vlage). Iz teh posledično izhajajo lastnosti praška, kot so pretočne lastnosti, nasipna/zbita gostota, stisljivost, higroskopnost, fizikalna stabilnost, profil *in vitro* in/ali *in vivo* sproščanja ZU (22).

Razprševanje disperzije v komoro s sušilnim plinom pomeni pretvorbo toka tekočine v zelo drobne kapljice z izjemno veliko specifično površino, kar olajša izmenjavo toplote med zrakom in razpršeno kapljico ter tako omogoči hitro izhlapevanje topila in učinkovito sušenje. Ker se pri tem toplota porablja, sušeči se delci nikoli ne dosežejo temperature sušilnega medija (21). Na voljo je kar nekaj naprav za razprševanje, ki se med seboj razlikujejo po tipu uporabljene sile, ki povzroči razbitje curka. Kateri način bomo izbrali, je odvisno od narave in količine tekočine za razprševanje in želenih lastnosti končnega produkta (24).

Pri *rotirajočem disku* razbitje toka tekočine na majhne kapljice povzroči centrifugalna sila. Kljub temu da naprava omogoča učinkovito razprševanje in številne modifikacije oblike delcev, je neprimerna za delo z dragimi ZU, saj se veliko suhega produkta odloži na steni procesne komore, kar zmanjša končni izkoristek procesa (21).

Hidravlična šoba je osnovana na principu toka tekočine pod tlakom skozi kanal z manjšajočim se premerom. Tekočina v trenutku, ko na najožjem koncu (0,4–4 mm) zapusti šobo, izgubi pritisk v korist kinetične energije in se nato, zaradi velike hitrosti, razprši v drobne kapljice. Ta način razprševanja je precej neučinkovit, ima izjemno omejene procesne spremenljivke, zaradi mašenja šobe je neprimeren za bolj viskozne tekočine, zanj je značilna tudi hitra abrazija šobe (21).

V praksi zato največ uporabljamo t. i. *visokotlačne šobe*, imenovane tudi večtekočinske šobe. Temeljijo na principu razprševanja tekočine v toku stisnjenega nosilnega plina. Za dvokanalno šobo je značilno, da tekočino, ki potuje po osrednjem kanalu šobe, v trenutku, ko izstopi skozi odprtino šobe, zadane tok stisnjenega zraka, ki ga dovajamo skozi zunanji

kanal šobe, in razprši tok tekočine na zelo drobne kapljice. Velikost kapljic tako določajo pretok in gostota stisnjenega zraka, pretok tekočine, njena gostota, viskoznost, površinska napetost. Tovrstna šoba omogoča visoko učinkovitost razprševanja (1000 kg/h) in izdelavo najrazličnejših formulacij, kot so S(M)ES, mikro/nano kapsule, trdne disperzije, stabilni proteinski in respiratorni praški, delci z lastnostmi prirejenega sproščanja (21).

Novejši načini razprševanja so osredotočeni na najrazličnejše visokotehnološko izpopolnjene šobe. Med njimi je *ultrazvočna šoba*, pri kateri se visokofrekvenčni električni signal pretvori v mehanske vibracije ultrazvočnih hitrosti. Te vibracije se prenesejo na tanko luknjičasto membrano (μm red velikosti) v kapici šobe, ki razbije tok tekočine; pri tem nastane veliko število kapljic z ozko porazdelitvijo velikosti. Poleg teh poznamo tudi *nizko napetostne elektro-hidrodinamske šobe*, namenjene predvsem razprševanju nestabilnih oz. občutljivih delcev (npr. DNA, delcev za inhaliranje), ki pa so zaradi nizke učinkovitosti še predmet raziskovanja (21).

Stik razpršenih kapljic z vročim zrakom v komori, ki se zgodi neposredno po razprševanju, opredeljuje medsebojna orientacija razprševalne naprave in vhodna smer vročega zračnega toka. Glede na to obstajajo trije načini sušenja; *so-točno* (angl.: »co-current«) sušenje, pri katerem disperzijo razpršujemo v smeri pretoka vročega zraka, *protitočno* sušenje (angl.: »counter-current«), pri katerem disperzijo razpršujemo v nasprotni smeri pretoka vročega zraka in njuna kombinacija. Najpogostejši in najbolj univerzalen način sušenja je sotočno sušenje, za katerega je značilno, da vlažne kapljice takoj po svojem nastanku pridejo v stik z najbolj vročim vstopnim zrakom, kar povzroči hitro izparevanje vode in porabo toplote ter posledično manjšo temperaturno izpostavljenost sušečega se materiala (21). Pretok zraka v komori lahko vzdržujemo s sesanjem zraka iz komore ali z njegovim vpihovanjem vanjo, bistveni lastnosti vstopnega zraka, ki vplivata na končni produkt, pa sta temperatura in vlažnost (24). Za optimalen proces sušenja so pomembne tudi dimenzije valjaste procesne komore, katere izbira je odvisna od razprševalne naprave in smeri pretoka zraka. Visoka komora, ki ima razmerje dimenzij višina : premer od 5 : 1, je bolj primerna za šobe pod tlakom, mala komora z razmerjem 2 : 1 pa je ustreznejša za razprševanje z rotirajočim diskom (22). Od tega razmerja je odvisna porazdelitev temperature vzdolž navpične osi komore in gibanje sušečih se kapljic. Običajno so problematične največje kapljice, ki zaradi večje mase pogosto izpadejo iz vrtinčastega toka zraka in se zaradi prekratkega časa izpostavljenosti

vročemu zraku še ne dovolj posušene odložijo na steni procesne komore. Srednje velike kapljice (5–30 μm) imajo ravno tako dovolj veliko gibalno količino, da v vstopni coni zapustijo tok zraka, kljub temu pa izgubijo dovolj mase, da se nižje v komori ujamejo v vrtinec krožečega zraka, ki jih ponese naprej v ločevalni del naprave – ciklon. Najmanjše kapljice (< 5 μm) so suhe tako rekoč takoj, ko pridejo v stik z vročim zrakom, in potujejo s tokom zraka v ciklon (21).

Ločevanje posušenih delcev od toka zraka in zbiranje trdnega produkta je zadnja stopnja procesa in lahko poteka v vrečastih filtrih, najpogosteje pa v ločevalnem delu – ciklonu. Samo delci, ki se v procesni komori zadržijo v toku krožečega zraka, skupaj z njim z veliko hitrostjo tangencialno vstopijo v ciklon. Ta s svojo stožčasto obliko v svoji notranjosti ustvarja vrtinčasto gibanje zraka in centrifugalno silo, ki deluje na delce. Ker imajo slednji večjo gostoto od zraka, med spiralnim gibanjem izgubijo veliko hitrosti in se odložijo na stenah ciklona oz. padejo na dno stožčastega dela v zbirno posodo, zrak pa se po sredini ciklona spiralno dviga proti izstopni cevi. Večji je pospešek zraka v ciklonu, manjši delci se ločijo od nosilne zračne mase. Zrak, ki izstopa iz ciklona, s seboj nosi najbolj fine delce, ki se niso ločili, zato ga je potrebno pred izstopom iz sistema filtrirati, da preprečimo kontaminacijo okolice z delci (22). V ta namen uporabljamo tekstilni filter.

Procesne spremenljivke in njihov vpliv na končne parametre produkta

Sušenje z razprševanjem je dokaj zapleten postopek, ki zahteva poglobljeno razumevanje medsebojnih vplivov procesnih parametrov na lastnosti končnega produkta. Vhodne procesne spremenljivke so: temperatura vstopnega sušilnega zraka (angl.: »inlet T«), hitrost pretoka zraka, relativna vlažnost sušilnega zraka, hitrost dovajanja tekočine za razprševanje, tlak na šobi za razprševanje oz. hitrost vrtenja pri razprševanju z rotirajočim diskom. Opazovani procesni parametri, ki so odvisni od vplivov vhodnih spremenljivk in od lastnosti disperzije za razprševanje (ZU, nosilca, topila) so: temperatura izhodnega zraka (angl.: »outlet T«), velikost razpršenih kapljic, izkoristek sušenja ter fizikalne lastnosti suhega produkta (velikost delcev, vsebnost vlage, higroskopnost) (22).

V nadaljevanju bomo pojasnili medsebojne vplive procesnih parametrov, ki so predstavljeni v preglednici II.

Preglednica II: Medsebojna odvisnost parametrov sušenja z razprševanjem; (↑) – večja nastavljena vrednost vhodne procesne spremenljivke, ↑/↓ – majhno, ↑↑/↓↓ – zmerno, ↑↑↑/↓↓↓– veliko povečanje/zmanjšanje odvisnega parametra (21)

Vhodna procesna spremenljivka / Odvisna procesna spremenljivka	Pretok zraka (↑)	Vlažnost zraka (↑)	Temperatura vhodnega zraka (↑)	Pretok stisnjenega zraka za razprševanje (↑)	Hitrost črpanja disperzije za razprševanje (↑)	Koncentracija trdnih snovi v disperziji za razprševanje (↑)	Organsko topilo namesto vode
Temperatura izhodnega zraka	↑↑	↑	↑↑↑	↓	↓↓	↑↑	↑↑↑
Velikost trdnih delcev	–	–	–	↓↓↓	↑	↑↑↑	↓
Vsebnost vlage v produktu	↓↓	↑↑	↓↓	–	↑↑	↓	↓↓↓
Izkoristek procesa	↑↑	↓	↑	–	↑↓	↑	↑↑

Pretok zraka označuje volumen zraka, dovedenega v sistem v časovni enoti. Višja nastavljena hitrost aspiratorja pomeni več energije za sušenje, kar se odraža v višji T izhodnega zraka in v manjšem zaostanku vlage v trdnem produktu. Hkrati pa višji pretok vpliva tudi na hitrejše gibanje kapljic skozi komoro in krajši čas njihovega zadrževanja v stiku z vročim zrakom. To lahko v primeru nastanka zmerno večjih kapljic pomeni večji zaostanek vlage v trdnem produktu in posledično zmerno višjo temperaturo izhodnega zraka. Največji nastavljen pretok zraka pomeni najboljšo ločitev trdnih delcev od zraka v ciklonu in večji izkoristek (24, 21) .

Vlažnost zraka je parameter, ki je odvisen tudi od letnega časa. Višja vlažnost sušilnega zraka pomeni manjšo kapaciteto za privzem vlage iz razpršenih kapljic in posledično večji zaostanek vlage v končnem produktu. Vlažni delci se lepijo na procesno komoro, kar je vzrok za nižji izkoristek procesa. Zaradi velike toplotne kapacitete vode ima z vlago nasičen zrak tudi višjo (izhodno) temperaturo (24).

Temperatura vhodnega zraka (vhodna T) je temperatura zraka v trenutku, ko ta vstopi v komoro in s katerim se najprej srečajo razpršene kapljice. Vpliva na količino topila, ki bo izhlapela v časovni enoti. Višja vhodna T pomeni sorazmerno višjo izhodno T in manjšo relativno vlažnost zraka ter posledično bolj suh produkt in večji izkoristek procesa (21).

Temperatura izhodnega zraka (izhodna T) je temperatura, ki jo izmerimo tik preden zrak vstopi v ciklon. Na njeno vrednost v različni meri vplivajo vsi procesni parametri. Ker se med sušenjem toplota porablja za izhlapevanje topila, je ta temperatura vedno nižja od vhodne in velja, da je enaka najvišji temperaturi produkta (21, 24).

Pretok plina za razprševanje označuje količino stisnjenega hladnega zraka oz. katerega druga plina, ki povzroči razprševanje toka tekočine. Večji pretok plina pomeni višjo silo na tok tekočine in njegovo razbitje na manjše kapljice, kar pomeni izrazito manjše delce končnega produkta. Večji kot je ta parameter, nižja je izhodna T, saj se v sistem dovede več hladnega zraka (24).

Hitrost črpanja tekočine za razprševanje je neposredno sorazmerna vstopnemu volumnu tekočine za razprševanje. Višja hitrost črpanja pomeni večjo količino topila, ki mora izhlapeti, več toplote se pri tem porabi, posledica je nižja izhodna T. Med procesom razprševanja v procesni komori nastanejo večje kapljice, saj v tem primeru dovajamo večji curek tekočine. Lahko se zgodi, da se pri velikem pretoku tekočine delci ne posušijo dovolj in ostanejo vlažni in lepljivi. Izkoristek pri spreminjanju tega parametra lahko variira, saj nanj vplivajo še notranji premer cevke za dovajanje tekočine in viskoznost disperzije (24).

Lastnosti disperzije – koncentracija trdnih snovi in disperzni medij tudi pomembno vplivata na lastnosti končnega produkta. Višja koncentracija trdnega nosilca se najbolj odraža v večji velikosti nastalih trdnih delcev in v manjši razliki med vhodno in izhodno temperaturo. Ta zmanjšana razlika pa se še veliko bolj izraža v primeru, ko vodni medij zamenjamo z bolj hlapnim organskim topilom. V tem primeru je nastali produkt zelo suh in izkoristek procesa je posledično večji (24).

2. NAMEN DELA

Namen diplomskega dela je pretvorba tekočega SMES v trdno obliko s postopkom sušenja z razprševanjem in vrednotenje ohranitve samo-mikroemulgirajočih lastnosti trdnih SMES.

Izdelali bomo tekoče SMES brez in z modelno učinkovino naproksen v koncentraciji 6 % in 18 % z ali brez dodatka magnezijevega stearata in aerosila v koncentraciji 1 % (m/m) glede na tekoči SMES. Sisteme bomo s postopkom sušenja z razprševanjem pretvorili v trdno obliko, pri čemer bomo kot trdne nosilce uporabili maltodekstrin, hidroksipropilmetil celulozo in njuno kombinacijo. Spremljali bomo morebiten vpliv izbranih nosilcev na proces izdelave (na pH vrednost in viskoznost disperzije za razprševanje ter vpliv slednje na izkoristek sušenja).

Pripravljene trdne sisteme bomo medsebojno primerjali, pri čemer bomo vrednotili vplive izbranih trdnih nosilcev na sposobnost ohranjanja samo-(mikro)emulgirajočih lastnosti, na vsebnost in učinkovitost vgradnje modelne učinkovine ter na profil sproščanja modelne učinkovine iz trdnih SMES. Izdelane trdne SMES bomo s preskusom sproščanja ovrednotili tudi napram pripadajočim fizikalnim zmesem in tako preverili, ali smo z vgradnjo učinkovine v trdni SMES izboljšali hitrost in obseg sproščanja. Z diferenčno dinamično kalorimetrijo bomo preverili, ali je po pretvorbi SMES v trdno obliko z izbranimi polisaharidnimi nosilci modelna učinkovina ostala v raztopljeni obliki.

3. MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIALI

3.1.1 Sestavine tekočega SMES

Tekoči SMES smo pripravili iz dveh lipidnih in dveh emulgatorskih komponent.

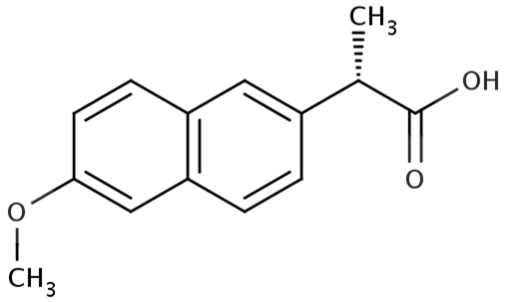
Glicerol monooleat (Molekula, Velika Britanija); kemijsko je monoester glicerola in oleinske kisline, v zmesi pa so lahko prisotni še manjši deleži monogliceridov ostalih maščobnih kislin (palmitinske, stearinske...) ter di- in trigliceridov. Pri sobni temperaturi je viskozna oljna tekočina, rjavo-rumene barve in značilnega vonja. Ker je netoksičen in ne draži, je primeren za peroralno in dermalno uporabo. Njegova HLB-vrednost je 3,3, kar ga uvršča med lipofilne spojine z emulgatorskimi lastnosti tipa V/O (25).

Miglyol® 812 (Sasol GmbH, Nemčija); kemijsko je zmes trigliceridnih estrov nasičenih srednjedolgoverižnih maščobnih kislin (50–65 % kaprilne (C8) in 30–45 % kaprinske (C10) kisline) (26). Miglyol® 812, pogosto označen kot nevtralno olje, je tekočina brez barve, vonja in okusa in brez aditivov. Zaradi številnih prednosti, med katerimi so kemijska nevtralnost, netoksičnost, spodbujanje absorpcije, biološka razgradljivost in dobra oksidacijska stabilnost, se uporablja v farmaciji za izdelavo peroralnih, parenteralnih in dermalnih FO. Ostale lastnosti, kot so tekoče agregatno stanje pri 0 °C, pospeševanje absorpcije skozi kožo, vlažilno in mehčalno delovanje na koži, nemastna struktura, ki ne omejuje kožne respiracije, pa omogočajo široko uporabo Miglyola® 812 tudi v kozmetični industriji (27).

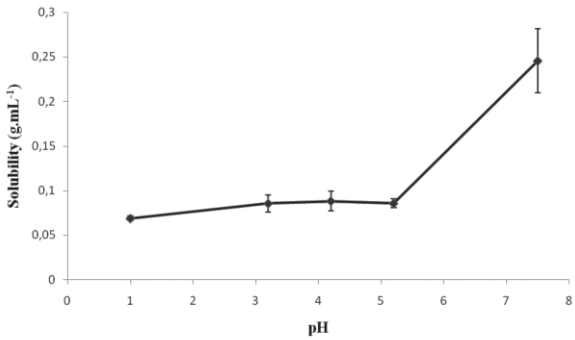
Gelucire® 44/14 (Gattefosé, Francija) je neionogen hidrofilni emulgator. Kemijsko je zmes mono-, di- in trigliceridov, mono- in diestrov PEG ter nekaj prostega PEG. Z glicerolom ali PEG so zaestrene maščobne kisline C8–C18, med katerimi je v okoli 45 % zastopana lavrinska kislina. Gelucire® 44/14 je inertna PAS, poltrdne voskaste konsistence, ki v stiku z vodo spontano tvori mikroemulzijo (28). Številčna oznaka v imenu označuje njegovo temperaturo tališča (44 °C) in HLB-vrednost (14) (29). Kot solubilizator se uporablja za povečanje topnosti slabo vodotopnih učinkovin v FO za peroralno uporabo. Poleg tega *in vivo* zavira sekretorni prenašalec P-glikoprotein in metabolne encime iz družine CYP450 v enterocitih. Na ta način bistveno prispeva k izboljšanju BU učinkovin, pri katerih je v večji meri izražen učinek prvega prehoda (28).

Kolliphor® HS 15 (BASF – The chemical company, Nemčija) je neionogen emulgator in solubilizator z visoko solubilizacijsko kapaciteto (30). Kemijsko je zmes mono- in diestrov polietilenoksida z 12-hidroksistearinsko kislino. Pri reakciji estrenja nastane še okoli 30 % prostega PEG, ki da PAS hidrofilen značaj s HLB vrednostjo med 14 in 16. Pri sobni temperaturi je poltrdne konsistence, pri 30 °C pa preide v tekoče stanje. Topen je v vodi, etanolu in 2-propanolu. Kolliphor® HS je kemijsko stabilen, fiziološko kompatibilen in učinkovit solubilizator z nizko toksičnostjo in zato primeren za povečanje topnosti številnih slabo vodotopnih učinkovin, tako v peroralnih kot v parenteralnih FO (31, 32).

