

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

EVA ROŽMAN

DIPLOMSKA NALOGA

UNIVERZITETNI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2013

Univerza v Ljubljani
Fakulteta *za farmacijo*



EVA ROŽMAN

**IZDELAVA IN VREDNOTENJE TRDNIH DISPERZIJ KARVEDILOLA S
POLIETILENGLIKOLOM IN MEZOPOROZNIM SILIKATOM**

**FORMULATION AND EVALUATION OF MULTIPLE SOLID DISPERSIONS OF
CARVEDILOL WITH POLYETHYLENE GLYCOL AND MESOPOROUS
SILICATE**

Ljubljana, 2013

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

ZAHVALA

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

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

IZJAVA

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

Eva Rožman

VSEBINA

POVZETEK	III
ABSTRACT	IV
SEZNAM OKRAJŠAV IN ENOT	V
1 UVOD	1
1.1 TRDNE DISPERZIJE.....	2
1.1.1 Metode izdelave.....	4
1.1.2 Prednosti in slabosti trdnih disperzij.....	5
1.2 POROZNI NOSILCI	7
1.2.1 Izdelava trdnih disperzij z mezoporoznimi nosilci	9
1.2.2 Izdelava multiplih trdnih disperzij in impregnacija v porozne nosilce	12
2 NAMEN DELA	15
3 EKSPERIMENTALNO DELO	16
3.1 MATERIALI	16
3.1.1 Modelna učinkovina.....	17
3.1.2 Mezoporozni silikatni nosilec Neusilin® US2	18
3.2 NAPRAVE.....	19
3.3 METODE.....	19
3.3.1 Izdelava amorfne oblike karvedilola.....	20
3.3.2 Izdelava trdnih disperzij karvedilola z Neusilinom US2	20
3.3.3 Izdelava trdnih disperzij karvedilola s polietilenglikolom in Neusilinom US2 .	22
3.3.4 Vrednotenje trdnih disperzij	24
3.3.5 Preskus fizikalne stabilnosti	26
4 REZULTATI IN RAZPRAVA	27
4.1 FIZIKALNO-KEMIJSKE LASTNOSTI MODELNE UČINKOVINE	27
4.2 FIZIKALNO-KEMIJSKE LASTNOSTI FIZIKALNIH ZMESI KARVEDILOLA Z NEUSILINOM US2	30
4.3 TRDNE DISPERZIJE KARVEDILOLA Z NEUSILINOM US2 IZDELANE S SOMLETJEM.....	32
4.3.1 Karvedilol : Neusilin US2 = 1 : 1	33
4.3.2 Karvedilol : Neusilin US2 = 1 : 2	36

4.4	TRDNE DISPERZIJE KARVEDILOLA Z NEUSILINOM US2 IZDELANE Z ODPAREVANJEM TOPILA PRI ZNIŽANEM TLAKU	38
4.4.1	Karvedilol : Neusilin US2 = 1 : 1	39
4.4.2	Karvedilol : Neusilin US2 = 1 : 2	41
4.5	TRDNE DISPERZIJE KARVEDILOLA S POLIETILENGLIKOLOM IN NEUSILINOM US2	43
4.5.1	DISPERZIJE KARVEDILOLA V PEG	44
4.5.2	MULTIPLE TRDNE DISPERZIJE S PEG 400	46
4.5.3	MULTIPLE TRDNE DISPERZIJE S PEG 1500	55
4.6	PRIMERJAVA TRDNIH DISPERZIJ	55
5	ZAKLJUČKI	59
6	LITERATURA	61
	PRILOGA	68

POVZETEK

Danes je veliko novih učinkovin slabo topnih v vodi. Obetaven način za povečanje njihove biološke uporabnosti je izboljšanje topnosti z vgrajevanjem v trdne disperzije z mezoporoznimi nosilci.

V diplomskem delu smo z metodama somletja in odparevanja topila pri znižanem tlaku izdelali trdne disperzije karvedilola z Neusilinom US2. Z metodo, ki je kombinacija tehnik izdelave trdnih disperzij in sorpcije talin pri povišani temperaturi (najbolj podobna je metodi granuliranja s talinami), pa smo izdelali multiple trdne disperzije karvedilola s polietilenglikolom (PEG) in Neusilinom US2. Vzorce smo ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C in 75-odstotni relativni vlažnosti ovrednotili s preskusom sproščanja po Eur. Ph. 7th Ed., termično analizo in z infrardečo spektroskopijo oslabljenega popolnega odboja, nekatere pa še z rentgensko difrakcijo in elektronskim vrstičnim mikroskopom.

Z vsemi tremi metodami smo bistveno izboljšali hitrost raztapljanja karvedilola v primerjavi s hitrostjo raztapljanja samega karvedilola ali fizikalne zmesi z Neusilinom US2. K izboljšanju hitrosti raztapljanja pripomorejo amorfna oblika ali molekularna disperzija učinkovine in izboljšano močenje. Učinkovina se iz večine trdnih disperzij ne sprosti v celoti, ker verjetno prej pride do njene kristalizacije v mediju za sproščanje. Izboljšanje sproščanja je bilo najmanjše za trdne disperzije izdelane s somletjem, saj se med počasnim procesom amorfizacije učinkovina nalaga na površino nosilca in jo s tem hidrofobizira. Trdne disperzije, izdelane z odparevanjem topila pri znižanem tlaku, so bile popolnoma amorfne, učinkovina se je nalagala globoko v pore nosilca, sproščanje iz njih pa je bilo hitro in obsežno. Karvedilol se je najhitreje sproščal iz trdnih disperzij karvedilola s PEG in Neusilinom US2, iz katerih se je že po 15 minutah sprostila enaka količina učinkovine kot po 120 minutah iz trdnih disperzij, izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku. Sproščanje iz teh trdnih disperzij je odvisno predvsem od hitrosti raztapljanja PEG.

Ugotovili smo, da so trdne disperzije karvedilola in Neusilina US2 fizikalno stabilne, kadar je vsa učinkovina v ozkih porah nosilca. Trdne disperzije karvedilola s PEG in Neusilinom US2 so fizikalno stabilne tudi, kadar je učinkovina zunaj por. V tem primeru je stabilnost odvisna od koncentracije raztopine karvedilola v PEG in molekulske mase PEG.

Ključne besede: karvedilol, Neusilin US2, polietilenglikol, trdna disperzija.

ABSTRACT

Today, a lot of new drugs exhibit poor aqueous solubility. A promising approach to enhance their solubility and bioavailability is the incorporation of these drugs into solid dispersions with mesoporous carriers.

In this study, methods of co-milling and solvent evaporation were used to formulate solid dispersions of carvedilol with Neusilin US2. Furthermore, multiple solid dispersions of carvedilol with polyethylene glycol (PEG) and Neusilin US2 were made employing a method similar to the melt agglomeration. All samples of solid dispersion were characterized at time zero and after 6 weeks of storage at 40 °C in 75 % relative humidity with dissolution tests, thermal analysis, and attenuated total reflectance infrared spectroscopy. Some of them were also characterized using X-ray powder diffraction and scanning electron microscopy.

All three methods resulted in a significant improvement of drug release compared to the dissolution of pure carvedilol or its physical mixture with Neusilin US2. Factors contributing to the improved dissolution of the drug from solid dispersions are the amorphous or molecularly dispersed form of carvedilol and the improved wettability. From most of the solid dispersions, the drug is not released completely, probably due to crystallization in the dissolution medium. Drug dissolution was the least improved in solid dispersions made with co-milling, since during the slow process of amorphization the drug is loaded onto the surface of the carrier, which leads to the hydrophobization of its surface. Solid dispersions made with the solvent evaporation method were completely amorphous, the drug was loaded deep into the pores of the carrier, and the dissolution of the drug was fast and extensive. The greatest drug release improvement was exhibited by multiple solid dispersions of carvedilol with PEG and Neusilin US2. In the first 15 minutes, the same amount of carvedilol was released from those as from solid dispersions made with the solvent evaporation method in 120 minutes. The drug release from multiple solid dispersions depends primarily on the dissolution of PEG in the dissolution medium.

The results suggested that solid dispersions of carvedilol with Neusilin US2 are physically stable when the drug is present solely deep in the pores of Neusilin US2. Solid dispersions of carvedilol with PEG and Neusilin US2 are physically stable also when the drug is present on the surface of Neusilin US2. In that case, stability is dependent on the concentration of the solution of carvedilol in PEG and on the molecular weight of PEG.

SEZNAM OKRAJŠAV IN ENOT

BCS	Biopharmaceutics Classification System (biofarmaceutvska klasifikacija zdravil)
BET	Brunauer-Emmett-Teller enačba
DSC	Differential Scanning Calorimetry (diferenčna dinamična kalorimetrija)
FO	farmaceutvska oblika
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy (infrardeča spektroskopija s Fourierjevo transformacijo)
GIT	gastrointestinalni trakt
HPMC	hidroksipropilmetilceluloza
IR	infrardeča spektroskopija
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry (Mednarodna zveza za čisto in uporabno kemijo)
PEG	polietilenglikol
PVP	polivinilpirolidon
Ph. Eur.	Evropska farmakopeja (Pharmacopoeia Europea)
RH	relativna zračna vlaga (relative humidity)
SEM	Scanning Electron Microscopy (vrstična elektronska mikroskopija)
S(M)ES	samo(mikro)emulgirajoči sistem
TD	trdna disperzija
T_g	temperatura steklastega prehoda
X-RPD	X-ray Powder Diffraction (rentgenska praškovna difrakcija)
ZU	zdravilna učinkovina

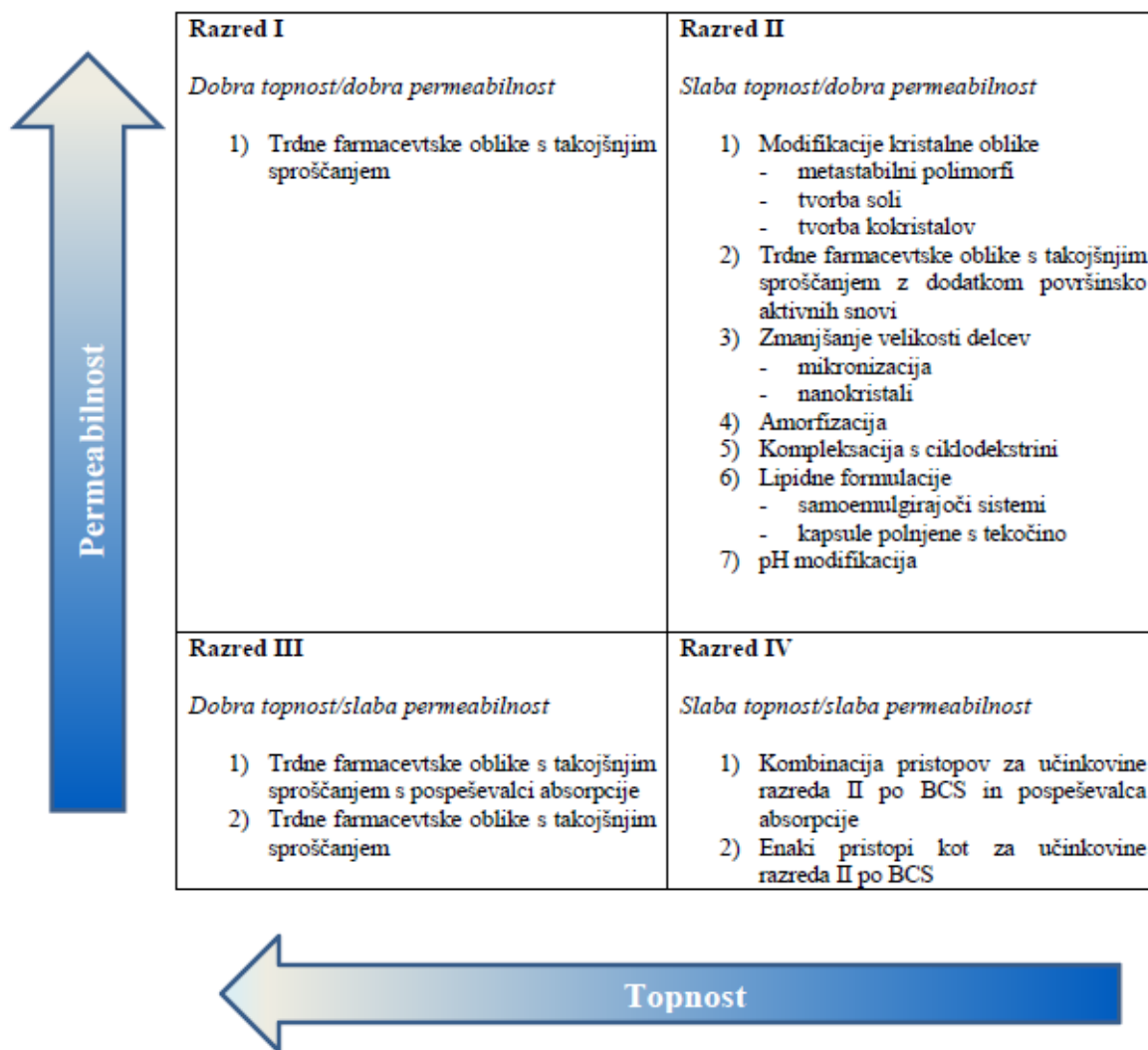
1 UVOD

Peroralna pot dostave učinkovine je tako s strani bolnikov kot proizvajalcev najbolj zaželena in je tudi najpogostejša. Bolnikom je blizu zaradi enostavnosti uporabe, proizvajalci pa učinkovine želijo vgraditi v trdne farmacevtske oblike (FO) za peroralno uporabo zaradi dobre stabilnosti, natančnega odmerjanja in enostavne izdelave teh oblik. Pomembna parametra, ki vplivata na terapevtsko učinkovitost trdnih FO, sta hitrost in obseg raztapljanja učinkovine, saj določata hitrost in obseg absorpcije (1). V današnjem času so nas nove metode odkrivanja zdravilnih učinkovin (ZU), kot sta kombinatorna kemija in visoko zmogljive metode reševanja spojin, pripeljale do velikega števila težko vodotopnih spojin in po nekaterih ocenah je danes takšnih že 70 % vseh kandidatov za nove učinkovine (2). Kadar te učinkovine vgradimo v trdne FO, je njihova terapevtska učinkovitost omejena, zato je izboljšanje biološke uporabnosti slabo topnih učinkovin eden izmed največjih izzivov pri razvoju zdravil.

Ko razvijamo zdravilo, moramo dobro poznati in razumeti fizikalno-kemijske in biofarmacevtske lastnosti učinkovine. Z biofarmacevtskega vidika nam je pri tem v veliko pomoč sistem Biofarmacevtske klasifikacije zdravil (angl. *Biopharmaceutics Classification System* – BCS), ki učinkovine z ozirom na njihovo vodotopnost in permeabilnost razdeli v štiri razrede (slika 1). Na podlagi tega sistema se odločamo o farmacevtski obliki, v katero bomo učinkovino vgradili, in o metodi za izboljšanje biološke uporabnosti učinkovine, kadar je to potrebno (2, 3).

S težavami pri razvoju zdravil se srečamo predvsem pri slabo topnih učinkovinah. Slabo topna učinkovina je po definiciji tista, katere manj kot 1 del se raztopi v 10.000 delih vode (100 µg/ml). V zadnjem času so za slabo topne opredelili tiste učinkovine, ki se raztapljajo počasi in v gastrointestinalnem traktu (GIT) za raztapljanje potrebujejo več časa, kot je čas njihove absorpcije (4). Vodotopnost učinkovine je zelo pomembna, saj se mora učinkovina najprej raztopiti v želodčni ali intestinalni tekočini, šele nato lahko preide membrano GIT in vstopi v sistemski krvni obtok. Biološko uporabnost slabo vodotopnih učinkovin lahko izboljšamo tako, da povečamo njihovo raztapljanje (1). Metode za povečanje raztapljanja delimo na *fizikalne* (zmanjšanje velikosti delcev, modifikacija kristalne oblike, amorfizacija, tvorba kokristalov, evtektične zmesi, trdne disperzije, kriogene tehnike), *kemijske* (sprememba pH, uporaba pufrov, derivatizacija, kompleksacija in tvorba soli) in *kombinirane* (metode z uporabo superkritičnih fluidov, uporaba površinsko aktivnih snovi,

sotopil in drugih pomožnih snovi) (5). Novejše tehnike izboljšanja biološke uporabnosti učinkovin, kot so pretvorba kristalne oblike učinkovine v amorfno (predvsem tvorba trdnih disperzij), izdelava samoemulgirajočih sistemov, tvorba nanokristalov in kompleksacija s ciklodekstrini, imajo pred klasičnimi, kot so mikronizacija, tvorba soli ali solubilizacija z uporabo sotopil, številne prednosti, zato jih znanstveniki intenzivno raziskujejo (6).



Slika 1: BCS klasifikacija zdravilnih učinkovin in metode izboljšanja biološke uporabnosti glede na BCS razred učinkovine.

1.1 TRDNE DISPERZIJE

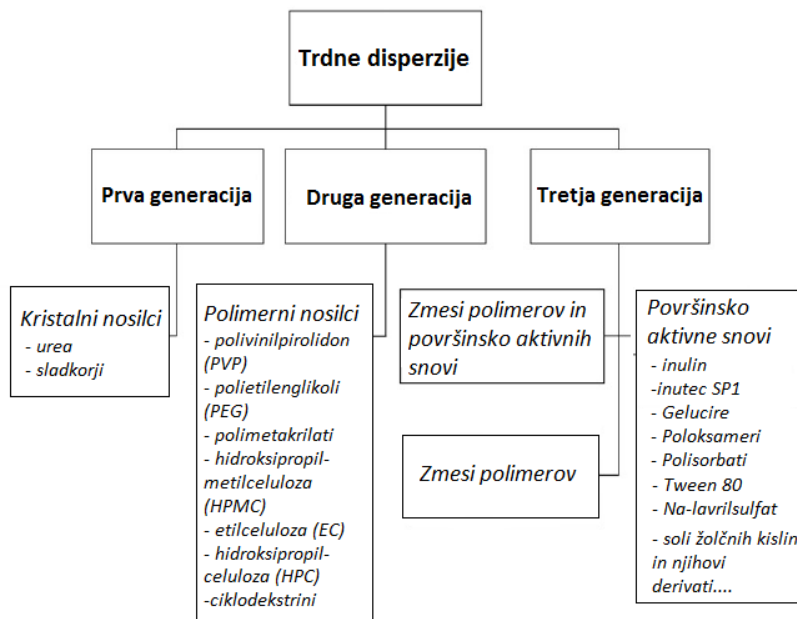
Med najvidnejšimi novjšimi pristopi za izboljšanje biološke uporabnosti slabo topnih učinkovin je pretvorba kristalne oblike učinkovine v amorfno. Amorfna snov ima, v primerjavi s kristalno, večjo intrinzično topnost in hitrost raztapljanja. To je posledica veliko večje notranje energije in odsotnosti dolgega reda dosega urejenosti (7, 8). Intrinzična topnost amorfni učinkovin je v primerjavi s kristalno obliko običajno

2–4- krat višja, v primeru makrolidnih antibiotikov je povečanje topnosti celo 10-kratno (9). Uporabo amorfnih učinkovin v farmaciji omejuje nestabilnost. Zaradi visoke notranje energije in dobre molekularne gibljivosti so amorfne učinkovine kemijsko reaktivne in nagnjene h kristalizaciji. Do kristalizacije amorfne učinkovine lahko pride med shranjevanjem pri različni relativni zračni vlagi in temperaturi ter med sproščanjem, na pojav kristalizacije pa močno vpliva tudi proces izdelave amorfne učinkovine (7).

Vodilni pristop, s katerim izboljšamo fizikalno stabilnost amorfne učinkovine in obenem ohranimo njeno povečano raztapljanje, je tvorba trdnih disperzij (TD), ki sta jih javnosti leta 1960 predstavila Sekiguchi in Obi (10, 11). Ugotovila sta, da ima evtektična zmes težko topne učinkovine sulfatiazola in sečnine, fiziološko inertnega hidrofilnega nosilca, večjo biološko uporabnost po peroralnem dajanju kot sam sulfatiazol. Takšno formulacijo sta imenovala trdna disperzija (11, 12). Pojem trdne disperzije sta leta 1971 definirala Chiou in Riegelman kot disperzijo ene ali več aktivnih snovi v ogrodju inertnega nosilca, ki je v trdnem agregatnem stanju. Pripravimo jo lahko s taljenjem, z raztapljanjem ali s kombinacijo obeh metod (13). TD so torej sestavljene iz najmanj dveh komponent, običajno iz hidrofilnega ogrodja in hidrofobne učinkovine. Ogrodje je lahko kristalno ali amorfno, učinkovina pa je v njem dispergirana molekularno, v obliki amorfnih klastrov ali kristalnih delcev (1). Poleg amorfnih TD, med TD prištevamo torej tudi zmesi kristalne učinkovine in polimera, trdne komplekse ZU s ciklodekstrini in drugimi podobnimi kompleksirajočimi agenti in raztopine učinkovin v trdnih lipidnih nosilcih (8).

Sproščanje učinkovine iz TD je najboljše, kadar amorfna učinkovina in polimer tvorita enofazni sistem (amorfne TD) in je močno odvisno od narave in lastnosti hidrofilnega ogrodja (14). Glede na zgodovinski razvoj TD razdelimo v tri generacije, ki se med seboj razlikujejo po lastnostih nosilcev. Ti so lahko kristalni ali polimerni. Predstavljeni so na sliki 2 in razdeljeni glede na generacijo TD. V *prvi generaciji* ogrodje tvorijo kristalni nosilci, kot so sečnina in sladkorji (npr. manitol). Tako nastanejo kristalne TD, iz katerih se učinkovina zaradi večje termodinamične stabilnosti sistema sprošča počasneje kot iz amorfnih TD. V *drugi generaciji* TD je učinkovina molekularno dispergirana v amorfem polimernem ogrodju. Nastane amorfna TD, iz katere se učinkovina sprošča močno pospešeno. Hidrofilno ogrodje TD *tretje generacije* tvorijo površinsko aktivne snovi ali zmesi amorfnih polimerov in površinsko aktivnih snovi, kar dodatno izboljša biološko uporabnost slabo topnih učinkovin (14). Amorfne TD druge in tretje generacije so eden

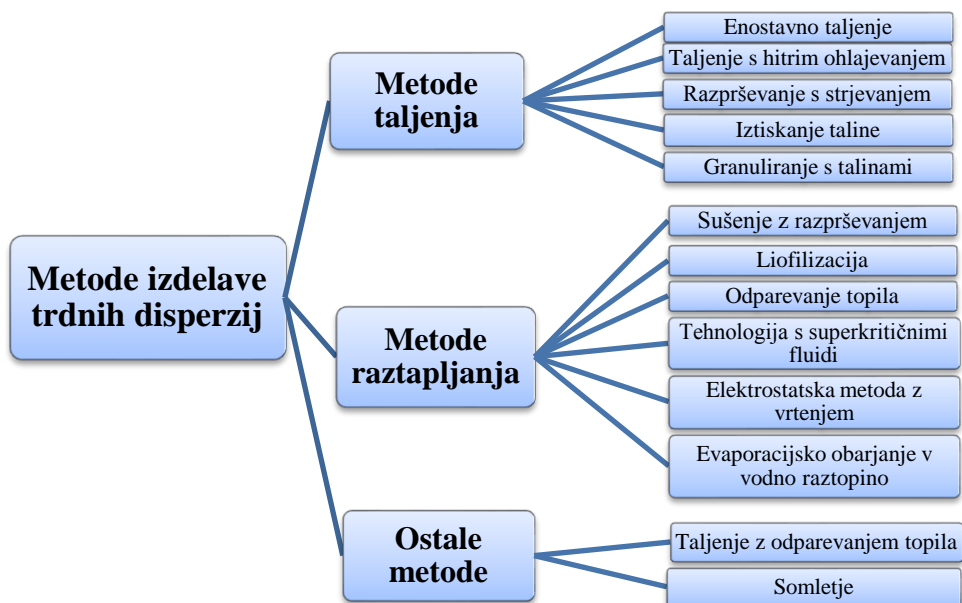
izmed najbolj obetavnih sistemov za izboljšanje biološke uporabnosti težko topnih učinkovin.



Slika 2: Razdelitev TD po generacijah in nosilci (5, 12, 14)

1.1.1 Metode izdelave

Načine izdelave TD v grobem lahko razdelimo na metode taljenja, metode raztapljanja in ostale metode (slika 3). Prvi korak pri *metodah taljenja* poteka pri povišani temperaturi, sledi ohlajanje in nato upraševanje produkta. Glavna omejitev teh metod je uporaba visokih temperatur, ki lahko povzročijo razpad učinkovine. Pri *metodah raztapljanja* v organskem topilu običajno raztopimo učinkovino in nosilec, kasneje pa pri relativno nizkih temperaturah topilo odparimo in nastali produkt uprašimo. TD lahko z metodo odparevanja topila izdelamo tudi tako, da ostane pomožna snov neraztopljena, učinkovina pa se obori v porah oziroma se adsorbira na površini delcev. Pomožne snovi so v tem primeru netopne hidrofilne snovi, npr. neporozni ali porozni silicijev dioksid (Aerosil, Sylisia) ali silikati (Neusilin). Med ostale metode prištevamo taljenje z odparevanjem topila, ki je kombinacija metod taljenja in raztapljanja, in metodo somletja (1, 14, 15, 16, 17).