Naproksen (Krka, d. d., Novo mesto) je nesteroidni antirevmatik z analgetičnim, antipiretičnim in protivnetnim učinkom, doseženim z zaviranjem sinteze prostaglandinov (33). Je bel kristaliničen prašek z molsko maso 230,3 g/mol. V vodi je zelo slabo topen (0,0159 mg/mL pri 25 °C), dobro pa se raztaplja v organskih topilih, npr. v etanolu (~100 mg/mL) (34). Ker je šibka kislina s pKa 4,15, je njegova topnost odvisna od pH topila. Pri nižjih pH vrednostih topila je slabo topen, bolje se raztaplja pri pH-jih višjih od pKa (slika 2). Njegov logP je 3,18, temperaturo tališča pa ima pri 153 °C (35). Zaradi slabe topnosti in dobre permeabilnosti v prebavnem traktu sodi v razred II biofarmacevtske klasifikacije (36). Naproksen smo kot modelno učinkovino vgradili v tekoči SMES.



Slika 1: Strukturna formula naproksena (35)



Slika 2: Topnostni profil naproksena (37)

Magnezijev stearat (Lek, d. d., Ljubljana) je kemijsko zmes različnih deležev magnezijevih soli stearinske in palmitinske kisline. Je bel kristaliničen prašek, ki je na otip masten in lepljiv. V vodi in etanolu je praktično netopen, delno se raztaplja v segretem 95% etanolu in v benzenu. Je netoksičen. Primarno se v farmaciji uporablja kot drsilo pri tabletiranju in polnjenju kapsul v koncentraciji 0,25–5 % (m/m). Zaradi svoje

hidrofobnosti lahko že v najnižjih uporabljanih koncentracijah znatno upočasni sproščanje učinkovine iz FO (25).

Aerosil 200 (Lek, d. d., Ljubljana) je kemijsko silicijev dioksid (SiO_2), ki ga pridobivajo s plamensko hidrolizo klorosilanov. Je amorfen prašek, modrikasto-bele barve, brez vonja, praktično netopen v vodi in organskih topilih. Raztaplja se v fluorovodikovi kislini (HF) in v vročih bazah, medtem ko v vodi tvori koloidno disperzijo. Zaradi izjemno majhne velikosti delcev (~15 nm) ima zelo veliko specifično površino (100–400 m^2/g). V farmaciji se veliko uporablja kot drsilo, stabilizator emulzij in aerosolov, sredstvo za olajšanje dispergiranja, adsorbent, trdni nosilec, zgoščevalo (25).

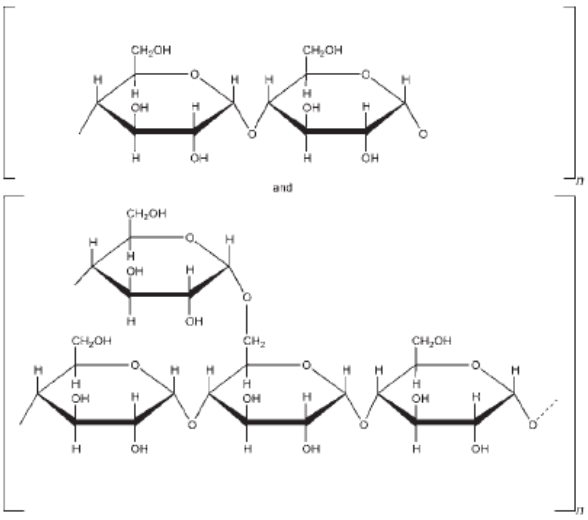
3.1.2 Trdni nosilci

Pri pretvorbi tekočega SMES v trdno obliko smo kot trdne nosilce uporabili maltodekstrin (MD) in hidroksipropilmetil celulozo (HPMC) ter njuno kombinacijo (MD+HPMC).

Maltodekstrin (Sigma-Aldrich, ZDA) je zmes različno dolgih razvejanih oligosaharidov, sestavljenih iz D-glukoznih enot, ki so v primarni verigi povezane z α-(1→4) glikozidnimi vezmi, od nje pa se z α-(1→6) glikozidno vezjo cepijo stranske verige (slika 3) (25). Pridobivajo ga s kislinsko ali encimsko delno hidrolizo škroba, po kateri raztopino nastalih glukoznih polimerov filtrirajo, koncentrirajo in posušijo, da dobijo bel prašek. Iz načina pridobivanja izhaja tudi enota glukoznega ekvivalenta (angl.: dextrose equivalent, DE), ki opredeljuje različne tipe MD. DE-vrednost opisuje redukcijsko sposobnost substance, izraženo v gramih D-glukoze na 100 gramov suhe snovi in je neposredno merilo za obseg hidrolize škroba. Poenostavljeno lahko rečemo, da DE-vrednost pove količino prisotnih reducirajočih sladkorjev, nastalih po hidrolizi škroba. Večja DE-vrednost pomeni hidrolizo škroba v večjem obsegu in nastanek več krajših D-glukoznih enot s prostim reducirajočim koncem. Na primer DE =15 za maltodekstrin pomeni, da ima 100 g MD enako redukcijsko sposobnost kot 15 g D-glukoze (25). Navadno so DE-vrednosti za maltodekstrine med 3 in 20, mi pa smo uporabili MD z vrednostjo DE med 13,0 in 17,0 (38). Od DE-vrednosti so odvisne tudi nekatere fizikalne lastnosti MD, kot npr. topnost, higroskopnost, stisljivost in viskoznost, kjer prve z večanjem števila DE naraščajo, slednja pa pada (25).

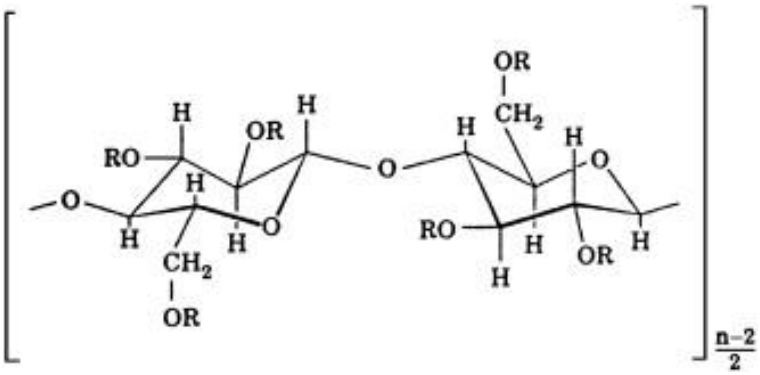
Ker je MD s strani FDA v splošnem sprejet kot netoksičen in varen (status GRAS), je njegova raba v farmaciji zelo razširjena. Kot polnilo in vezivo ga uporabljamo pri direktnem stiskanju tablet ali pri tabletiranju s predhodnim vlažnim granuliranjem. Prav

tako ga lahko kot tvorilca obloge uporabljamo pri oblaganju tablet, v tekočih FO pa kot snov za uravnavanje osmolarnosti, in preprečevanje kristalizacije. Ker je v vodi dobro topen in njegove raztopine niso viskozne, je zelo uporaben kot trdni nosilec pri postopku sušenja z razprševanjem (25).



Slika 3: Strukturna formula maltodekstrina (25)

Hidroksipropilmetil celuloza, 5 cp (Krka, d. d., Novo mesto). HPMC je delno O-metiliran in delno O-(2-hidroksipropiliran) polimerni derivat celuloze (slika 4).



Slika 4: Strukturna formula hidroksipropilmetil celuloze (HPMC), kjer substituent R predstavlja –H, –CH_3 ali –$CH_2CH(OH)CH_3$ (39)

Pridobivajo jo tako, da surovo celulozo naalkalijo z NaOH, da nastanejo nukleofilna mesta na kisiku, pri čemer se nato v reakcijah O-alkiliranja s klorometanom in propilen oksidom tvorijo različno substituirani celulozni etri. Po končani reakciji celulozna vlakna osušijo, očistijo in zmeljejo v fin prašek ali zrnca, bele barve, brez vonja in okusa (25). Kritične fizikalno-kemijske lastnosti polimera – topnost, viskoznost in sposobnost nabrekanja, so

močno odvisne od stopnje substitucije in molekulske mase polimera, ki variira med 10000 in 1500000 g/mol, odvisno od velikosti primarne molekule celuloze. Evropska farmakopeja glede na delež metoksi in hidroksipropoksi skupin opredeljuje štiri razrede oz. tipe HPMC, ki so dovoljeni na tržišču (preglednica III). Prvi dve števki v oznaki pomenita delež metoksi skupin, drugi dve pa odstotek hidroksipropoksi skupin. Poleg tega farmakopeja za posamezne tipe HPMC predpisuje tudi določanje navidezne viskoznosti 2% vodne raztopine polimera pri 20 °C, ki služi kot merilo za povprečno dolžino polimera (39). Vrednost navidezne viskoznosti je običajno tudi edina lastnost, ki jo navede proizvajalec.

Preglednica III: Specifikacije evropske in ameriške farmakopeje za različne tipe HPMC, razvrščene v štiri razrede glede na vsebnost posameznih substituentov (25, 39)

Razred oz. tip HPMC	Vsebnost $–OCH_3$ skupine	Vsebnost $–OCH_2CH(OH)CH_3$
Tip 1828	16,5–20,0%	23,0–32,0%
Tip 2208	19,0–24,0%	4,0–2,0%
Tip 2906	27,0–30,0%	4,0–7,5%
Tip 2910	28,0–30,0%	7,0–12,0%

Ker so farmakopejski predpisi razmeroma široki, se serije HPMC na tržišču tudi znotraj istega razreda znatno razlikujejo v kemijski strukturi, kar posledično pomeni veliko fizikalno raznolikost končnega hidrofilnega ogrodja. Ta raznolikost izhaja že iz samega kemijskega postopka pridobivanja, saj je izhodna celuloza zelo heterogen material (različna MM), ki se nato še naključno in nenadzorovano substituira. Švedska raziskovalka Anna Viridén in sodelavci so ugotovili, da na zgoraj omenjene kritične fizikalne lastnosti HPMC gela poleg MM, stopnje substitucije in razmerja deležev substituentov pomembno vpliva tudi njihova razporeditev. Ta se lahko spreminja tako znotraj ene glukozne enote kot tudi vzdolž celotne polimerne verige. Pomembno je, kako in katera od OH skupin na posamezni glukozni enoti je substituirana ter kako se ta vzorec ponavlja oz. spreminja vzdolž ene polimerne verige in med posameznimi verigami. Vse te razlike bistveno prispevajo k ostalim parametrom, ki pomembno vplivajo na končni profil sproščanja učinkovine iz matriksa (40, 41) .

Kljub vsemu je HPMC eden izmed najbolj pogosto uporabljenih polimerov pri oblikovanju zdravil. Je ključna pomožna snov pri izdelavi trdnih peroralnih FO s prirejenim

sproščanjem, kjer lahko tvori hidrofilno ogrodje ali oblogo. Raztopine polimera se uporabljajo v tekočih oblikah za povečanje viskoznosti, stabilizacijo emulzij in suspenzij. Ker tvori gel, se uporablja v poltrdnih FO. V hladni vodi je polimer topen in tvori koloidno raztopino, kar je razlog za njegovo uporabo v FO za oko in nos (25). Je pomožna snov z mnogimi prednostmi, saj ni toksična, je relativno poceni in primerna za vgradnjo velike količine zdravilne učinkovine. Je tudi nezahtevna za oblikovanje zdravil, saj procesne spremenljivke le malo vplivajo na profil sproščanja vgrajene učinkovine (41).

3.1.3 Ostale uporabljene kemikalije

Za pripravo EtOH 70% (V/V):

- ethanolum 96 per centum – Ph. Eur. 7.0, Pharmachem, Slovenija
- prečiščena voda, Fakulteta za farmacijo, Slovenija

Za pripravo 1M HCl:

- klorovodikova kislina 37%, za analizo, Merck KGaA, Nemčija
- prečiščena voda, Fakulteta za farmacijo, Slovenija

Za pripravo medija za sproščanje s pH = 1,2:

- kalijev klorid (KCl), Merck KGaA, Nemčija
- 1 M HCl, pripravljena
- prečiščena voda, Fakulteta za farmacijo, Slovenija

Za pripravo mobilne faze za HPLC analizo:

- metanol za tekočinsko kromatografijo, Merck KGaA, Nemčija
- acetonitril za tekočinsko kromatografijo, Merck KGaA, Nemčija
- trietilamin > 99,5% GC, Fluka, Belgija
- dvakrat prečiščena voda, pridobljena s sistemom Mili-Q®, Katedra za biofarmacijo in farmakokinetiko, Fakulteta za farmacijo, Slovenija

3.1.4 Uporabljene naprave

- Analitska tehtnica, Mettler Toledo AG245, Švica
- Analitska tehtnica, Mettler Toledo XS205, Švica
- Precizna tehtnica Vibra, Tehtnica, Železniki, Slovenija

- Precizna tehtnica, Sartorius AX623, Nemčija
- Grelno magnetno mešalo Rotamix 550 Mhz, Tehtnica, Slovenija
- pH meter, Mettler Toledo, Švica
- Cannon Fenske-jev kapilarni viskozimeter, SCHOTT – Instruments, Nemčija
- Höpplerjev viskozimeter, proizvajalec neznan
- Sušilnik Büchi Mini Spray Dryer B-290, Büchi, Švica
- Centrifuga Centric 322A, Tehtnica, Slovenija
- Zeta Sizer Nano Series, Malvern Instruments, Velika Britanija
- Naprava za preizkus sproščanja VanKel VK 7000 z avtomatskim vzorčevalnikom VK 8000, ZDA
- Ultrazvočna kadička Sonis 4, Iskra pio d. d, Slovenija
- Tekočinska kromatografija visoke zmogljivosti, Agilent Series, Agilent Technologies, ZDA
- Diferenčni dinamični kalorimeter DSC 1 Star^{e} System, Mettler-Toledo, Švica

3.2 METODE

3.2.1 Priprava samo-mikroemulgirajočega sistema (SMES)

V prvi fazi smo pripravili osnovni tekoči SMES, ki je bil predhodno razvit na Katedri za farmacevtsko tehnologijo Fakultete za farmacijo. Sestava SMES je navedena v preglednici IV.

Preglednica IV: Sestava tekočega SMES

	KOMPONENTA	% (m/m)
OLJNA FAZA 60 % (m/m)	Glicerol monooleat	30
	Miglyol® 812	30
EMULGATORSKA FAZA 40 % (m/m)	Gelucire® 44/14	20
	Koliphor® HS 15	20

Pripravili smo naslednje tekoče SMES (masni deleži se nanašajo na maso praznega tekočega SMES):

- SMES brez modelne učinkovine
- SMES brez modelne učinkovine z dodanimi drsili v vsebnosti 1 % (m/m)
- SMES z modelno učinkovino v vsebnostih:
  - 6 % – popolnoma raztopljena učinkovina
  - 18 % – delno raztopljena, delno suspendirana učinkovina
- SMES z dodanimi drsili 1 % (m/m) in z modelno učinkovino v vsebnostih:
  - 6 % – popolnoma raztopljena učinkovina
  - 18 % – delno raztopljena, delno suspendirana učinkovina

Na analitski tehtnici smo v 25 mL čašo natančno natehtali vse sestavine SMES v preračunanih količinah, ki ustrezajo določenim m/m odstotkom za izbrano maso tekočega praznega SMES. Nato smo čašo postavili na magnetno mešalo z grelcem in ob segrevanju mešali do nastanka homogenega tekočega SMES. V primeru priprave SMES z drsili smo po 15 minutah mešanja taline v čašo najprej zatehtali magnezijev stearat in mešali nadaljnjih 30 minut, zatem pa še aerosil in mešali še eno uro in 30 minut. Drsila smo dodali vsakega po 1 % (m/m) glede na izbrano maso tekočega SMES.

V primeru, ko smo v SMES vgradili modelno učinkovino, smo po 15 minutah mešanja taline v čašo najprej natehtali naproksen v količini, ki je ustrezala 6 ali 18 % (m/m) in ob segrevanju mešali 1 uro. Ko smo enakim formulacijam dodajali drsila, smo po eni uri mešanja SMES z ZU dodali magnezijev stearat in aerosil v enakih količinah, enakem zaporedju in časovnem intervalu, kot je opisano zgoraj.

3.2.2 Priprava disperzije za razprševanje

Tekoči SMES smo dispergirali v raztopini nosilca in tako pripravili disperzijo za razprševanje. Kot nosilce smo uporabili MD, HPMC in njuno kombinacijo (MD+HPMC).

Disperzijo z MD smo pripravili tako, da smo v 250 ml erlenmajerico s širokim vratom natančno natehtali 10 g MD in dodali 100 mL prečiščene vode. Vodno raztopino nosilca smo ob segrevanju mešali 1 uro. Nato smo ji dodali 5 g tekočega SMES z oz. brez ZU in nadaljevali z mešanjem še 30 minut. Razmerje med MD in dodanim tekočim SMES (z/brez ZU) v disperziji za razprševanje je 2 : 1.

Disperzijo s HPMC smo pripravili tako, da smo v erlenmajerico natančno natehtali 10 g HPMC in dodali 60 mL prečiščene vode ter pokrito mešali ob rahlem segrevanju 1 uro, da se je HPMC dobro omočila in nabreknila. Nato smo dodali še 140 mL vode in mešali še 15 minut do nastanka koloidne raztopine. Zatem smo v erlenmajerico natehtali 5 g tekočega SMES z oz. brez modelne ZU in disperzijo mešali ob segrevanju še pol ure. Razmerje med HPMC in dodanim tekočim SMES (z/brez ZU) v disperziji za razprševanje je 2:1.

Disperzijo s kombinacijo nosilcev MD+HPMC smo pripravili v dveh različicah. V prvi smo uporabili skupno 10 g, v drugi pa skupno 15 g nosilca. V obeh primerih smo pripravili 100 mL disperzije, razmerje med MD in HPMC pa je bilo 2 : 1. HPMC smo pustili nabrekati eno uro ob mešanju in rahlem segrevanju v 60 mL prečiščene vode, nato pa smo ji dodali 40 mL prečiščene vode in MD ter mešali še 15 minut. Zatem smo v erlenmajerico natehtali še 5 g tekočega SMES z/brez modelne ZU in disperzijo mešali ob segrevanju še pol ure. Razmerje med nosilcem (MD+HPMC) in dodanim tekočim SMES (z/brez ZU) v disperziji za razprševanje je v prvi različici priprave 2 : 1, v drugi pa 3 : 1.

Tako pripravljene disperzije smo ohladili na sobno temperaturo (med 20 in 25 ^{o}C) in jim izmerili pH (pH meter, Mettler Toledo, Švica) ter viskoznost.

Viskoznost disperzij z MD smo izmerili s Höpplerjevim viskozimetrom, ki je primer viskozimetra s padajočo kroglico (slika 5A). V čisto in suho merilno cevko smo natočili disperzijo do 2,5 cm pod robom. Vložili smo stekleno kroglico in merili čas padanja kroglice od najvišje do najnižje oznake. Viskoznost smo izračunali po enačbi 1 iz povprečja treh meritev (42).

$$\eta = \frac{t \times k}{(\rho 2 - \rho 1)}$$

Enačba 1: Kinematična viskoznost vzorca; (Höpplerjev viskozimeter)

Kjer so: η – viskoznost (mm^2/s), t – čas potovanja kroglice med oznakama na merilni cevki z vzorcem, ρ1 – gostota tekočine, ki ji merimo viskoznost (ρ1 smo določili kot masa/volumen), ρ2 – gostota padajoče kroglice (g/cm^3) – uporabili smo stekleno kroglico z ρ2 = 2,228 g/cm^3, k – konstanta (mPa·cm3/g) – uporabili smo stekleno kroglico s k_2 = 0,074351 $mPa \cdot cm^3/g$.