Slika 3: Metode izdelave trdnih disperzij

1.1.2 Prednosti in slabosti trdnih disperzij

Prednosti trdnih disperzij

Izboljšanje biološke uporabnosti učinkovine z izdelavo TD ima pred drugimi tehnikami, kot so tvorba soli, solubilizacija in mikronizacija učinkovine, številne prednosti. Tvorba soli pri uporabi nevtralnih učinkovin ni mogoča in je nepraktična za šibke kisline in baze. Prav tako ni zagotovila, da bomo s tvorbo soli dosegli boljše raztapljanje snovi, saj se sol v prebavnem traktu lahko pretvori v prvotno neionizirano obliko. S solubilizacijo učinkovin v organskih topilih ali v vodnih medijih s površinsko aktivnimi snovimi in sotopili dobimo tekoče formulacije, ki so s stališča komercializacije izdelka manj zaželeno od trdnih FO. Z mikronizacijo ali mletjem učinkovin običajno ne dosežemo želenih rezultatov, saj s suhim mletjem delce lahko zmanjšamo le do velikosti 2–5 μm . To pogosto ni dovolj, da bi se hitrost sproščanja v tankem črevesu signifikantno povečala. Poleg tega imajo majhni delci slabe pretočne lastnosti in težijo k aglomeraciji, zato je delo z njimi oteženo (6, 14).

Hitrost sproščanja učinkovine iz amorfnih TD se poveča, ker je velikost delcev učinkovine zmanjšana na molekularni nivo, izboljšano je močenje, poroznost delcev je večja. Te lastnosti so odvisne od sestave ogrodja TD. Ker je učinkovina prisotna v amorfnih oblikah, je večja tudi njena intrinzična topnost. Ko se sistem raztopi, so učinkovine pogosto prisotne v obliki prenasičenih raztopin. Predvidevajo, da če se učinkovina obori, nastane metastabilna polimorfna oblika, ki ima večjo topnost kot najstabilnejša kristalna oblika (1, 14). Ker je

hitrost raztapljanja učinkovine iz amorfnih TD pospešena, se povečata tudi hitrost in obseg absorpcije učinkovine. Odmerek zaradi tega lahko zmanjšamo, možna posledica povečane absorpcije je tudi zmanjšanje predsistemskega metabolizma (18).

Slabosti trdnih disperzij

Kljub intenzivnemu znanstvenemu raziskovanju se TD redko pojavljajo v komercialnih izdelkih. Vzroki za to so slabo definirane in drage metode izdelave, ki vključujejo uporabo visokih temperatur ali velike količine organskih topil, slaba ponovljivost proizvodnje, težave pri izdelavi ustrezne FO, omejitve pri povečevanju proizvodne serije ter fizikalna in kemijska nestabilnost. Težave pri izdelavi ustrezne FO se pojavljajo zaradi lepljivosti, slabih pretočnih lastnosti in nestisljivosti TD, drobljenja premehkih delcev ter slabe razpadnosti tablet. Največja slabost TD je, da med shranjevanjem lahko pride do pretvorbe amorfnе oblike učinkovine v kristalno, ki je slabše topna (6).

Fizikalna stabilnost amorfnih trdnih disperzij in načini preprečevanja kristalizacije

Učinkovina v TD lahko med postopkom izdelave ali shranjevanjem zaradi mehanskega stresa, povišane temperature ali vlage preide iz amorfnе v manj topno kristalno obliko (14). Pri stabilnosti amorfnе snovi ima največjo vlogo molekularna mobilnost. Ta je odvisna od sestave TD, pa tudi metode in pogojev izdelave, saj nanjo močno vpliva termična zgodovina snovi (7). Najmanj stabilne so TD z nizko temperaturo steklastega prehoda (T_g). Nad to temperaturo je molekularna mobilnost zelo velika in hitro pride do nukleacije in rasti kristalov (19). Amorfnа učinkovina ima v TD tudi v zelo viskoznih sistemih pod T_g dovolj molekularne mobilnosti, da v farmacevtsko pomembnem času pride do nukleacije in rasti kristalov, zato se je uveljavilo pravilo, da TD ostanejo stabilne, kadar jih shranjujemo pri temperaturi, ki je za 50 °C nižja od T_g (14, 20). Na mobilnost molekul vpliva vlaga med shranjevanjem, saj deluje kot mehčalo in pospeši kristalizacijo učinkovine (19). Vlago absorbirajo tudi številni polimeri, kar lahko vodi v ločitev faz, rast kristalov in pretvorbo manj stabilnih oblik učinkovine v stabilnejše. Te spremembe se odražajo v zmanjšanju topnosti in hitrosti raztapljanja učinkovine v TD (14).

Polimeri imajo na fizikalno stabilnost amorfnе učinkovine v TD tudi pozitiven vpliv, saj lahko dvignejo T_g homogene zmesi polimera in učinkovine in tako zmanjšajo molekularno mobilnost pri temperaturi shranjevanja, amorfnо učinkovino pa lahko stabilizirajo tudi s tvorbo specifičnih interakcij z njenimi funkcionalnimi skupinami (14). Intermolekularne

interakcije, ki lahko nastanejo med učinkovino in polimerom, v grobem razdelimo na nespecifične (van der Waalove vezi) in specifične interakcije (vodikove vezi, ion-dipol interakcije). Polimeri lahko kristalizacijo učinkovine preprečijo, kadar se z njo mešajo na molekularnem nivoju. Za takšno mešanje med njima morajo obstajati heterointerakcije. Kljub temu pa dvig T_g amorfne učinkovine ali prisotnost specifičnih interakcij (vodikovih vezi) nista nujno potrebna za stabilizacijo amorfne TD (21, 22). Konno je s sodelavci določeval sposobnost treh različnih polimerov, da stabilizirajo oz. preprečijo kristalizacijo amorfne felodipina v TD (21). Izdelali so amorfne TD s PVP, HPMC in HPMC-acetat sukcinatom z različnimi koncentracijami polimera (0–25 %) in v odsotnosti vlage merili hitrost nukleacije ter opazovali interakcije med učinkovino in polimerom. Polimeri so se razlikovali v T_g , različne pa so bile tudi T_g amorfne TD in jakost vodikovih vezi med polimerom in učinkovino. Vsi polimeri so zmanjšali hitrost nukleacije že pri majhnih koncentracijah (3–25 %, w/w), tudi kadar povečanje T_g amorfne TD ni bilo značilno. Hitrost nukleacije je bila pri istih koncentracijah enaka za vse polimere in je bila neodvisna od njihovih fizikalno-kemijskih lastnosti. Predvidevajo, da ti polimeri kinetično upočasnijo nukleacijo, ker povečajo kinetično bariero nukleacije. Poleg izbire ustrezne pomožne snovi je torej za stabilizacijo bistveno tudi njeno razmerje glede na učinkovino.

1.2 POROZNI NOSILCI

V zadnjih letih se je zanimanje za razvoj dostavnih sistemov z anorganskimi hidrofilnimi netopnimi poroznimi materiali močno povečalo, saj z vgrajevanjem v vodi težko topnih učinkovin v takšna ogrodja dosežemo pospešeno sproščanje teh učinkovin, poleg tega pa so formulacije z mezoporoznimi silikati zelo dobro fizikalno stabilne tudi pri povišani temperaturi in/ali relativni zračni vlagi (23, 24). Takšni dostavni sistemi predstavljajo alternativo TD, ki so zmes učinkovine in vodotopnega polimera, saj z obema pristopoma lahko izdelamo stabilen dostavni sistem z amorfno učinkovino (10).

Vrste poroznih nosilcev

Značilnosti poroznih materialov so ozke pore, velik volumen por in velika specifična površina, kamor se učinkovina lahko sorbira (25). Po nomenklaturi IUPAC jih glede na velikostni razred por delimo na *mikroporozne*, z velikostjo por med 0,3 in 2 nm, *mezoporozne* s porami dimenzij med 2 in 50 nm ter *makroporozne* s porami velikosti nad 50 nm (25). Netopni porozni nosilci, ki jih uporabljamo v farmacevtske namene, so porozni silicijev dioksid (26, 27), prašek polipropilenske pene (28), porozni kalcijev silikat

(29), porozni aluminometasilikat (30), porozna silikatna stekla (31), zeoliti (32) in porozna keramika (33).

Med najbolj uporabljanimi mezoporoznimi materiali za izboljšanje topnosti učinkovin so silikati. Ločimo neurejene in urejene mezoporozne silikate. Neurejeni mezoporozni silikati so npr. magnezijev aluminometasilikat (Neusilin[®]), kalcijev silikat (Florite[®]) in SiO₂ (Syloid[®]). Imajo neurejeno obliko in porazdelitev por ter široko porazdelitev velikosti por. So komercialno dostopni in se pogosto uporabljajo v prehranski industriji in kot pomožne snovi v farmaciji (10, 26). V zadnjem času z novimi metodami izdelave, ki omogočajo boljšo kontrolo končne strukture in porazdelitve velikosti por, izdelujejo urejene mezopozne materiale iz SiO₂, npr. MCM-41 (*Mobil composition of Matter*), SBA-15 (*Santa Barbara amorphous type material*), FSM-16 (*Folded Sheet Materials No. 16*). Ti materiali imajo zelo uniformno strukturo por z ozko porazdelitvijo velikosti in strogo geometrijsko urejenostjo (10, 34). Na površini (tako na zunanji kot na stenah por) teh mezoporoznih materialov se nahajajo reaktivne silanolne skupine (Si-OH), ki omogočajo pripenjanje raznih funkcionalnih spojin tudi pod relativno ostrimi pogoji. S pripenjanjem npr. disociirajočih funkcionalnih skupin, spojin, občutljivih na spremembo temperature, elektrostatsko ali magnetno aktivnih spojin, lahko razvijemo inteligentne dostavne sisteme (23, 26).

Mehanizem vgradnje in sproščanja učinkovine iz mezoporoznih nosilcev

Vgradnja učinkovine v pore mezopoznega nosilca poteka s spontano kapilarno kondenzacijo ali s polnjenjem por z raztopino oz. s talino učinkovine (25). Učinkovina se v enem ali več slojih adsorbira oz. obori v amorfni ali kristalni obliki (35, 36). Kadar je učinkovina adsorbirana v obliki monosloja na hidrofilno površino nosilca ali kadar gre za molekularno disperzijo učinkovine v ustreznem ogrodju, so hidrofobne interakcije med molekulami ZU nevtralizirane. Ob stiku z medijem za raztapljanje bolj polarne molekule vode izpodrivajo molekule ZU s površine nosilca, zato v primeru monosloja pride do še hitrejšega raztapljanja kot v primeru večslojnega nanosa učinkovine (36, 37). Zaradi hitrega in učinkovitega izpodrivanja molekul učinkovine s površine poroznega anorganskega nosilca lahko pride do začetnega prenasičenja učinkovine v mediju (25). V nekaterih primerih je bila trenutna koncentracija učinkovine v mediju kar 100-krat večja od nasičene topnosti. Prenasičenju je sledilo obarjanje. Pojav je značilen za TD s poroznimi nosilci in je odvisen od količine ter vrste mezopoznega silikata (38).

Splošno sprejeto mnenje je, da na profil sproščanja učinkovin iz mezoporoznih ogrodiv vplivajo arhitektura in velikost por ogrodja, specifične interakcije med učinkovino in steno por ter struktura vgrajene učinkovine. Ta ogrodja ne nabrekajo, zato je sproščanje običajno regulirano z difuzijo (opišemo ga lahko s Fickovima zakonoma) (23). Če želimo, da se učinkovina hitro sprosti, med molekulami ne sme biti močnih interakcij. Difuzija je hitrejša iz por z večjim premerom, vendar pa je v manjših porah onemogočena tvorba kristalov učinkovine (39). Pore mezoporoznih materialov so namreč zelo majhne (pogosto 2–10 nm premera) in so le nekajkrat večje od dimenzije molekule učinkovine, zato kristalizacija učinkovine v njih ni mogoča (26).

1.2.1 Izdelava trdnih disperzij z mezoporoznimi nosilci

Metode izdelave TD z netopnimi poroznimi nosilci se od metod za izdelavo TD s polimernimi hidrofilnimi nosilci ne razlikujejo bistveno. Ločimo metode z uporabo organskih topil in metode brez njihove uporabe.

Metode z uporabo organskih topil

Kadar TD izdelujemo z laboratorijsko tehniko imerzije ali impregnacije, učinkovino najprej raztopimo v organskem topilu, da dobimo koncentrirano raztopino, nato pa raztopini dodamo porozni nosilec. Zaradi kapilarnega vleka se pore napolnijo z raztopino, molekule učinkovine difundirajo v pore in se adsorbirajo na stene por. V končni fazi topilo odfiltriramo ali centrifugiramo in trdne delce posušimo (25, 39). Volumen uporabljenega organskega topila lahko zmanjšamo na minimum in pripravimo raztopino učinkovine s koncentracijo blizu nasičene topnosti. Na porozni nosilec nanese enak volumen raztopine, kot je volumen por, in topilo odstranimo pri povišani temperaturi (39).

Novejši in tudi industrijsko uporabni metodi sta sušenje z razprševanjem (40) in odparevanje topila pri znižanem tlaku (40). Pri teh tehnikah porozni nosilec omočimo z raztopino učinkovine, topilo pa odstranimo pri povišani temperaturi. V zadnjem času TD z mezoporoznimi nosilci izdelujejo tudi z metodo superkritičnih fluidov (41).

Izbira organskega topila ima pri nalaganju učinkovine v pore pomembno vlogo. Med površino nemodificiranega mezoporoznega SiO₂ in učinkovino so glavne interakcije vodikove vezi. Zelo polarna topila (npr. dimetilsulfoksid) lahko z učinkovino tekmujejo za vezavna mesta na površini silike in zmanjšajo količino naložene ZU v porah. Pri sistematičnem raziskovanju vpliva topila na nalaganje ibuprofena v pore MCM-41 so izbrali topila z različno polarnostjo (dimetilformamid, dimetilacetamid, dimetilsulfoksid,

etanol, heksan) in ugotovili, da bolj kot je topilo polarno, več učinkovine ostane v topilu po vgrajevanju učinkovine z imerzijsko metodo. Polarna topila, kot je dimetilacetamid, favorizirajo interakcijo ibuprofen-topilo in preprečujejo interakcijo ibuprofen-SiO₂, medtem ko manj polarna favorizirajo interakcijo ibuprofen-SiO₂, kar se odraža v večji količini vgrajene učinkovine v pore nosilca (34).

Metode brez uporabe organskih topil

Spontana amorfizacija

Pretvorba učinkovine iz kristalne v amorfno obliko lahko poteka spontano preko plinaste faze, in sicer preko sublimacije učinkovine, ki ji sledi adsorpcija na površino poroznega nosilca. Pretvorba je spontana, saj imajo zaradi velike specifične površine porozni nosilci veliko prosto površinsko energijo. Po adsorpciji molekul učinkovine na porozni material, sistem preide v stanje z nižjo prosto energijo, adsorbirane molekule pa izgubijo kristalnost in so prisotne v amorfni obliki. Hitrost amorfizacije je sorazmerna s parnim tlakom učinkovine. Večji kot je parni tlak, hitrejša je amorfizacija. Proces je hitrejši, kadar poteka pri znižanem tlaku in/ali povišani temperaturi. Zaradi spontanosti pretvorbe in nizke proste energije so takšni sistemi fizikalno stabilni, vendar je metoda primerna predvsem za učinkovine z relativno visokim parnim tlakom (25, 42).

Somletje

Pri procesu somletja z mehansko aktivacijo spremenimo urejeno kristalno strukturo, ne da bi pri tem povzročili pomemben kemijski razpad. Gupta s sodelavci (43) ter Bahl in Bogner (30, 38, 44) so raziskovali amorfizacijo učinkovin pri somletju z mezoporoznimi silikati s krogličnim mlinom. Naredili so fizikalne zmesi kristalne učinkovine in mezoporoznega nosilca ter zmes pri sobni temperaturi mleli določen čas.

V študiji, kjer so indometacin v kombinaciji z različnimi silikati mleli do popolne amorfizacije, so ugotovili, da je njegova topnost v amorfni TD mnogo večja v primerjavi s čistim kristalnim indometacinom. Predvidevajo, da se topnost poveča na račun amorfne oblike učinkovine, določen vpliv pa imajo tudi silicijeva kislina, Mg²⁺ in Al³⁺ ioni v mediju za raztapljanje. Pri sproščanju indometacina iz amorfni TD so opazili značilen vrh v koncentraciji (prenasičenje), ki mu je sledil hiter padec koncentracije zaradi obarjanja učinkovine v mediju za raztapljanje (38).

V študiji Bahla in Bognerja (30), kjer so hkrati mleli indometacin in Neusilin US, so ugotovili, da prisotnost anorganskega nosilca pospeši pretvorbo kristalne ZU v amorfno

obliko, saj zaradi večje sile trenja hitreje pride do motnje oz. spremembe v kristalni mreži učinkovine ter kasneje nalaganja učinkovine na površino Neusilina. Dodaten dejavnik pri amorfizaciji je zmanjšanje aktivacijske energije amorfizacije v prisotnosti mezoporoznega nosilca. Predvidevata, da se med somletjem molekule indometacina na nosilec adsobirajo direktno iz trdnega agregatnega stanja preko vmesne parne faze, na enak način, kot poteka spontana amorfizacija učinkovin v fizikalni zmesi s poroznimi nosilci. Čas, ki je potreben za popolno amorfizacijo učinkovine, je odvisen od količine nosilca oz. specifične površine, in sicer večja kot je, hitreje se učinkovina pretvori v amorfno obliko (30, 38). Povečana relativna vlažnost med mletjem olajša proces amorfizacije, saj vlaga poveča mobilnost molekul učinkovine, zato prej pride do interakcij z Neusilinom (30).

Ne glede na razmerje med indometacinom in Neusilinom US2 (1 : 1, 1 : 4 in 1 : 5) so vzorci zgoraj omenjene študije Bahla in Bognerja (30), ki so izkazovali popolno amorfnost, ostali fizikalno stabilni vsaj 3 mesece pri shranjevanju pri 40 °C in 75-odstotni relativni vlažnosti. Stabilizacija je posledica interakcij med površino nosilca in učinkovino, predvsem tvorbe vodikovih vezi med silanolnimi skupinami Neusilina US2 in karbonilnimi skupinami indometacina ter ion-dipol interakcij med Mg^{2+} ali Al^{3+} ioni na površini Neusilina US2 in karboksilno skupino indometacina. Do stabilizacije zaradi tvorbe soli je prišlo tudi pri hkratnem mletju drugih učinkovin s karboksilno funkcionalno skupino (ketoprofena, naproksena, sulindaka) in Neusilina US2 (43, 45) ter indometacina in kaolina (46). Anorganski silikati imajo v primerjavi z organskimi polimeri torej dodaten način stabilizacije amorfne učinkovine, in sicer preko tvorbe soli.

Adsorpcija talin

Pri tej metodi fizikalno zmes učinkovine in mezoporoznega nosilca segrevamo nad temperaturo tališča učinkovine. Fizikalno zmes lahko segrevamo v zataljeni ampuli (47) ali pa TD izdelamo z industrijsko uporabno metodo iztiskanja talin z uporabo vijachnega ekstrudorja (29). Slabost metode je uporaba visokih temperatur, ki lahko povzročijo razpad učinkovine. Pri učinkovitosti nalaganja učinkovine v pore igra pomembno vlogo viskoznost taline. Kadar je talina bolj viskozna, se učinkovina vgrajuje v širše dele por blizu zunanje površine nosilca, kjer lahko pride do kristalizacije učinkovine med shranjevanjem. Tudi sproščanje iz takšnih FO je počasnejše. Pri talinah z nizko viskoznostjo (npr. ibuprofen) teh slabosti ne opazimo (39).

1.2.2 Izdelava multiplih trdnih disperzij in impregnacija v porozne nosilce

Porozni nosilci zaradi svoje strukture in velike specifične površine dobro adsorbirajo tekočine. V zadnjih letih se v veliki meri raziskuje izdelava dostavnih sistemov, pri katerih na mezoporozni nosilec adsorbiramo učinkovino v tekoči obliki. Iz literature poznamo primere, kjer so na porozne silikatne nosilce adsorbirali talino čiste učinkovine (29, 47), raztopino učinkovine v nehlapnem topilu (48, 49), samoemulgirajoče sisteme (50, 51, 52) ali disperzijo učinkovine v hidrofilnem trdnem nosilcu, kadar je ta v obliki taline (53, 54, 55). Takšne sisteme bi lahko v grobem opisali kot multiple TD. Pojem multiplih TD je izpeljan iz uveljavljenega pojma multiplih emulzij, ki opisuje stanje, ko emulziji dveh vrst, olje v vodi in voda v olju, obstajata v sistemu istočasno in združujeta lastnosti obeh tipov emulzije (56). Pri multipli TD učinkovino najprej raztopimo ali dispergiramo v tekoči pomožni snovi (hidrofilni polimer ali površinsko aktivna snov, talina teh snovi), nato pa z raztopino oz. disperzijo impregniramo drugo pomožno snov (npr. porozno siliko). Dobimo multiplo TD, kjer je raztopina oz. disperzija učinkovine v eni pomožni snovi ujeta znotraj por druge pomožne snovi. Sproščanje iz takšnih sistemov je hitro, saj je učinkovina v večini primerov dispergirana v molekularni obliki.

Sistemi tekoče-trdno (angl. *Liquisolid systems*)

Pri sistemih tekoče-trdno učinkovino v tekoči obliki s preprostim mešanjem z izbranimi praškastimi pomožnimi snovmi (nosilec in delci za oblaganje) pretvorimo v suh prašek z dobrimi pretočnimi lastnostmi in dobro stisljivostjo. Celoten postopek izdelave poteka pri sobni temperaturi. Tekoča komponenta je lahko tekoča oljnata učinkovina, še pogosteje pa raztopina, suspenzija ali emulzija učinkovine v nehlapnem topilu (48). Kot topila običajno uporabljamo organska topila z visokim vreliščem, ki se mešajo z vodo in niso preveč viskozna, npr. tekoče polietilenglikole, propilenglikol, glicerol, Tweene, Spane, Polisorbat 80, Cremophor EL in poloksamer 181 (57). Na nosilec s porozno strukturo se med mešanjem sorbira tekočina in ko je nosilec nasičen s tekočino, se na njegovi površini tvori tanek film tekoče faze. Na tekočinski film se nato adsorbirajo delci za oblaganje, ki imajo veliko adsorpcijsko kapaciteto in nastane suh prašek z dobrimi pretočnimi lastnostmi (58). Kot nosilci se poleg laktoze, škroba in celuloze uporabljajo porozni silikati, npr. Neusilin (58), urejena mezoporozna silika (59) in votle sfere mezoporozne silike (60), saj imajo

veliko sorpcijsko kapaciteto in z njimi lahko dosežemo večjo vsebnost učinkovine. Primerni so tako za nosilce kot za delce za oblaganje (58).

Sproščanje učinkovine iz sistemov tekoče-trdno je pospešeno, ker je učinkovina prisotna v obliki raztopine ali pa je skoraj povsem molekularno dispergirana, poleg tega pa nehlapno topilo izboljša močenje teh sistemov (48, 49, 58). Sproščanje je najhitrejše iz sistemov, ki kot tekočo komponento vsebujejo raztopino učinkovine, saj je tu površina učinkovine, ki je v stiku z medijem, največja (49). Pogosto so opazili, da je sproščanje neodvisno od volumna medija za sproščanje (48, 49). Stabilnostne študije sistemov tekoče-trdno z različnimi učinkovinami so pokazale, da shranjevanje pri različnih pogojih ne vpliva na trdnost in sproščanje iz tablet, narejenih iz teh sistemov, zato je ta tehnologija izboljšanja biološke uporabnosti slabo topnih učinkovin ena izmed najbolj obetavnih. Poleg dobre stabilnosti produkta jo odlikuje enostaven in ekonomsko ugoden postopek izdelave, ki je izvedljiv tudi v industrijskem merilu. Slabost metode je, da lahko vgradimo le majhno količino učinkovine, ta pa je odvisna od topnosti učinkovine v nehlapnem topilu in od specifične površine nosilca (58).

Samoemulgirajoči dostavni sistemi

Samo(mikro)emulgirajoči sistemi (S(M)ES) so po definiciji izotropne zmesi lipidov, emulgatorjev, koemulgatorjev in učinkovine, ki v stiku z vodnim medijem ob rahlem stresanju tvorijo (mikro)emulzijo tipa olje v vodi. Ker je učinkovina tudi v prebavnem traktu v obliki raztopine, se izognemo koraku raztapljanja, ki v primeru slabo topnih učinkovin omejuje absorpcijo (50). V zadnjem času se uveljavlja sorpcija SES na porozne nosilce. Z njo izboljšamo procesne parametre tabletiranja, s čimer se lahko izognemo zapleteni in manj ekonomični izdelavi mehkih želatinskih kapsul s tekočo vsebino. Lipidna formulacija pore adsorbenta delno ali popolnoma zapolni ali pa tvori tanek film na površini adsorbenta. Mesto zadrževanja lipidne formulacije vpliva na pretočne lastnosti, sproščanje in stabilnost sistema (51). Če v nosilec vgradimo majhno količino SES, se učinkovina iz sistemov, kjer ima adsorbent veliko specifično površino, počasneje sprošča, saj je zaradi delovanja kapilarnih sil v tem primeru tekoči SES ujet v porah in se iz njih postopoma sprošča ob stiku z medijem. Med učinkovino in nosilcem se lahko tvorijo vodikove vezi ali šibke interakcije (van der Waalove in Londonove sile), ki povzročijo difuzijo učinkovine proti površini nosilca. Zaradi difuzije učinkovine iz lipidne formulacije na površino nosilca lahko pride do nukleacije, ki je najbolj izrazita pri hidrofobnih učinkovinah s koncentracijo

v SES blizu nasičene topnosti in kadar je SES v obliki tankega filma adsorbiran na površini adsorbenta (51, 52).

Multiple trdne disperzije

Inovativna metoda izboljšanja raztapljanja težko topne učinkovine je uporaba kombinacije tehnik granuliranja s talinami in sorpcije snovi, kjer na segret porozni nosilec med mešanjem v granulatorju po kapljicah dodajamo učinkovino, ki je raztopljena v talini vodotopnega polimera. V več študijah je Gupta s sodelavci (53, 54, 55) raziskoval na ta način narejene granule iz Neusilina US2, učinkovine in polioksiglicerida (Gelucire 50/13) ali polietilenglikola (PEG 8000). Neusilin v tem primeru služi kot adsorbent za talino učinkovine in vodotopnega polimera in izboljša stisljivost ter pretočne lastnosti, kar je običajno problematično pri tabletiranju TD z Geluciom ali s PEG. Poleg tega naj bi amorfnarava Neusilina zmanjšala hitrost pretvorbe dispergirane učinkovine v kristalno obliko in tako stabilizirala disperzijo. V zgoraj omenjenih študijah so opazili, da je v nekaterih primerih prišlo do hitrejšega in obsežnejšega raztapljanja učinkovine po 2 in 4 tednih shranjevanja pri 40 °C in 75-odstotni relativni vlažnosti. Ugotovili so, da je bil delež kristalnosti učinkovine po shranjevanju manjši kot ob času nič. Predvidevajo, da je med shranjevanjem prišlo do difuzije ZU skozi polimerno fazo na površino Neusilina US2, ki ji je sledila stabilizacija amorfnaroblike ZU zaradi tvorbe vodikovih vezi s silanolnimi skupinami magnezijevega aluminometasilikata. Hitrost tega procesa je odvisna od topnosti ZU v polimeru, temperature tališča evtektične zmesi učinkovine in polimera ter od viskoznosti taline polimera. V študiji, kjer so granule naredili iz težko vodotopne učinkovine z oznako BAY 12-9566, Gelucira 50/13 in Neusilina US2, so opazili, da ima na sproščanje ZU iz granul večji vpliv količina vodotopnega polimera kot specifična površina adsorbenta, na sproščanje pa vpliva tudi vsebnost učinkovine. Več kot je učinkovine v granulah, počasnejše je sproščanje, vendar pa je to morda povezano tudi s hkratnim zmanjšanjem količine Gelucira in Neusilina v natehti za sproščanje (53).

Podoben princip izdelave multiplih TD je opisan v diplomskem delu Maruše Cvek, ki je izdelovala TD karvedilola z različnimi vodotopnimi polimeri (PEG 400, PEG 4000, Tween 80) in poroznim SiO₂ (Syloid 244 FP). Na porozni adsorbent je dodala manjši volumen raztopine učinkovine v vodotopnem polimeru kot je volumen por Syloida 244 FP. Iz vseh TD se je učinkovina sproščala v večjem obsegu in hitreje v primerjavi z njeno kristalno obliko (61).

2 NAMEN DELA

Namen diplomskega dela je izboljšati hitrost raztapljanja slabo topne modelne učinkovine (karvedilola), ki spada v razred II po BCS klasifikaciji zdravil. Trdne disperzije (TD) karvedilola bomo izdelali s tremi različnimi metodami. Proučevali bomo sproščanje učinkovine iz trdnih disperzij ter njihovo fizikalno stabilnost. Vzorce bomo analizirali ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C in 75-odstotni relativni zračni vlagi (RH).

Z metodama somletja in odparevanja topila pri znižanem tlaku bomo izdelali trdne disperzije karvedilola z mezoporoznim silikatnim nosilcem Neusilin US2. Naš cilj je pripraviti fizikalno stabilno amorfnu obliko učinkovine v porah nosilca. Spreminjali bomo razmerje med učinkovino in nosilcem (1 : 1 in 1 : 2) in čas mletja oz. temperaturo, pri kateri topilo odpareva. Proučevali bomo, kako na sproščanje in fizikalno stabilnost vplivajo količina nosilca in procesni parametri. Raziskati želimo, ali med učinkovino in nosilcem nastanejo specifične interakcije, kakšna je pretvorba kristalne učinkovine v amorfnu obliko med izdelavo TD in kako način izdelave ter procesni parametri vplivajo na stabilnost amorfne oblike učinkovine. Rezultate bomo primerjali s kristalno in z amorfnu obliko učinkovine ter njenimi fizikalnimi zmesmi z Neusilinom US2.

Da bi izboljšali raztapljanje karvedilola, bomo raziskali inovativno metodo izdelave multiplih TD karvedilola s polietilenglikolom (PEG) in z Neusilinom US2. Metoda izdelave je podobna granuliranju s talinami, njena prednost pa je predvsem hitra in enostavna izdelava. Izdelali bomo raztopino ali suspenzijo karvedilola v PEG in jo nato pri povišani temperaturi sorbirali na mezoporozni nosilec. Variirali bomo koncentracijo učinkovine v PEG in volumen taline, ki jo bomo sorbirali na nosilec. Pripraviti želimo stabilno TD s čim večjo vsebnostjo učinkovine. Ovrednotili bomo vplive koncentracije učinkovine v PEG, volumna sorbirane disperzije in vrste PEG na sproščanje učinkovine ter fizikalno stabilnost disperzije. Rezultate bomo primerjali s fizikalnimi zmesmi in z disperzijami karvedilola v PEG. Ovrednotiti želimo, ali je učinkovina prisotna v kristalni ali amorfnu obliki in ali so med učinkovino in pomožnimi snovmi prisotne specifične interakcije.

3 EKSPERIMENTALNO DELO

3.1 MATERIALI

Modelna učinkovina:

- karvedilol (Krka, Slovenija).

Pomožne snovi:

- Neusilin[®] US2 (Fuji, Japonska),
- PEG 400 (Fluka analytics, Švica),
- PEG 1500 (Merck, Nemčija).

Topila in reagenti:

- aceton, CH₃COCH₃ (Merck, Nemčija),
- metanol, MeOH (Merck, Nemčija),
- prečiščena voda,
- natrijev dihidrogenfosfat monohidrat, NaH₂PO₄×H₂O (Merck, Nemčija),
- natrijev hidroksid, NaOH (Merck, Nemčija),
- klorovodikova kislina, HCl - 37 % (Merck, Nemčija),
- natrijev klorid, NaCl.

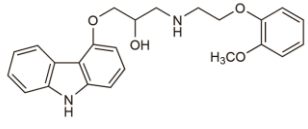
Laboratorijski pribor:

- steklovina (čase, merilni valji, epruvete, bučke, bučke za rotavapiranje, čolnički za tehtanje...),
- pipete,
- steklene in plastične kapalke,
- patena,
- brizge, igle,
- termometer,
- filtri Minisart[®] RC 25 0,45μm (Sartorius, Nemčija),
- filtri Minisart[®] SRP 25, PTFE 0,20μm (Sartorius, Nemčija),
- parafilm (Pechiney Chichago, USA),
- ura,
- eksikator.

3.1.1 Modelna učinkovina

KARVEDILOL je antihipertenzivna ZU (neselektivni zaviralec receptorjev beta) in spada med ariletanolamine (62). Njegovi osnovni podatki v preglednici I.

Preglednica I: Osnovni podatki za karvedilol.

IUPAC kemijsko ime	(2RS)-1-(9H-karbazol-4-iloksi)-3-[[2-(2-metoksifenoksi)etilamino]propan-2-ol
Strukturna formula	 (63)
Molekulska masa	406,5 g/mol (63)
Topnost v vodi	0,583 mg/ml (39)
Porazdelitveni koeficient	logP = 4,115 (64)
Kislinsko-bazične lastnosti	pK _a = 7,9 in 8,25 (65)
BCS razred	II

Farmakopeja opisuje karvedilol kot bel ali skoraj bel kristalen prašek. Izkazuje polimorfizem in je praktično netopen v vodi, težko topen je v alkoholu in praktično netopen v razredčenih kislinah (63). Topnost karvedilola je odvisna od pH. Pri sobni temperaturi pri pH > 9,0 je njegova topnost manjša od 1 µg/ml, pri pH 7 je 23 µg/ml, pri pH 5 pa 100 µg/ml. Topnost v vodnih raztopinah s pH med 1 in 4 je omejena zaradi njegove protonacije. Nastane kloridna sol, ki ima zaradi učinka skupnega iona nižjo topnost v primerjavi s karvedilolom v medijih s kloridnimi ioni (66). Karvedilol se nahaja v več polimorfni oblikah, poleg tega pa tvori tudi solvate. Njegove oblike so predstavljene v preglednici II (67).

Preglednica II: Polimorfne oblike in solvati karvedilola, povzeto po (67).

Oblika karvedilola	DSC odziv
oblika I	temperatura tališča 123–126 °C
oblika II	temperatura tališča 114–115 °C
oblika III	temperatura tališča 92–95 °C, nato rekristalizacija pri 105 °C, 114 °C (temperatura tališča oblike II)
oblika IV	temperatura tališča 104 °C
oblika V	67 °C (rekristalizacija), 115 °C (tališče)
oblika VII	73 °C (polimorfna modifikacija v obliko II), 114 °C (temperatura tališča oblike II)
Oblika IX (tudi modifikacija v obliki hemihidrata – izgubi vodo nad 60 °C)	94,5–96,2 °C ALI 80 °C (manjši vrh) in 99 °C (95 °C) (večji vrh)
Karvedilol solvat VI	74 °C (glavni vrh) in 112 °C (manjši vrh)
Karvedilol hemihidrat	94–96 °C

Farmakodinamične in farmakokinetične lastnosti

Karvedilol je neselektivni kompetitivni zaviralec adrenergičnih receptorjev β z vazodilatacijskim učinkom, izkazuje pa tudi antioksidativne in šibke antiproliferativne učinke (62, 68). Je racemat dveh stereoizomerov, ki se med seboj razlikujeta po učinkih in po presnovi. Enantiomer $S(-)$ zavira adrenergične receptorje β in s tem znižuje arterijski krvni tlak ter zmanjšuje srčno frekvenco in minutni volumen srca. Receptorje α_1 zavirata tako $R(+)$ kot $S(-)$ izomer in povzročata periferno vazodilatacijo in zmanjšata sistemski žilni upor (68). Uporablja se pri zdravljenju hipertenzije in angine pectoris, kot dodatna terapija pri kongestivnem srčnem popuščanju in zmanjšuje smrtnost bolnikov z disfunkcijo levega ventrikla po miokardnem infarktu. Pri zdravljenju hipertenzije je začetni odmerek 12,5 mg enkrat dnevno, ki ga po dveh dneh povečamo na 25 mg enkrat dnevno (69).

V GIT se hitro absorbira (absorpcija je upočasnjena s hrano), vendar je zaradi obsežnega metabolizema prvega prehoda v jetrih in slabe topnosti v gastrointestinalnih tekočinah njegova biološka uporabnost nizka, običajno manjša od 30 %. Obsežen metabolizem prvega prehoda je tudi vzrok za spremenljive plazemske koncentracije (62, 69, 70). Karvedilol je zelo lipofilna učinkovina in se močno veže na plazemske proteine (več kot 98 %). Metabolizem v jetrih poteka preko citokroma P450 (izoencima CYP2D6 in CYP2C9), presnovki se večinoma izločajo z žolčem (69).

3.1.2 Mezoporozni silikatni nosilec Neusilin[®] US2

Neusilin[®] US2 je amorfen granulat bele barve s porozno strukturo. Kemijsko je Neusilin magnezijev aluminometasilikat, njegova kemijska formula je $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{MgO} \cdot 1,7\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$. Granule so okrogle oblike z velikostjo od 44 do 177 μm , specifična površina je 300 m^2/g , povprečna velikost por pa 15 nm. Dobro adsorbira olja in vodo, njegova adsorpcijska kapaciteta je približno 3 ml/g. Neusilin US2 je praktično netopen v vodi, pH 4-odstotne raztopine v vodi pa je 7,4, kar kaže na njegove nevtralne lastnosti (71). Na površini Neusilina je več različnih tipov silanolnih skupin, ki se lahko obnašajo kot donorji ali akceptorji protonov in lahko tvorijo vodikove vezi z drugimi spojinami (30). Zaradi svojih fizikalno-kemijskih lastnosti Neusilin US2 in druge oblike Neusilina uporabljamo kot pomožno snov pri direktnem tabletiranju, za izboljšanje pretočnih lastnosti in preprečevanje zlepljanja higroskopskih praškov, kot stabilizator in antacid. Neusilin je komercialno na voljo v različnih oblikah, ki se med seboj razlikujejo po obliki delcev, nasipni gostoti, vsebnosti vode in pH suspenzije (71).

3.2 NAPRAVE

- Tehnica A&D Instruments LTD, GH-300-EC, Italija
- Analizna tehnica Mettler Toledo AG 245, Švica
- Analizna tehnica Mettler Toledo XS DualRange, Švica
- Vibracijski mlin Pulverisette 0, Fritsch, Nemčija
- pH meter pH METER, Mettler Toledo MA235, Švica
- Naprava za preskus sproščanja Erweka DT6, Nemčija
- Magnetno mešalo IKA-RO 15 power, Nemčija
- Magnetno mešalo z grelcem IKA RCT basic, Nemčija
- Stresalnik Vibromix 313 EVT, Tehnica, Slovenija
- Ultrazvočna kadička Sonis4, Iskra Pio, Slovenija
- Merilec temperature Voltcraft IR 1200-50D
- Diferenčni dinamični kalorimeter Mettler Toledo Differential Scanning Calorimeter DSC1, opremljen s programsko opremo STARe Software v9.30, Švica
- Spektrofotometer Hewlett Packard, HP 8453, UV-Visible spectroscopy system, Nemčija
- Vrstični elektronski mikroskop SEM Supra 35 VP, Carl Zeiss, Nemčija
- Naprava za merjenje specifične površine in poroznosti TriStar 300 s programsko opremo V4.00, Micrometrics, ZDA
- IR spektrofotometer Thermo Nicolet SMART DuraSamplIR, Nexus FT-IR s programsko opremo Omnia 5.2
- Rentgenski praškovni difraktometer Siemens D5000, Siemens, Nemčija

3.3 METODE

Določanje nasičene topnosti učinkovine v mediju za sproščanje

S polnilno pipeto smo odmerili 25 ml medija, ga prenesli v erlenmajerico z obrusom in dodali presežno količino karvedilola (približno 40 mg). Vzorce smo 48 ur mešali na stresalniku pri sobni temperaturi, da se je vzpostavilo ravnotežje. Vzorce smo filtrirali skozi filter Minisart® SR 0,45µm. Nasičeno topnost smo določali spektrofotometrično pri valovni dolžini 332 nm v kiveti iz kvarčnega stekla s potjo žarka 1,0 cm. Koncentracijo smo določili na osnovi umeritvene premice in za izračun upoštevali povprečje treh meritev.

Določitev specifične površine, premera in volumna por Neusilina US2

Merjenje specifične površine Neusilina US2 smo izvedli na Kemijskem inštitutu z napravo Micrometrics TriStar 3000 s programsko opremo V4.00. Naprava omogoča merjenje specifične površine in poroznosti s tehniko plinske adsorpcije dušika. Med 15 in 25 mg vzorca Neusilina US2 smo pred analizo čez noč sušili v vakuumskem sušilniku pri sobni temperaturi. Meritev smo izvedli pri temperaturi 77 K. Specifično površino Neusilina US2 smo izračunali iz podatkov o adsorpciji v intervalu relativnega tlaka od 0,05 do 0,3 z uporabo večtočkovne enačbe Brunauer-Emmett-Teller (BET). Celokupen volumen por smo ocenili s pomočjo t. i. »t-plot« metode po Lippensu in de Boeru.

3.3.1 Izdelava amorfne oblike karvedilola

Karvedilol smo v kovinski pateni segrevali na kopeli iz silikonskega olja, segreti na 130 °C. Ko se je ves karvedilol stalil, smo pateno prelili s tekočim dušikom. Karvedilol smo nato zdrobili s pestilom in vzorec takoj analizirali.

3.3.2 Izdelava trdnih disperzij karvedilola z Neusilinom US2

Priprava fizikalne zmesi

Pripravili smo zmesi modelne učinkovine karvedilola in porozne pomožne snovi Neusilina US2 v enakih masnih razmerjih kot kasneje vzorce izdelane s somletjem oz. z odparevanjem topila pri znižanem tlaku (1 : 1 in 1 : 2). Zatehtane količine snovi smo prenesli v pateno in s spatulo mešali 5 minut. Na enak način smo pripravili mleto fizikalno zmes v masnem razmerju 1 : 1, pri čemer smo predhodno posebej 30 minut mleli karvedilol in Neusilin US2 in fizikalno zmes amorfne oblike karvedilola in Neusilina US2.

Izdelava trdnih disperzij s somletjem



Slika 4: Vibracijski mlin Pulverisette 0, Fritsch

Natehtali smo ustrezno količino karvedilola in Neusilina US2 s skupno maso 600 mg, ju prenesli v možnar in s spatulo premešali tako, da smo dobili na videz homogeno zmes.

Zmes smo mleli z mlinom Pulverisette 0 (slika 4), pri čemer smo spreminjali le čas mletja. Vzorce smo do analiz shranjevali v eksikatorju. Preglednica III prikazuje sestavo praškov z oznakami vzorcev in čas mletja.

Preglednica III: Pregled sestave vzorcev in časa mletja.

Vzorec	Masno razmerje karvedilol : Neusilin US2	Čas mletja
M1:1 120min	1 : 1	120 min
M1:1 240min	1 : 1	240 min
M1:1 24h	1 : 1	24 h
M1:2 120min	1 : 2	120 min
M1:2 240min	1 : 2	240 min
M1:2 24h	1 : 2	24 h

Vibracijski mlin Pulverisette 0 melje vzorce z udarjanjem krogle ob steno možnarja ter s trenjem, ki pri tem nastaja. Možnar s pomočjo elektromotorja vertikalno oscilira z veliko amplitudo in frekvenco. Njegovo elektromagnetno vibriranje se prenaša na mleto snov in kroglo mlina ter obratno. Na začetku mletja je zmanjšanje grobih delcev posledica udarcev krogle ob vzorec, kasneje pa se fini delci zmanjšujejo zaradi njihovega drgnjenja med kroglo in dnom možnarja. Energijo trka krogle ob možnar lahko poljubno nastavimo, kar omogoča precizno prilagajanje razmer mletja, pokrov možnarja pa preprečuje izgubo vzorca (72).

Izdelava trdnih disperzij z odparevanjem topila pri znižanem tlaku

Pri izdelavi TD z metodo odparevanja topila pri znižanem tlaku smo kot topilo uporabili aceton. Natehtali smo 1,0 g učinkovine, jo raztopili v 50 ml acetona in dodali ustrezno količino Neusilina US2. Topilo smo s pomočjo rotacijskega vakuumskega uparjevalnika (rotavaporja) in vodne črpalke odpareli do suhega. Bučka se je vrtela s hitrostjo 50 obratov na minuto, končni tlak je bil 25 mbar. Vodna kopel je bila termostatorirana na 40 oz. 60 °C. Sestava in temperatura izdelave TD so v preglednici IV.

Preglednica IV: Pregled sestave vzorcev in temperature izdelave TD, izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku

Vzorec	Masa učinkovine (g)	Masa Neusilina US2 (g)	Masno razmerje učinkovina:Neusilin US2	Temperatura vodne kopeli (°C)
R1:1 40°C	1,00	1,00	1 : 1	40
R1:1 60°C		1,00	1 : 1	60
R1:2 40°C		2,00	1 : 2	40
R1:2 60°C		2,00	1 : 2	60

3.3.3 Izdelava trdnih disperzij karvedilola s polietilenglikolom in Neusilinom US2

Ocena topnosti modelne učinkovine v polietileglikolu

Topnost karvedilola v PEG pri različnih temperaturah smo ocenili vizualno. V čašo smo natehtali 10 g PEG in čašo postavili v termostatisirano vodno kopel. Med mešanjem vsebine z magnetnim mešalom smo dodajali karvedilol in vizualno ocenili, kdaj se ves raztopi. Topnost smo določali pri temperaturah 25, 60 in 70 in 90 °C. Raztopinam z nasičeno koncentracijo pri posamezni temperaturi smo z merilnim valjem določili volumen. Na podlagi topnosti smo določili temperaturo izdelave multiplih TD. Odločili smo se, da disperzije izdelamo pri temperaturi, pri kateri je topnost karvedilola dovolj velika, da v končni formulaciji dosežemo želene odmerke, obenem pa učinkovine temperaturno močno ne obremenimo.

Izdelava multiplih trdnih disperzij



Slika 5: Izdelava TD karvedilola s polietilenglikolom in Neusilinom US2

Pripravili smo disperzije (raztopine in suspenzije) z različnimi koncentracijami karvedilola v PEG. Na vodni kopeli s temperaturo 70 oz. 90 °C smo talini PEG dodali ustrezno količino učinkovine tako, da je bil končni volumen disperzije 5,0 ml. Disperzije smo mešali s stekleno palčko, da se je raztopila kar največja količina učinkovine. V primeru raztopin se je raztopil ves karvedilol, pri suspenzijah pa je del karvedilola ostal neraztopljen, saj je dodana količina karvedilola presegla njegovo topnost v PEG pri

temperaturi izdelave. Da bi odstranili vlago v Neusilinu US2, smo ga pred izdelavo multiplih TD 2 uri sušili v sušilniku pri temperaturi 120 °C. V stekleno bučko smo nato natehtali 3,0 g Neusilina US2 in ga na kopeli iz silikonskega olja segrevali do temperature, ki je bila za 10 °C višja od temperature disperzij učinkovine v PEG. Temperaturo nosilca smo preverili z infrardečim termometrom. Na segret Neusilin US2 smo med mešanjem z magnetnim mešalom pri hitrosti 400 min⁻¹ po kapljicah dodajali disperzijo taline segreto na 70 oz. 90 °C (slika 5). Ko smo dodali ustrezen volumen disperzije (0,5 ml/1 g Neusilina US2, 1,0 ml/1 g Neusilina US2 ali 1,5 ml/ 1g Neusilina US2), smo vzorec na silikonski kopeli mešali še 5 minut, nato pa ga dvignili iz kopeli in ga pustili, da se med mešanjem pri nižjih obratih pri sobni temperaturi ohlaja 15 minut. Vzorce smo analizirali naslednji dan. V preglednici V je podana sestava izdelanih vzorcev. V kolikor ni drugače označeno, so TD izdelane z raztopinami karvedilola v PEG.

Preglednica V: Vzorci TD karvedilola s PEG in Neusilinom US2

	70°C						90°C	
	PEG 400			PEG 1500			PEG 400	
	Volumen dodane disperzije (ml/g Neusilina US2)							
Koncentracija disperzije (mg/ml)	0,5	1,0	1,5	0,5	1,0	1,5	0,5	1,0
50		X						
100		X						
200	X	X	X	X	X	X		
300	X	X		X	X			
400		X*						
600		X*					X	X

* suspenzija ZU

Poimenovanje vzorcev je predstavljeno na primeru vzorca PEG400-200-1,0A. V prvem delu (PEG400) je navedena pomožna snov v kateri smo pripravili disperzijo karvedilola, drugo število (200) predstavlja koncentracijo karvedilola v disperziji v mg/ml, tretje število (1,0) pa predstavlja volumen disperzije v ml, ki smo jo nanesli na 1 g Neusilina US2. Oznaka A pomeni, da je bila disperzija izdelana pri temperaturi 70 °C, B pa pri 90 °C. Z zvezdico (*) so označeni vzorci, pri katerih smo na Neusilin US2 sorbirali suspenzijo ZU v PEG.

Priprava fizikalnih zmesi

Natehtali smo enake količine karvedilola, Neusilina US2 in PEG, kot so v multipli TD s koncentracijo raztopine 100 mg/ml in volumnom sorbirane disperzije 1,0 ml/1g Neusilina

US2 (vsebnost karvedilola je 4,3 %). Vse tri komponente smo s pestilom v pateni nežno mešali 5 minut.

3.3.4 Vrednotenje trdnih disperzij

Diferenčna dinamična kalorimetrija (DSC)

Termično analizo vzorcev TD, čistega karvedilola in njegovih fizikalnih zmesi z Neusilinom US2 smo izvedli z diferenčnim dinamičnim kalorimetrom Mettler-Toledo Differential Scanning Calorimeter DSC1, opremljenim s programsko opremo STARe Software v9.30. 5–10 mg vzorca smo natehtali v aluminijasti lonček in ga hermetično zaprli. Vzorce smo segrevali od 0 do 131 °C s hitrostjo 5,00 K/min. Meritve so bile narejene v dušikovi atmosferi s pretokom dušika 40,0 ml/min. Naprava je bila umerjena z indijem.

Rentgenska praškovna difrakcija (X-RPD)

Vzorce TD karvedilola s PEG in Neusilinom US2 smo analizirali na Kemijskem inštitutu z rentgenskim praškovnim difraktometrom Siemens D-5000 z uporabo $\text{CuK}\alpha$ radiacije. Podatke smo zbrali med 5 ° in 40 ° v korakih po 0,033 °.