Opomba: Glede na razpoložljive pogoje smo meritev izvedli z nekaj poenostavitvami, ki jih je potrebno vzeti v obzir. Merilna cevka in vzorec nista bila termostatirana, vzorec je bil med meritvijo izpostavljen zraku, čas padanja kroglice ni bil večji od 30 s, kar predvideva predpis za stekleno kroglico s konstanto k_2.

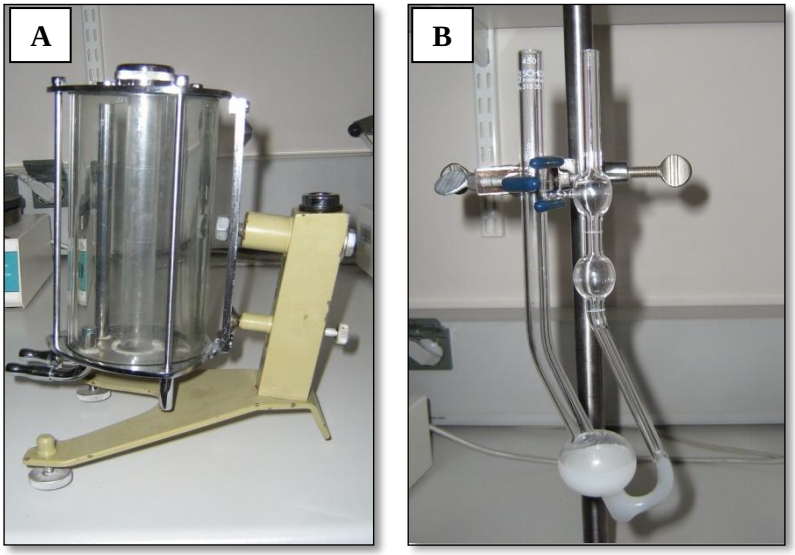
Viskoznost disperzij s HPMC in MD+HPMC smo izmerili s kapilarnim Cannon-Fenskejevim viskozimetrom (slika 5B). Viskozimeter smo s prižemo vpeli na stojalo, da je bil postavljen čim bolj navpično. V širši krak smo vlili disperzijo do 2/3 bučke. S pipetirno žogico smo na ožji strani cevke posesali tekočino, da se je dvignila nad zgornjo oznako, in nato merili čas pretoka tekočine med obema oznakama. Viskoznost smo izračunali po enačbi 2 in rezultat podali kot povprečno vrednost petih meritev (42).

$$\eta = t \times k$$

Enačba 2: Kinematična viskoznost vzorca; (Cannon-Fenskejev viskozimeter)

Kjer so: η – viskoznost (mm^2/s), t – čas pretoka tekočine med oznakama, k – konstanta kapilarnega viskozimetra (mm^2/s^2) – uporabili smo viskozimeter s k=2,286 mm^2/s^2.

Opomba: Tudi pri tej meritvi je že a priori napaka, saj kapilarni viskozimeter predvideva meritev pri 20 °C±0,1 in izbor takega viskozimetra, kjer bo tekočina imela pretočni čas okrog 200 s. V našem primeru je bila temperatura med 20 in 25 °C, na voljo pa smo imeli le Cannon-Fenskejev kapilarni viskozimeter, kjer so bili pretočni časi med 13 in 30 s.



Slika 5: A – Höpplerjev viskozimeter, B – Cannon-Fenskejev kapilarni viskozimeter

3.2.3 **Pretvorba SMES v trdno obliko**

Pripravljeno disperzijo smo posušili z metodo sušenja z razprševanjem s sušilnikom Büchi Mini Spray Dryer B-290 (Büchi, Švica) (slika 6). Ta je povezan z razvlaževalcem zraka B-296 (Büchi, Švica) in kompresorjem (Haug kompressoren, Švica). Naprava za sušenje je sestavljena iz vstopne enote za zrak z grelcem, peristaltične črpalke, dvokanalne šobe za razprševanje, procesne komore, separacijskega ciklona, zbirne posode za produkt, izstopne enote za zrak s tekstilnim filtrom za najmanjše delce ter aspiratorja. V vstopni enoti se razvlažen zrak iz razvlaževalca segreje na nastavljeno vhodno temperaturo in z relativno visokim pretokom vstopi v kanal za zrak v šobi ter izstopi v končni navojni kapici šobe s premerom odprtine 1,5 mm. Črpalka z nastavljeno hitrostjo črpa disperzijo za razprševanje v notranji del šobe, ki ima premer 0,7 mm. Šoba razprši tok tekočine na zelo drobne kapljice, ki se v procesni komori v stiku z vročim zrakom posušijo, da nastanejo trdni delci. Delci pod vplivom aspiratorja potujejo z vročo zračno maso iz procesne komore v ciklon, kjer se od nje dokončno ločijo in odložijo na stenah ciklona ali zberejo v zbirni posodi. Ostala zračna masa z najfinejšimi delci potuje skozi izstopni filter do cevi, ki vodi v izhod v digestorij.

Slika 6: Sušilnik Büchi Mini Spray Dryer B-290 (Büchi, Švica)

Optimalna nastavitev procesnih parametrov za sušenje disperzije z MD je bila predhodno določena na Katedri za farmacevtsko tehnologijo in je navedena v preglednici V. Enake nastavitve smo uporabili tudi pri sušenju disperzij s HPMC in njene kombinacije z MD. Vplivi procesnih parametrov na različne spremenljivke so podrobneje opisani v poglavju 1.3.3.

Preglednica V: Nastavitve parametrov sušenja in njihov pomen (24)

NASTAVLJEN PARAMETER	NASTAVITEV	POMEN
Aspirator	100 %	Količina sušilnega medija, tj. segretega zraka, dovedenega v sistem. Nastavitev ustreza maksimalnemu možnemu pretoku ~ 35 m^3/h.
Temperatura vhodnega zraka (angl.: »inlet T«)	120 °C	Temperatura sušilnega zraka pred vstopom v procesno komoro.
Višina na rotametru	50 mm	Merilo za dovedeno količino stisnjenega zraka v šobi, ki je potreben za razprševanje toka tekočine. Nastavitev ustreza teoretičnemu pretoku ~ 601 L/h.
Črpalka	15 %	Merilo za količino dovedene tekočine za razprševanje. Nastavitev ustreza pretoku 4,5 mL/min.

OPAZOVAN PARAMETER	VREDNOST	POMEN
Temperatura izhodnega zraka (angl.: »outlet T«)	38–48 °C	Temperatura zraka s trdnimi delci pred vstopom v ciklon. Je največja temperatura, ki ji je izpostavljen produkt.

Potem, ko smo ustrezno sestavili procesno komoro, smo pri izbranih nastavitvah najprej nekaj minut razprševali prečiščeno vodo, da so se ustalili pogoji v procesni komori. Nato smo do konca razprševali našo disperzijo in zatem zopet 10–15 minut prečiščeno vodo, ki je sprala črpalno cevko in šobo. Po končanem postopku smo vse naprave izključili, razstavili komoro, zbrali posušen produkt iz zbirne posode in iz ciklona ter določili izkoristek sušenja po enačbi 3.

$$\eta = \frac{mz + mc}{m(nosilec) + m(SMES)} \times 100\%$$

Enačba 3: Izkoristek sušenja

Kjer so: η – izkoristek sušenja (%), m_z – masa produkta v zbirni posodi (g), m_c – masa produkta v ciklonu (g), m(nosilec) – masa trdnega nosilca v disperziji (MD ali HPMC ali MD+HPMC) (g), m(SMES) – masa dodanega tekočega SMES z/brez modelne ZU (g).

3.2.4 Merjenje velikosti kapljic

Z metodo fotonske korelacijske spektroskopije (angl.: Photon Correlation Spectroscopy, PCS) smo izmerili velikost kapljic emulzije, ki nastanejo po dispergiranju tekočega SMES in trdnih praškastih SMES v vodi. Metoda temelji na merjenju porasta in upada intenzitete sipanja laserske svetlobe med naključnim Brownovim gibanjem delcev v vzorcu, ki je posledica trkov delcev z molekulami disperznega medija. Hitrost gibanja delcev je odvisna od njihove velikosti (manjši delci hitreje difundirajo) in od viskoznosti disperznega medija. Program izračuna difuzijski koeficient, ki je v korelaciji z velikostjo delcev oz. kapljic v emulziji. Rezultat meritve sta povprečni premer delcev in polidisperzni indeks (angl.: polydispersity index, PDI), ki je merilo za širino porazdelitve velikosti delcev. PDI = 0 pomeni monodisperzno porazdelitev, PDI = 1 pa polidisperzno.

Meritve smo izvajali na napravi Zeta Sizer Nano Series (Malvern Instruments, Velika Britanija). Pripravili smo vzorce emulzij, nastale po dispergiranju tekočega in trdnega

SMES brez oz. z modelno ZU. Tekoče SMES, ki so pri sobni T poltrdni, smo najprej stalili in jih nato v bučki redčili s prečiščeno vodo v razmerju 1g sistema/250 mL. Trdne SMES smo v erlenmajerici najprej redčili s prečiščeno vodo v razmerju 0,5 g/10 mL. Emulzije, ki so nastale po dispergiranju trdnih SMES (izdelanih iz tekočih SMES z 18 % ZU), smo centrifugirali 10 min pri 3500 obratih/min in na ta način odstranili oborjeno učinkovino. Pripravljene emulzije smo zatem redčili še v razmerju 2 mL/25 ml, kar je v končni fazi enako redčitvi 1 g/250 mL. Koloidni vzorec smo s kapalko prenesli v čisto polistirensko kiveto (Sarstedt AG&Co, Nemčija), jo do suhega obrisali s papirnato brisačo ter jo vstavili v merilno celico v napravi. Meritve smo izvajali pri naslednjih nastavitvah: čas začetne ekvilibracije vzorca 120 sek, temperatura vzorca med meritvijo 25 ^{o}C, voda kot disperzni medij, viskoznost medija 0,8872 cp. Rezultat (povprečni premer kapljice in PDI) je bil povprečna vrednost dveh zaporednih setov meritev, od katerih vsak vključuje 10 meritev.

3.2.5 Določanje vsebnosti modelne učinkovine v trdnem SMES

V 50 mL bučko smo točno natehtali izbrano maso vzorca (med 10 in 250 mg) in s 70% EtOH dopolnili do oznake. Bučko smo za eno uro postavili na magnetno mešalo in nato še za 30–45 minut v ultrazvočno kadičko, da so se vsi delci raztopili. Nato smo vzorec prefiltrirali v HPLC viale skozi RC filter z velikostjo por 0,45 µm (LLG-Syringe Filter, RC, LabLogistics Group GmbH, ZDA). Vsebnost modelne ZU v trdnih SMES, ki smo jo določali v treh paralelah z analizno metodo HPLC, smo izračunali po enačbi 4.

$$vsebnost\ (\%) = \frac{m_{ZU}\ (določena)}{m_{zatehte}(trdni\ SMES)}$$

Enačba 4: Vsebnost modelne ZU v trdnem SMES

3.2.6 Učinkovitost vgradnje modelne učinkovine v trdni SMES

Učinkovitost vgradnje lahko opišemo z deležem na kakršenkoli način vgrajene ZU v celotni masi izdelanega trdnega produkta, ki se tekom tehnološkega procesa ni izgubila. Učinkovitost vgradnje smo izračunali po enačbi 5.

$$Uč.vgradnje = \frac{m_{ZU}\ (končna)}{m_{ZU}(vstopna)} = \frac{m\ (trdnega\ produkta)\ \times\ vsebnost\ (\%)}{m_{ZU}\ (vstopna)} \times 100\ \%$$

Enačba 5: Učinkovitost vgradnje modelne ZU v trdni SMES

Kjer količine v enačbi 5 pomenijo: $m\ (trdnega\ produkta)$ – celotna masa trdnega SMES, ki smo ga pridobili s sušenjem z razprševanjem (tj. masa produkta v ciklonu + masa produkta v zbirni posodi) (g), $vsebnost$ (%) – določena z analizno metodo HPLC v trdnem SMES, $m_{ZU}\ (vstopna)$ – masa modelne ZU v tekočem SMES, ki smo ga dispergirali v raztopini nosilca.

3.2.7 Tekočinska kromatografija visoke ločljivosti

Koncentracijo ZU v vzorcih smo določali s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (angl.: High Performance Liquid Cromatograpy, HPLC) na napravi Agilent 1100 Series (Agilent Technologies, ZDA). Parametri HPLC-analize in kromatografski pogoji so predstavljeni v preglednici VI.

Preglednica VI: Parametri HPLC-analize in kromatografski pogoji

Injektor	Agilent 1100; WPALS V = 20 µL, T = 25 °C	V – volumen injiciranja T – temperatura injiciranja
Mobilna faza	SESTAVA: 20 % MeOH 28 % CH_3CN 52 % bidestilirana voda 0,4 ml/L trietilamin	PRIPRAVA 1 L MOBILNE FAZE: V 1-litrski steklenici za mobilno fazo smo v 520 mL bidestilirane vode s pipeto odmerili 0,4 mL trietilamina in z ortofosforno kislino uravnali pH na 3,2 ± 0,05. Nato smo dodali 200 mL MeOH in 280 mL CH_3CN ter po vsakem dodatku nastajajočo raztopino dobro premešali.
Kolona	Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6mm×150mm, 5 µm)	4,6 mm – notranji premer kolone 150 mm – dolžina kolone 5 µm – velikost delcev
Ločba	Φ = 1,5 mL/min t_R ~ 7,5 min	Φ – pretok mobilne faze skozi kolono t_R – retencijski čas naproksena
Detektor	Agilent 1100, DAD; λ = 270 nm	λ – valovna dolžina detekcije

Najprej smo pripravili standardne raztopine različnih koncentracij za umeritveno premico. Vlogo standarda je v našem primeru imela modelna učinkovina – naproksen, ki smo ga vgrajevali v SMES. Za osnovno raztopino smo na analitski tehtnici (Mettler Toledo AG245 ali Mettler Toledo XS205) točno natehtali cca. 15 mg naproksena in ga kvantitativno prenesli v 100 mL bučko ter s 70% EtOH dopolnili do oznake. Bučko smo za

30 min postavili na magnetno mešalo in zatem še za 10 min v ultrazvočno kadičko, da se je vsa učinkovina raztopila. Osnovno raztopino smo nato redčili v volumskih razmerjih 5/10, 1/10, 5/100, 5/250, 1/100, 0,5/250. Raztopine smo prefiltrirali v viale za HPLC (Agilent, ZDA) in izvedli meritev. Rezultat HPLC-analize je površina pod kromatografskim vrhom (angl.: Area under curve, AUC). S pomočjo programa (Excel, MS Office) smo narisali premico AUC v odvisnosti od koncentracije za standardne raztopine in z metodo linearne regresije določili enačbo premice (enačba 6) in kvadrat Pearsonovega koeficienta korelacije (R^2).

$AUC = 14627 \times c - 0{,}566$	$R^2 = 0{,}9999$

E*načba 6: Enačba umeritvene premice in kvadrat Pearsonovega koeficienta korelacije*

Kjer sta: AUC – površina pod kromatografskim vrhom in c – koncentracija učinkovine v mg/mL.

Ustreznost kromatografskega sistema smo preverili s ponovljivostjo petih zaporednih odzivov izbrane standardne raztopine. Ponovljivost je izražena kot relativna standardna deviacija, ki mora biti manjša ali enaka 2 %.

Standardne raztopine za umeritveno premico smo pripravljali pred vsako analizo nabora vzorcev v posameznem delovnem dnevu. Prav tako smo vsakokrat preverjali tudi ustreznost sistema.

3.2.8 Preskus sproščanja modelne učinkovine iz trdnih SMES in iz fizikalnih zmesi

Preskus sproščanja modelne ZU iz trdnih SMES in iz fizikalnih zmesi smo izvajali na napravi Van Kel VK 7000, ki je opremljena z avtomatskim vzorčevalnikom VK 8000. Uporabili smo napravo s košaricami, ki ustreza farmakopejskemu predpisu (naprava 1 po Ph. Eur. 7 Ed. in USP).

Najprej smo pripravili medij za sproščanje s pH 1,2. Natehtali smo 3,73 g KCl in ga z vodo kvantitativno prenesli v 1 L bučko, dodali 85 mL predhodno pripravljene 1 M HCl, z vodo dopolnili do oznake in raztopino dobro premešali na magnetnem mešalu. V 6 steklenih posod za sproščanje smo nalili po 900 mL medija in počakali, da se je vzpostavila nastavljena temperatura 37 ± 0,5 °C.

V trdne želatinaste kapsule velikosti 0 (Lek, d. d., Ljubljana) smo natančno natehtali izbrano maso praška trdnega SMES. Slednjo smo izbrali tako, da smo na podlagi predhodno določene vsebnosti učinkovine v posameznem trdnem SMES določili največjo maso prahov, ki jo še lahko zatehtamo v kapsulo, da zagotovimo t. i. sink pogoje sproščanja. Ti predvidevajo, da koncentracija sproščenega naproksena ne preseže 30 % njegove topnosti v 900 mL medija za sproščanje s pH 1,2. Kapsule smo v košaricah spustili do predpisane višine v medij, vklopili vrtenje košaric in istočasno še avtomatski vzorčevalnik. Sproščanje smo spremljali 4 ure pri pogojih, ki so navedeni v preglednici VII.

Preglednica VII: Pogoji sproščanja modelne učinkovine

Medij	pH 1,2;
Volumen medija	900 mL
Temperatura medija	37 ± 0,5 °C
Hitrost vrtenja košaric	100 obratov/min
Časovne točke vzorčenja	15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 240 min po spustu košaric v medij
Volumen vzorčenja	5 mL

Na enak način in pri enakih pogojih kot je opisano zgoraj, smo pripravili vzorce in izvajali sproščanje naproksena iz fizikalnih zmesi. Te smo pripravili tako, da smo v terilnici po pravilu rastočih mas v razmerju 1 : 1 zmešali modelno učinkovino in izbran nosilec oz. zmes nosilca z drsili. Pripravili smo naslednje fizikalne zmesi:

- 50 % modelne učinkovine + 50 % MD
- 50 % modelne učinkovine + 50 % (MD+MS+A = 10:1:1)
- 50 % modelne učinkovine + 50 % HPMC
- 50 % modelne učinkovine + 50 % (HPMC+MS+A = 10:1:1)
- 50 % modelne učinkovine + 50 % (MD+HPMC = 2 : 1)
- 50 % modelne učinkovine + 50 % (MD+HPMC+MS+A = 10:5:1:1)

Po končanem preskusu sproščanja smo vse vzorce prefiltrirali s filtri RC 0,45 µm v viale in jim z analizno metodo HPLC določili koncentracijo sproščene učinkovine v vsaki časovni točki odvzetega vzorca. Koncentracijo sproščene učinkovine iz trdnih SMES smo določali v treh, iz fizikalnih zmesi pa v šestih paralelkah. Iz povprečnih vrednosti koncentracij

sproščene učinkovine v posameznih časovnih točkah smo po spodnjem postopku izračunali profil sproščanja, ki ga opisuje krivulja odstotek sproščene učinkovine v odvisnosti od časa. Vse izračune smo izvedli s pomočjo računalniškega programa Excell (MS Office).