Infrardeča spektroskopija s Fourierjevo transformacijo (FT-IR)

IR-spektre vzorcev smo posneli s spektrofotometrom Thermo Nicolet SMART DuraSamplIR, Nexus FT-IR z uporabo metode ATR (ang. *Attenuated Total Reflectance* – oslABLjena popolna odbojnost) in diamantnega kristala s pomočjo računalniškega programa Omnia 5.2. Meritve smo naredili brez predpriprave vzorcev, pri sobni temperaturi. Vsak spekter je sestavljen iz 32 zaporednih meritev pri spektralni ločljivosti 4 cm^{-1} . Spekter smo posneli v območju 4000–500 cm^{-1} .

Morfologija delcev (SEM)

Morfologijo delcev smo proučevali z vrstično elektronsko mikroskopijo (SEM). Vzorce smo nalepili na dvostranski ogljikov lepilni trak in jih nato analizirali z vrstičnim elektronskim mikroskopom SEM Supra 35 VP pri napetosti 1 kV. Opazovali smo morfologijo delcev kristalne oblike karvedilola, Neusilina US2 in nekaterih multiplih TD.

Določanje vsebnosti učinkovine

Natehtali smo točno določeno količino vzorca, ki je vsebovala približno 10 mg karvedilola, ga prenesli v 250 ml bučko in z metanolom dopolnili do oznake. Bučko smo tesno zaprli s parafilmom, jo za 15 minut postavili v ultrazvočno kadičko, nato pa dve uri mešali na

magnetnem mešalu. Odvzeli smo 10 ml vzorca in ga prefiltrirali skozi membranski filter Minisart® SRP 25, PTFE 0,20 µm. Vsebnost učinkovine v disperziji smo določali spektrofotometrično pri valovni dolžini 332 nm v kiveti iz kvarčnega stekla s potjo žarka 1,0 cm. Koncentracijo smo določili na osnovi umeritvene premice učinkovine v metanolu in za izračun vsebnosti upoštevali povprečje treh meritev.

Priprava medijev za preskus sproščanja

Klorovodikova kislina s pH 1,2

V 1000-mililitrsko bučko smo nalili približno 900 ml prečiščene vode in v digestoriju dodali 8,5 ml koncentrirane klorovodikove kisline. Bučko smo nato s prečiščeno vodo dopolnili do oznake in premešali.

Fosfatni pufer s pH 6,8

V 1000-mililitrsko bučko smo nalili približno 950 ml prečiščene vode in vanjo prenesli 6,0 g Na₂HPO₄ × H₂O. pH pufrske raztopine smo uravnali z raztopino NaOH (10 g/100 ml) in s prečiščeno vodo dopolnili do oznake.

Preskus sproščanja

Preskus sproščanja smo izvedli po Ph. Eur. 7th Ed., poglavje 2.9.3 (73). Uporabili smo napravo Erweka DT 6 z vesli. V preskusu smo vrednotili sproščanje učinkovine iz vsaj dveh paralel vsakega vzorca TD. Količina vzorca za preskus sproščanja je vsebovala 25 mg modelne učinkovine, kar ustreza enkratnemu odmerku. Primerjalno smo raztapljali tudi 25 mg čiste učinkovine in fizikalne zmesi, ki so vsebovale 25 mg učinkovine.

Čisto učinkovino smo raztapljali v dveh medijih, v klorovodikovi kislini s pH 1,2 in v fosfatnem pufru s pH 6,8. Vzorce fizikalnih zmesi in TD smo zaradi večje diskriminatornosti medija raztapljali le v fosfatnem pufru s pH 6,8. V tem primeru pri preskusu sproščanja »sink« pogoji niso zagotovljeni, vendar so ravno zaradi slabše topnosti učinkovine v tem mediju, razlike v sproščanju učinkovine med vzorci bolj vidne. »Sink« pogoji so zagotovljeni, kadar v mediju za sproščanje končna koncentracija učinkovine ne preseže ene tretjine nasičene topnosti učinkovine v mediju. V tem primeru raztapljanje ni omejeno s topnostjo.

Vzorce smo z ročno brizgo (10 ml) in iglo odvezemali v časovnih točkah 1, 2, 3, 5, 10, 15, 30, 45, 60 in 120 min in jih takoj filtrirali skozi filter Minisart® SR 0,45 µm. V primeru 24-urnega sproščanja smo dodali še točke vzorčenja ob časih 3, 4, 6, 8 in 24 ur. Volumna odvzetega vzorca nismo nadomeščali, zato smo odvzete vzorce upoštevali pri izračunu

profila sproščanja učinkovine. Koncentracijo učinkovine smo določali spektrofotometrično pri valovni dolžini 332 nm na osnovi umeritvene premice za vsak medij. Absorbanco vzorcev smo pomerili v kiveti iz kvarčnega stekla in potjo žarka 1,0 cm. Začetni volumen medija je bil 900 ml, njegova temperatura $37 \pm 0,5$ °C, hitrost vrtenja mešal pa 50 obratov na minuto.

3.3.5 Preskus fizikalne stabilnosti

Preskus fizikalne stabilnosti trdnih disperzij

Z namenom proučevanja fizikalne stabilnosti smo vzorce TD in fizikalnih zmesi za 6 tednov izpostavili povišanima zračni vlagi in temperaturi (40 °C, 75-odstotna relativna zračna vlaga). Vzorce amorfne karvedilola in fizikalne zmesi amorfne karvedilola in Neusilina US2 smo enakim razmeram izpostavili za 1 teden. Pri izbiri razmer smo sledili smernicam ICH za pospešene preskuse stabilnosti, ki predpisujejo temperaturo 40 ± 2 °C in 75 ± 5 % relativne zračne vlage (RH) (74). Razmere smo zagotavljali v električnem sušilniku z nasičeno raztopino NaCl. Vzorce smo po 6 tednih analizirali z DSC- in IR-analizo, preverili pa smo tudi spremembo sproščanja učinkovine.

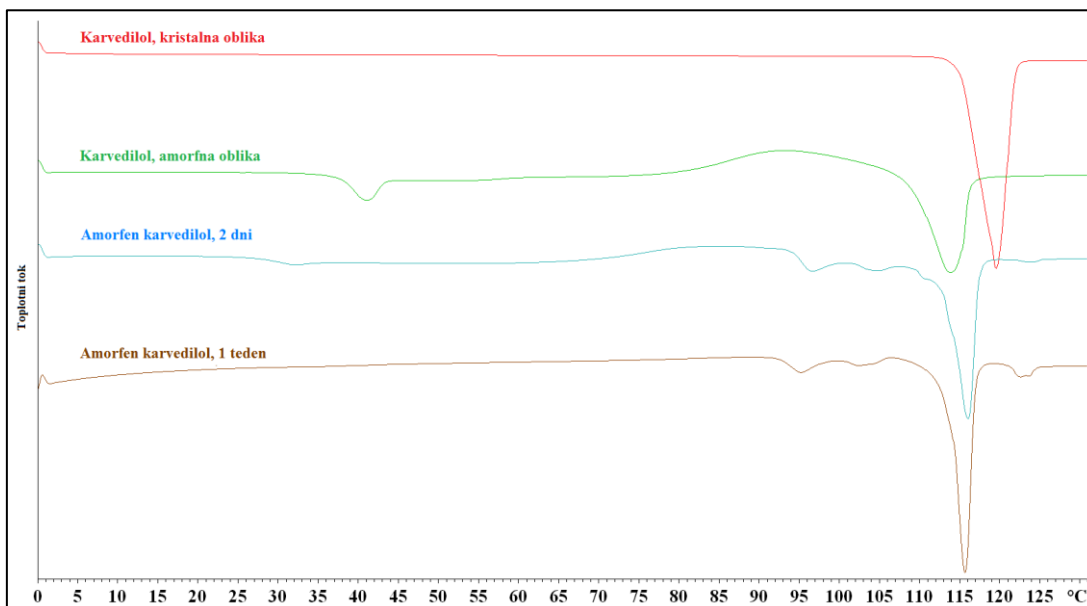
Preskus stabilnosti raztopin in suspenzij učinkovine v PEG400

V steklenih čašah z volumnom 50 ml smo pripravili raztopine in suspenzije karvedilola v PEG 400 s koncentracijami 80, 2.000, 4.000 in 6.000 mg/10 g PEG 400. Na vodni kopeli s temperaturo 70 °C smo segreli PEG 400, dodali ustrezno natehto karvedilola in mešali na magnetnem mešalu, da se je raztopila vsa oz. maksimalna količina učinkovine. Ko so se disperzije ohladile na sobno temperaturo, smo jih postavili v komoro za izvajanje pospešenih preskusov stabilnosti (40 °C/75 % RH). Disperzije smo opazovali ob časih 0, 2, 4 in 6 tednov. Disperzije, pri katerih vizualno nismo zaznali kristalizacije učinkovine, smo za 6 tednov izpostavili še sobnim razmeram in razmeram v hladilniku (4 °C) ter opazovali spremembe.

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 FIZIKALNO-KEMIJSKE LASTNOSTI MODELNE UČINKOVINE

Rezultati diferenčne dinamične kalorimetrije

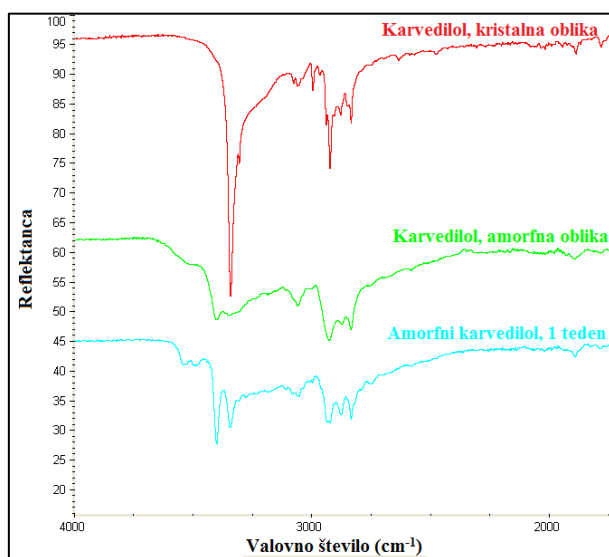


Slika 6: DSC-krivulje izhodnega kristalnega karvedilola, amorfne oblike karvedilola in amorfne oblike, shranjene 2 dni oz. 1 teden pri 40 °C/75 % RH

Na sliki 6 so DSC-krivulje kristalne in amorfne oblike karvedilola ter amorfne oblike, shranjene 2 dni oz. 1 teden pri 40 °C in 75 % RH. Na DSC-krivulji kristalne oblike karvedilola vidimo oster endotermni vrh pri temperaturi okrog 115 °C, ki je značilni talilni vrh polimorfne oblike II. Na DSC-krivulji amorfne oblike karvedilola pri temperaturi okrog 39 °C opazimo endotermni vrh steklastega prehoda amorfne oblike, ki mu sledi eksotermni proces rekristalizacije v polimorfno obliko II z začetkom pri približno 85 °C. Temperatura steklastega prehoda amorfne oblike karvedilola se sklada s podatki iz literature (75). Po dveh dneh shranjevanja amorfne oblike karvedilola je temperatura steklastega prehoda (T_g) pri 32 °C, torej pri nižji temperaturi kot ob času 0 in ima manjšo intenziteto. Znižanje T_g je verjetno povzročila adsorpcija vlage v vzorec, ki poveča mobilnost molekul. Po 1 tednu steklastega prehoda na opazimo več, predvidevamo, da je ves amorfni karvedilol kristaliziral v več polimorfnih oblik, in sicer v oblike I, II in III. Na krivulji vzorca amorfne oblike karvedilola, shranjenega 2 dni, vidimo eksotermno rekristalizacijo med 70 °C in 90 °C s sledečim talilnim vrhom pri temperaturi 95 °C, ki mu

sledita talilna vrhova pri 105 °C in 115 °C (temperatura tališča oblike II). Ti termični podatki se skladajo s podatki iz literature za obliko DSC-krivulje polimorfne oblike III, ki jo med drugim lahko pripravimo tudi s kristalizacijo iz vode (76, 77). Poleg teh vrhov vidimo še manjši endotermni vrh pri 110 °C in manjši vrh pri 123 °C, ki je značilen za polimorfno obliko I. Oblika DSC-krivulje amornega karvedilola po 1 tednu shranjevanja je podobna, le da rekristalizacije med 70 °C in 90 °C ne opazimo. Vzorec uprašenega amornega karvedilola se je med shranjevanjem pri temperaturi, podobni T_g karvedilola, zлил po dnu vsebnika in nastala je ravna ploskev, zaradi česar je bila površina, ki je bila izpostavljena povišani vlagi, manjša kot na začetku.

FT-IR spektrofotometrična analiza karvedilola



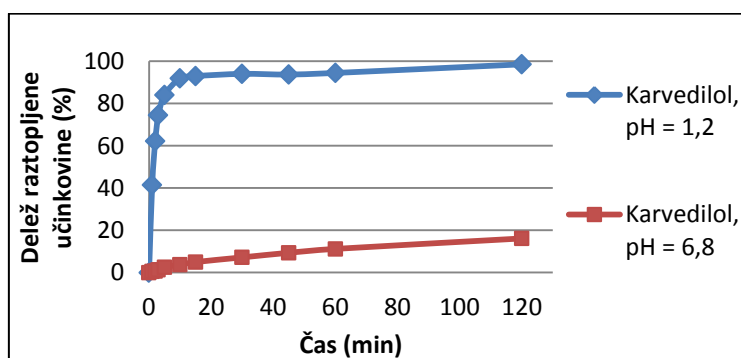
Slika 7: FT-IR-spektri kristalne in amorfne oblike karvedilola ter amornega karvedilola, shranjenega 1 teden pri 40 °C/75 % RH

Posneli smo IR-spekter kristalne in amorfne oblike karvedilola (slika 7). V splošnem ima IR spekter amorfne oblike učinkovine širše vrhove v primerjavi s kristalno obliko. Vzrok za ta pojav je pomanjkanje urejenosti dolgega reda in možnost pojava različnih molekulskih konformacij in intermolekulskih ureditev pri amorfni obliki. Ker se vrhovi kristalne in amorfne oblike karvedilola razlikujejo le do valovne dolžine 2500 cm^{-1} , je na sliki 7 le ta izsek. Kristalna oblika karvedilola ima značilne vrhove pri sledečih valovnih dolžinah: 3341,7 cm^{-1} (vzdolžno nihanje vezi O-H in N-H, združeno v en vrh), 2923, 2880 in 2835 cm^{-1} (vzdolžno nihanje vezi C-H), 1589,2 cm^{-1} (prečno nihanje vezi N-H), 1251,2 cm^{-1} (prečno nihanje vezi O-H in vzdolžno nihanje vezi C-O). Amorfna oblika karvedilola ima vrh, značilen za vzdolžno nihanje vezi O-H in N-H, razcepljen in razširjen (vzrok za ta

pojav je lahko interferenca vlage). Značilna vrhova sta tako pri 3400,5 in 3340,3 cm^{-1} . Ostali karakteristični vrhovi so skoraj identični kot pri kristalni obliki. V območju prstnega odtisa (1000–400 cm^{-1}) sta oba spektra praktično enaka, kar kaže na to, da je simetrija molekule ohranjena tudi, kadar je učinkovina v amorfni obliki (75)

Na sliki 7 vidimo, da se v IR-spektru karvedilola po 1 tednu shranjevanja pri 40 °C in 75 % RH pojavijo ostri vrhovi pri 3540, 3487 in 3401 cm^{-1} , ki so značilni za polimorfno obliko III (77). Oster vrh pri 3401 cm^{-1} ne pripada amorfni obliki, saj so za njo značilni razširjeni vrhovi. Vrh pri 3342 cm^{-1} je značilen za izhodno kristalno obliko karvedilola in se v IR spektru polimorfne oblike III ne pojavi. Ostali vrhovi so enaki kot pri izhodnem kristalnem karvedilolu. Na podlagi IR-spektra sklepamo, da je po enem tednu shranjevanja amorfni karvedilol rekristaliziral v zmes polimorfnih oblik II in III, saj sta pri sobni temperaturi prisotni obe obliki.

Raztapljanje učinkovine in topnost v različnih medijih

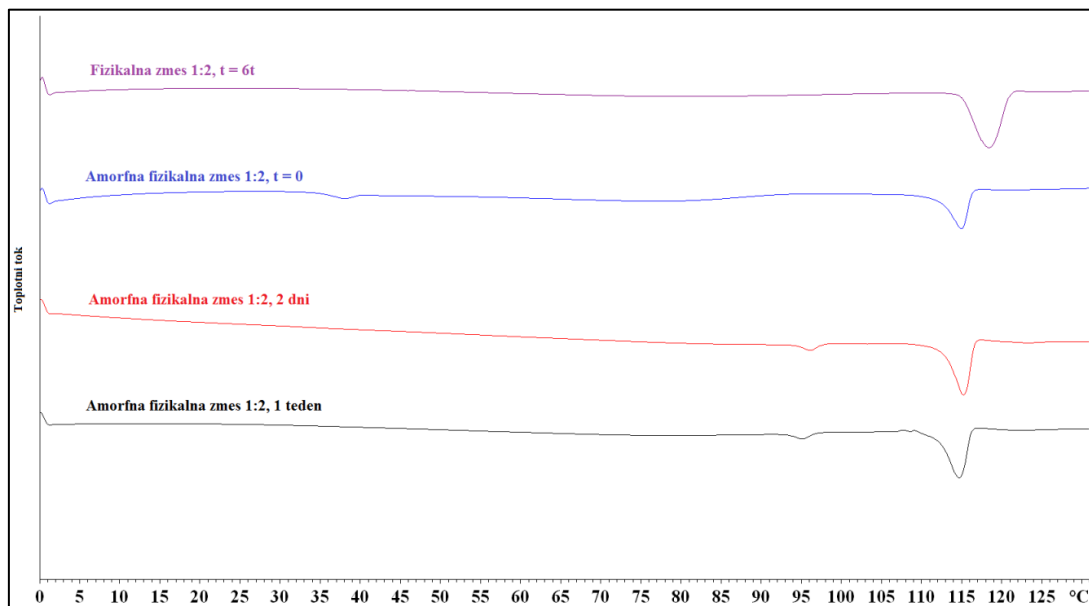


Slika 8: Raztapljanje izhodne kristalne oblike karvedilola v medijih s pH 1,2 in 6,8

Z merjenjem topnosti po 48 urah smo ugotovili, da je nasičena topnost karvedilola v mediju s pH 1,2 72,5 mg/L, v mediju s pH 6,8 pa le 28,9 mg/L. Razlika v nasičeni topnosti v medijih se močno odraža na profilih raztapljanja terapevtskega odmerka učinkovine (25 mg, slika 8). V mediju s pH 1,2 se po 15 minutah raztopi več kot 90 % učinkovine, v mediju s pH 6,8 pa le 5 %, po 120 minutah pa 16 % karvedilola. Na osnovi teh rezultatov smo se odločili, da bomo za analizo vzorcev v nadaljevanju uporabljali fosfatni pufer s pH 6,8. Raztapljanja amorfne oblike karvedilola nismo izvajali. Po podatkih iz literature ima amorfna oblika karvedilola v primerjavi s kristalno veliko večjo topnost pri 25 °C, medtem ko pri 37 °C razlike pri raztapljanju ne opazimo več. Vzrok za to je nastanek podhlajene tekočine, ker je temperatura medija za raztapljanje blizu T_g karvedilola (75). Ker je mediju izpostavljena le majhna površina učinkovine, je raztapljanje zelo počasno.

4.2 FIZIKALNO-KEMIJSKE LASTNOSTI FIZIKALNIH ZMESI KARVEDILOLA Z NEUSILINOM US2

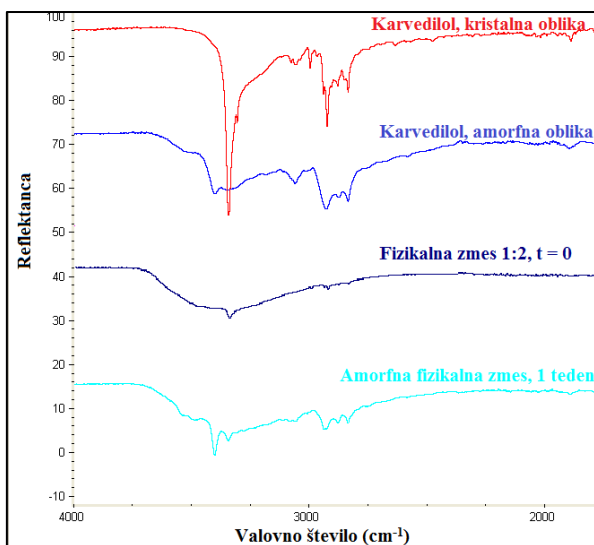
DSC analiza fizikalnih zmesi



Slika 9: DSC-krivulje fizikalne zmesi izhodne kristalne oblike karvedilola (polimorfna oblika II) z Neusilinom US2, fizikalne zmesi amorfne oblike karvedilola z Neusilinom US2 (amorfna fizikalna zmes) ter amorfne fizikalne zmesi, shranjene 2 dni oz. 1 teden pri 40 °C/75 % RH

DSC-krivulje fizikalnih zmesi izhodne kristalne oblike karvedilola (oblika II) in Neusilina US2 so za razmerji karvedilola in Neusilina US2 1 : 1 in 1 : 2 enake, na sliki 9 je le reprezentativen vzorec. Tako ob času 0 kot po 6-tedenskem shranjevanju pri 40 °C in 75 % RH opazimo le talilni vrh oblike II karvedilola pri temperaturi 115°C. Sklepamo, da med pripravo fizikalnih zmesi in med preskusom stabilnosti ni prišlo do spremembe v termičnih lastnostih karvedilola. Na sliki 9 je tudi DSC-krivulja fizikalne zmesi amorfne oblike karvedilola z Neusilinom US2 in je podobna krivulji amorfne oblike karvedilola na sliki 6. Že po 2-dnevni izpostavljenosti temperaturi 40 °C in 75 % RH steklastega prehoda ne opazimo več, vidna pa sta talilna vrhova polimorfne oblike II in III. Talilnega vrha polimorfne oblike I, ki je prisoten pri amorfne oblike karvedilolu, ne vidimo. Kristalizacija amorfne fizikalne zmesi se nekoliko razlikuje od kristalizacije čistega karvedilola, ki po 1 tednu kristalizira v oblike I, II in III. Kristalizacija je v prisotnosti Neusilina hitrejša. V primeru fizikalne zmesi je pri shranjevanju karvedilol ostal homogeno dispergirani v zmesi. Predvidevamo, da je bila rekristalizacija amorfne oblike karvedilola v fizikalni zmesi hitrejša kot pri čistem amorfne oblike karvedilolu, ker je bila povišani vlagi izpostavljena večja površina karvedilola.

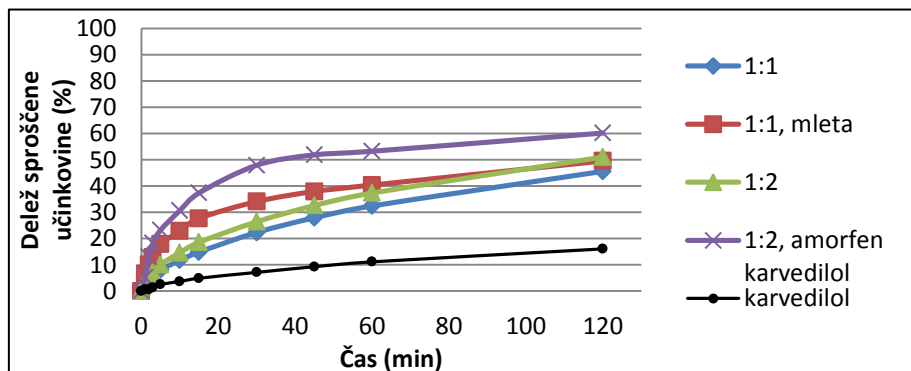
FT-IR spektrofotometrična analiza



Slika 10: FT-IR-spektri izhodne kristalne (oblika II) in amorfne oblike karvedilola, fizikalne zmesi izhodnega karvedilola in Neusilina US2 v razmerju 1 : 2 in fizikalne zmesi amorfne oblike karvedilola in Neusilina US2, shranjene 1 teden pri 40 °C/75 % RH

IR-spektri vzorcev fizikalnih zmesi kristalnega karvedilola (oblika II) in Neusilina US2 so podobni vzorcu kristalne učinkovine in so med seboj enaki, zato je na sliki 10 le reprezentativen vzorec. Opazimo vse vrhove, ki so značilni za kristalno obliko učinkovine, le da imajo manjšo intenziteto. Vzorci fizikalnih zmesi po šestih tednih shranjevanja pri 40 °C in 75-odstotni RH ne kažejo sprememb. Na sliki 10 je tudi IR-spekter fizikalne zmesi amorfne oblike karvedilola in Neusilina US2, ki smo ga 1 teden shranjevali pri povišani temperaturi in vlagi. Spekter je podoben spektru amorfne oblike karvedilola po 1 tednu shranjevanja. Sklepamo, da vrhovi v območju med 4000 cm^{-1} in 3000 cm^{-1} pripadajo polimorfni oblikama karvedilola II in III.