Postopek za izračun sproščene učinkovine:

Iz rezultatov AUC (dobljenih pri HPLC) z uporabo umeritvene premice $AUC = k \times c + b$ izračunamo koncentracijo sproščene učinkovine po enačbi 7.

$$c_n = \frac{AUC_n - b}{k}$$

Enačba 7

Kjer so c_n koncentracija sproščene učinkovine v mg/mL v n-ti časovni točki, AUC_n površina pod kromatografskim vrhom n-tega vzorca, k naklon premice in b presečišče premice z ordinatno osjo. To storimo za vsako paralelko v vsaki časovni točki.

Nato za vsako paralelko izračunamo maso sproščene učinkovine v vsaki časovni točki po enačbi 8.

$$m_n = c_n \times V_n + V_{vz} \times (c_1 + c_2 + \cdots + c_{n-1})$$

Enačba 8

Kjer m_n pomeni kumulativno maso sproščene učinkovine v mg v n-ti časovni točki, c_n koncentracijo sproščene učinkovine v mg/mL v n-ti časovni točki, V_n volumen preostalega medija v mL v n-ti časovni točki, V_{vz} pa odvzeti volumen vzorčenja v mL.

Ker odvzetih volumnov nismo nadomeščali z novim medijem, se je količina medija v posodi ob vsakem vzorčenju zmanjšala za volumen posameznega vzorca. Volumen medija v posamezni časovni točki (V_n) izračunamo po enačbi 9.

$$V_n = V_z - V_{vz} \times (n - 1)$$

Enačba 9

Kjer so V_n volumen preostalega medija v mL v n-ti časovni točki, V_z začetni volumen medija (900 mL), V_{vz} volumen odvzetega vzorca (5 mL), n zaporedna številka vzorca glede na časovno točko (npr. n = 1 pomeni vzorec, odvzet po 15 min, n = 2 pomeni vzorec, odvzet po 30 min … n = 10 pomeni vzorec, odvzet po 240 min sproščanja).

Za vsako paralelko nato izračunamo začetno maso učinkovine v kapsuli (m_z) po enačbi 10.

$$m_z = vsebnost\ ZU\ (\%) \times m(zatehta)$$ *Enačba 10*

Kjer so: m_z – začetna masa ZU v kapsuli (mg), vsebnost ZU – vsebnost učinkovine v trdnem SMES, določena s HPLC analizo (%), m(zatehta) – masa zatehte trdnega SMES v kapsulo (mg).

Iz izračunane mase sproščene (m_n) učinkovine in začetnega odmerka učinkovine m_z, izračunamo odstotek sproščene učinkovine v posamezni časovni točki za vsako paralelko. po enačbi 11.

$$\% = \frac{m_n}{m_z} \times 100$$ *Enačba 11*

3.2.9 **Diferenčna dinamična kalorimetrija**

Diferenčna dinamična kalorimetrija (angl.: Differential Dynamic Calorimetry, DSC) je termična analizna metoda, ki temelji na merjenju spremembe toplotnega toka med nadzorovanim sočasnim spreminjanjem temperature vzorca in reference. Energijske spremembe se odražajo v termogramu, ki prikazuje odvisnost toplotnega toka od temperature ali časa. Odkloni od bazne linije kažejo količino energije (toplote), ki jo vzorec porabi ali sprosti, medtem ko ga segrevamo, ohlajamo ali vzdržujemo pri konstantni temperaturi. Na ta način lahko določimo številne fizikalno-kemijske lastnosti trdnih in tekočih snovi, najpogosteje pa z metodo DSC določamo temperaturo steklastega prehoda, tališče, kristaliničnost, polimorfizem, toplotno kapaciteto, spremembo entalpije, stabilnost in razpad snovi pa tudi čistoto in kompatibilnost učinkovin s pomožnimi snovmi (43).

Z DSC-analizo smo preverjali termične lastnosti učinkovine, fizikalnih zmesi in trdnih SMES. Vzorec smo pripravili tako, da smo v aluminijaste lončke (40 µL, Mettler Tolledo, Švica) točno natehtali 3–7 mg trdnega vzorca (učinkovine, fizikalne zmesi, trdnega SMES). Vzorec in referenco (prazen aluminijast lonček) smo s hitrostjo 10 K/min izpostavili segrevanju 0–180 ^{o}C, ki mu je sledilo ohlajanje do 0 ^{o}C in zatem ponovno segrevanje do 180 ^{o}C. Med meritvijo smo merilno celico prepihovali z dušikom (50 mL/min).

4. REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 PRETVORBA SMES V TRDNO OBLIKO

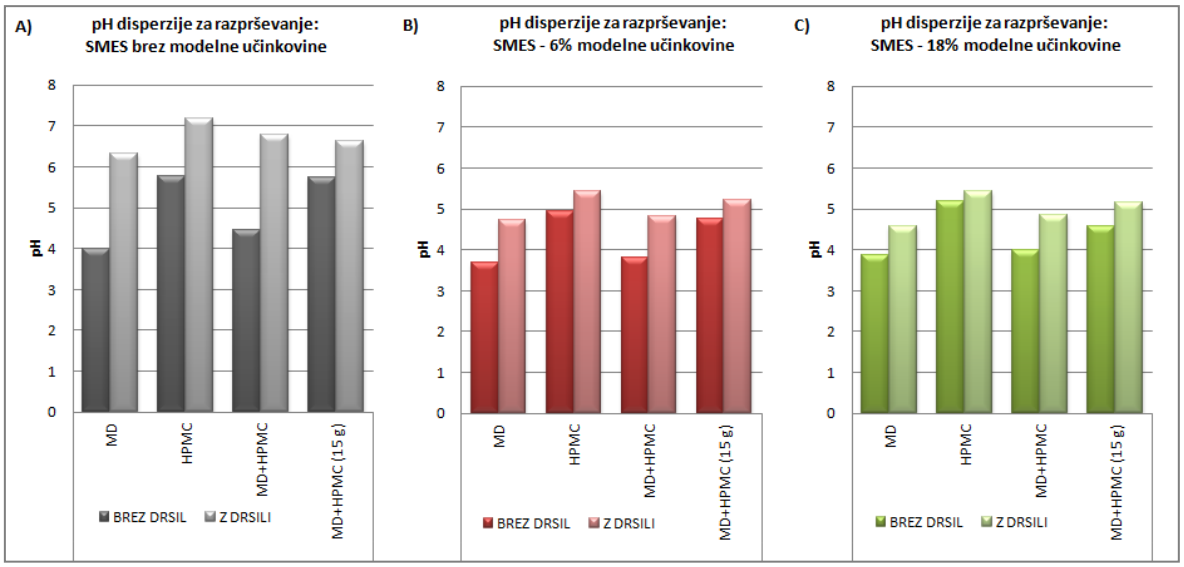
V okviru diplomskega dela smo pripravili tekoče samo-mikroemulgirajoče sisteme z različnim deležem modelne ZU (poglavje 3.2.1), ki smo jih z uporabo polisaharidnih nosilcev MD, HPMC in njune kombinacije s postopkom sušenja z razprševanjem pretvorili v trdno obliko. V ta namen smo pripravili ustrezne disperzije za razprševanje (poglavje 3.2.2). Izdelane končne trdne formulacije so navedene v preglednici VIII.

Preglednica VIII: Pripravljeni trdni sistemi; v prvih treh primerih smo uporabili 10 g trdnega nosilca (MD, HPMC, MD+HPMC) – razmerje trdni nosilec : tekoči SMES = 2 : 1, v primeru MD+HPMC(15g) pa smo uporabili 15 g trdnega nosilca – trdni nosilec : tekoči SMES = 3 : 1.

m/m % modelne ZU v tekočem SMES	BREZ DRSIL	Z DRSILI
0 % (prazen)	MD HPMC MD+HPMC MD+HPMC(15 g)	MD HPMC MD+HPMC MD+HPMC(15 g)
6 %	MD HPMC MD+HPMC MD+HPMC(15 g)	MD HPMC MD+HPMC MD+HPMC(15 g)
18 %	MD HPMC MD+HPMC MD+HPMC(15 g)	MD HPMC MD+HPMC MD+HPMC(15 g)

4.1.1 pH disperzije za razprševanje

V disperzijah za razprševanje je pri formulacijah z modelno ZU prišlo do njenega delnega obarjanja. Zaradi dejstva, da je naproksen šibka kislina, katere topnost je odvisna od pH medija, smo se odločili, da spremljamo pH vrednosti posameznih disperzij za razprševanje in opazujemo morebiten vpliv tega parametra na končno vsebnost učinkovine v trdnih SMES. Rezultati meritev pH vrednosti disperzij za razprševanje so predstavljeni na sliki 7.



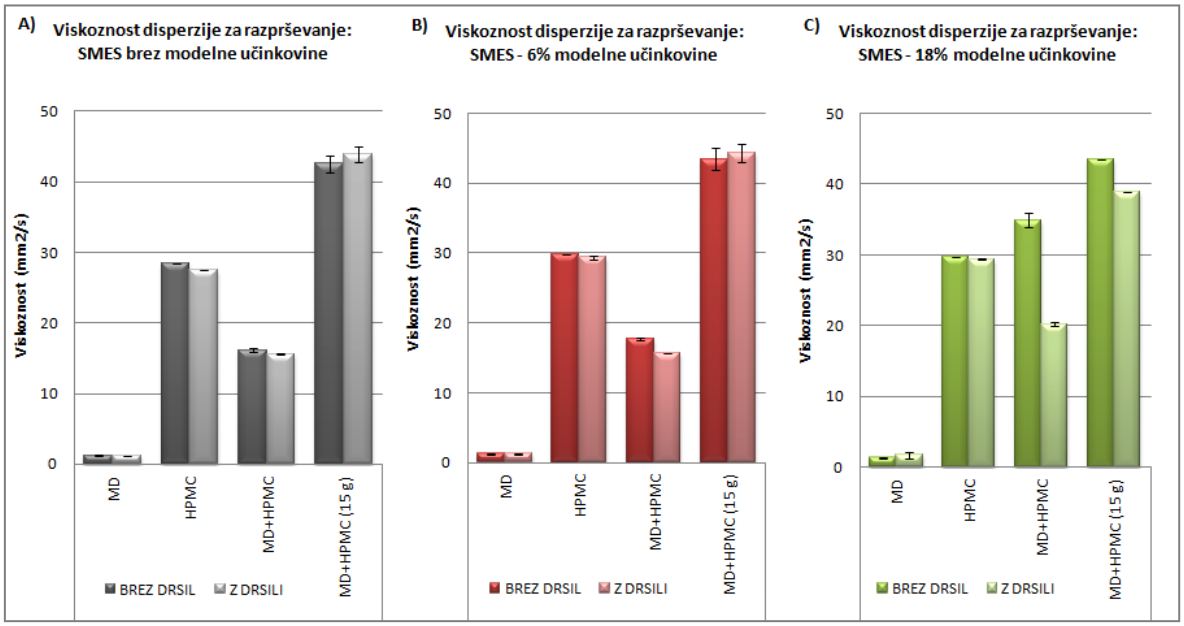
Slika 7: Primerjava pH vrednosti disperzij za razprševanje z različnimi nosilci in različno vsebnostjo modelne učinkovine v tekočem SMES – A) brez ZU, B) 6 % ZU, C) 18 % ZU

Na slikah 7 – A, B, C lahko razberemo, da disperzije z MD brez drsil izkazujejo za ~ 1,2–1,8 enote bolj kisel pH kot disperzije s HPMC brez drsil. Vidimo še, da so pH vrednosti pri disperzijah, ki vsebujejo SMES z dodatkom drsil višje od tistih brez drsil, pri čemer je ta razlika večja pri disperzijah s SMES brez modelne ZU. Pri disperzijah, ki ne vsebujejo modelne ZU, smo določili višje pH vrednosti. Slednji rezultat smo pričakovali, saj je naproksen šibka kislina, ki zniža pH disperznega medija.

Na slikah 7B in 7C nadalje vidimo, da se pH vrednosti disperzij istih nosilcev s 6 ali 18 % modelne ZU v dodanem SMES bistveno ne razlikujejo oz. so si celo zelo podobne. Ker je v obeh primerih prišlo do obarjanja modelne ZU v disperziji za razprševanje, primerljive pH vrednosti pomenijo, da je v disperzijah istih nosilcev (ne glede ali vsebujejo SMES s 6 ali 18% ZU) enaka količina raztopljene ZU, ki je v ravnotežju z oborjeno učinkovino. Slednje je ustrezno več pri disperzijah s SMES z 18 % ZU in na pH disperzije ne vpliva. Glede na to lahko sklepamo, da pH disperzije pri posameznem nosilcu s SMES s 6 ali 18 % ZU na morebitne razlike v vsebnosti ZU v trdnih SMES nima vpliva.

4.1.2 Viskoznost disperzije za razprševanje in izkoristek sušenja

Pred vsakim postopkom sušenja z razprševanjem smo posameznim disperzijam za razprševanje izmerili viskoznost. Zanimalo nas je, kako izbrani trdni nosilec vpliva na viskoznost disperzije za razprševanje in ali ta parameter pomembno vpliva na končni izkoristek sušenja. Slika 8 prikazuje rezultate meritev viskoznosti disperzij za razprševanje.



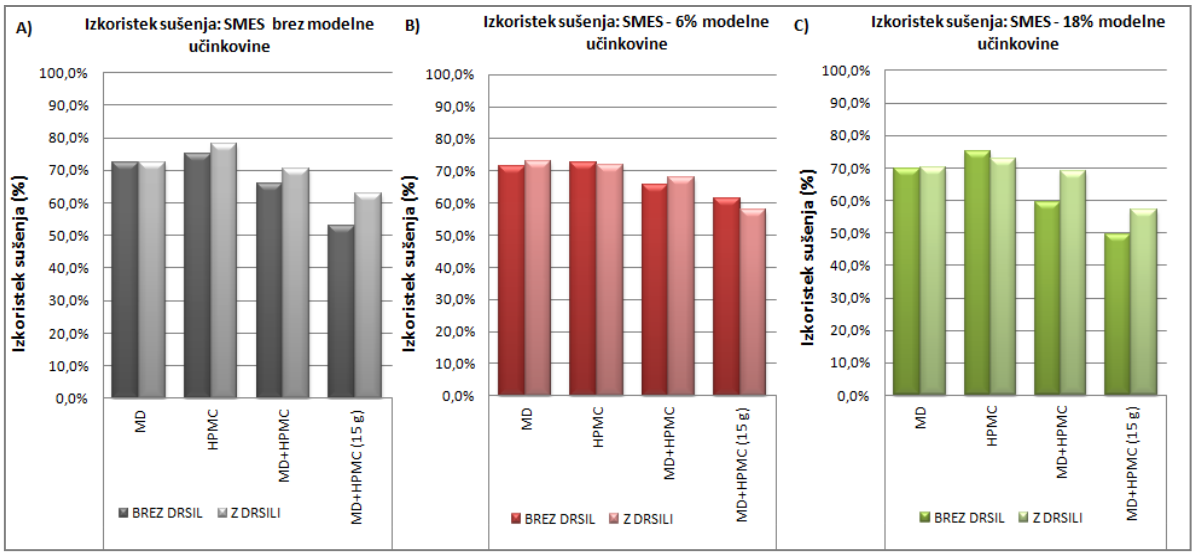
Slika 8: Primerjava rezultatov meritev viskoznosti disperzij za razprševanje z različnimi nosilci in različno vsebnostjo modelne ZU v tekočem SMES – A) brez ZU, B) 6 % ZU, C) 18 % ZU

Če na posamezni sliki 8 – A, B in C primerjamo prve tri stolpce, vidimo, da disperzije za razprševanje, ki vsebujejo HPMC, izkazujejo bistveno višjo viskoznost kot disperzije z MD. Ta rezultat smo pričakovali, saj se MD v vodi popolnoma raztopi in zato ne spremeni bistveno njene viskoznosti, medtem ko je HPMC polimer, ki v vodi nabreka, tvori gel oz. koloidno raztopino in zato bistveno poviša viskoznost disperzije (25). Če primerjamo drugi in četrti stolpec (obe disperziji vsebujeta enako masno koncentracijo HPMC, četrta pa dodatno še MD) lahko vidimo, da je viskoznost višja, ko imamo skupaj MD in HPMC (četrti stolpec). Ker sam MD k povečanju viskoznosti vode ne prispeva znatno, smo pričakovali, da bosta imeli druga in četrta disperzija enako oz. primerljivo viskoznost. Glede na razliko med njima, ki je očitno večja od 10 mm^2/s, lahko sklepamo, da v disperziji za razprševanje najverjetneje prihaja do določenih interakcij med obema polimeroma, kar ima za posledico povišanje viskoznosti le-te.

Če primerjamo sliki 8B in 8C, ki prikazujeta disperzije SMES s 6 in 18 % ZU, s sliko 8A (disperzije s SMES brez ZU), lahko zaključimo, da v disperziji oborjena učinkovina na viskoznost ne vpliva bistveno, saj so si vrednosti pri posameznih nosilcih podobne.

Če primerjamo vrednosti viskoznosti pri posameznih nosilcih brez drsil in z drsili, vidimo, da dodatek slednjih na viskoznost disperzij ne vpliva. Izjema je le disperzija z nosilcem MD+HPMC, ki vsebuje tekoči SMES z 18 % modelne ZU (na sliki 8C), kjer je razlika v korist disperzije brez drsil večja za ~ 15 mm^2/s.

Izkoristek sušenja z razprševanjem je odvisna procesna spremenljivka, na katero vplivajo mnogi parametri (poglavje 1.3.3 – Procesne spremenljivke). Ker so bile nastavitve sušenja pri vseh formulacijah enake, nam to omogoča, da lahko ovrednotimo vpliv lastnosti posameznih disperzij za razprševanje (viskoznost disperzije in koncentracija trdnih snovi) na izkoristek procesa. Rezultati izkoristkov sušenja posameznih formulacij so predstavljeni na sliki 9.



Slika 9: Primerjava izkoristkov sušenja z razprševanjem posameznih formulacij z različnimi nosilci in različno vsebnostjo modelne ZU v tekočem SMES – A) brez ZU, B) 6 % ZU, C) 18 % ZU

Iz slik 9 – A, B, C lahko razberemo, da je izkoristek sušenja disperzij z nosilci MD, HPMC in MD+HPMC primerljiv in znaša okoli 70 %, medtem ko je pri sušenju disperzij z nosilcem MD+HPMC(15 g) za ~ 10–20 % nižji. Ker formulacije z nosilci MD, HPMC in MD+HPMC vsebujejo enako količino trdnega nosilca (10 g), imajo pa bistveno različne viskoznosti, lahko zaključimo, da slednja pri njih na izkoristek procesa sušenja ne vpliva.

Pri formulacijah z nosilcem MD+HPMC(15 g) moramo upoštevati, da na izkoristek sušenja poleg viskoznosti lahko vpliva tudi večja količina trdnega nosilca. V našem primeru je bil izkoristek pri teh disperzijah manjši, kar ni v skladu s teoretično predpostavko, da več trdnega nosilca v disperziji pomeni večji izkoristek sušenja z razprševanjem (21). Predvidevamo, da je manjši izkoristek sušenja teh disperzij posledica njihove najvišje viskoznosti. Verjetno so (tudi zaradi večje koncentracije trdnega nosilca) med razprševanjem in sušenjem nastali preveliki delci, iz katerih ni izhlapelo dovolj vode. Posledično se ti delci zaradi večje mase niso uspeli zadržati v toku nosilnega zraka ter so se še vlažni odložili na stenah procesne komore (21).

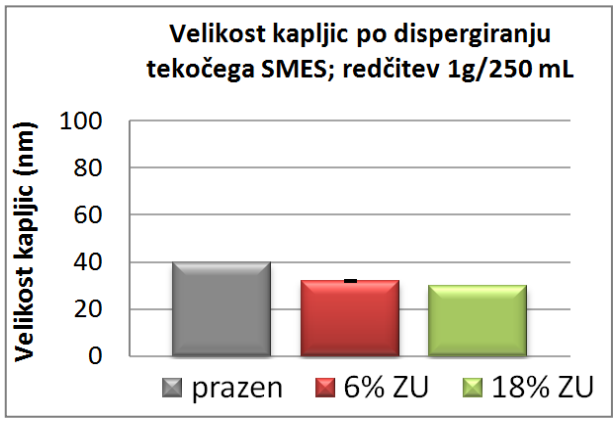
4.2 VREDNOTENJE TRDNIH SMES

V okviru vrednotenja trdnih sistemov smo preverili, ali SMES po pretvorbi v trdno obliko z izbranimi polisaharidnimi nosilci ohranijo samo-(mikro)emugirajoče lastnosti. Določili smo tudi vsebnost in učinkovitost vgradnje modelne učinkovine v trdnih formulacijah, ovrednotili vpliv posameznih nosilcev na profil sproščanja vgrajene modelne ZU in ugotavljali, ali izdelani trdni SMES izboljšajo hitrost in obseg sproščanja modelne ZU v primerjavi z njenim raztapljanjem oz. s sproščanjem iz fizikalnih zmesi. S termično analizo smo preverili fizikalno obliko modelne učinkovine v trdnih SMES.

4.2.1 Samo-mikroemulgirajoče lastnosti

Bistvena značilnost samo-mikroemulgirajočih sistemov je, da po dispergiranju v vodnem mediju tvorijo mikroemulzijo z velikostjo kapljic notranje faze pod 100 oz. 50 nm (5, 3). Ker različni znanstveniki glede na velikost kapljic različno opredeljujejo SES oz. SMES, bomo za razlago naših primerov privzeli definiranje po Poutonu, kjer za SES veljajo disperzije z velikostjo kapljic od 100 do 250 nm, za SMES pa manj kot 100 nm (5). Učinkovitost samoemulgiranja lahko torej najbolj objektivno ovrednotimo prav z merjenjem velikosti kapljic in porazdelitvijo njihove velikosti, ki vplivata tako na stabilnost mikroemulzije, kot tudi na obseg in hitrost sproščanja ter absorpcije vgrajene ZU (44, 45). Da bi preverili, ali izdelani trdni SMES ohranijo samo-mikroemulgirajoče lastnosti, smo primerjali velikosti kapljic po dispergiranju tekočih in trdnih SMES z oz. brez modelne ZU.

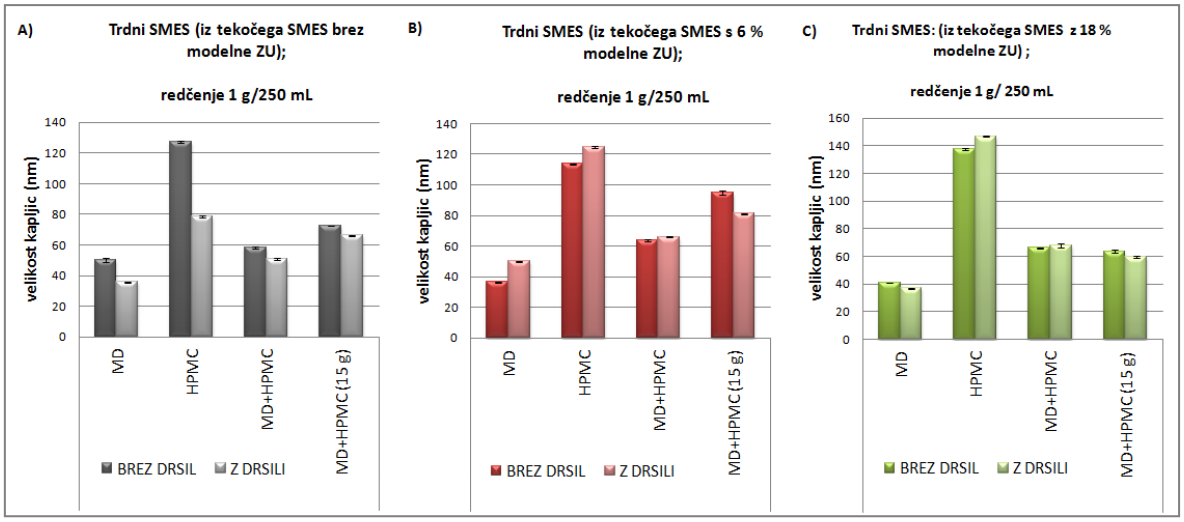
Slika 10 prikazuje velikost kapljic po dispergiranju 1 g tekočega SMES brez/z modelno ZU v 250 mL prečiščene vode.



Slika 10: Velikost kapljic po dispergiranju tekočega SMES s SD (n = 2)

Po dispergiranju tekočih SMES v vodi so v vseh primerih nastale mikroemulzije s kapljicami, manjšimi od 100 oz. 50 nm. Pri redčenju SMES z vgrajeno modelno ZU je bila velikost nastalih kapljic manjša kot v primeru praznega SMES. Dodatek ZU vpliva na razmerje med komponentami SMES in posledično tudi na proces samoemulgiranja. V našem primeru večji delež vgrajene modelne ZU bolj zmanjša velikost kapljic iz SMES nastale mikroemulzije. Možna razlaga je, da je slednje posledica penetracije učinkovine v monosloj PAS, ki vpliva na ukrivljenje emulgatorskega filma (3, 46).

Slika 11 prikazuje velikost kapljic po dispergiranju trdnih SMES v vodi, v enakem redčitvenem razmerju kot v primeru dispergiranja tekočih SMES (1 g/250 mL).



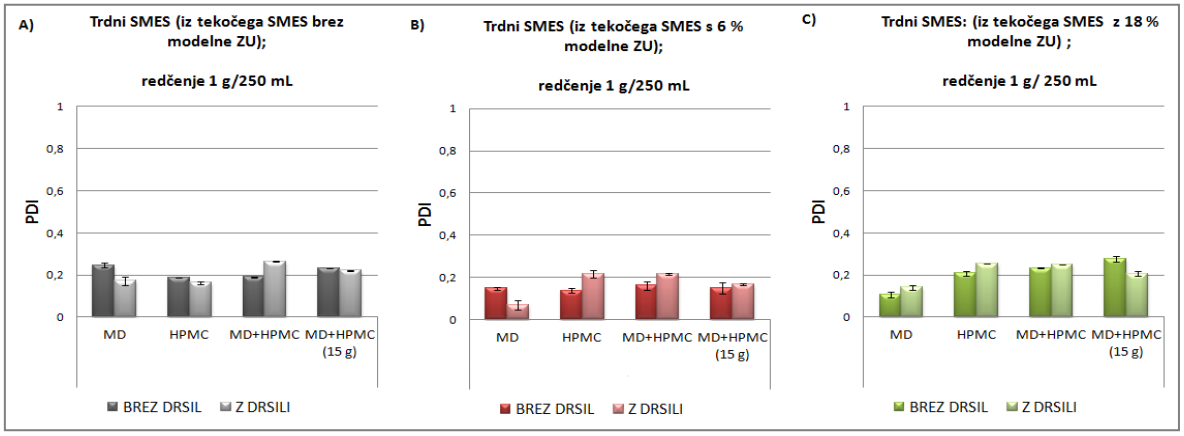
Slika 11: Velikost kapljic po dispergiranju trdnega SMES s SD (n = 2)

Vidimo, da pretvorba tekočih sistemov v trdno obliko vpliva na učinkovitost samoemulgiranja, saj so po redčenju trdnih SMES v večini primerov nastale večje kapljice kot pri tekočih SMES. Opazimo lahko tudi bistvene razlike med uporabljenimi nosilci. Najmanjše kapljice, z velikostjo pod 50 nm, so nastale iz trdnih SMES, ki so kot nosilec vsebovali MD, največje (nad 100 nm) pa pri sistemih s HPMC. Glede na velikost kapljic nastale emulzije, lahko trdni produkt na osnovi MD uvrstimo med SMES, produkt na osnovi HPMC pa med samo-emulgirajoče sisteme – SES. V obeh primerih, ko smo uporabili kombinacijo obeh nosilcev (10 ali 15 g nosilca MD+HPMC), so nastale kapljice manjše od 100 nm, kar pomeni ohranitev samo-mikroemulgirajočih lastnosti.

Rezultati kažejo na to, da izbira nosilca pomembno vpliva na sposobnost ohranjanja samo-mikroemulgirajočih lastnosti vgrajenega tekočega SMES. Izkazalo se je, da večja kot je količina HPMC v nosilcu, večje kapljice nastanejo, kar pomeni slabšo učinkovitost

samo-mikroemulgiranja. Slednje je posledica dejstva, da je HPMC polimer, ki v vodi pri višji T nabreka in v odvisnosti od MM tvori različno viskozne raztopine, kar otežuje proces samo-emulgiranja. Nasprotno je MD, ki ima manjšo MM, v vodi prosto topen in na učinkovitost samo-mikroemulgiranja ne vpliva znatno. Zaključimo lahko, da pri pretvorbi tekočih SMES v trdno obliko s sušenjem z razprševanjem v vodi topen polisaharidni nosilec z relativno manjšo MM bolje ohrani samo-mikroemulgirajoče lastnosti sistema kot v vodi topen polisaharid z veliko MM (npr. HPMC). Do podobnih zaključkov so prišli tudi Liang Li in sodelavci, ki so proučevali pretvorbo SMES v trdno obliko s sušenjem z razprševanjem; kot nosilce so uporabili laktozo, HPMC in v vodi netopno mikrokristalno celulozo (44).

Na sliki 12 so prikazani rezultati polidisperznega indeksa (PDI) za vzorce, ki smo jim izmerili velikost kapljic emulzij, nastalih po dispergiranju trdnih SMES v vodi.



Slika 12: Povprečna vrednost polidisperznega indeksa s SD (n = 2)

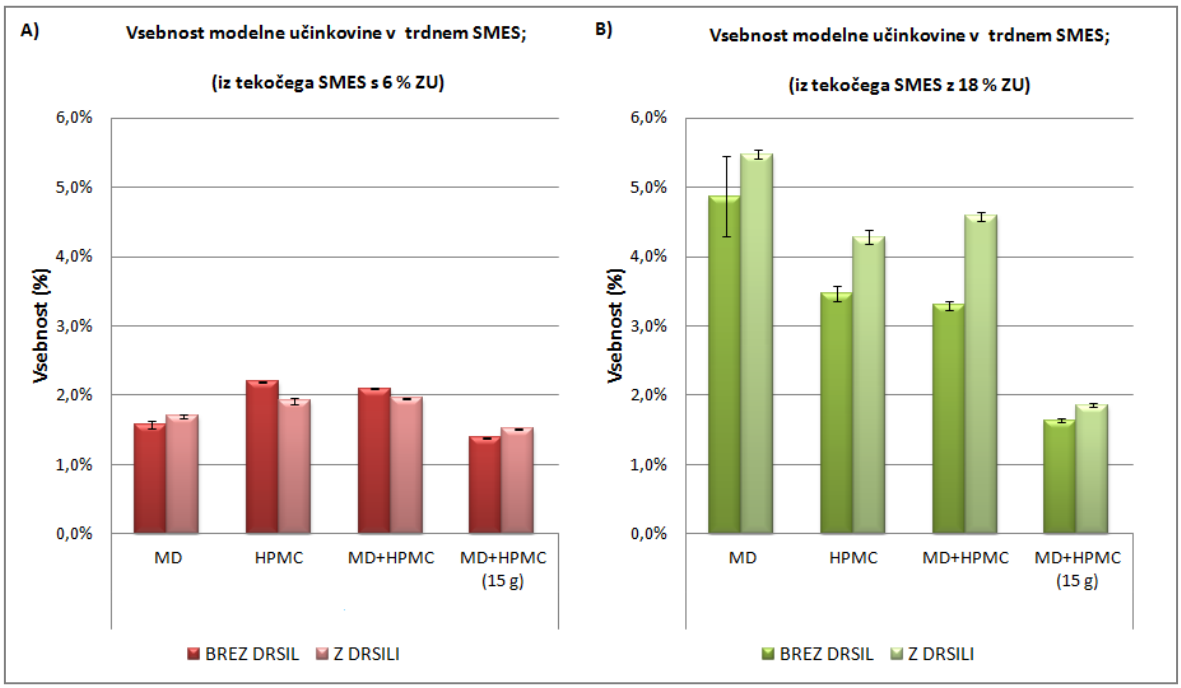
PDI je merilo za razpršenost velikosti kapljic mikroemulzije in obsega vrednosti od 0 do 1. Vrednosti bližje 1 opisujejo bolj polidisperzni sistem z bolj heterogeno porazdelitvijo velikosti kapljic. V vseh primerih so bile vrednosti PDI pod 0,3, kar nakazuje homogeno porazdelitev velikosti kapljic in nastanek monodisperzne (mikro)emulzije.

4.2.2 Vsebnost in učinkovitost vgradnje modelne učinkovine

Kljub izjemno velikemu številu raziskav na področju samo-mikroemulgirajočih sistemov in njihove pretvorbe v trdno obliko se zdi, da je prav želena vsebnost učinkovine v končnem trdnem SMES največja ovira na poti do uspešno izdelane končne FO. Temu v prid kaže tudi podatek, da so od tovrstnih sistemov danes na tržišču le mehke oz. trdne želatinske kapsule s tekočim samo-(mikro)emulgirajočim jedrom, v večini z odmerkom

ZU med 10 in 100 mg (9). Tudi nas je zanimalo, kakšno vsebnost modelne ZU smo dosegli v končnih trdnih sistemih po vgradnji tekočega SMES s 6 ali 18 % modelne ZU v izbrani nosilec.

Za uspešno pretvorbo tekočega SMES v trdno obliko mora biti v posameznih primerih količina trdnega nosilca sorazmerno večja od količine tekočega SMES, kar že a priori pomeni nižji teoretični delež ZU v trdnem SMES (18). V primerih, ko smo pripravili formulacije z razmerjem 2 : 1 med trdnim nosilcem in dodanim tekočim SMES (s 6 % oz. 18 % ZU), je teoretična vsebnost ZU v trdnem SMES okoli 2 oz. 6 %. V primerih, ko je bilo razmerje med trdnim nosilcem in dodanim tekočim SMES 3 : 1, pa je teoretična vsebnost ZU v trdnem SMES ~ 1,5 oz. 4,5 %. Slika 13A prikazuje določeno – realno vsebnost modelne ZU po vgradnji SMES s 6 % modelne ZU, slika 13B pa vsebnost po vgradnji tekočih SMES z 18 % ZU v izbrane trdne nosilce.

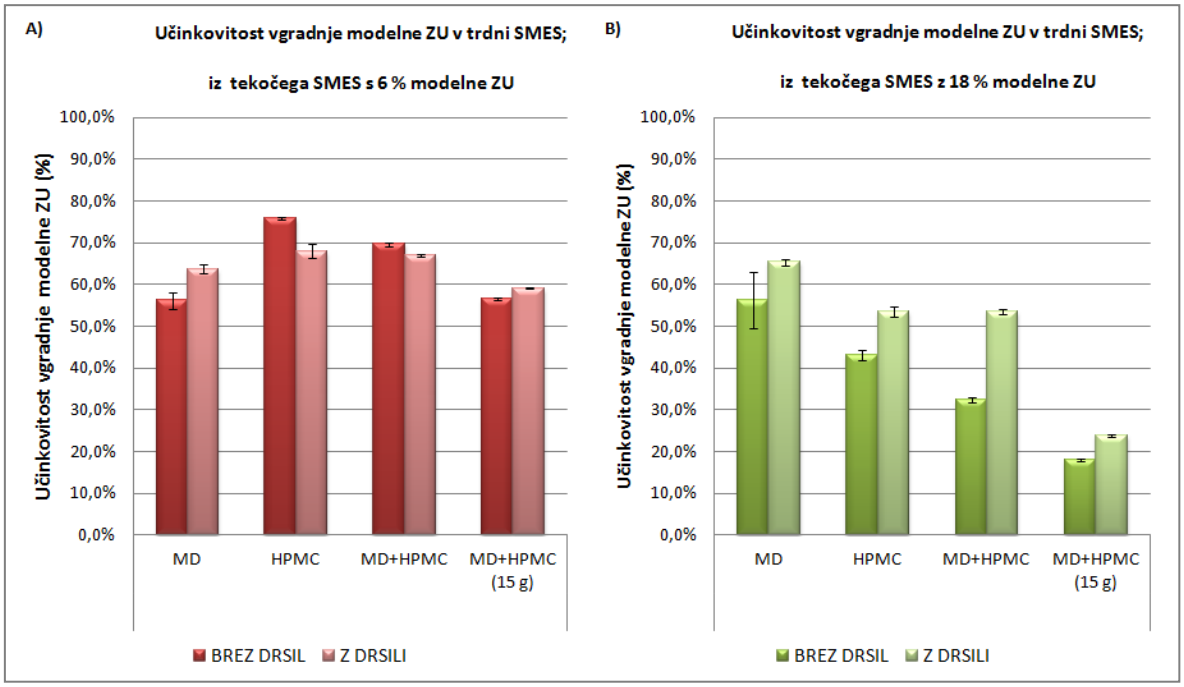


Slika 13: Povprečna vsebnost modelne ZU v trdnih sistemih, ki smo jih izdelali A – iz tekočih SMES s 6 % modelne ZU, B – iz tekočih SMES z 18 % modelne ZU ter SD (n = 3)

Slika 13A prikazuje, da smo v primeru pretvorbe SMES s 6 % modelne ZU najvišjo vsebnost slednje določili v trdnih sistemih z nosilcem HPMC ter MD+HPMC (~ 2,2 %), najmanjšo pa v primeru uporabe nosilca MD+HPMC(15 g) (~ 1,4 %). Pri vseh teh je bila dosežena teoretična vsebnost ~100 %, medtem ko je bila slednja pri trdnih SMES z nosilcem MD okoli 80%

Na sliki 13B je prikazana vsebnost modelne ZU, določena v trdnih SMES po vgradnji tekočega SMES z 18 % modelne ZU, v katerem je bila le-ta delno raztopljena in delno suspendirana. V tem primeru smo največjo vsebnost v trdni formulaciji dosegli z nosilcem MD in dodanimi drsili – okoli 5,5 %, kar je cca. 93 % teoretične vsebnosti. Najmanjša vsebnost (< 2 %) pa je bila tudi v tem primeru povezana z uporabo nosilca MD+HPMC(15 g), pri katerem je bila dosežena teoretična vsebnost le 36%. S povečanjem deleža modelne ZU v tekočem SMES iz 6 na 18 % smo v vseh primerih izboljšali končno vsebnost ZU v trdnem SMES, najbolj (iz 1,7 na 5,5 %) pri formulaciji s prisotnimi drsili in z MD kot nosilcem.