Sproščanje učinkovine iz fizikalnih zmesi

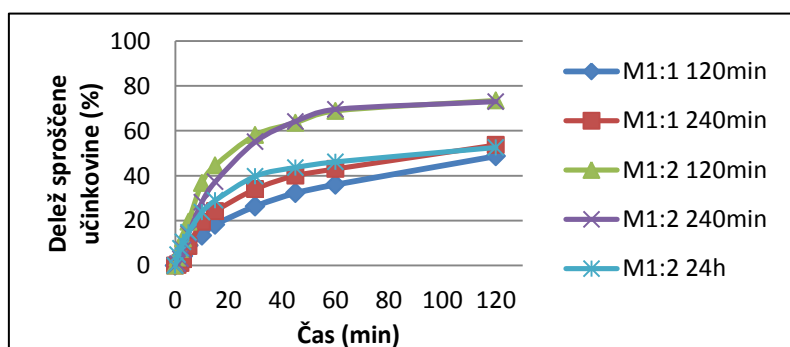


Slika 11: Sproščanje učinkovine iz fizikalnih zmesi karvedilola in Neusilina US2 ter raztapljanje izhodne kristalne oblike karvedilola. Medij: fosfatni pufer, pH = 6,8

Kljub temu, da iz DSC-krivulj in IR-spektrov fizikalnih zmesi izhodne kristalne učinkovine in Neusilina US2 ni razvidno, da bi prišlo do sprememb v lastnostih karvedilola (sliki 9 in 10), se sproščanje v primerjavi s samo učinkovino močno izboljša (slika 11). To lahko pripišemo izboljšanju močenja zaradi hidrofilnih lastnosti Neusilina US2. Razlago podpira tudi dejstvo, da je sproščanje iz fizikalne zmesi z večjo vsebnostjo Neusilina US2 nekoliko hitrejše. Sproščanje iz mlete fizikalne zmesi je prvih 30 minut izrazito hitrejše v primerjavi z nemleto, nato pa se nekoliko upočasni in po 120 minutah se sprosti enak delež učinkovine kot iz fizikalne zmesi 1 : 2 (slika 11). Vzrok za začetno hitrejše sproščanje karvedilola je zmanjšanje velikosti delcev učinkovine. Površina učinkovine, ki je izpostavljena mediju je večja, zato je raztapljanje hitrejše. Zanimalo nas je tudi, kakšno je sproščanje amorfnega karvedilola iz fizikalne zmesi z Neusilinom US2. Opazimo, da je sproščanje karvedilola iz amorfnе fizikalne zmesi v prvih 30 minutah izrazito hitrejše kot iz fizikalnih zmesi s kristalno obliko karvedilola (slika 11). Kljub temu, da pri čistem amorfnem karvedilolu ne opazimo izboljšanja raztapljanja v primerjavi s kristalno obliko, je sproščanje amorfnega karvedilola iz fizikalne zmesi hitrejše, saj se močenje v primerjavi s čistim amorfnim karvedilolom močno izboljša.

4.3 TRDNE DISPERZIJE KARVEDILOLA Z NEUSILINOM US2 IZDELANE S SOMLETJEM

Eden izmed načinov izdelave TD je mletje fizikalnih zmesi učinkovine in poroznega nosilca. Učinkovina preide v amorfnо obliko zaradi trenja, ki nastane pri mletju (30), v našem primeru pa je možen mehanizem tudi adsorpcija taline učinkovine na nosilec, saj se je med mletjem s krogličnim mlinom sistem segreval. Vzorci so med mletjem spremenili barvo iz bele v svetlo rumeno, imeli so slabše pretočne lastnosti kot sam Neusilin US2, med preskusom sproščanja je večina vzorca plavala na površini medija.

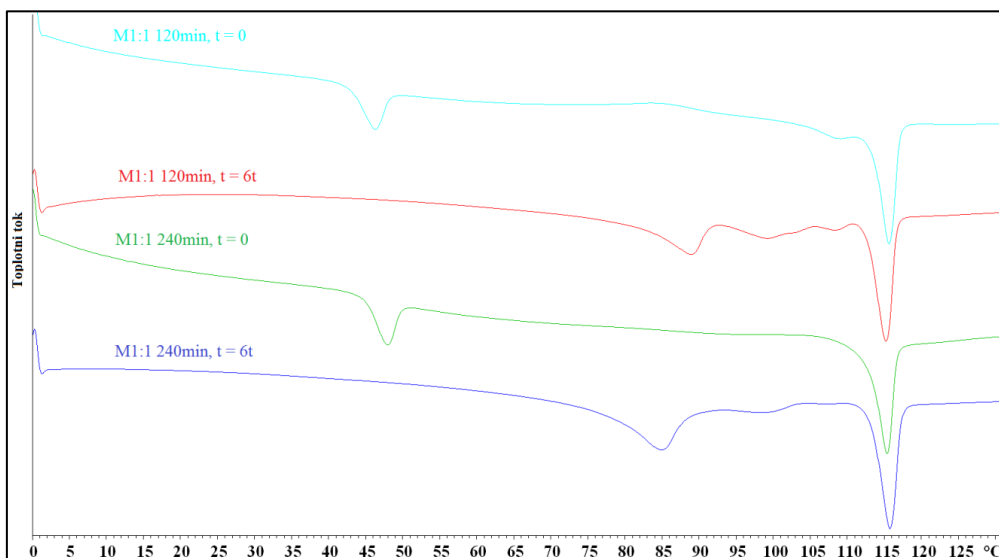


Slika 12: Graf sproščanja mletih zmesi karvedilola in Neusilina US2. Medij: fosfatni pufer, pH = 6,8

Iz slike 12 razberemo, da je sproščanje hitrejše iz mletih vzorcev z manjšo vsebnostjo učinkovine. Vzroka za to sta lahko boljše močenje zaradi večje količine hidrofilnega nosilca v vzorcu in večji amorfni delež učinkovine. Pri vzorcu, mletem 24 ur, je sproščanje počasnejše. Predvidevamo, da je vzrok slabše močenje TD, saj se karvedilol med procesom somletja nalaga po površini Neusilina US2.

4.3.1 Karvedilol : Neusilin US2 = 1 : 1

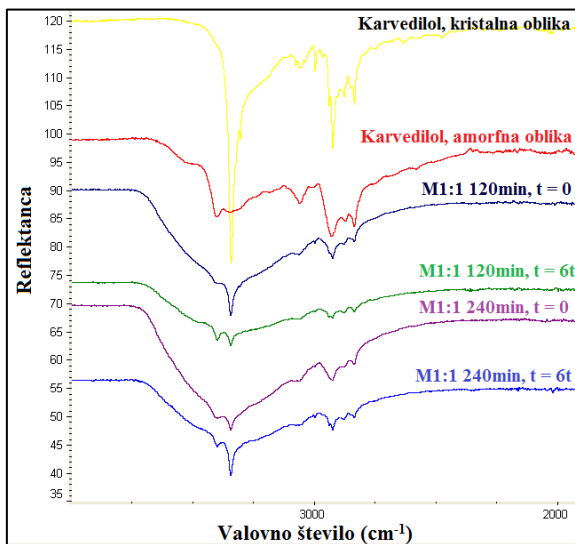
4.3.1.1 Termična (DSC) in FT-IR spektrofotometrična analiza



Slika 13: DSC-krivulje mletih zmesi karvedilola in Neusilina US2 v razmerju 1 : 1 ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C/75 % RH

Na sliki 13 so DSC-krivulje mletih zmesi karvedilola in Neusilina US2 v razmerju 1 : 1 ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C in 75 % RH. Na DSC-krivulji vzorca M1:1 120min analiziranega ob času 0 vidimo, da je del učinkovine amorfiziral, del pa se je med somletjem pretvoril v različne polimorfne oblike karvedilola. Steklasti prehod pri temperaturi 47 °C je za 8 °C višji kot pri čisti amorfni učinkovini, vidimo še neizrazit endotermni vrh pri 108 °C, ki lahko pripada obliki III ali IV in talilni vrh polimorfne oblike II. DSC-krivulja vzorca, mletega 240 minut, je nekoliko drugačna, prisotni sta le amorfna oblika in polimorfna oblika II. Iz tega lahko sklepamo, da do amorfizacije učinkovine s somletjem pride preko vmesne pretvorbe v druge polimorfne oblike karvedilola. Vzroka za povišanje T_g amorfne oblike ne poznamo, morda gre za poliamorfizem. Na DSC-krivuljah vzorcev, ki smo jih 6 tednov shranjevali pri 40 °C in 75 % RH, steklastega prehoda karvedilola ne opazimo več. Kljub temu, da povišanje T_g običajno poveča stabilnost amorfne oblike učinkovine v TD, v mletih vzorcih amorfni karvedilol ni stabilen in je med

shranjevanjem kristaliziral v zmes polimorfni oblik. Pri vzorcu M1:1 120min vidimo talilni vrh pri 85 °C, ki lahko pripada polimorfni obliki VII ali VI, talilni vrh polimorfne oblike III pri 95 °C, endotermni vrh pri 108 °C in talilni vrh polimorfne oblike II. DSC-krivlja vzorca M1:1 240 min je podobna, le da rekristalizacije polimorfne oblike III pri temperaturi 105 °C ne vidimo.

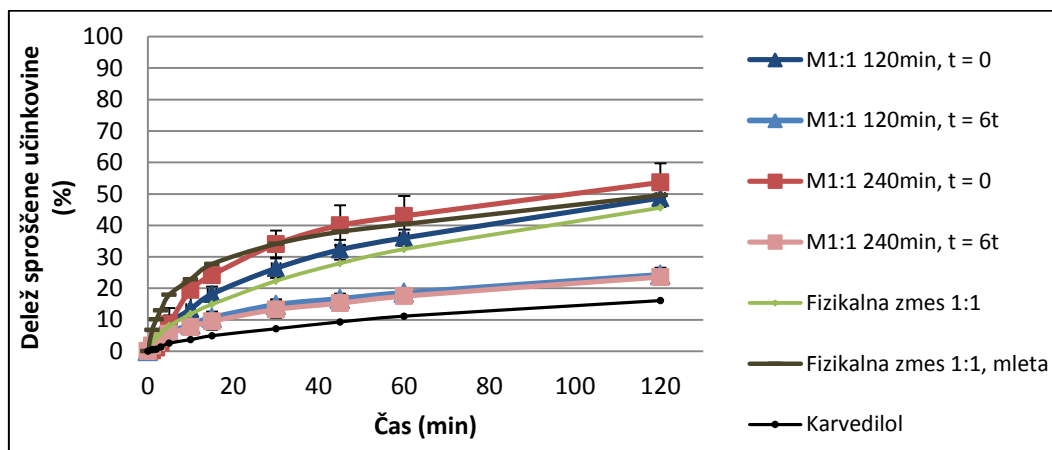


Slika 14: FT-IR-spektri izhodnega kristalnega karvedilola (oblika II), amorfne oblike karvedilola in mletih zmesi karvedilola in Neusilina US2 v razmerju 1 : 1 ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C/75 % RH

Do podobnih zaključkov lahko pridemo na podlagi IR-spektrov vzorcev na sliki 14. Sklepamo, da sta ob času 0 prisotni amorfna in kristalna oblika karvedilola, saj vidimo oster vrh pri 3342 cm⁻¹ in širok vrh pri 3400 cm⁻¹. Vrh, značilen za polimorfno obliko karvedilola II, ima pri vzorcu M1:1 120min večjo intenziteto kot pri vzorcu M1:1 240min, medtem ko za vrh, značilen za amorfno obliko, velja ravno obratno. Sklepamo, da z daljšim časom mletja pride do bolj obsežne amorfizacije karvedilola. Po 6 tednih je pri 3400 cm⁻¹ ozek vrh, ki je značilen za polimorfno obliko III, prisoten pa je tudi vrh, značilen za obliko II. Vsa amorfna učinkovina je kristalizirala v obliki II in III, saj so kristali učinkovine, ki so ostali v vzorcu po mletju, delovali kot jedra kristalizacije. Predvidevamo, da je bila amorfna oblika prisotna le na površini in v širokih delih por Neusilina US2, saj v globoko v porah kristalizacija zaradi majhnega premera por ni možna. Ker med IR-spektri učinkovine, fizikalne zmesi in vzorcev, razen v intenziteti vrhov, ni razlik, sklepamo, da so med učinkovino in Neusilinom US2 le šibke interakcije, kot so van der Waalove in Londonove sile. Odsotnost močnejših interakcij, npr. vodikovih vezi, je lahko tudi vzrok za nestabilnost amorfne oblike karvedilola v TD, pri katerih se amorfna

učinkovina ne nalaga globoko v pore. V območju med 2000 in 500 cm^{-1} med vzorci, fizikalnimi zmesi in karvedilolom razen v intenziteti vrhov ni razlik, zato so na slikah le izseki IR-spektrov, na katerih so vidne razlike.

4.3.1.2 Sproščanje



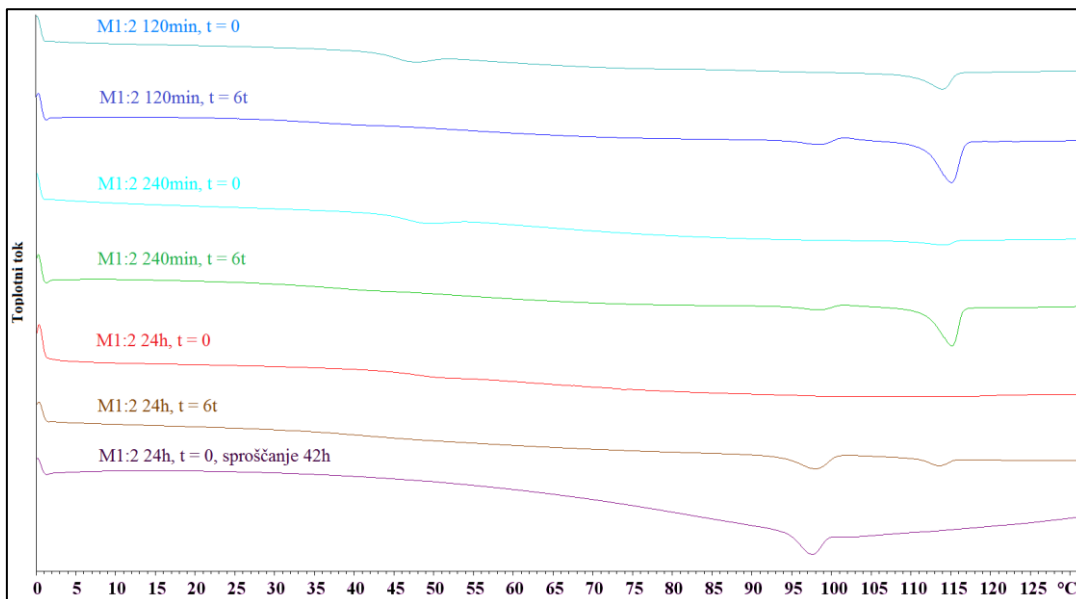
Slika 15: Graf sproščanja mletih zmesi karvedilola in Neusilina v razmerju 1:1 ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40° C/75 % RH, fizikalne zmesi 1 : 1, mlete fizikalne zmesi 1 : 1 in raztapljanja izhodne kristalne oblike karvedilola. Medij: fosfatni pufer, pH = 6,8

Z DSC-termogrami in IR-spektri sovpada tudi diagram sproščanja na sliki 15. Z mletjem se sproščanje karvedilola v primerjavi s fizikalno zmesjo poveča, in sicer daljši kot je čas mletja, hitreje se sproščanje. Kljub temu je sproščanje iz vzorca, mletega 240 minut, le 10 % hitreje kot iz fizikalne zmesi in je počasnejše kot iz mlete fizikalne zmesi. Predvidevamo, da sta vzroka za to zmanjšanje velikosti delcev in manjše močenje mletega vzorca. Daljši kot je čas mletja, bolj se velikost delcev zmanjša. Močenje zelo majhnih praškov je slabo, saj težijo k aglomeraciji, poleg tega pa je na njih adsorbirana velika količina zraka. Med somletjem verjetno pride do nastanka šibkih interakcij med karvedilolom in Neusilinom US2 in vezave učinkovine na površino nosilca. Učinkovina zaradi svojih lastnosti hidrofobizira površino nosilca in s tem najverjetneje zmanjša močenje, posledično se upočasni tudi sproščanje.

Po 6 tednih shranjevanja vzorcev pri 40 °C in 75 % RH se sproščanje močno zmanjša in pade skoraj na nivo čiste kristalne oblike karvedilola. Pri obeh vzorcih je, ne glede na čas mletja, sproščanje enako. Vzrok za takšno upočasnitev je poleg kristalizacije učinkovine najverjetneje ta, da je površina Neusilina US2 obložena s kristali učinkovine, zaradi česar je njegova površina bolj hidrofobna kot pri fizikalni zmesi. Močenje je verjetno slabše tudi zaradi zmanjšanja velikosti delcev med mletjem.

4.3.2 Karvedilol : Neusilin US2 = 1 : 2

4.3.2.1 Termična (DSC) in FT-IR spektrofotometrična analiza

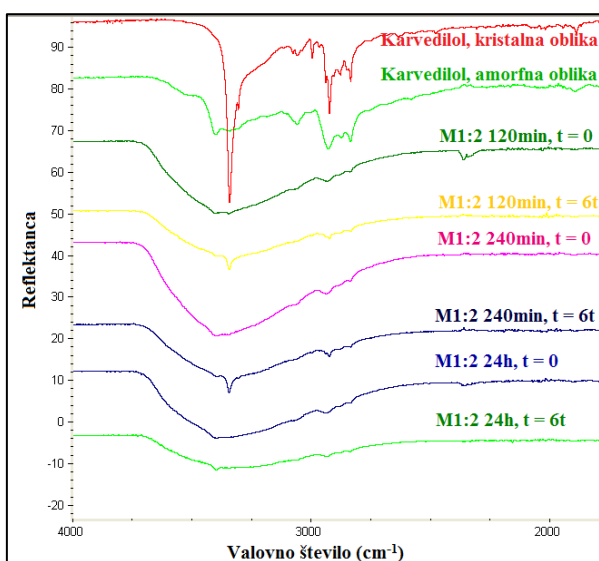


Slika 16: DSC-krivulje mletih zmesi karvedilola in Neusilina US2 v razmerju 1 : 2 ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C/75 % RH ter filtrat vzorca, mletega 24h, po 42 urnem sproščanju v mediju s pH 6,8

Na sliki 16 so DSC-krivulje mletih zmesi karvedilola in Neusilina US2 v razmerju 1 : 2 ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja. Iz DSC-krivulj vzorcev, posnetih ob času 0, vidimo, da se z daljšim časom mletja več učinkovine pretvori v amorfno obliko, amorfizacija pa je popolna šele po 24 urah. Takrat talilni vrh izhodne oblike karvedilola ni več prisoten in vidimo le steklasti prehod pri temperaturi 47 °C (tudi tukaj opazimo dvig T_m karvedilola). Po 6 tednih shranjevanja je v vzorcih vsa amorfna učinkovina kristalizirala, vidni so talilni vrhovi polimorfne oblike II in III. Na podlagi intenzitete talilnih vrhov posameznih polimorfne oblike sklepamo, da je v vzorcih, mletih 120 in 240 minut, več polimorfne oblike II, medtem ko pri vzorcu, mletem 24 ur, učinkovina kristalizira predvsem v polimorfno obliko III. Do kristalizacije amorfne učinkovine je pri vzorcih, mletih 120 in 240 minut, prišlo zaradi prisotnosti kristalnih jeder učinkovine. Predvidevamo, da je pri vzorcu, ki je ob času 0 izkazoval popolno amorfno obliko, vzrok za kristalizacijo ta, da se med amorfizacijo učinkovine ni nalagala globoko v pore, ampak v široke dele por in na površino Neusilina US2, kjer kristalizacija ni prostorsko omejena. Morda so bila v vzorcu prisotna majhna kristalizacijska jedra karvedilola, ki jih z DSC-analizo nismo zaznali.

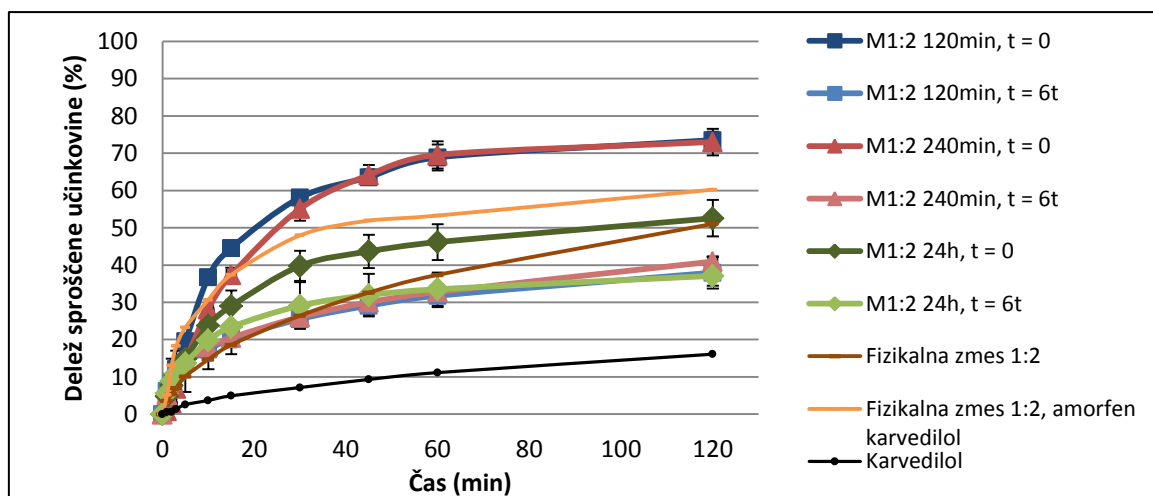
Na podlagi IR-spektrov vzorcev, ki so na sliki 17, sklepamo, da sta ob času 0 v vzorcih, mletih 120 in 240 minut, prisotni tako amorfna kot kristalna oblika karvedilola, vendar je

vrh, značilen za kristalno obliko izhodnega karvedilola, zelo šibak, pri vzorcu, mletem 24 ur, pa popolnoma izgine. Sklepamo, da je vsa učinkovina v tem vzorcu v amorfni obliki. Po 6 tednih shranjevanja vzorcev M1:2 120min in M1:2 240min pri 40 °C in 75 % RH se intenziteta ostrega vrha pri 3342 cm⁻¹, značilnega za polimorfno obliko II, poveča. Vrh pri 3400 cm⁻¹ ostane na videz enak, vendar na podlagi DSC-analize sklepamo, da pripada polimorfni obliki III. Kljub temu, da iz DSC-analize sklepamo, da amorfna učinkovina iz vzorca M1:2 24h po 6 tednih kristalizira v polimorfni obliki II in III, na IR-spektru vidimo le oster vrh pri 3400 cm⁻¹, značilen za polimorfno obliko III.



Slika 17: FT-IR-spektri izhodne kristalne oblike karvedilola (oblika II), amorfne oblike karvedilola in mletih zmesi karvedilola in Neusilina US2 v razmerju 1 : 2 ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C/75 % RH

4.3.2.2 Sproščanje



Slika 18: Graf sproščanja mletih zmesi karvedilola in Neusilina v razmerju 1 : 2 ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C/75 % RH, fizikalne zmesi 1:2, amorfne fizikalne zmesi 1 : 2 in raztapljanja izhodnega kristalnega karvedilola. Medij: fosfatni pufer, pH = 6,8

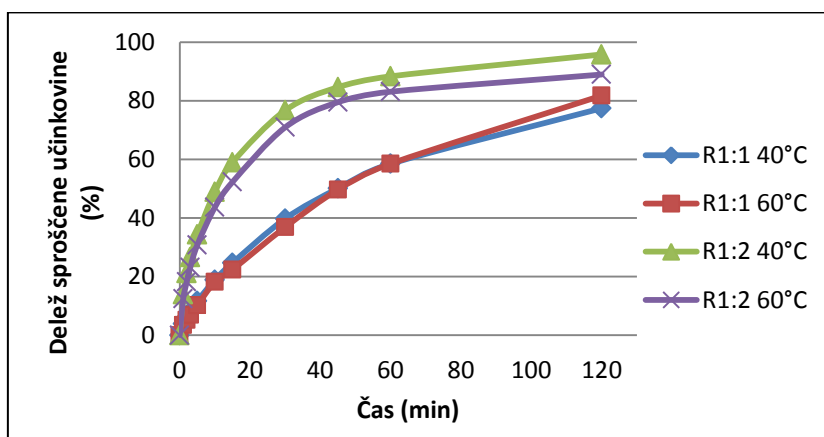
Sproščanje karvedilola iz vzorcev, mletih 120 in 240 minut, je približno enako, kljub temu da na osnovi DSC-krivulj in IR-spektrov sklepamo, da je v vzorcu, mletem 240 minut, več učinkovine v amorfni obliki (slika 18). Sproščanje je najpočasnejše iz vzorca, mletega 24 ur, v katerem je bila vsa učinkovina v amorfni obliki. Sproščanje je bilo počasnejše kot iz amorfne fizikalne zmesi (slika 18). Sklepamo, da amorfizacija učinkovine s somletjem pospeši sproščanje učinkovine le do neke mere, pri večjem deležu amorfizacije pa je sproščanje zaradi hidrofobizacije površine nosilca in posledično slabšega močenja upočasnjeno. K slabšemu močenju pripomore tudi zmanjšanje velikosti delcev zaradi mletja. Vzorci so med poskusom sproščanja zaradi adsorbiranega zraka plavali na površini. Daljši je bil čas mletja, slabše je bilo močenje vzorca, saj je večji delež plaval na površini. Po 6 tednih shranjevanja je bilo sproščanje učinkovine iz vzorcev močno upočasnjeno in približno enako za vse vzorce, ne glede na čas mletja (slika 18). To se sklada z DSC-analizo vzorcev, saj je pri vzorcih vsa amorfna učinkovina kristalizirala. Sproščanje je bilo prvih nekaj minut hitrejše kot iz fizikalne zmesi kristalne oblike karvedilola in Neusilina US2, kar je verjetno posledica večje površine učinkovine (kristali so najverjetneje razporejeni po celotni površini Neusilina). Kasneje se sproščanje iz mletih vzorcev upočasnjuje, verjetno zaradi slabega močenja z medijem za sproščanje.

4.4 TRDNE DISPERZIJE KARVEDILOLA Z NEUSILINOM US2 IZDELANE Z ODPAREVANJEM TOPILA PRI ZNIŽANEM TLAKU

Pri izdelavi TD z odparevanjem topila pri znižanem tlaku se zaradi delovanja kapilarnih sil pore nosilca napolnijo z raztopino učinkovine, med evaporacijo topila pa se karvedilol v amorfni obliki nalaga v pore mezoporoznega nosilca (39). TD, izdelane na ta način, so bile na pogled enake kot sam Neusilin US2, njihove pretočne lastnosti so bile dobre, prav tako močenje. Med preskusi sproščanja so se granule že po nekaj sekundah dispergirale po mediju, del pa je potonil na dno posode.

Na sliki 19 je graf sproščanja karvedilola iz TD, izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku. Sproščanje je hitrejše iz TD z večjim deležem Neusilina US2. Opazimo, da se obliki krivulj sproščanja močno razlikujeta glede na razmerje med karvedilolom in Neusilinom US2. Pri disperzijah z razmerjem 1 : 1 je sproščanje skoraj linearno, medtem ko je oblika krivulje sproščanja iz disperzij 1 : 2 bolj logaritemska. Pri disperzijah z večjo vsebnostjo učinkovine je zaradi napolnjenosti por za sproščanje na voljo manjša površina,

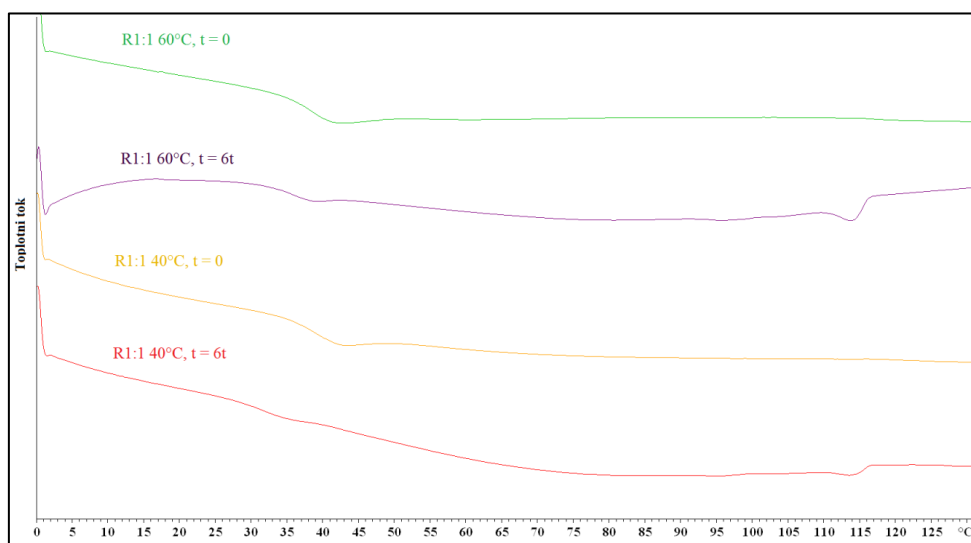
iz istega razloga je slabše tudi močenje. Predvidevamo, da je pri disperzijah z razmerjem 1 : 2 večina učinkovine adsorbirana na nosilec v obliki monosloja, zato je sproščanje hitrejše, medtem ko je pri razmerju 1 : 1 v porah naložena v več slojih. Iz podatkov iz literature za gostoto karvedilola (kristalen: 1,26 g/cm³, amorfen: 1,24 g/cm³, izmerjeno s helijevim piknometrom) (78) in meritev volumna por Neusilina US2 (1,15 cm³/g, BET analiza) izračunamo, da lahko teoretično v pore 1 g Neusilina US2 vgradimo 1,4 g karvedilola. Karvedilol lahko torej teoretično predstavlja do 60 % mase TD. V TD z razmerjem 1:1 karvedilol skoraj popolnoma napolni pore Neusilina US2 in je v porah zagotovo naložen v več slojih.



Slika 19: Graf sproščanja karvedilola iz TD, izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku. Medij: fosfatni pufer, pH = 6,8

4.4.1 Karvedilol : Neusilin US2 = 1 : 1

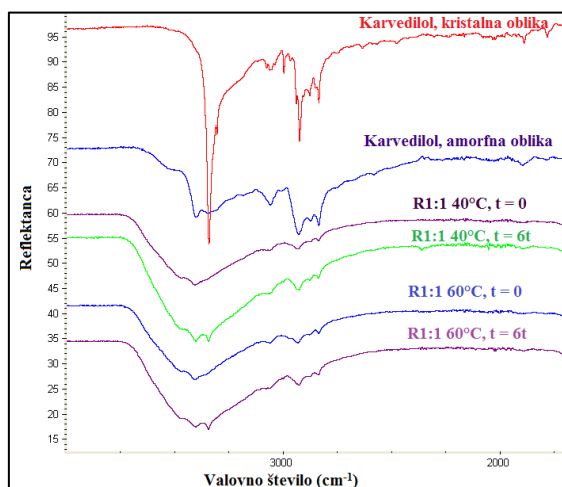
4.4.1.1 Termična (DSC) in FT-IR spektrofotometrična analiza



Slika 20: DSC-krivulje TD karvedilola z Neusilinom US2 v razmerju 1 : 1, izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C/75 % RH

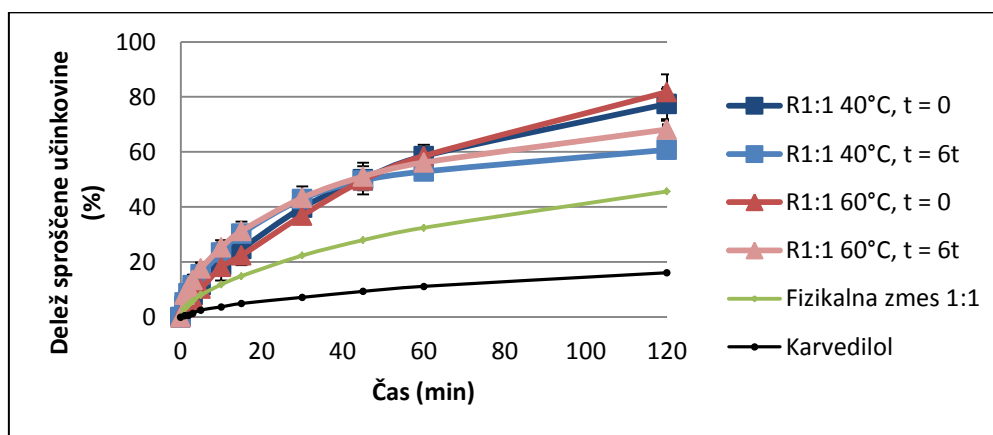
Na sliki 20 so DSC-krivulje TD karvedilola in Neusilina US2 v razmerju 1 : 1, izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku. Ob času 0 je ne glede na temperaturo, pri kateri topilo odpareva, ves karvedilol v amorfni obliki. Opazimo steklasti prehod pri temperaturi 40 °C. Po 6 tednih del karvedilola kristalizira v polimorfno obliko II. Podobno sklepamo iz IR-spektrov vzorcev na sliki 21. Medtem ko pri vzorcih ob času 0 opazimo le vrhove, značilne za amorfno obliko karvedilola, ob času 6 tednov na IR-spekttru obeh vzorcev, poleg vrha okrog 3400 cm⁻¹, opazimo oster vrh pri valovni dolžini 3344 cm⁻¹, ki je značilen za kristalno obliko karvedilola. Iz IR-spektrov sklepamo, da v TD med karvedilolom in Neusilinom US2 ni prišlo do tvorbe specifičnih interakcij. Pri izdelavi TD z odparevanjem topila pri znižanem tlaku, karvedilol med evaporacijo topila amorfizira in se nalaga v pore nosilca. Pri višjih deležih učinkovine se majhne pore napolnijo, zato se karvedilol v amorfni obliki nalaga tudi v širše dele por blizu površine in na površino Neusilina US2, kjer kasneje lahko kristalizira.

Med amorfnimi TD, izdelanimi s somletjem in z odparevanjem topila pri znižanem tlaku, opazimo razliko pri kristalizaciji amorfne učinkovine med shranjevanjem. Pri amorfni TD, izdelani s somletjem, karvedilol po 6 tednih kristalizira v obliki II in III, pri TD, izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku, pa kristalizira le v polimorfno obliko II. Kristalizacija amorfne učinkovine iz TD se razlikuje od kristalizacije čistega amorfnega karvedilola ali amorfnega karvedilola v fizikalni zmesi, ki po enem tednu kristalizirata v oblike I, II in III oz. II in III za fizikalno zmes. Rezultati kažejo, da metoda izdelave ne vpliva le na sproščanje učinkovine iz TD, ampak tudi na amorfizacijo učinkovine med izdelavo TD in pretvorbo amorfne učinkovine v kristalno med shranjevanjem.



Slika 21: FT-IR-spektri izhodnega kristalnega karvedilola (oblika II), amorfne oblike karvedilola in TD karvedilola z Neusilinom US2 v razmerju 1 : 1, izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C/75 % RH

4.4.1.2 Sproščanje



Slika 22: Graf sproščanja TD karvedilola z Neusilinom US2 v razmerju 1 : 1, izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40°C/75 % RH, fizikalne zmesi 1 : 1 in raztapljanja izhodne kristalne oblike karvedilola. Medij: fosfatni pufer, pH = 6,8

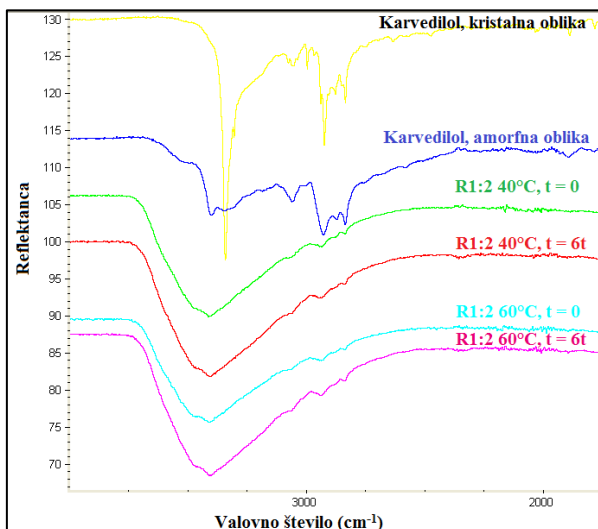
Z DSC-analizo in IR-spektri vzorcev se sklada tudi graf sproščanja na sliki 22. Sproščanje iz vzorcev je ob času 0 veliko hitrejše in obsežnejše kot iz fizikalne zmesi ali čistega izhodnega karvedilola. V primerjavi s fizikalno zmesjo se po 120 minutah sprosti 2-krat več učinkovine, v primerjavi s čisto učinkovino pa je koncentracija v mediju kar 5-krat višja. Po 6 tednih je delež sproščene učinkovine po 120 minutah manjši kot ob času 0, saj del učinkovine kristalizira. V prvih 45 minutah je sproščanje iz vzorcev hitrejše po 6 tednih kot ob času 0. Iz DSC-krivulj razberemo, da se je med shranjevanjem na vzorec vezala vlaga, zaradi česar je močenje vzorca boljše in posledično se učinkovina sprošča hitreje. Delež sproščene učinkovine po 120 minutah je tako ob času 0 kot po 6 tednih nekoliko večji za disperzijo, izdelano pri 60 °C, vendar je razlika v okviru eksperimentalne napake.

4.4.2 Karvedilol : Neusilin US2 = 1 : 2

4.4.2.1 Termična (DSC) in FT-IR spektrofotometrična analiza

DSC-krivulje vzorcev TD so bile tako ob času 0 kot po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C in 75 % RH enake. Na njih nismo videli nobenega termičnega dogajanja. Steklasti prehod karvedilola na DSC-krivulji ni očiten, a sklepamo, da je vsa učinkovina v amorfnih oblikah, saj se talilni vrh kristalne oblike učinkovine ne pojavi niti po 6 tednih shranjevanja. Do podobnega zaključka pridemo na osnovi IR-spektrov vzorcev (slika 23). Spektri so ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C in 75 % RH enaki in se skladajo s spektrom amorfnih oblik učinkovine, s to razliko, da pri vzorcih TD vrh, značilen za vzdolžno nihanje vezi N-H in O-H, ni razcepljen in je pri nekoliko višjem valovnem številu (okrog

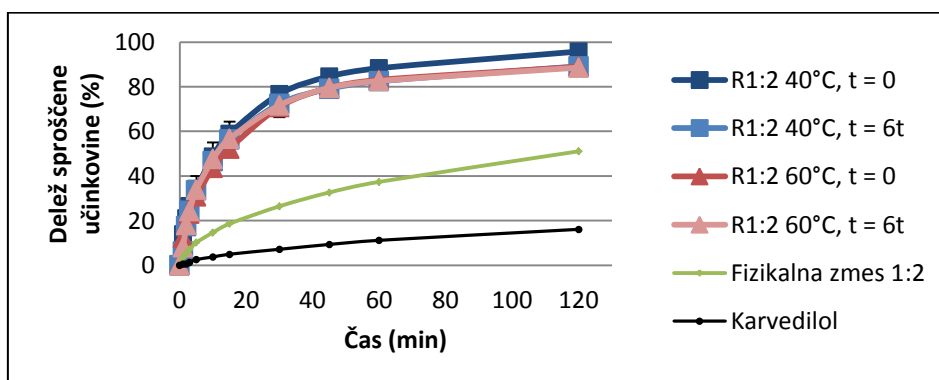
3410 cm^{-1}). Med shranjevanjem ne pride do kristalizacije učinkovine. Iz do sedaj zbranih rezultatov sklepamo, da so TD karvedilola in Neusilina US2 zaradi odsotnosti specifičnih interakcij med njima stabilne le, kadar je vsa amorfna učinkovina v ozkih porah nosilca, kjer je kristalizacija onemogočena zaradi prostorskih omejitev.



Slika 23: FT-IR-spektri izhodnega kristalnega karvedilola (oblika II), amorfne oblike karvedilola in TD karvedilola z Neusilinom US2 v razmerju 1 : 2, izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C/75 % RH

4.4.2.2 Sproščanje

Na podlagi grafa sproščanja na sliki 24 sklepamo, da je amorfna učinkovina v TD fizikalno stabilna vsaj 6 tednov, saj se krivulje sproščanja ob času 0 in po 6 tednih prekrivajo. Nekoliko odstopa krivulja vzorca R1:2 40°C ob času 0, vendar zaradi majhnih razlik v sproščanju vzrok lahko pripišemo ekperimentalni napaki. To potrjujejo tudi izsledki DSC- in IR-analiz, kjer med vzorci ne opazimo razlik.



Slika 24: Graf sproščanja TD karvedilola z Neusilinom US2 v razmerju 1 : 2, izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C/75 % RH, fizikalne zmesi 1 : 2 in raztapljanja izhodnega kristalnega karvedilola. Medij: fosfatni pufer, pH = 6,8

Kljub temu, da številne študije potrjujejo, da parametri izdelave močno vplivajo na amorfizacijo in stabilnost amorfne oblike učinkovine (7), med TD, izdelanimi pri 40 oz. 60 °C, ne opazimo razlik v sproščanju ali fizikalni stabilnosti.

4.5 TRDNE DISPERZIJE KARVEDILOLA S POLIETILENGLIKOLOM IN NEUSILINOM US2

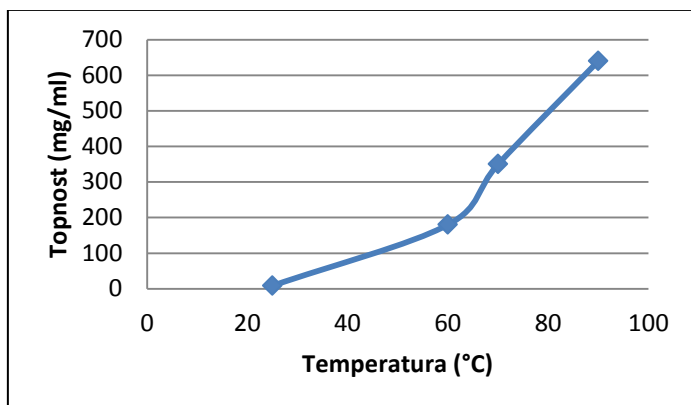
Multiple TD karvedilola s PEG in Neusilinom US2 smo izdelali z metodo, ki je kombinacija tehnik izdelave TD in sorpcije taline na porozni nosilec pri povišani temperaturi. Z enostavno metodo taljenja smo izdelali prenasičeno raztopino oz. TD karvedilola v PEG, nato pa smo s postopkom, ki je podoben granuliranju talin z razprševanjem od zgoraj, disperzijo sorbirali na nosilec. Pri povišani temperaturi smo na Neusilin US2 sorbirali različne volumne raztopin ali suspenzij, ki smo jih določili na osnovi volumna por Neusilina US2 (1,158 ml/g). Odločili smo se za volumen taline, kjer pore teoretično zapolnimo do polovice (0,5 ml/1 g Neusilina US2), volumen, kjer so pore skoraj v celoti zapolnjene (1,0 ml/1 g Neusilina US2), in volumen, kjer se talina nalaga tudi po zunanji površini nosilca (1,5 ml/1 g Neusilina US2). Tako izdelane TD so po sestavi in lastnostih podobne sistemom tekoče-trdno ali TD, sorbiranim na mezoporozni nosilec. Prednost takšnega načina izdelave pred sistemi tekoče-trdno je možnost vgradnje večje količine učinkovine, saj se v hidrofilnem nosilcu pri povišani temperaturi raztopi več učinkovine kot pri sobni temperaturi. Izdelava enega vzorca traja približno eno uro, če k temu prištejemo še predhodno sušenje Neusilina US2 je skupni čas, potreben za izdelavo TD, 3 ure. Metoda izdelave je enostavna in hitra in ne vključuje uporabe hlapnih organskih topil.

Hidrofilne snovi, ki jih lahko uporabimo za izdelavo takšnih multiplih TD morajo imeti nizko temperaturo tališča, ustrezno viskoznost, učinkovina pa mora biti v njih dobro topna. Uporabimo lahko pomožne snovi, ki se uporabljajo pri izdelavi sistemov tekoče-trdno in pri granuliranju s talinami. V tej raziskavi smo kot hidrofilna polimera izbrali PEG 400 in PEG 1500. PEG 400 je pri sobni temperaturi tekoč, pri povišani temperaturi pa izkazuje nizko viskoznost, kar je ključnega pomena za uspešno sorpcijo tekočine v pore nosilca (31). PEG 1500 ima temperaturo tališča pri 43 °C. Izbrali smo ga, ker je pri razmerah, pri katerih smo izvajali pospešene preskuse stabilnosti (40 °C/75 % RH) v trdni obliki, vendar ima zaradi relativno nizke molekulske mase nizko viskoznost. Predvidevali smo, da bi bila lahko kristalizacija učinkovine iz prenasičene raztopine v PEG, zaradi večje viskoznosti

PEG 1500 pri temperaturi shranjevanja, kinetično upočasnjena. Pred izdelavo multiplih TD smo naredili nekaj predformulacijskih študij z disperzijami karvedilola v PEG, ki so nam služile kot smernica za nadaljnje delo.

4.5.1 DISPERZIJE KARVEDILOLA V PEG

4.5.1.1 Topnost karvedilola v polietilenglikolu



Slika 25: Topnost karvedilola v PEG 400 v odvisnosti od temperature

Topnost karvedilola v PEG s temperaturo močno narašča (slika 25). Odločili smo se, da večino disperzij pripravimo pri temperaturi 70 °C. Pri tej temperaturi v končni formulaciji lahko dosežemo želene odmerke, poleg tega pa učinkovina ni močno temperaturno obremenjena. Da bi pripravili fizikalno stabilno multiplo TD s kar največjo vsebnostjo karvedilola, smo se odločili, da jih izdelamo tudi pri 90 °C. Izbrali smo koncentracijo raztopine, ki je blizu nasičene topnosti (600 mg/ml). Topnosti karvedilola v PEG 1500 nismo določali, saj dielektrična konstanta polietilenglikolov ni odvisna od njihove povprečne molekulske mase, ampak je funkcija koncentracije njihovih podenost ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$) (56), zato predvidevamo, da se topnost učinkovine v PEG 400 in PEG 1500 bistveno ne razlikuje.

4.5.1.2 Fizikalna stabilnost disperzij karvedilola v PEG 400

Pripravili smo raztopine s koncentracijami, ki so podobne nasičenim topnostim (v mg karvedilola/10g PEG 400) pri 25 °C, 60 °C in 70 °C ter suspenzijo (dodamo večjo količino karvedilola, kot se je pri dani temperaturi raztopi) karvedilola v PEG 400. Disperzije smo pripravili na podoben način kot za določanje topnosti učinkovine. Morebitno kristalizacijo učinkovine med shranjevanjem smo želeli ovrednotiti z DSC-analizo, vendar se je med analizo, zaradi naraščanja temperature, karvedilol raztopljal v PEG, zato niti pri suspenziji karvedilola v PEG nismo opazili talilnega vrha kristalne oblike učinkovine. Odločili smo

se, da bomo fizikalno stabilnost ocenili le vizualno. Rezultati so zbrani v preglednici VI. Suspenzija in raztopina s koncentracijo blizu nasičene topnosti sta fizikalno nestabilni, saj med shranjevanjem pride do tvorbe in rasti kristalov. Prenasičena raztopina s koncentracijo 166,7 mg/ml je fizikalno stabilna vsaj 6 tednov pri 40 °C in 75 % RH. Kljub temu, da je karvedilol v PEG pri nižjih temperaturah manj topen, do nastanka kristalov ne pride niti pri shranjevanju pri sobnih pogojih ali pri temperaturi 4 °C.

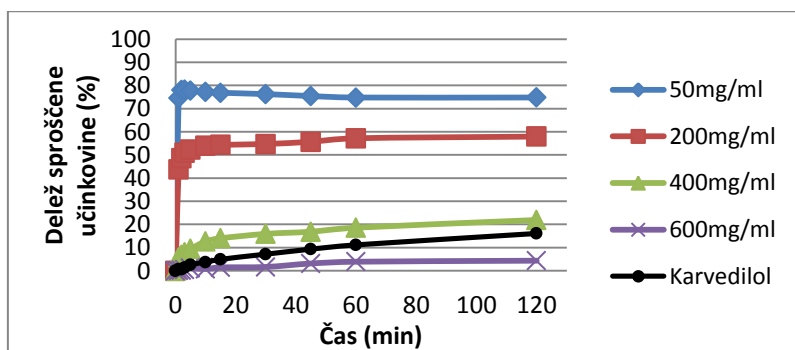
Preglednica VI: Stabilnost disperzij karvedilola v PEG 400, izdelanih pri 70 °C

Vzorec	Koncentracija učinkovine v disperziji	Izgled, $t = 0$	Sprememba		
			40 °C/75 % RH	Sobne razmere (25 °C)	Hladilnik (4 °C)
80 mg/10ml PEG 400	8 mg/ml	Bistra raztopina rahlo rumene barve.	Bistra raztopina rahlo rumene barve (vseh 6 tednov).		
2000 mg/10ml PEG 400	166,66 mg/ml		Bistra raztopina rahlo rumene barve (vseh 6 tednov).		
4000 mg/10ml PEG 400	303 mg/ml		Po dveh tednih se pojavijo kristali na dnu čaše in na gladini raztopine. Kristali so veliki in s časom rastejo.		
6000 mg/10ml PEG 400	400 mg/ml	Suspenzija. Takoj po pripravi so delci učinkovine komaj opazni, po nekaj urah velik delež učinkovine kristalizira v obliki majhnih kristalčkov praškastega videza.	Suspenzija, delci se usedejo na dno in tvorijo večji del vsebine čaše.		

4.5.1.3 Sproščanje karvedilola iz disperzij karvedilola v PEG 400

Sproščanje karvedilola iz disperzij s PEG je najhitrejše, kadar je koncentracija karvedilola v disperziji najnižja (slika 26). Iz raztopin se karvedilol v prvih 5 minutah izjemno hitro sprošča, nato pa se sproščanje ustavi. PEG 400 se v mediju za sproščanje zelo hitro raztaplja, zato so molekule karvedilola obdane z vedno manj PEG 400. Nasičena topnost karvedilola v PEG 400 je v nekem trenutku presežena, zato učinkovina v PEG kristalizira. Drugi možen mehanizem je kristalizacija karvedilola v mediju za sproščanje. Zaradi hitrega raztapljanja PEG 400 koncentracija karvedilola v mediju za sproščanje lokalno zelo

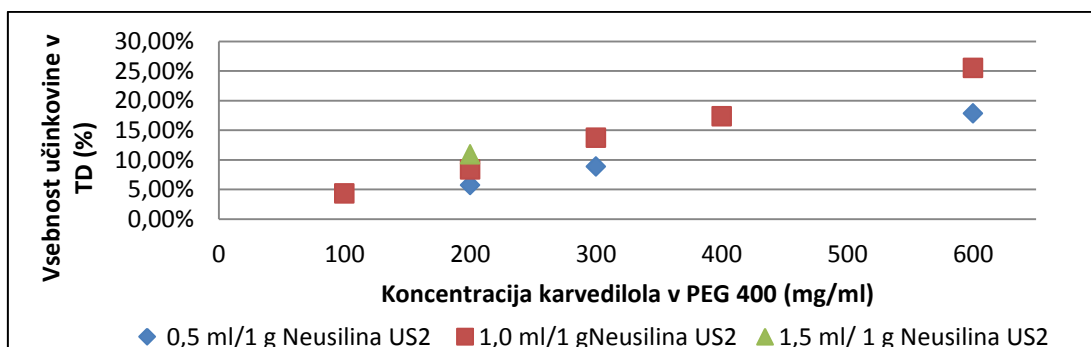
hitro naraste in močno preseže nasičeno topnost. Učinkovina v mediju kristalizira, zato je sproščanje upočasnjeno. Sproščanje iz suspenzij je bilo zelo počasno. Delci učinkovine v suspenziji so najverjetneje mnogo večji od čistega karvedilola. Površina karvedilola, ki je v stiku z medijem za raztapljanje, je zato manjša in sproščanje počasnejše. V primeru disperzije (suspenzije) s koncentracijo 600 mg/ml je bilo sproščanje celo počasnejše, kot je raztapljanje samega karvedilola. Po koncu sproščanja tega vzorca je na dnu posode ostal lepljiv strdek karvedilola. Površina karvedilola, ki je bila na voljo za sproščanje, je bila izredno majhna.