Če primerjamo učinkovitost vgradnje modelne ZU v trdnih sistemih, ki smo jih izdelali iz tekočih SMES s 6 ali 18 % ZU (sliki 14 – A in B), vidimo, da se je le pri uporabi nosilca MD ohranila učinkovitost vgradnje okoli 60 %, medtem ko je bila slednja pri nosilcih HPMC in MD+HPMC(10 in 15 g) brez drsil bistveno nižja (~ 43 % pri HPMC, ~ 32 % pri MD+HPMC in ~ 18 % pri MD+HPMC(15 g)). Povzamemo lahko, da smo s povišanjem deleža modelne ZU v tekočem SMES iz 6 na 18 % sicer uspešno povečali vsebnost modelne ZU v vseh trdnih SMES, vendar se je pri tem (razen pri nosilcu MD) zmanjšala učinkovitost vgradnje ZU.

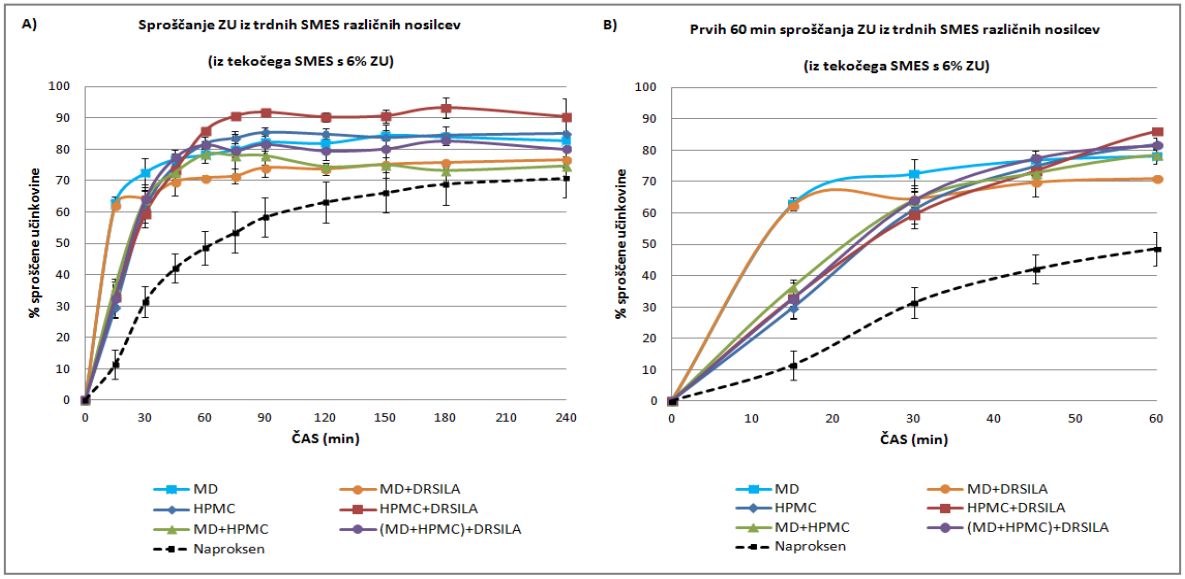


Slika 14: Učinkovitost vgradnje modelne ZU v trdnih sistemih, ki smo jih izdelali A – iz tekočih SMES s 6 % modelne ZU, B – iz tekočih SMES z 18 % modelne ZU ter SD (n = 3)

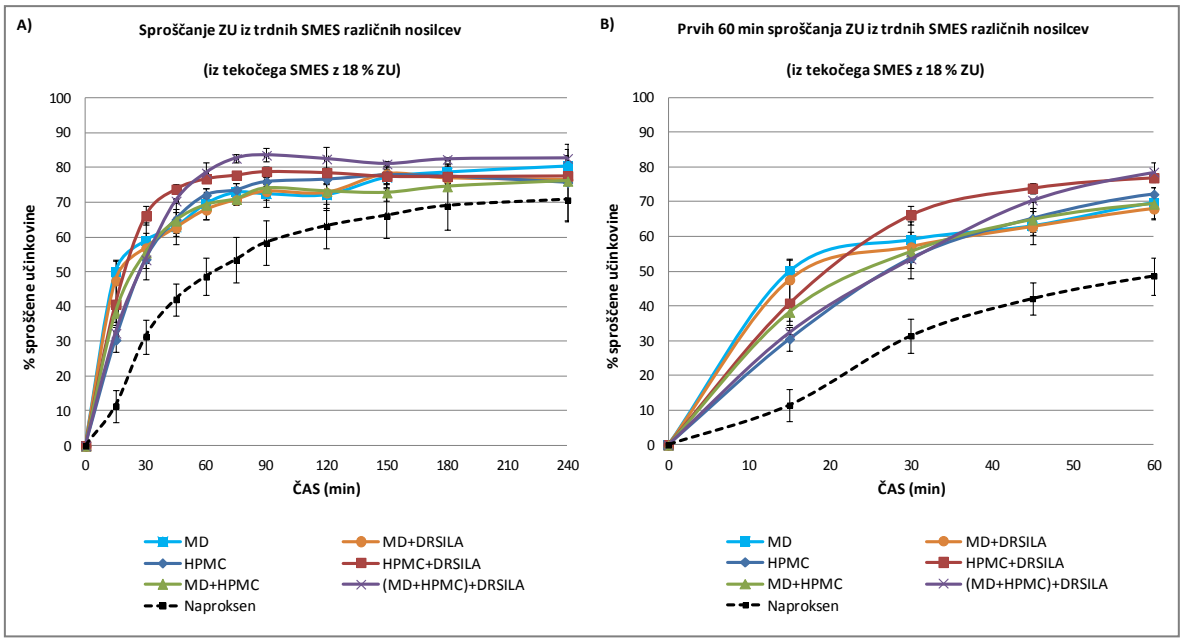
Na slikah 14 – A in B lahko opazimo tudi očitno razliko med formulacijami z drsili in brez drsil. V posameznih primerih smo trdnim formulacijam z drsili določili za 0,2–1,3 % večjo vsebnost modelne ZU, in izračunali višjo vrednost njene učinkovitosti vgradnje. Možnih razlag za navedeno razliko je več; prisotnost magnezijevega stearata v SMES lahko nekoliko izboljša raztapljanje oz. dispergiranje modelne ZU, aerosil pa lahko dodatno stabilizira nastalo emulzijo in tako prispeva k izboljšanju učinkovitosti vgradnje. Slednje je lahko deloma povezano tudi s časom mešanja tekočega SMES z ZU in drsili, ki je bil daljši kot pri formulacijah brez drsil.

4.2.3 Preskus sproščanja

S preskusom sproščanja modelne ZU iz izdelanih trdnih SMES smo želeli preveriti, ali trdni sistemi izbranih nosilcev izboljšajo hitrost in obseg sproščanja modelne ZU. V ta namen smo primerjali formulacije med seboj in napram pripadajočim fizikalnim zmesem. Sliki 15A in 16A prikazujeta kumulativni delež v štirih urah sproščene učinkovine iz trdnih SMES v mediju s pH 1,2, na slikah 15B in 16B pa je prikazan izsek iz celotnega profila, ki prikazuje kumulativni delež sproščene učinkovine v prvih 60 minutah.



Slika 15: Profili sproščanja naproksena iz trdnih SMES, izdelanih iz tekočih SMES s 6 % ZU z izbranimi nosilci. A – celoten profil sproščanja , B – izsek iz celotnega profila, ki prikazuje prvih 60 min sproščanja



Slika 16: Profili sproščanja naproksena iz trdnih SMES, izdelanih iz tekočih SMES z 18 % ZU z izbranimi nosilci. A – celoten profil sproščanja , B – izsek iz celotnega profila, ki prikazuje prvih 60 min sproščanja

Na slikah 15 in 16 vidimo, da se je naproksen iz vseh trdnih SMES sproščal bistveno hitreje in v večjem obsegu, kot se je raztapljala kristalinična učinkovina. Iz slik 15B in 16B je nadalje razvidno, da se je v obeh primerih modelna ZU najhitreje sprostila iz trdnih SMES z nosilcem MD.

V preglednici IX so prikazani parametri sproščanja $t_{10\%}$ in $t_{50\%}$ v min (čas, v katerem se sprosti 10 % in 50 % modelne ZU) ter $Q60_{min}$ v % (delež sproščene učinkovine v eni uri). Nižji kot sta vrednosti $t_{10\%}$ in $t_{50\%}$ ter višja kot je vrednost $Q60_{min}$, hitrejše je sproščanje.

Preglednica IX: Parametri sproščanja

m/m% modelne učinkovine v tekočem SMES	NOSILEC	$t_{10\%}$ (min)		$t_{50\%}$ (min)		$Q60_{min}$ (%)	
		BREZ DRSIL	Z DRSILI	BREZ DRSIL	Z DRSILI	BREZ DRSIL	Z DRSILI
6%	MD	2,3	2,3	11,0	11,0	78,2	70,9
	HPMC	5,0	4,5	24,2	24,2	82,0	85,9
	MD+HPMC	4,1	4,6	21,6	22,8	78,4	81,5
18%	MD	2,9	3,0	15,0	16,6	69,6	67,9
	HPMC	5,0	3,5	27,1	19,5	72,2	76,9
	MD+HPMC	3,8	4,6	24,0	27,2	69,3	78,5
FIZIKALNA ZMES	MD	14,6	> 240	93,0	∞	40,1	3,1
	HPMC	6,5	10,0	28,3	89,0	85,7	41,6
	MD+HPMC	8,8	30,6	27,2	95,0	75,9	36,6
NAPROKSEN		13,8		62,5		48,6	

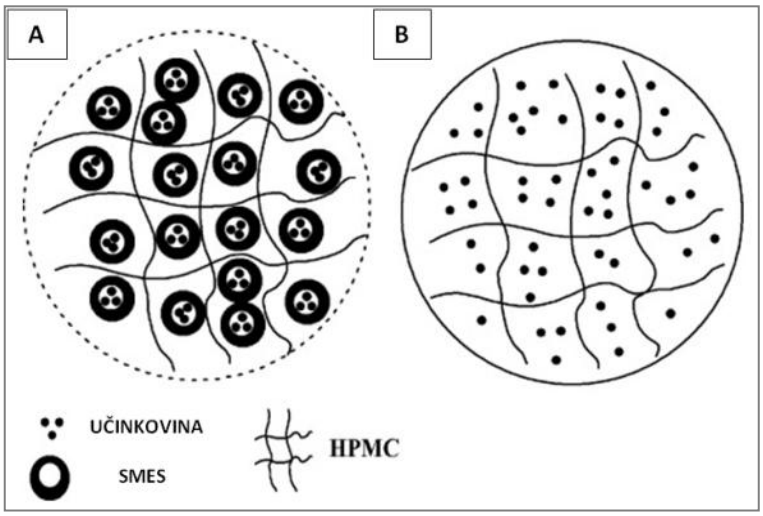
Tudi nižje vrednosti parametrov $t_{10\%}$ in $t_{50\%}$ potrjujejo, da se je modelna ZU najhitreje sproščala iz sistema z nosilcem MD. Pri formulacijah, ki smo jih pripravili iz tekočih SMES s 6% vsebnostjo ZU, se je 10 in 50 % ZU iz sistema z MD sprostilo okoli 2-krat hitreje kot iz sistemov z nosilcema HPMC in MD+HPMC ter do 6-krat hitreje, kot se je raztopila enaka količina kristalinične ZU. Ta razlika je nekoliko manj izrazita pri formulacijah, ki smo jih izdelali iz tekočih SMES z 18 % ZU. Iz slednjih se je 50 % modelne ZU v vseh primerih sprostilo 2–4 minute kasneje, kot iz trdnih sistemov s tekočim SMES s 6 % ZU. To nakazuje, da večji delež oborjene ZU v disperziji za razprševanje (v primeru dispergiranja tekočega SMES z 18 % modelne ZU) lahko deloma upočasni njeno sproščanje iz trdnih sistemov, kar je v skladu s pričakovanji in je razvidno tudi iz profilov sproščanja na slikah 18, 19 in 20.

Delež sproščene učinkovine v eni uri ($Q60_{min}$) pojasnjuje obseg sproščanja modelne ZU iz nosilnih sistemov. Slednji je pri formulacijah s HPMC bistveno večji kot pri tistih z MD. Če primerjamo delež raztopljene kristalinične ZU z deležem sproščene ZU iz trdnih SMES, opazimo, da se je iz slednjih v 60 minutah sprostilo za cca. 20–30 % več ZU. Glede na zgornje profile in parametre sproščanja lahko torej povzamemo, da MD zagotovi hitrejše sproščanje modelne učinkovine iz trdnih SMES, medtem ko prisotnost HPMC sproščanje nekoliko upočasni, a hkrati poveča njegov obseg.

Izboljšanje hitrosti in/ali obsega sproščanja vgrajene ZU lahko pripišemo najpomembnejši lastnosti SMES, tj. da ohrani lipofilno učinkovino vseskozi raztopljeno v oljnih kapljicah nastale mikroemulzije, kar povzroči hitro difuzijo ZU v medij. Pričakujemo, da se po uspešni pretvorbi tekočega SMES v trdno obliko z izbranim nosilcem ta lastnost ohrani. V našem primeru lahko potrdimo, da je hitrejše sproščanje iz trdnih sistemov z nosilcem MD posledica njihovega učinkovitejšega samo-mikroemulgiranja. Velikost kapljic mikroemulzij, ki so nastale po redispergiranju trdnega SMES z MD, je bila namreč cca. 3-krat manjša kot v primeru redispergiranja trdnega sistema s HPMC. Poleg tega je za MD značilno, da zmanjša aglomeriranje trdnih delcev, ki jih pripravimo s sušenjem z razprševanjem, kar tudi doprinese k hitrejšemu raztapljanju (47).

Za razliko od MD, HPMC izkazuje drugačne lastnosti, ki vplivajo tako na velikost kapljic nastale (mikro)emuzije kot tudi na sam mehanizem sproščanja. Za HPMC je značilno, da v vodi nabreka in tvori gel, ki priredi sproščanje. Slednje je tako nadzorovano z nabrekanjem polimera in z difuzijo raztopljene ZU skozi pore hidrogela, deloma pa tudi z erozijo

polimera (48). Tao Yi in sodelavci so predlagali verjetno obliko in strukturo delcev, ki nastanejo pri pretvorbi tekočega SMES v trdno obliko s sušenjem z razprševanjem, pri čemer so kot nosilec prav tako uporabili HPMC. Po njihovem mnenju je vgrajena učinkovina raztopljena v oljnih kapljicah, ki so enakomerno dispergirane v ogrodju (slika 17A). Ta tvori delce pravilnih sferičnih oblik s številnimi porami, ki so manjše od 100 nm in so posledica prisotnosti SMES, saj v njegovi odsotnosti delci izkazujejo izrazito gladko površino. Skozi te pore prodira medij, v katerem dispergiramo formulacijo, in povzroči hitrejšo difuzijo oljnih kapljic z raztopljeno ZU iz nosilnega matriksa (48). Ker se je v našem primeru nekaj učinkovine oborilo, sklepamo, da je del vgrajene učinkovine tudi neraztopljene, v amorfni obliki dispergirane v matriksu (slika 17B).

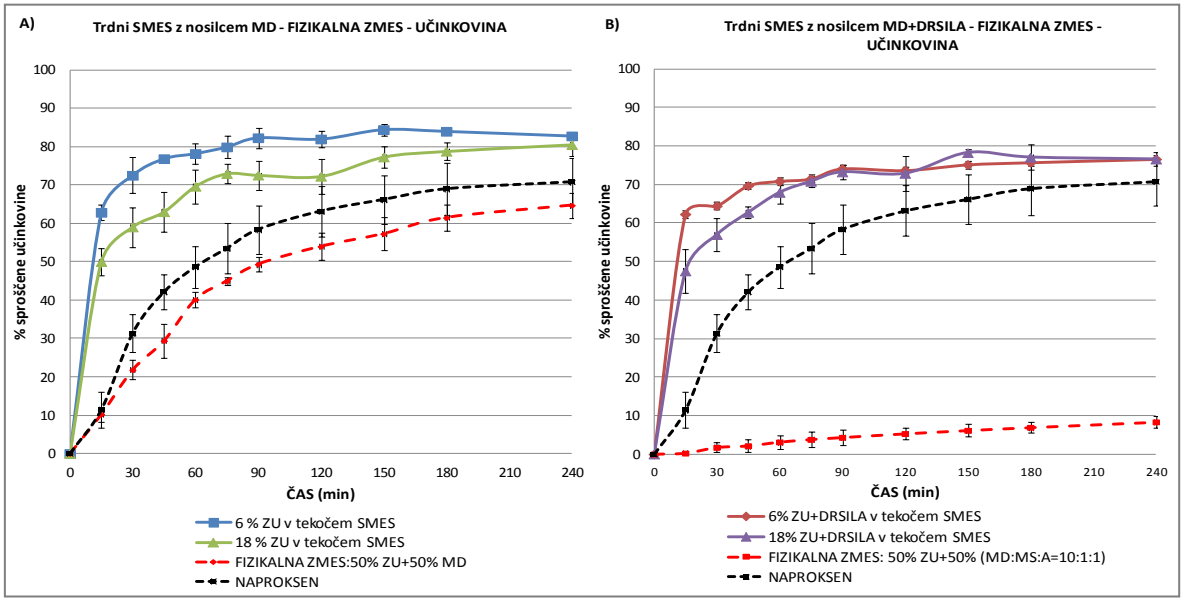


Slika 17: Predlagana struktura delca, pripravljenega s sušenjem z razprševanjem; A – prisoten SMES, B – brez SMES (48)

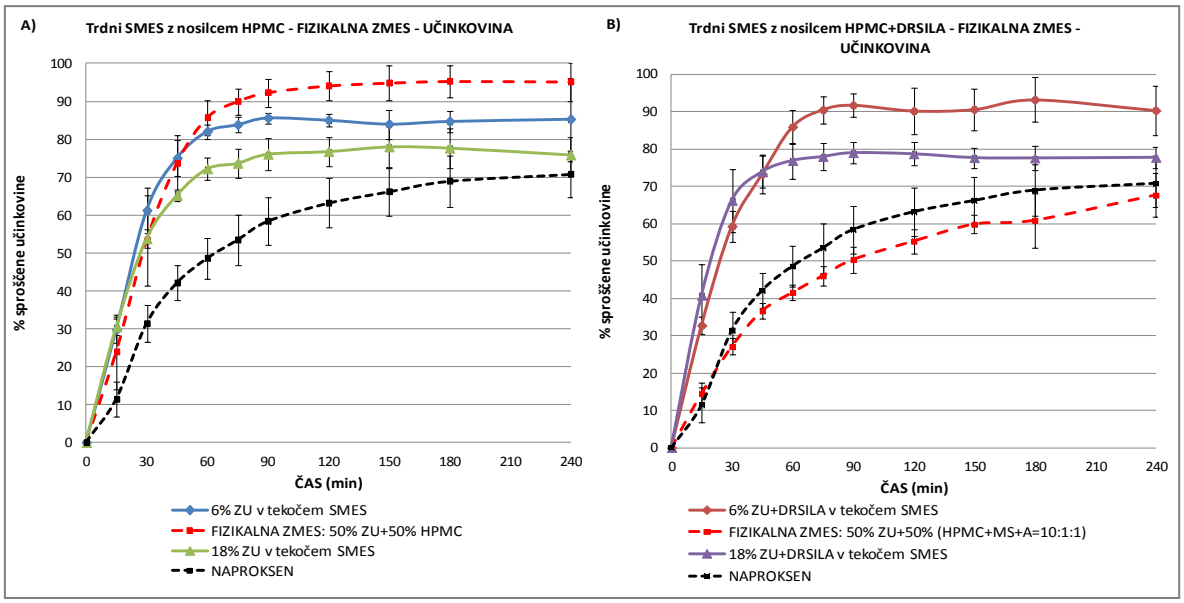
Predvidevamo lahko, da prisotnost SMES, ki poveča poroznost nastalih trdnih delcev in s tem olajša dostop vode oz. medija za raztapljanje v notranjost le-teh, pospeši tudi raztapljanje amorfne oblike učinkovine. Topnost slednje je odvisna tudi od obsega solubilizacije v prisotnosti emulgatorjev iz SMES. Podobne ugotovitve lahko projiciramo tudi na trdne sisteme z nosilcem MD, ki pri sušenju z razprševanjem prav tako tvori dobro ločene delce pravilnih sferičnih oblik z izrazitimi porami (49). Razlika je ta, da sproščanje v tem primeru ni nadzorovano z nabrekanjem in erozijo ogrodja, saj se MD v vodnem mediju hitro raztopi. Sproščanje ZU je tako omejeno le z difuzijo ZU iz oljnih kapljic nastale mikroemulzije oz. z raztapljanjem v ogrodju dispergirane amorfne ZU.

Povzamemo lahko, da HPMC kot nosilec odpira možnosti za doseganje prirejenega sproščanja tudi pri trdnih samo-mikroemulgirajočih sistemih. Trdna FO za peroralno uporabo, ki združuje prednosti tekočih SMES in FO s prirejenim sproščanjem, predstavlja zanimivo alternativo predvsem za tiste slabo vodotopne učinkovine, ki izkazujejo nizko BU in zahtevajo pogosto odmerjanje (48).

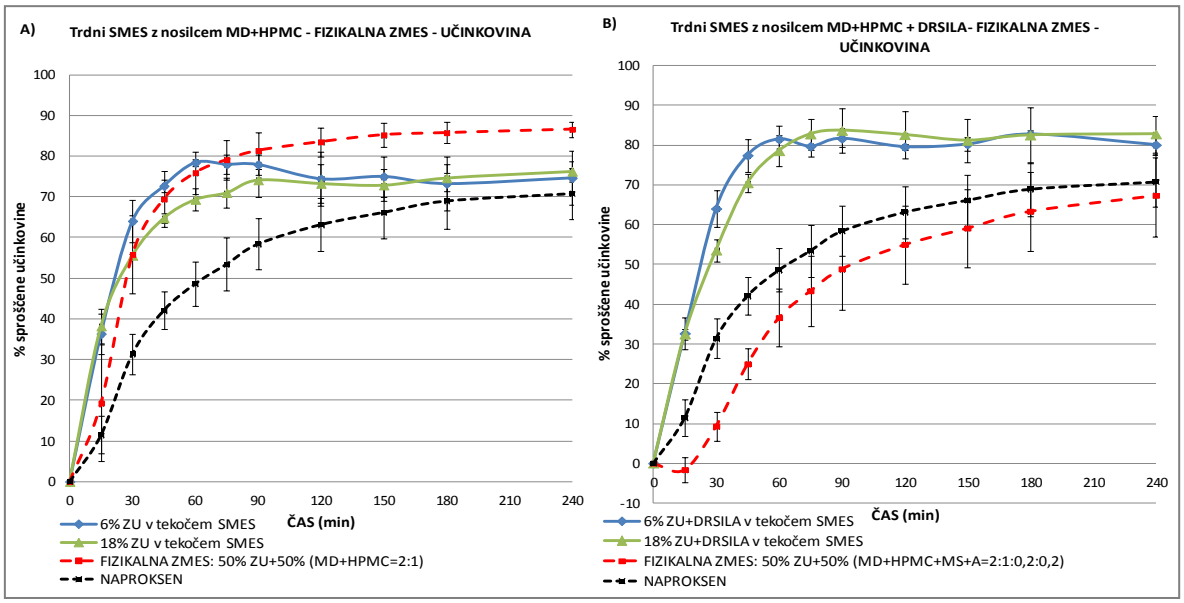
Slike 18, 19, 20 prikazujejo primerjavo profilov sproščanja modelne ZU iz trdnih SMES in iz pripadajočih fizikalnih zmesi ZU z inertnimi nosilci.



Slika 18: Primerjava profilov raztapljanja ZU in sproščanja ZU iz trdnih SMES ter iz pripadajočih fizikalnih zmesi ZU z nosilcem MD; A – brez drsil, B – dodatek drsil



Slika 19: Primerjava profilov raztapljanja ZU in njenega sproščanja iz trdnih SMES ter iz pripadajočih fizikalnih zmesi ZU z nosilcem HPMC; A – brez drsil, B – dodatek drsil



Slika 20: Primerjava profilov raztapljanja ZU in njenega sproščanja iz trdnih SMES ter iz pripadajočih fizikalnih zmesi ZU z nosilcem MD+HPMC; A – brez drsil, B – dodatek drsil

Iz slik 18, 19, 20 – A in iz parametrov sproščanja navedenih v preglednici IX lahko razberemo, da se 10 oz. 50 % ZU hitreje in v večjem obsegu sprosti iz fizikalnih zmesi, ki vsebujejo HPMC, medtem ko se iz fizikalne zmesi z MD učinkovina sprošča počasneje in v manjšem obsegu, kot se raztaplja kristalinična ZU. Pričakovali smo, da bo prisotnost hidrofilnega nosilca v fizikalnih zmeseh v vseh primerih izboljšala raztapljanje ZU, saj za hidrofilne nosilce v splošnem velja, da zmanjšajo agregacijo delcev in izboljšajo njihovo močenje (50). Poleg tega smo fizikalne zmesi pripravili v terilnici, kjer med mešanjem s pestilom zaradi trenja nekoliko zmanjšamo velikost delcev in/ali ZU tudi delno amorfiziramo, kar naj bi po pričakovanjih doprineslo k njenemu boljšemu raztapljanju. Da bi pojasnili nepričakovano upočasnitev sproščanja naproksena iz fizikalne zmesi z MD, bi bile potrebne nadaljnje raziskave. Na tem mestu lahko le predvidevamo, da se med naproksenom in MD pojavijo določene interakcije, ki upočasnijo njegovo sproščanje iz sistema.

Iz slik 18, 19 in 20 – B je tudi razvidno, da se prej navedeni pozitivni vplivi hidrofilnega nosilca v prisotnosti drsil skoraj popolnoma izničijo, saj je v tem primeru sproščanje iz vseh fizikalnih zmesi bistveno slabše kot raztapljanje samega naproksena. Slednje so leta 1991 potrdili tudi Papadimitriou in sodelavci v študiji, v kateri so dokazali, da magnezijev stearat prekrije delce MD in tako poveča njihovo hidrofobnost, kar posledično (zaradi zmanjšane kapacitete močenja) izrazito upočasni sproščanje slabo vodotopnega naproksena iz tablete. Pokazali so, da se opisani vpliv izraža sorazmerno z večjim deležem

magnezijevega stearata v zmesi za tabletiranje. Zanimivo pa je, da v primeru zmesi MD z dobro topnim Na-tolmetinom magnezijev stearat na sproščanje nima vpliva (51).

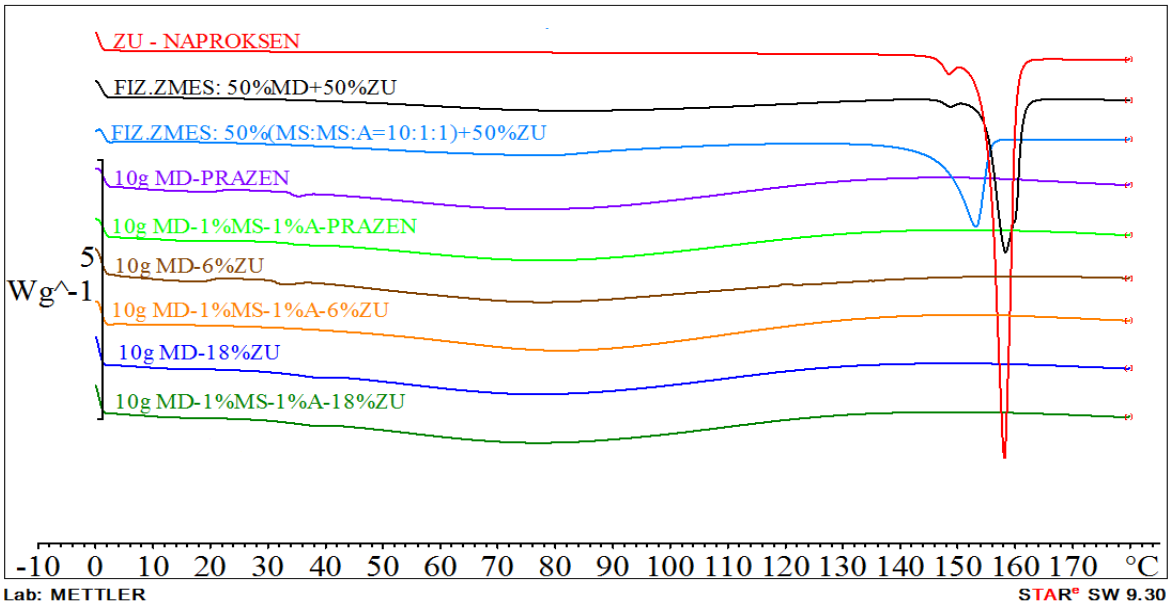
Na podlagi profilov sproščanja lahko rečemo, da smo z vgradnjo slabo topne modelne učinkovine v tekoči SMES in s pretvorbo slednjega v trdno obliko, v vseh primerih, ne glede na nosilec, izboljšali sproščanje modelne ZU v primerjavi z raztapljanjem njene kristalinične oblike. Glede na profile sproščanja naproksena iz fizikalnih zmesi z drsili pa lahko zaključimo, da v SMES dodana drsila sproščanja ne poslabšajo. Tovrstni trdni SMES ohranijo podoben profil sproščanja kot sistemi brez drsil oz. ga v primerjavi s sproščanjem ZU iz pripadajočih fizikalnih zmesi bistveno izboljšajo.

4.2.4 DSC analiza

Z DSC-analizo smo vrednotili fizikalno stanje modelne ZU v izdelanih trdnih SMES. Zanimalo nas je, ali se je modelna ZU tudi po pretvorbi tekočega SMES v trdno obliko ohranila v raztopljenem stanju. V ta namen smo posneli termograme čistega naproksena, fizikalnih zmesi ZU z nosilci in trdnih SMES, izdelanih iz tekočih SMES brez ali s 6 ali z 18 % modelne ZU.

Na slikah 21, 22, 23 in 24 so prikazane DSC-krivulje za zgoraj navedene vzorce. Na DSC-krivuljah naproksena vidimo oster endotermni vrh pri 158 ^{o}C, ki pripada taljenju kristalne oblike naproksena. Pri okoli 150 ^{o}C lahko opazimo še en manjši endotermni vrh. Slednji verjetno označuje tališče evtektične zmesi naproksena s prisotnimi nečistotami (52). Endotermni vrh v temperaturnem intervalu 148–158 ^{o}C je razviden tudi pri fizikalnih zmeseh, v katerih je naproksen prav tako prisoten v kristalni obliki. Manjša intenziteta teh vrhov je posledica nižje m/m koncentracije učinkovine v fizikalni zmesi. Pri vseh vzorcih, z izjemo kristalinične ZU, lahko opazimo še širok endotermni vrh v temperaturnem intervalu med 50 in 90 ^{o}C. Gre za značilen vrh, ki ustreza desorpciji vode, adsorbirani na trdnih delcih.

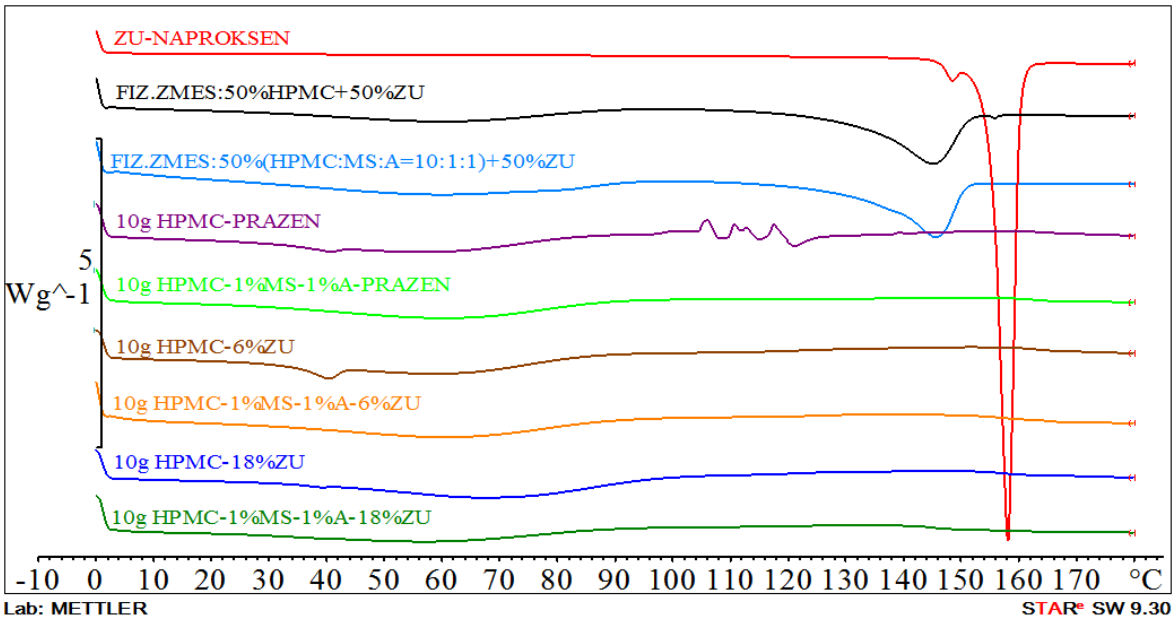
Na sliki 21 so prikazani trdni SMES in fizikalne zmesi z nosilcem MD.



Slika 21: DSC-krivulje za naproksen in trdne SMES z nosilcem MD ter pripadajoče fizikalne zmesi

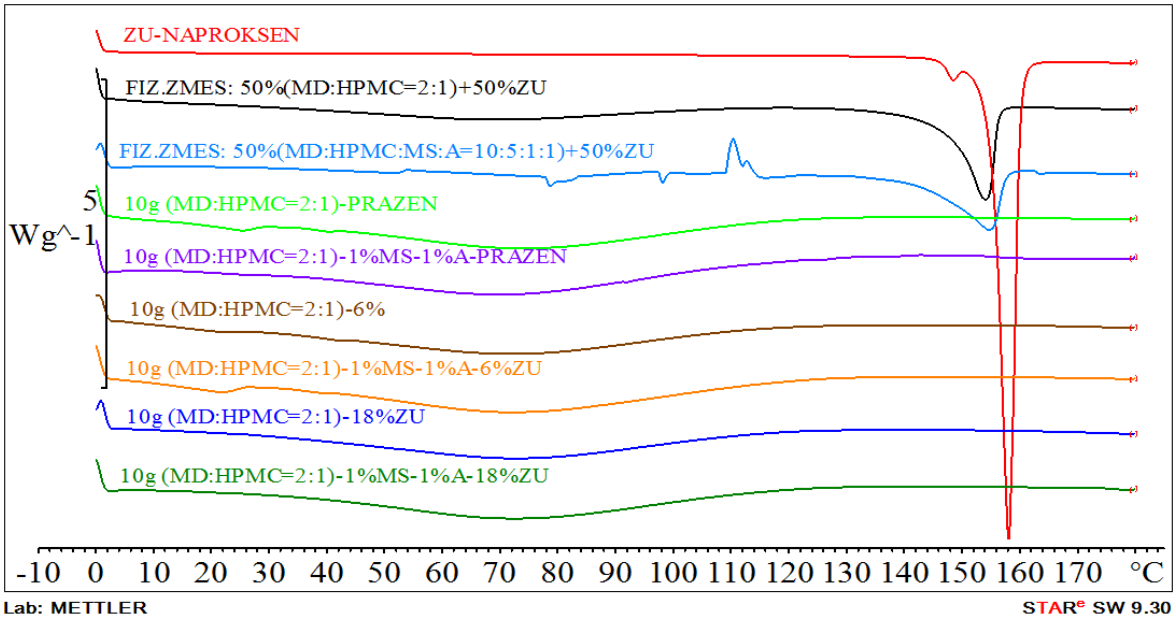
V nasprotju s pričakovanji DSC-krivulja fizikalne zmesi učinkovine z MD nakazuje, da med ZU in MD ni prisotnih interakcij. To je v nasprotju z našo domnevo, da so slednje vzrok za upočasnjeno sproščanje ZU iz omenjene fizikalne zmesi. Pri fizikalni zmesi ZU z MD in dodanima magnezijevim stearatom ter aerosilom je endotermni talilni vrh naproksena pomaknjen proti nekoliko nižji T, kar kaže na določene interakcije med ZU in ostalimi komponentami fizikalne zmesi, najverjetneje z drsili. Pri nobeni od trdnih samo-emulgirajočih formulacij ne opazimo endotermnega vrha, ki bi ustrezal tališču modelne ZU, zato lahko sklepamo, da je ZU v formulaciji raztopljena ali v amorfni obliki dispergirana v matriksu nosilca.

Na DSC-krivuljah trdnih formulacij z nosilcem HPMC (slika 22) okoli temperature tališča modelne ZU prav tako ni vidnih endotermnih vrhov, kar kaže na odsotnost kristalne oblike ZU v vseh trdnih SMES. Formulacija, pri kateri smo v 10 g nosilca HPMC vgradili tekoči SMES brez ZU (na sliki 22 kot 10g HPMC-PRAZEN) v temperaturnem območju 106–122 ^{o}C izkazuje zaporedje artefaktov, ki niso posledica lastnosti preiskovanega vzorca, ampak običajno kažejo na različne dogodke v merilni celici. Pri fizikalnih zmeseh je talilni vrh ZU nekoliko razširjen in pomaknjen proti nižji T, kar kaže na prisotnost interakcij med molekulami ZU in polimera.