Slika 26: Sproščanje karvedilola iz disperzij s PEG 400 in raztapljanje izhodnega kristalnega karvedilola. Disperziji s koncentracijama 50 mg/ml in 200 mg/ml sta raztopini, 400 mg/ml in 600 mg/ml pa suspenziji

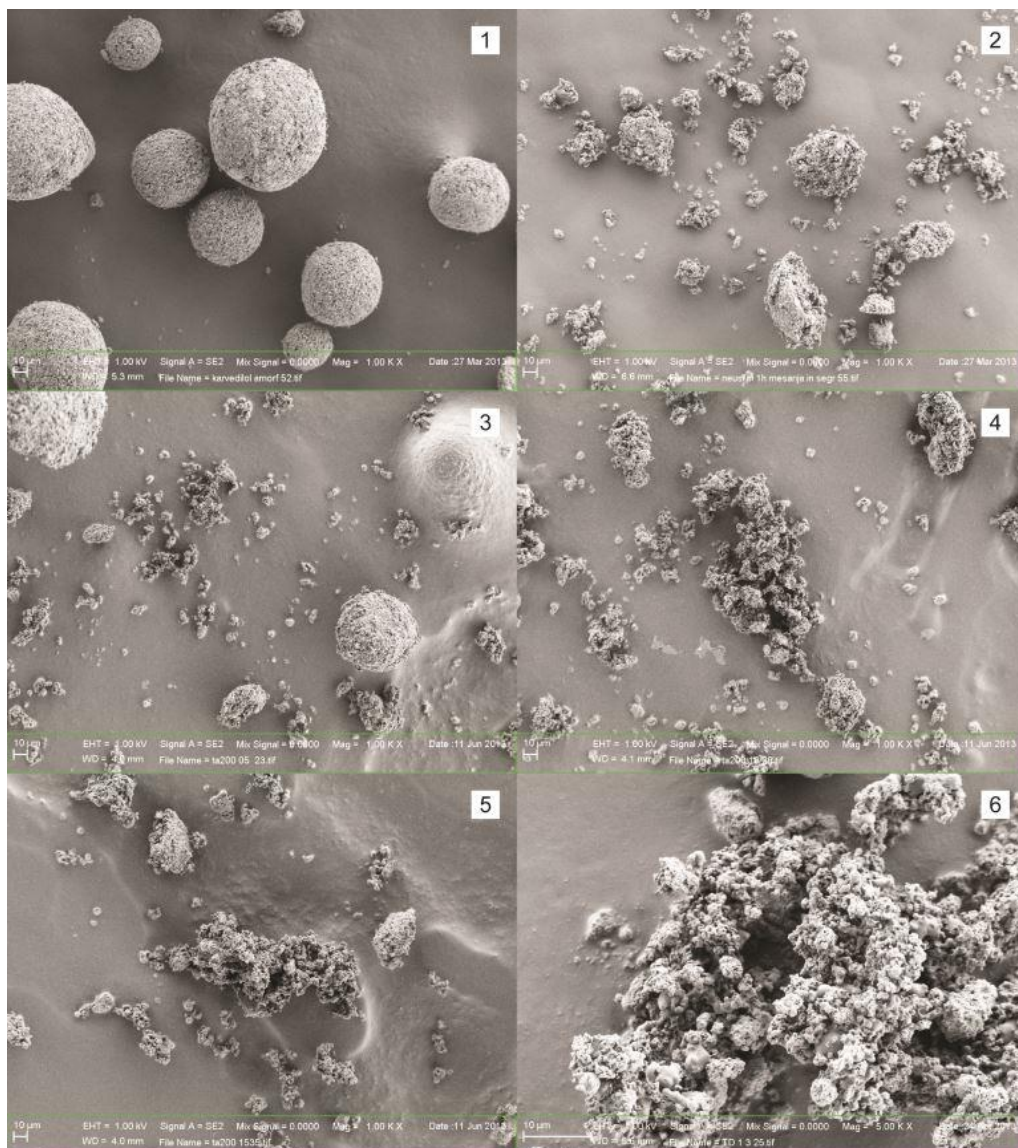
4.5.2 MULTIPLE TRDNE DISPERZIJE S PEG 400

Multiple TD s PEG 400 so po zgradbi podobne sistemom tekoče-trdno, po pripravi pa se od njih nekoliko razlikujejo, saj izdelava slednjih poteka pri sobni temperaturi. Na sliki 27 so zbrane vsebnosti učinkovine v TD s PEG 400 in Neusilinom US2. Najvišja vsebnost učinkovine v TD, izdelani s sorpcijo raztopine pri povišani temperaturi, je 25 % in je, glede na podatke, ki smo jih našli v literaturi, mnogo večja od vsebnosti v sistemih tekoče-trdno ali SES, sorbiranih na porozni nosilec, kjer so vsebnosti učinkovine običajno do 10 % (49, 50, 52, 53, 59).



Slika 27: Vsebnosti karvedilola v TD s PEG 400 in Neusilinom US2

4.5.2.1 Morfologija



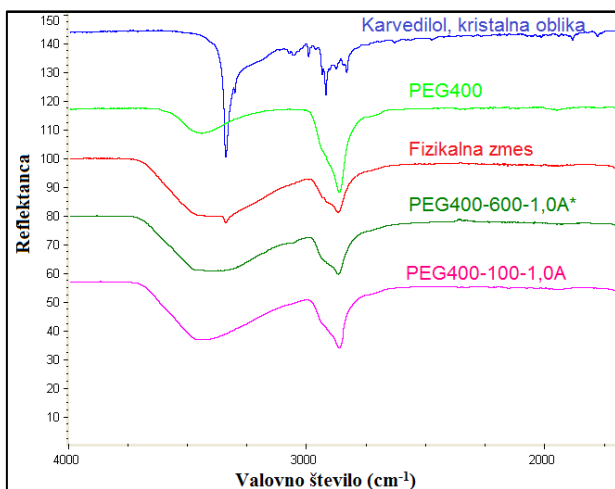
Slika 28: Posnetki Neusilina US2 in vzorcev TD, posnetih z vrstičnim elektronskim mikroskopom. (1) granule Neusilina US2, (2) Neusilin US2 po 1 uri mešanja z magnetnim mešalom v bučki na segreti silikonski kopeli, (3) PEG400-200-0,5A, (4) PEG400-200-1,5A, (5) PEG400-200-1,5A, (6) PEG400-300-1,0 (5000-kratna povečava)

Na sliki 28 so posnetki delcev Neusilina US2 in vzorcev TD, posnetih z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM) pri 1000- ali 5000-kratni povečavi. Granule Neusilina US2 so pravilne okrogle oblike in imajo na površini veliko število ozkih por. Med mešanjem z magnetnim mešalom granule Neusilina US2 razbijemo in nastanejo delci nepravilnih oblik različne velikosti. Vzorci TD imajo podobno morfologijo kot razbite granule Neusilina US2. Granule, kjer smo na 1 g Neusilina nanegli 0,5 ml disperzije karvedilola v PEG 400, so zelo podobne razbitim granulam Neusilina US2. Ko na nosilec naneseemo več disperzije, se granule začnejo združevati, površina pa se nekoliko spremeni,

verjetno zaradi napolnjenosti por. Na delu slike 28, označenim s številko 6, vidimo, da se je raztopina v obliki tekočinskega filma delno adsorbirala na zunanjo površino Neusilina US2. Zaradi tekočinskega filma nastanejo večje granule, ki jih s spatulo z lahkoto razbijemo.

4.5.2.2 Vrednotenje kristalnosti karvedilola v multiplih trdnih disperzijah

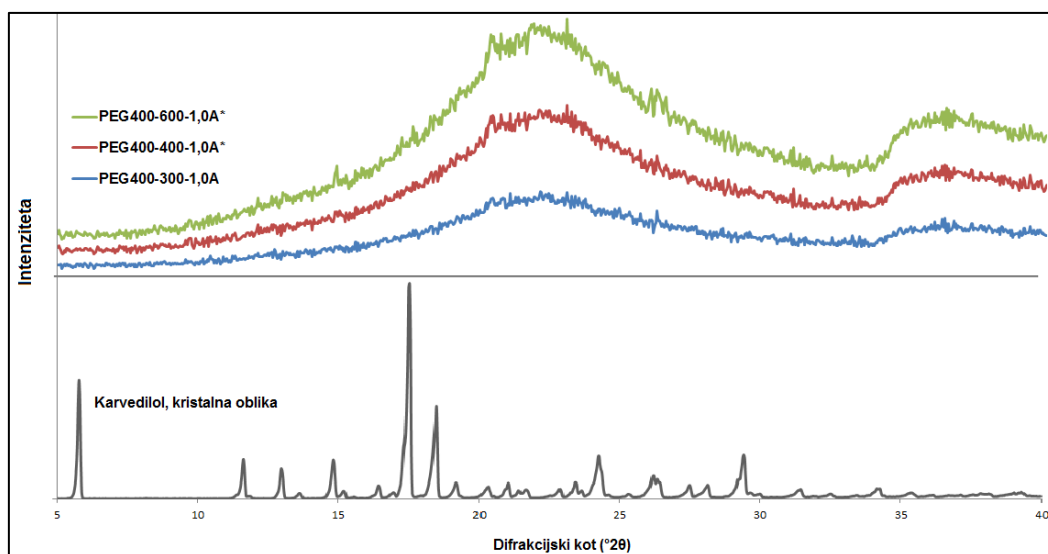
Tako kot pri disperzijah karvedilola v PEG 400, tudi pri multiplih TD z DSC-analizo nismo mogli določiti amorfности oz. kristalnosti učinkovine v vzorcu. Pri vzorcih, kjer smo na Neusilin US2 sorbirali suspenzijo karvedilola v PEG, bi pričakovali, da bomo na DSC-krivulji videli talilni vrh kristalne oblike učinkovine. Med DSC-analizo vzorec segrevamo. Ker se topnost karvedilola v PEG z višanjem temperature povečuje, se je med analizo zaradi segrevanja v PEG postopoma raztopil ves kristalni karvedilol, ki je bil prisoten v vzorcu, zato talilnega vrha na DSC-krivulji nismo opazili. O enakem pojavu so že poročali v literaturi (79, 80). Kljub temu, da pri nobenem od vzorcev nismo opazili talilnega vrha učinkovine, ne moremo trditi, da je bila pri vseh vzorcih pri sobni temperaturi vsa učinkovina v amorfni obliki/raztopljena v PEG.



Slika 29: FT-IR-spektri izhodne kristalne oblike karvedilola, PEG 400, fizikalne zmesi karvedilola, PEG 400 in Neusilina US2 in vzorcev PEG400-600-1,0A* ter PEG400-100-1,0A

Tudi z IR spektroskopijo lahko ločimo med amorfno in kristalno obliko karvedilola. Posneli smo IR-spektre kristalne oblike karvedilola, fizikalne zmesi multiple TD in dveh TD (slika 29). V enem od vzorcev TD je bila učinkovina v PEG dispergirana v obliki raztopine, v drugem pa v obliki suspenzije. V spektru fizikalne zmesi vidimo vrh, značilen za kristalno obliko karvedilola, v spektru vzorcev TD pa tega vrha ne vidimo. Kadar je učinkovina dispergirana v PEG, le ta zakrije vse vrhove učinkovine in med vzorcema ne

vidimo razlike, kljub temu, da je pri enem od vzorcev del učinkovine v kristalni obliki. Tudi s to metodo ne moremo določiti amorfности učinkovine v vzorcih.



Slika 30: X-RPD-difraktogrami kristalne oblike karvedilola in vzorcev PEG400-300-1,0A, PEG400-400-1,0A*, PEG400-600-1,0A*

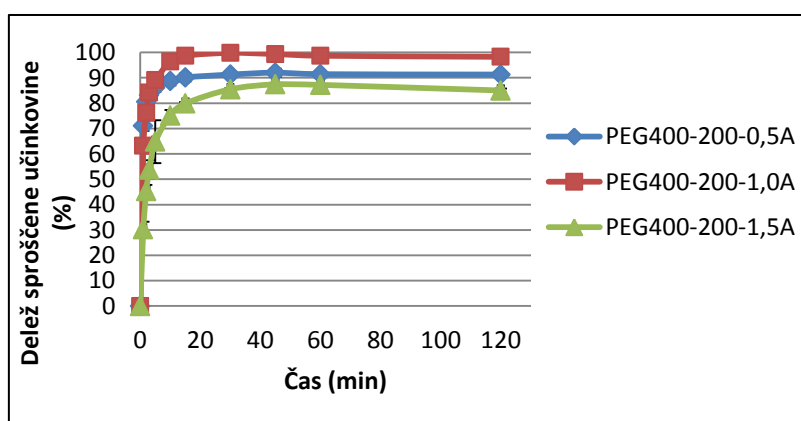
Razlike v kristalnosti oz. amorfности vzorca smo poskusili določiti tudi z rentgensko praškovno difrakcijo. Posneli smo X-RPD-spektre čistega karvedilola, TD, kjer smo na nosilec sorbiral raztopino karvedilola v PEG (PEG400-300-1,0A), in TD, pri katerih smo na nosilec sorbiral suspenziji karvedilola različnih koncentracij (PEG400-400-1,0A* in PEG400-600-1,0A*) (slika 30). V difraktogramih vzorcev ne vidimo vrhov, značilnih za karvedilol. Pri vzorcu PEG400-600-1,0A* bi lahko trdili, da vidimo značilen vrh karvedilola pri 2θ vrednosti 26,0, vendar se vrh ne loči značilno od šuma. Na podlagi difraktogramov bi sklepali, da je v vseh vzorcih karvedilol prisoten v amorfni obliki, vendar vemo, da temu ni tako. Tudi te analize ne moremo uporabiti za določevanje kristalnosti oz. amorfности karvedilola v multiplih TD. Kristalnost učinkovine v vzorcu bi lahko določali še s pomočjo NMR-analize (*Nuclear Magnetic Resonance* – jedrska magnetna resonanca), vendar zaradi zahtevnosti in cenovne nedostopnosti analize nismo izvedli.

4.5.2.3 Sproščanje

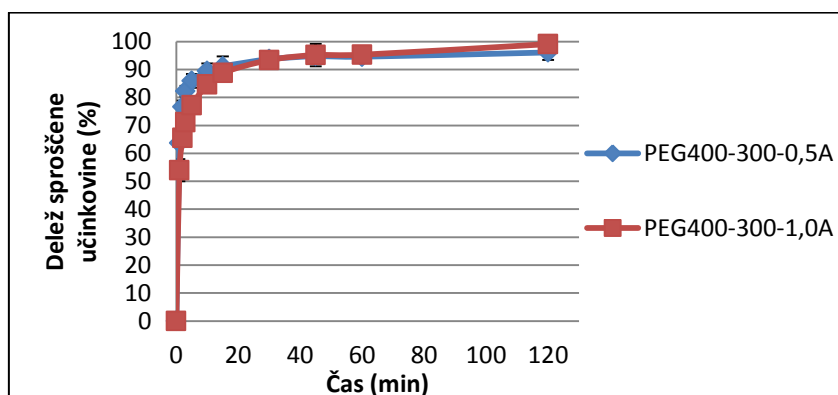
Vpliv volumna sorbirane disperzije

Na sliki 31 je graf sproščanja karvedilola iz multiplih TD, na katere smo nanegli različne volumne raztopine karvedilola v PEG 400 s koncentracijo 200 mg/ml. Sproščanje je najhitrejše in najboljše iz TD, ki ima pore teoretično skoraj popolnoma napolnjene z

raztopino učinkovine (1 ml/1 g Neusilina US2). Učinkovina se iz TD sprošča zelo hitro in po 15 minutah se sprosti praktično vsa učinkovina. Približno enako hitro se prvih nekaj minut učinkovina sprošča iz TD, kjer smo na 1 g Neusilina US2 nanесли 0,5 ml raztopine karvedilola v PEG 400. Sproščanje se po 15 minutah ustavi, kljub temu, da se je sprostilo okrog 90 % vgrajene učinkovine. Predvidevamo, da je sproščanje v tem primeru manj obsežno, ker je raztopina učinkovine globoko v porah. Ker pore niso povezane z zunanostjo (raztopina karvedilola v PEG je samo globoko v porah), medij v nekatere pore težje prodre, zato se učinkovina iz teh por ne sprošča. Drugi možen mehanizem je, da zaradi hitrega raztapljanja PEG in sproščanja učinkovine pride do lokalnega prenasajenja medija v okolici površine Neusilina US2. Učinkovina kristalizira in sproščanje se ustavi. Učinkovina se najpočasneje sprošča iz TD z največjim volumnom sorbirane raztopine (1,5 ml/1 g Neusilina US2). Razlika v hitrosti sproščanja je še posebej očitna v prvih minutah poskusa. Maksimum sproščene učinkovine je dosežen po 45 minutah.



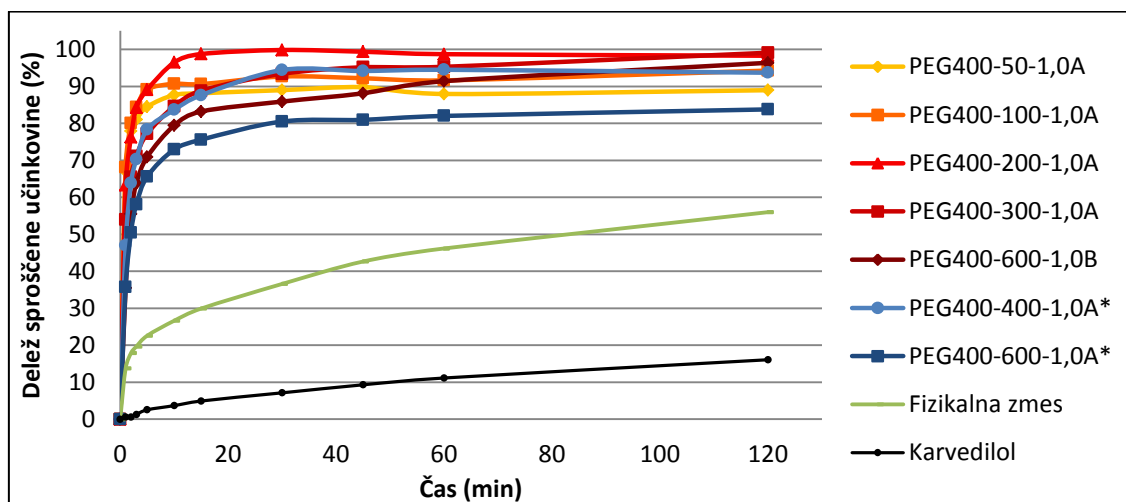
Slika 31: Graf sproščanja učinkovine iz multiplih TD z različnim volumnom sorbirane disperzije karvedilola v PEG 400. Koncentracija karvedilola v disperziji je 200 mg/ml. Medij: fosfatni pufer, pH = 6,8



Slika 32: Graf sproščanja karvedilola iz multiplih TD z različnim volumnom sorbirane disperzije karvedilola v PEG 400. Koncentracija karvedilola v disperziji je 300 mg/ml. Medij: fosfatni pufer, pH = 6,8

Pri višji koncentraciji karvedilola v PEG 400 se razlike v sproščanju zaradi različnega volumna sorbirane raztopine zabrišejo. Sproščanje iz disperzije PEG400-300-0,5A je celo hitrejše, kar je v nasprotju s prejšnjimi izsledki (slika 32). Predvidevamo, da na hitrost sproščanja močno vpliva tudi koncentracija raztopine karvedilola v PEG 400.

Vpliv koncentracije disperzije

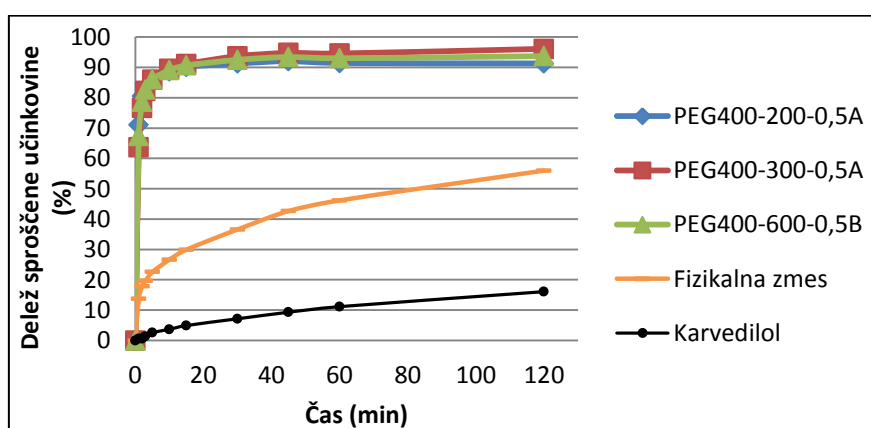


Slika 33: Graf sproščanja karvedilola iz multiplih TD z različno koncentracijo sorbirane raztopine ali suspenzije karvedilola v PEG 400 in raztapljanja čistega izhodnega karvedilola. Volumen sorbirane disperzije pri vzorcih je 1,0 ml/1 g Neusilina US2. Medij: fosfatni pufer, pH = 6,8

Na sproščanje iz multiplih TD vpliva tudi koncentracija karvedilola v sorbirani disperziji. Na sliki 33 vidimo, da do določene koncentracije raztopine (200 mg/ml) hitrost sproščanja s povečevanjem koncentracije narašča, po mejni točki pa je sproščanje iz bolj koncentriranih raztopin počasnejše. To se ujema z rezultati sproščanja iz raztopin karvedilola v PEG 400. Do določene meje je omejujoč dejavnik sproščanja učinkovine iz TD raztapljanje PEG 400, saj je v teh TD PEG 400 relativno veliko glede na učinkovino. Več kot je PEG 400 glede na učinkovino, počasneje se učinkovina sprošča. Ko dosežemo mejo se sproščanje upočasni. Vzrok za to je lahko lokalno prenasičenje karvedilola, ki mu sledi kristalizacija v mediju za sproščanje, možno pa je tudi, da učinkovina kristalizira že v samem PEG, če se ta nahaja na površini Neusilina US2 ali v širših delih por.

Iz rezultatov je razvidno, da je sproščanje iz TD, izdelanih s sorpcijo suspenzije, počasnejše kot iz tistih, ki jih izdelamo s sorpcijo raztopine. Podobno velja tudi za sisteme tekoče-trdno (50). Profila sproščanja vzorcev PEG400-300-1,0A in PEG400-400-1,0A* sta praktično enaka (razlika je le v končni točki poskusa), kljub temu da smo v drugem primeru na Neusilin US2 sorbirali suspenzijo karvedilola. Razlike v sproščanju učinkovine med vzorcema praktično ni, ker se je v disperziji karvedilola v PEG 400 s koncentracijo

400 mg/ml raztopil skoraj ves karvedilol (nasičena topnost je 350 mg/ml), prisotnih je bilo le nekaj majhnih delcev učinkovine. Karvedilol, ki je bil v PEG 400 raztopljen, se je sproščal hitro, posledica prisotnosti majhnih kristalov učinkovine pa je manjši delež sproščene učinkovine v končni točki poskusa. Razlika v sproščanju med vzorcema s koncentracijo karvedilola 600 mg/ml je večja, vendar manj očitna, kot bi morda pričakovali, saj je tudi v suspenzijah večji delež učinkovine raztopljen v PEG. Viskoznost takšne suspenzije je bila na pogled nizka, zato predvidevamo, da je del disperzije pronical v pore, del pa je ostal na površini poroznega nosilca, saj so kristali učinkovine preveliki, da bi se vgradili v ozke pore. Sproščanje iz vseh TD je bilo mnogo hitrejšo kot iz disperzij karvedilola v PEG 400 (slika 26), fizikalne zmesi ali čistega karvedilola.