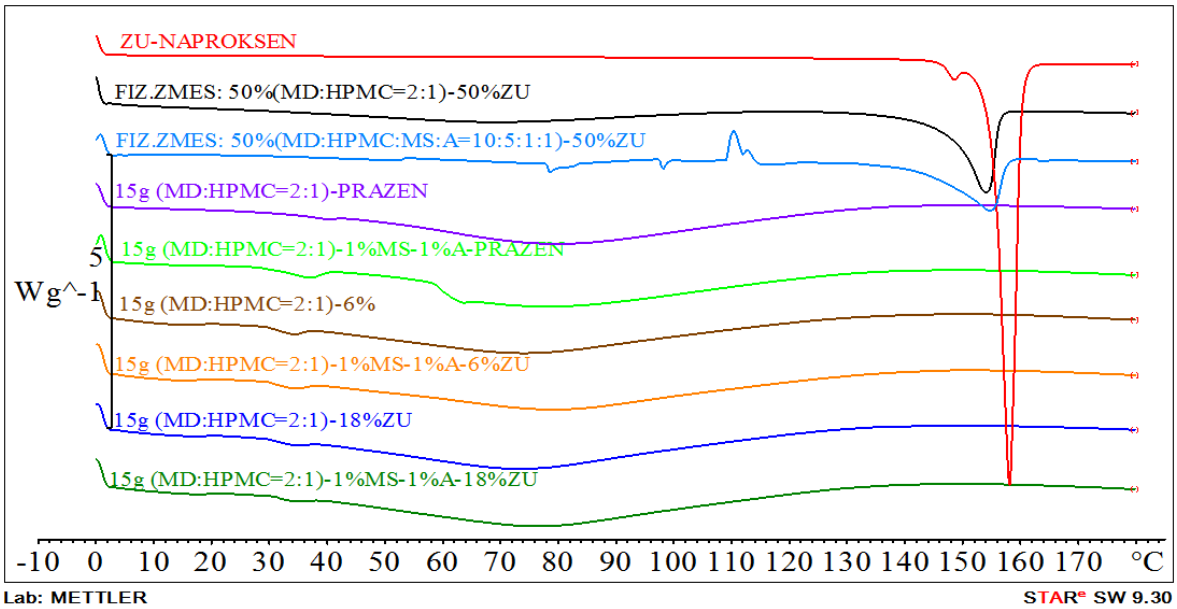


Slika 22:DSC-krivulje za naproksen, trdne SMES z nosilcem HPMC ter pripadajoče fizikalne zmesi

Na slikah 23 in 24, ki predstavljata formulacije, ki smo jih pripravili z uporabo 10 oz. 15 g nosilca MD+HPMC, prav tako ne opazimo endotermnega vrha, ki bi ustrezal tališču kristalne oblike naproksena. Fizikalna zmes z drsili poleg talilnega vrha ZU izkazuje še dva endotermna vrhova nizkih intenzitet pri T 78 in 98 °C ter en dvojni eksotermni vrh v temperaturnem intervalu med 110 in 120 °C. Za potrditev njihove istovetnosti bi bile potrebne nadaljnje raziskave.



Slika 23: DSC-krivulje za naproksen, trdne SMES z nosilcem MD+HPMC ter pripadajoče fizikalne zmesi



Slika 24: DSC-krivulje za naproksen in trdne SMES z nosilcem MD+HPMC(15 g) ter pripadajoče fizikalne zmesi.

Z DSC-analizo smo dokazali odsotnost kristalne oblike naproksena v izdelanih trdnih SMES, kar je bil eden izmed ciljev vgradnje modelne ZU v SMES. Dokazali smo, da pretvorba tekočega SMES v trdno obliko s sušenjem z razprševanjem z izbranimi nosilci ne povzroči rekristalizacije naproksena. Glede na to, da je bila v disperziji za razprševanje modelna ZU prisotna tako v raztopljenem stanju (v kapljicah emulzije in deloma v vodnem mediju), kot tudi v obliki oborine, lahko predvidevamo, da modelna ZU ostane raztopljena v oljnih kapljicah tudi po pretvorbi tekočega SMES v trdno obliko, oborjena ZU pa je po pretvorbi v amorfnem stanju.

5. SKLEP

Namen diplomskega dela je bil pretvorba tekočega SMES v trdno agregatno stanje s postopkom sušenja z razprševanjem in vrednotenje lastnosti izdelanih trdnih SMES. Pripravili smo tekoče SMES z različnim masnim deležem modelne učinkovine (6 in 18 %) brez oz. z dodanima aerosilom in magnezijevim stearatom (1 % (m/m)). Za pretvorbo v trdno agregatno stanje smo izbrali polisaharidne nosilce maltodekstrin, hidroksipropilmetil celulozo in kombinacijo obeh.

- pH vrednosti disperzij za razprševanje z različnimi nosilci se med seboj razlikujejo, in sicer disperzije za razprševanje z nosilcem MD izkazujejo nekoliko nižji pH kot disperzije s HPMC. Disperzije istih nosilcev, ki vsebujejo tekoči SMES s 6 ali 18 % modelne ZU imajo skoraj enak pH, kar pomeni, da je v obeh primerih v disperziji raztopljena enaka količina ZU, ki je v ravnotežju z oborjeno učinkovino. Slednja na pH disperzije ne vpliva.
- Disperzije za razprševanje, v katerih je kot nosilec prisotna HPMC, imajo bistveno višjo viskoznost kot disperzije z MD kot nosilcem. Slednji k povečanju viskoznosti vode ne prispeva znatno. V disperzijah, ki vsebujejo tekoči SMES s 6 oz. 18 % ZU, oborjena ZU ne vpliva na viskoznost. Prav tako na viskoznost ne vplivajo drsila, dodana v tekoči SMES.
- Pri formulacijah z 10 g trdnega nosilca (ne glede na nosilec) je bil izkoristek sušenja okoli 70 %. Pri sušenju disperzij z MD+HPMC(15 g) kot nosilcem, ki so vsebovale 15 g trdnega nosilca in so imele tudi bistveno višjo viskoznost kot disperzije ostalih nosilcev, je bil izkoristek sušenja nižji, in sicer med 50 in 60 %.
- Vgradnja ZU v tekoči SMES vpliva na zmanjšanje velikosti kapljic mikroemulzij, ki nastanejo po dispergiranju tekočega sistema v vodni fazi. Z naraščanjem deleža vgrajene modelne ZU se velikost kapljic manjša, kar je verjetno povezano s penetracijo učinkovine v monosloj PAS in posledičnim vplivom na ukrivljenje emulgatorskega filma.

- Tako pretvorba tekočih sistemov v trdno obliko, kot tudi izbira nosilca vplivata na sposobnost ohranjanja samo-mikroemulgirajočih lastnosti vgrajenega tekočega SMES. Glede na velikost kapljic nastale emulzije lahko trdne sisteme na osnovi MD in kombinacije MD s HPMC uvrstimo med SMES (velikost kapljic < 100 nm), sisteme s HPMC kot nosilcem pa med samo-emulgirajoče sisteme – SES (velikost kapljic > 100 nm). V vseh primerih so nastale (mikro)emulzije izkazovale monodisperzno porazdelitev velikosti kapljic z vrednostjo PDI < 0,3.
- S povečanjem deleža modelne ZU v tekočem SMES iz 6 na 18 % smo pri vseh nosilcih izboljšali vsebnost ZU v trdnem sistemu. Največjo vsebnost modelne ZU v trdnem sistemu (~ 5,5 %) smo dosegli pri vgradnji tekočega SMES z 18 % ZU (in dodatkom drsil) v trdni nosilec MD.
- Profili sproščanja potrjujejo, da se modelna ZU iz vseh trdnih SMES sprosti hitreje in v večjem obsegu, kot se raztaplja kristaliničen naproksen. Z vgradnjo le-tega v tekoči SMES in s pretvorbo slednjega v trdno obliko s polisaharidnimi nosilci MD, HPMC ter njuno kombinacijo smo izboljšali njegovo raztapljanje.
- Potrdili smo, da je učinkovitejše samo-mikroemulgiranje trdnih sistemov z MD povezano s hitrejšim sproščanjem modelne ZU iz le-teh. Pri formulacijah s HPMC ki so po redispergiranju tvorile (mikro)emulzije z velikostjo kapljic nad 100 nm, je bilo sproščanje ZU nekoliko upočasnjeno, vendar je bil delež sproščene učinkovine po 1h višji kot pri formulacijah z MD ali MD+HPMC, ki so po redispergiranju tvorile mikroemulzije z velikostjo kapljic manj od 100 nm.
- Ugotovili smo, da dodatek drsil bistveno upočasni sproščanje naproksena iz fizikalnih zmesi ZU s posameznimi nosilci. Drsila, dodana v tekoči SMES, pa na sproščanje ZU iz trdnih SMES ne vplivajo.
- Večja količina oborjene modelne ZU v disperzijah za razprševanje, ki smo jih pripravili iz tekočega SMES z 18 % ZU, lahko nekoliko upočasni sproščanje ZU iz tovrstnih trdnih sistemov.
- Z DSC-analizo smo dokazali odsotnost kristalne oblike modelne ZU v trdnih formulacijah. Potrdili smo, da pretvorba tekočih SMES v trdno obliko s sušenjem z razprševanjem z izbranimi polisaharidnimi nosilci ne povzroči rekristalizacije naproksena.

6. LITERATURA

1. Hauss DJ: Oral lipid-based formulations. Adv. Drug Deliv. Rev. 2007 jul; 59(7): 667–76.

2. 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. Int. J. Pharm. 2011 nov; 420(1): 1–10.

3. Gursoy RN, Benita S: Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs. Biomed. Pharmacother. 2004 apr; 58(3): 173–82.

4. Mu H, Holm R, Müllertz A: Lipid-based formulations for oral administration of poorly water-soluble drugs. Int. J. Pharm. 2013 avg; 453(1): 215–24.

5. Pouton CW: Lipid formulations for oral administration of drugs: non-emulsifying, self-emulsifying and 'self-microemulsifying' drug delivery systems. Eur. J. Pharm. Sci. 2000 okt; 11(2): 93–S98.

6. Zvonar A, Gašperlin M, Kristl J: Samo(mikro)emulgirajoči sistemi - alternativen pristop za izboljšanje biološke uporabnosti lipofilnih učinkovin. Farm. Vestn. 2008(59): 263–8.

7. Buckley ST, Frank KJ, Fricker G, Brandl M: Biopharmaceutical classification of poorly soluble drugs with respect to "enabling formulations". Eur. J. Pharm. Sci. 2013 sep; 50(1): 8–16.

8. Pouton CW, Porter CJH: Formulation of lipid-based delivery systems for oral administration: Materials, methods and strategies. Adv. Drug Deliv. Rev. 2008 mar; 60(6): 625–37.

9. Kohli K, Chopra S, Dhar D, Arora S, Khar RK: Self-emulsifying drug delivery systems: an approach to enhance oral bioavailability. Drug Discov. Today. 2010 nov; 15(21–22): 958–65.

10. Jannin V, Musakhanian J, Marchaud D: Approaches for the development of solid and semi-solid lipid-based formulations. Adv. Drug Deliv. Rev. 2008 mar; 60(6): 734–46.

11. Gershanik T, Benita S: Self-dispersing lipid formulations for improving oral absorption of lipophilic drugs. Eur. J. Pharm. Biopharm. 2000 jul; 50(1): 179–88.

12. Gattefossé Formulation Guideline: Developing Lipid Base Formulations for Oral Bioavailability Enhancement. 2010.

13. Tang J, Sun J, He Z-G: Self-Emulsifying Drug Delivery Systems:Strategy for Improving Oral Delivery of Poorly Soluble Drugs. Curr. Drug Therpay. 2007(2): 85–93.

14. Kumar S, Kumar Gupta S, Kumar Sharma P: Self-Emulsifying Drug Delivery Systems (SEDDS) for Oral Delivery of Lipid Based Formulations - A Review. Afr. J. BasicApplied Sci. 2012; 4(1): 7–11.

15. Patel MB, Patel NV, Bharadia PD: Self-microemulsifying drug delivery system. Int. J. Univers. Pharm. Life Sci. 2012; 2(3).

16. Khan BA, Bakhsh S, Khan H, Mahmood T, Rasul A: Bsics of Self Micro Emulsifying Drug Delivery System. J. Pharm. Altern. Med. 2012; 1.

17. Singh B, Bandopadhyay S, Kapil R: Self-Emulsyifying Drug Delivery Systems (SEDDS):Formulation Development, Characterization, and Applications. Crit. Rev. Ther. Carr. Syst. 2009; 26(5): 427–521.

18. Tan A, Rao S, Pretidge CA: Transforming Lipid-Based Oral Drug Delivery Systems into Solid Dosage Forms: An Overview of Solid Carriers, Physicochemical Properties, and Biopharmaceutical Performance. Pharm. Res. 2013 jun; (18).

19. Tang B, Cheng G, Gu J-C, Xu C-H: Development of solid self-emulsifying drug delivery systems: preparation techniques and dosage forms. Drug Discov. Today. 2008 jul; 13(13–14): 606–12.

20. Benefits Of Using The Right Carrier For Solid Dispersion Systems [Internet]. - PharmaTechnologistcom. [citirano 2013 okt 8]. Pridobljeno na: http://www.in-pharmatechnologist.com/smartlead/view/233393/4/Benefits-Of-Using-The-Right-Carrier-For-Solid-Dispersion-Systems

21. Cal K, Sollohub K: Spray Drying Technique. I: Hardware and Process Parameters. J. Pharm. Sci. 2010 feb; (2): 575–86.

22. Paudel A, Worku ZA, Meeus J, Guns S, Van den Mooter G: Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations. Int. J. Pharm. 2013 avg 30; 453(1): 253–84.

23. Sollohub K, Cal K: Spray Drying Tecnique: II. Current Applications in Pharmaceutical Technology. J. Pharm. Sci. february, 2010(2).

24. Training_Papers_Spray_Drying.pdf [Internet]. [citirano 2013 avg 26]. Pridobljeno na: http://www.buchi.com/fileadmin/user_upload/01_products/04_spray_drying/pdf/Training_Papers_Spray_Drying_en.pdf

25. C Rowe R, J Sheskey P, E Quinn M: Handbook of Phamceutical Excipients, 6th ed. ZDA: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association; 2009.

26. Burnside BA, Ibrahim SA, Shojaei AH: Formulations of fenofibrate and/or fenofibrate derivatives with improved oral bioavailability. European Union, Patent number EP1539117 A1, Jun. 5, 2005 [Internet]. Pridobljeno na: http://www.google.com/patents/EP1539117A1?cl=en

27. Gabyion: Product Information MIGLYOL® 810 812 818 829 840 Neutral Oils [Internet]. [citirano 2013 avg 16]. Pridobljeno na: http://www.docstoc.com/docs/27119828/Product-Information-MIGLYOL®-810-812-818-829-840-Neutral-Oils

28. Jannin V: Lauroyl polyoxylglycerides, functionalized coconut oil, enhancing the bioavailability of poorly soluble active substances. Oléaqineux Corpus Gras Lipides. 2009 dec; 16(4): 267–72.

29. Chambin O, Jannin V: Interest of Multifunctional Lipid Excipients: Case of Gelucire® 44/14. Drug Dev. Ind. Pharm. 2005 jan; 31(6): 527–34.

30. Pharma Ingredients & Services BASF | Solubilizer | Kolliphor® range | Kolliphor® HS 15 [Internet]. [citirano 2013 avg 16]. Pridobljeno na: http://www.pharma-ingredients.basf.com/solubilizer/kolliphor_range/kolliphor_HS15.aspx

31. Kolliphor HS 15.pdf [Internet]. [citirano 2013 avg 16]. Pridobljeno na: http://www.pharma-ingredients.basf.com/Statements/Technical%20Informations/EN/Pharma%20Solutions/03_111149e_Kolliphor%20HS%2015.pdf

32. Ruchatz F, Schuch H: Physicochemical properties of Solutol HS 15 and its solubilzates. BASF ExAct 1998; 1: 6-8.pdf [Internet]. [citirano 2013 avg 16]. Pridobljeno na: http://www2.basf.us/Pharma/pdf/ExAct_01.pdf

33. Povzetek glavnih značilnosti zdravila Nalgesin forte 550 mg filmsko obložene tablete [Internet]. [citirano 2013 avg 16]. Pridobljeno na: http://www.cbz.si/zzzs/pao/bazazdr2.nsf/o/2186559677E3C08CC12579C2003F65B2/$File/s-010519.pdf

34. Product information (S)-Naproxen.pdf [Internet]. [citirano 2013 avg 16]. Pridobljeno na: https://www.caymanchem.com/pdfs/70290.pdf

35. DrugBank, urednik: Naproxen (DB00788) [Internet]. DrugBank. 2013 [citirano 2013 avg 16]. Pridobljeno na: http://www.drugbank.ca/drugs/DB00788

36. Allesø M, Chieng N, Rehder S, Rantanen J, Rades T, Aaltonen J: Enhanced dissolution rate and synchronized release of drugs in binary systems through formulation: Amorphous naproxen-cimetidine mixtures prepared by mechanical activation. J. Control. Release Off. J. Control. Release Soc. 2009 maj 21; 136(1): 45–53.

37. Kaynak MS, Sahin S: A New Hplc Apprach for Detremination of In-Vitro Solubility of Naproxen Sodium. Hacet. Univ. J. Fac. Pharm. 2008; 1(28): 49–62.

38. Dextrose equivalent [Internet]. Wikipedia Free Encycl. 2013 [citirano 2013 avg 20]. Pridobljeno na: http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Dextrose_equivalent&oldid=545853488

39. Siepmann J, Peppas NA: Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). Adv. Drug Deliv. Rev. 2012 dec; 64(Supplement): 163–74.

40. Larsson M, Viridén A, Stading M, Larsson A: The influence of HPMC substitution pattern on solid-state properties. Carbohydr. Polym. 2010 nov 11; 82(4): 1074–81.

41. Viridén A, Wittgren B, Larsson A: Investigation of critical polymer properties for polymer release and swelling of HPMC matrix tablets. Eur. J. Pharm. Sci. 2009 feb; (36): 297–309.

42. Microsoft Word - 4 VAJA FIFA 240309.doc - 4_VAJA_FIFA_2009.pdf [Internet]. [citirano 2013 avg 27]. Pridobljeno na: http://www.ffa.uni-lj.si/fileadmin/datoteke/FT/Fizikalna_farmacija/4_VAJA_FIFA_2009.pdf

43. Clas S-D, Dalton CR, Hancock BC: Differential scanning calorimetry: applications in drug development. Pharm. Sci. Technol. Today. 1999 avg; 2(8): 311–20.

44. Li L, Yi T, Lam CW-K: Effects of Spray-Drying and Choice of Solid Carriers on Concentrations of Labrasol and Transcutol in Solid Self-Microemulsifying Drug Delivery Systems (SMEDDS). Molecules. 2013 jan; (18): 545–60.

45. Oh DH, Kang JH, Kim DW, Lee B-J, Kim JO, Yong CS, idr.: Comparison of solid self-microemulsifying drug delivery system (solid SMEDDS) prepared with hydrophilic and hydrophobic solid carrier. Int. J. Pharm. 2011 nov; 420(2): 412–8.

46. Lemovec A: Razvoj samo-mikroemulgirajočega sistema na osnovi gelucire 44/14 in njegova pretvorba v trdno farmacevtsko obliko. Diplomska naloga; Fakulteta za farmacijo. Ljubljana, 2013;

47. Yi T, Wan J, Xu H, Yang X: A new solid self-microemulsifying formulation prepared by spray-drying to improve the oral bioavailability of poorly water soluble drugs. Eur. J. Pharm. Biopharm. 2008 okt; 70(2): 439–44.

48. Yi T, Wan J, Xu H, Yang X: Controlled poorly soluble drug release from solid self-microemulsifying formulations with high viscosity hydroxypropylmethylcellulose. Eur. J. Pharm. Sci. 2008 avg; 34(4–5): 274–80.

49. Pedersen GP, Fäldt P, Bergenståhl B, Kristensen HG: Solid state characterisation of a dry emulsion: a potential drug delivery system. Int. J. Pharm. 1998 sep; 171(2): 257–70.

50. Adibkia, Bazegar-Jalali M, Maheri-Esfanjani H: Physicochemical characterization of naproxen solid dispersions prepared via spray drying technology. Powder Tecnol. 2013(246): 448–55.

51. Papadimitriou E, Efentakis M, Choulis N.: Evaluation of maltodextrins as excipients for direct compression tablets and their influence on the rate of dissolution. Int. J. Pharm. 1992(86): 131–6.

52. 51710020 - Usercom_11.pdf [Internet]. [citirano 2013 nov 22]. Pridobljeno na: http://www.masontechnology.ie/x/Usercom_11.pdf