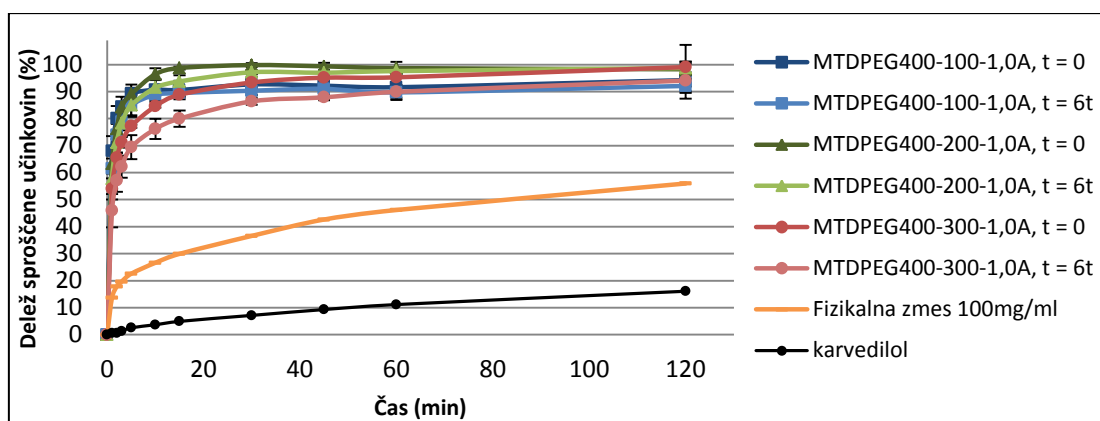


Slika 34: Graf sproščanja učinkovine iz multiplih TD z različno koncentracijo sorbirane raztopine karvedilola v PEG 400 in raztapljanja izhodne kristalne oblike karvedilola. Volumen sorbirane disperzije pri vzorcih je 0,5 ml/1 g Neusilina US2. Medij: fosfatni pufer, pH = 6,8

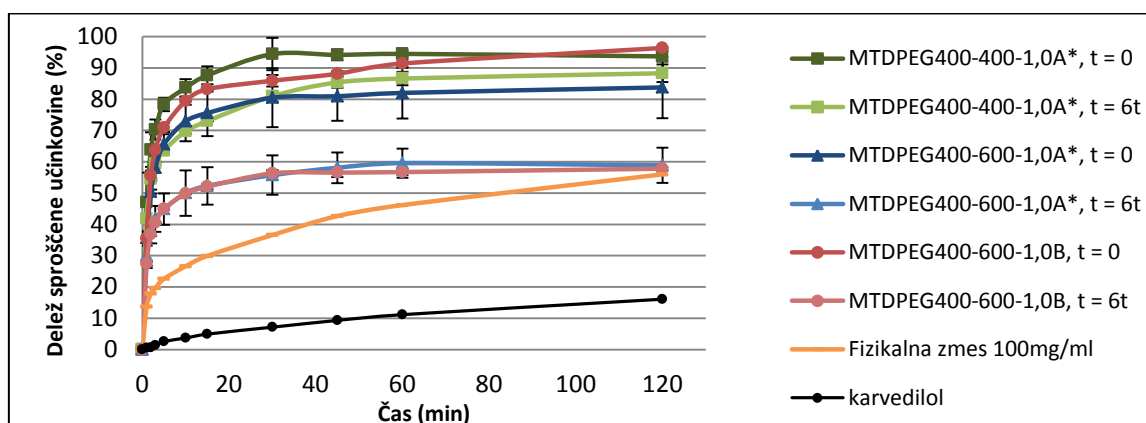
Če na nosilec nanese le 0,5 ml raztopine na 1 g Neusilina US2, je sproščanje iz TD neodvisno od koncentracije sorbirane raztopine karvedilola. Profili sproščanja teh vzorcev so si med seboj zelo podobni in se skoraj prekrivajo (slika 34). Predvidevamo, da je vsa disperzija v ozkih porah Neusilina US2. V tem primeru je sproščanje najverjetneje nadzorovano predvsem z interakcijami disperzije s površino por.

4.5.2.4 Stabilnost

Vse raztopine karvedilola v PEG 400, ki smo jih sorbirali na Neusilin US2, so pri sobni temperaturi prenasočene in zato nestabilne. Z DSC-analizo, IR spektroskopijo ali X-RPD-analizo nismo uspeli ovrednotiti, ali je učinkovina v vzorcu v kristalni ali amorfni obliki, zato smo o fizikalni stabilnosti učinkovine v vzorcu sklepali le iz primerjave profilov sproščanja ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C in 75 % RH.



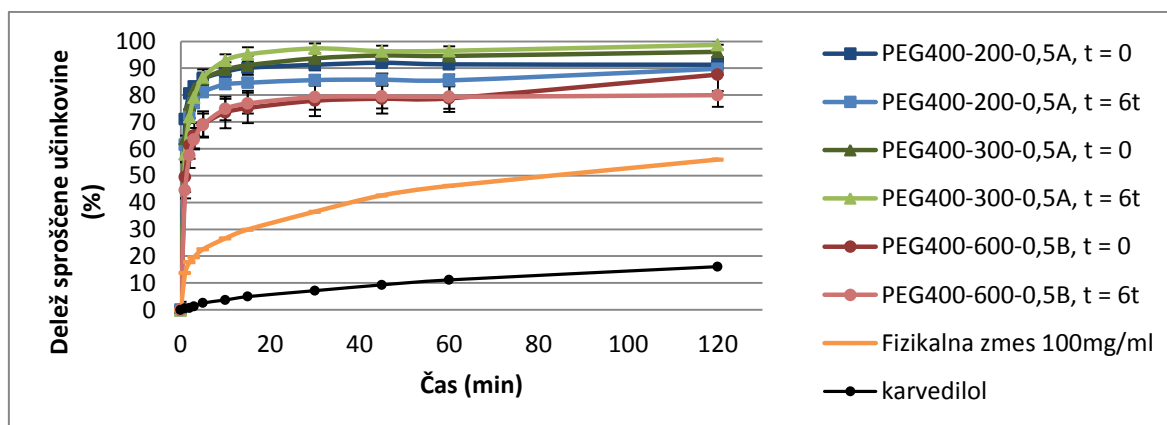
Slika 35: Raztapljanje karvedilola, sproščanje karvedilola iz fizikalne zmesi in iz multiplih TD s PEG 400 in Neusilinom US2 z volumnom sorbirane raztopine karvedilola 1,0 ml/ 1 g Neusilina US2 ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40°C/75 % RH. Koncentracije raztopin karvedilola so od 100 do 300 mg/ml. Medij: fosfatni pufer, pH = 6,8



Slika 36: Raztapljanje karvedilola, sproščanje karvedilola iz fizikalne zmesi in iz multiplih TD s PEG 400 in Neusilinom US2 z volumnom sorbirane raztopine karvedilola 1,0 ml/ 1 g Neusilina US2 ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C/75 % RH. Koncentracije suspenzij oz. raztopin karvedilola so od 400 do 600 mg/ml. Medij: fosfatni pufer, pH = 6,8

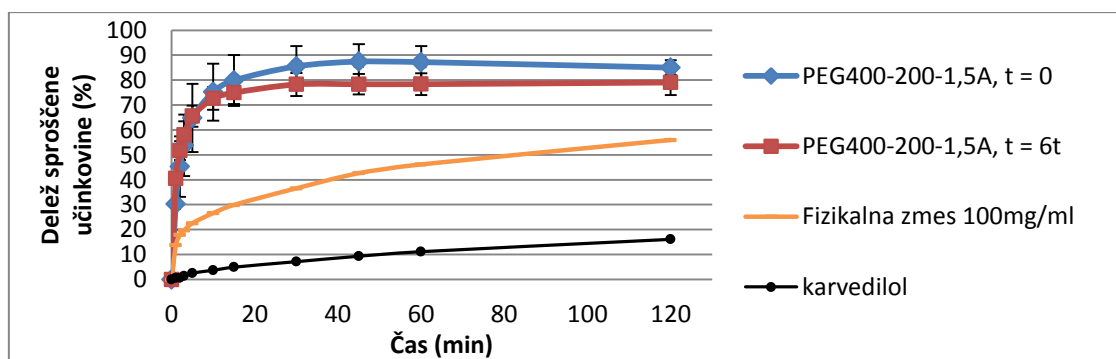
Na slikah 35 in 36 je prikazana primerjava sproščanja učinkovine iz TD z volumnom sorbirane raztopine ali suspenzije karvedilola 1,0 ml/ 1 g Neusilina US2 ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C in 75 % RH. Krivulji sproščanja karvedilola iz multiple TD ob času 0 in po 6 tednih se pri vzorcih PEG400-100-1,0A in PEG400-200-1,0A skoraj prekrivata, zato sklepamo, da sta TD fizikalno stabilni. V teh vzorcih učinkovina ni kristalizirala, saj ne pride do upočasnitve sproščanja iz TD. TD s koncentracijo raztopine ali suspenzije enako ali večjo od 300 mg/ml so nestabilne. Večja kot je koncentracija karvedilola v PEG 400, večji delež učinkovine kristalizira po 6 tednih shranjevanja, saj se sprosti značilno manj učinkovine kot ob času 0. Zmanjšanje hitrosti sproščanja je največje za TD s koncentracijo karvedilola v sorbirani disperziji 600 mg/ml. Kljub temu, da je ob času 0 sproščanje iz TD, na katero smo sorbirali raztopino karvedilola v PEG 400, hitrejša

in bolj obsežno kot iz TD, na katero smo sorbirali suspenzijo, se po 6 tednih profila sproščanja za obe TD prekrivata.



Slika 37: Raztapljanje karvedilola, sproščanje karvedilola iz fizikalne zmesi in iz multiplih TD s PEG 400 in Neusilinom US2 z volumnom sorbirane raztopine karvedilola 0,5ml/ 1 g Neusilina US2 ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C in 75 % RH. Medij: fosfatni pufer, pH = 6,8

Pri disperzijah, kjer je volumen sorbirane raztopine 0,5 ml/ 1g Neusilina, pričakujemo, da je vsa raztopina znotraj por nosilca. To potrjuje primerjava sproščanja učinkovine iz teh TD ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C in 75 % RH na sliki 37. Profili sproščanja se prekrivajo (razlike so v okviru eksperimentalnih napak), zato lahko sklepamo, da so multiple TD karvedilola s PEG 400 in Neusilinom US2 stabilne, kadar je vsa raztopina učinkovine v ozkih porah anorganskega nosilca.



Slika 38: Raztapljanje karvedilola, sproščanje karvedilola iz fizikalne zmesi in iz multiple TD s PEG 400 in Neusilinom US2 z volumnom sorbirane raztopine karvedilola 1,5ml/ 1 g Neusilina US2 ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C in 75 % RH. Medij: fosfatni pufer, pH = 6,8

Iz primerjave profilov sproščanja karvedilola iz multiple TD z volumnom sorbirane raztopine 1,5 ml/ 1 g Neusilina US2 težko sklepamo o fizikalni stabilnosti TD (slika 38). Profila sproščanja se prvih nekaj minut prekrivata, nato pa je sproščanje iz TD, ki smo jo 6 tednov shranjevali pri 40 °C in 75 % RH, nekoliko počasnejše. Standardni odklon sproščene učinkovine iz vzorcev je v vseh časovnih točkah velik. Sklepamo, da je vzorec

nehomogen, saj se je verjetno na nekatere delce Neusilina US2 sorbiral več raztopine karvedilola v PEG 400. Tudi v samem vzorcu smo opazili večje skupke granul, ki pa smo jih z lahkoto razbili z dotikom spatule. Nastanek večjih granul lahko pripišemo načinu izdelave, saj na nosilec nanašamo relativno velike kapljice raztopine. V kolikor bi raztopino pršili na nosilec v obliki majhnih kapljic (npr. z industrijsko metodo v hitrovrtečih mešalnikih), bi se ta bolj enakomerno porazdelila po nosilcu, vzorec bi bil bolj homogen in aglomerati manjši. Razlike v sproščanju iz vzorcev bi torej lahko bile zgolj posledica nehomogenosti vzorca.

4.5.3 MULTIPLE TRDNE DISPERZIJE S PEG 1500

Izdelali smo tudi multiple TD s PEG 1500. Po lastnostih so zelo podobne multiplim TD s PEG 400, zato so rezultati meritev v prilogi. Sproščanje iz teh TD je odvisno predvsem od hitrosti raztapljanja PEG 1500, ki se raztaplja počasneje kot PEG 400, vpliva volumna sorbirane disperzije in njene koncentracije skoraj ne opazimo. Raztapljanje PEG 1500 v mediju za sproščanje je počasnejše, zato je maksimum sproščene učinkovine šele pri 45 minutah, ko se iz vseh TD sprosti približno 80–90 % učinkovine. Te multiple TD so fizikalno stabilne 6 tednov tudi za disperzije s koncentracijo karvedilola 300 mg/ml. Sklepamo, da je v PEG 1500 hitrost kristalizacije učinkovine kinetično upočasnjena.

4.6 PRIMERJAVA TRDNIH DISPERZIJ

V diplomskem delu smo s tremi različnimi metodami izdelali TD karvedilola in s tem izboljšali njegovo hitrost raztapljanja. Da je TD farmacevtsko uporabna, mora biti učinkovina v TD fizikalno in kemijsko stabilna ves čas roka uporabnosti, sproščanje učinkovine iz nje pa primerljivo ob času izdelave in ob izteku roka uporabnosti. V splošnem je, zaradi boljšega močenja, sproščanje hitrejše iz TD z večjim deležem Neusilina US2, poleg močenja pa na hitrost in obseg sproščanja vpliva tudi delež amorfnе oz. molekularno dispergirane učinkovine.

Izboljšanje sproščanja karvedilola je bilo najmanjše pri TD izdelanih s somletjem, saj je bil pri večini TD le del učinkovine v amorfni obliki. Popolnoma amorfnu TD smo dobili le s 24-urnim mletjem fizikalne zmesi karvedilola in Neusilina US2 z razmerjem 1 : 2. Sproščanje iz te TD kljub pričakovanjem ni bilo najhitrejše, saj se med somletjem učinkovina nalaga po površini Neusilina US2 in hidrofobizira njegovo površino. Zaradi slabšega močenja se izniči izboljšanje raztapljanja zaradi prisotnosti amorfnе učinkovine. Po 120 minutah se je iz TD z vsebnostjo karvedilola 50 % in popolnoma amorfnе TD

sprostilo približno 50 % učinkovine, iz TD z vsebnostjo karvedilola 33 % pa 73 % vgrajene učinkovine. Ker se je med procesom somletja karvedilol nalagal na površino Neusilina US2, je po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C in 75 % RH vsa učinkovina kristalizirala v različne polimorfne oblike. Takšne TD so zaradi fizikalne nestabilnosti neuporabne v farmaciji, poleg tega pa je proces izdelave amorfnih TD s somletjem dolgotrajen in energijsko potraten.

Sproščanje karvedilola iz TD, izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku, je bilo hitrejše in bolj obsežno v primerjavi s TD, izdelanimi s somletjem. V teh TD je bila vsa učinkovina v amorfnih oblikah, močenje TD pa je bilo dobro, saj je bila učinkovina predvsem v porah nosilca. Pri TD z vsebnostjo karvedilola 50 % so pore Neusilina US2 praktično zapolnjene s karvedilolom, zato se je ta iz njih sproščal počasneje in skoraj linearno. Po 120 minutah se je sprostilo približno 80 % vgrajene ZU. Sproščanje iz TD z vsebnostjo karvedilola 33 % je bilo hitrejše, krivulja sproščanja pa je imela bolj logaritemsko obliko. Pri 40 °C in 75 % RH so bile 6 tednov fizikalno stabilne le TD z vsebnostjo karvedilola 33 %, saj je v teh TD vsa učinkovina v ozkih porah Neusilina US2, kjer je kristalizacija zaradi prostorskih omejitev preprečena. Sklepamo, da bi bile fizikalno stabilne tudi TD z vsebnostjo karvedilola manjšo od 33 %. Formulacijo bi tako še izboljšali, saj bi bilo sproščanje iz njih še hitrejše. Z metodo odparevanja topila pri znižanem tlaku lahko hitro in enostavno pripravimo stabilno amorfnih TD z relativno veliko vsebnostjo učinkovine. Masa stabilne TD za 25-miligramski odmerek karvedilola je 75 mg, poleg tega pa so pretočne lastnosti te disperzije podobne Neusilinu US2, zato bi bila izdelava trdnih FO enostavna. Največja in pomembna slabost te metode je uporaba hlapnih organskih topil. Tem se v farmacevtski proizvodnji zaradi drage opreme, možnosti zaostanka topil v produktu in neekološkosti izogibamo.

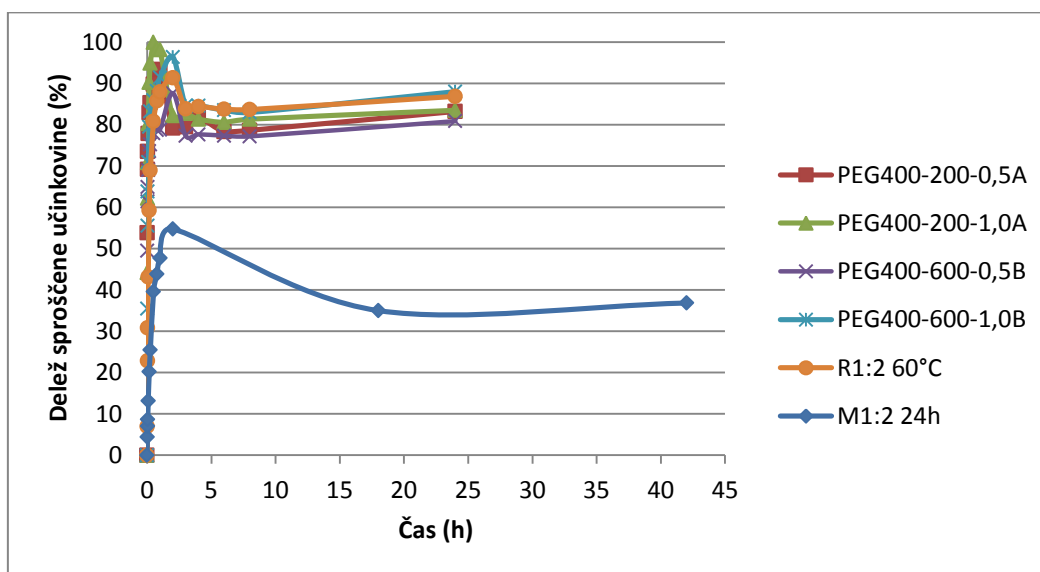
Inovativna metoda izdelave TD, ki je kombinacija tehnik izdelave TD in sorpcije taline na porozni nosilec pri povišani temperaturi (po načinu izdelave je podobna granuliranju s talinami z razprševanjem od zgoraj), se je izkazala kot izjemno dobra za izdelavo fizikalno stabilnih TD, saj se učinkovina iz njih sprošča zelo hitro. Že po 15 minutah se sprosti med 70 in 99 % vgrajene učinkovine, medtem ko se iz TD, izdelanih z odparevanjem topila, enaka količina sprosti šele po 120 minutah. Vzroka za hitrejše sproščanje v primerjavi s TD, izdelanimi s somletjem ali z odparevanjem topila pri znižanem tlaku, sta boljše močenje zaradi večje vsebnosti Neusilina US2 v TD (vgradili smo lahko le do 25 % karvedilola) in prisotnosti PEG, poleg tega pa je v teh TD učinkovina v večini primerov v

raztopljeni obliki. Po približno 45 minutah se sproščanje zaradi interakcij med disperzijo in poroznim nosilcem ali kristalizacije učinkovine ustavi, tudi če se v tem času ni sprostila vsa vgrajena učinkovina. Delež sproščene učinkovine v končni točki poskusa je dobro napovedljiv in je podoben za vse TD, izdelane s to metodo. Sproščanje iz TD je odvisno predvsem od raztapljanja PEG v mediju, zato se učinkovina počasneje sprošča iz TD s PEG 1500. S primerjavo profilov sproščanja ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C in 75 % RH smo ugotovili, da so stabilne vse TD, pri katerih je sorbirana raztopina karvedilola v PEG globoko v porah (0,5ml/1g Neusilina US2) in TD s PEG 400 s koncentracijo sorbirane raztopine 200 mg/ml ali manj. TD s PEG 1500 so zaradi kinetične upočasnitve kristalizacije stabilne tudi pri višjih koncentracijah molekularne disperzije karvedilola v PEG. Natehte fizikalno stabilnih TD za 25-miligramski odmerek karvedilola so bile od 140 mg do 580 mg, kar je več kot za TD, izdelane z odparevanjem topila pri znižanem tlaku. Kljub temu, da bi lahko bila pri nižjih vsebnostih karvedilola hitrost sproščanja iz TD, izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku, podobna kot pri TD karvedilola s PEG in Neusilinom US2, je pomembna prednost teh TD, da pri njihovi izdelavi ne uporabljamo hlapnih organskih topil. Metoda izdelave je enostavna in hitra, TD karvedilola s PEG in Neusilinom US2 pa lahko v industrijskem merilu izdelamo v hitrovrtečih mešalnikih. Ker bi raztopino oz. TD karvedila s PEG hitreje pršili na nosilec, bi lahko čas izdelave TD skrajšali na manj kot eno uro.

Rezultati 24-urnega sproščanja karvedilola iz trdnih disperzij karvedilola

Iz večine TD se po 120 minutah ne sprosti vsa učinkovina, zato smo želeli ovrednotiti, po kolikšnem času se sproščanje iz TD ustavi in kakšen je maksimum sproščene učinkovine. Rezultati so na sliki 39. Sproščanje smo pri vseh TD izvajali 24 h, pri TD M1:2 24h pa 42 ur, vendar sta po 120 minutah le dve točki vzorčenja. Ne glede na metodo izdelave TD opazimo, da se maksimalna količina učinkovine sprosti do tretje ure poskusa sproščanja. Maksimumu sledi hiter padec koncentracije, nato pa se koncentracija učinkovine počasi povečuje (padec pri vzorcu M1:2 24h ni viden, saj vzorčenje ni bilo dovolj pogosto). Padec koncentracije je verjetno posledica kristalizacije učinkovine. Predvidevamo, da se v mediju pred dosegom maksimalne koncentracije zaradi lokalnega prenasičenja tvorijo nukleacijska jedra. V nekem trenutku se na ta jedra začne nalagati že raztopljena učinkovina in čez čas koncentracija v mediju pade. Sproščanje se nadaljuje s kristalov učinkovine, vendar je tako kot v primeru kristalne oblike karvedilola počasno. Ravnotežna nasičena topnost karvedilola v mediju za raztapljanje je približno enaka koncentraciji karvedilola v mediju,

če bi se iz TD sprostil vsa učinkovina. Ker pri preskusu raztapljanja ni »sink« pogojev, na hitrost sproščanja vpliva tudi koncentracija učinkovine v mediju. O kristalizaciji učinkovine pri sproščanju iz mezoporoznih nosilcev poročajo tudi drugi, vendar je v teh primerih prišlo do velikega prenasičenja učinkovine v mediju za sproščanje (44, 45). Iz DSC-termograma vzorca M1:2 24h, ki smo ga odvzeli z dna posode za sproščanje po 42-urnem poskusu, vidimo (slika 16), da je vsa učinkovina prisotna v kristalni obliki polimorfa III karvedilola. Sklepamo lahko, da karvedilol v mediju kristalizira v polimorfno obliko III tudi iz drugih TD, saj so profili sproščanja za vse TD podobni. S poskusom smo dokazali, da se iz večine TD ne sprosti vsa vgrajena učinkovina, saj prej pride do njene kristalizacije. Zanimivo, kristalizacija ni toliko povezana z doseženo koncentracijo učinkovine v mediju, hitrostjo sproščanja ali metodo izdelave, ampak je časovno določena. Kristalizacijo karvedilola v mediju za sproščanje bi lahko preprečili z dodatkom inhibitorjev kristalizacije, npr. HPMC, HPMC-acetat sukcinata in drugih. S takšnim pristopom so zaradi inhibicije kristalizacije povečali biološko uporabnost amorfnih TD itrakonazola z urejenim mezoporoznim silikatom SBA-15 (24).



Slika 39: Sproščanje učinkovine iz TD, izdelanih s somletjem, odparevanjem topila pri znižanem tlaku in sorpcijo raztopine učinkovine v nehlapnem topilu na porozni nosilec pri povišani temperaturi

5 ZAKLJUČKI

V diplomskem delu smo s tremi različnimi metodami izdelali TD karvedilola, in sicer z metodo somletja, z odparevanjem topila pri znižanem tlaku in metodo, ki je kombinacija tehnik izdelave TD in sorpcije talin na porozni nosilec pri povišani temperaturi. Iz vseh TD se je učinkovina sproščala hitreje in v večjem obsegu v primerjavi z njeno kristalno obliko. Pri vseh TD je sproščanje učinkovine odvisno od vsebnosti amorfnе (ali raztopljenе) učinkovine in od njenega močenja. Hidrofilni nosilec Neusilin US2 izboljša močenje učinkovine, zato je sproščanje iz TD z večjim deležem Neusilina US2 hitrejše in bolj obsežno. Specifičnih interakcij med karvedilolom in Neusilinom US2 nismo opazili.

Izboljšanje sproščanja učinkovine je bilo najmanjše pri TD, izdelanih s somletjem, saj je delež amorfizirane učinkovine tu najmanjši, močenje TD pa slabo. Amorfizacija poteka preko vmesne pretvorbe v različne polimorfne oblike karvedilola. Pri istem času mletja je amorfizacija karvedilola bolj obsežna, kadar je v mleti zmesi več Neusilina US2. Popolnoma amorfno TD smo dobili le s 24-urnim mletjem fizikalne zmesi karvedilola in Neusilina US2 z razmerjem 1 : 2, vendar pa sproščanje iz te TD ni najhitrejše. Med somletjem se učinkovina nalaga po površini Neusilina US2 in hidrofobizira njegovo površino, zato je močenje popolnoma amorfnе TD slabše. Na DSC-krivuljah TD, izdelanih s somletjem, smo opazili povišanje temperature steklastega prehoda karvedilola. Zanimivo, tega fenomena ne opazimo pri TD, izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku. Vzroke za ta pojav bi bilo vredno raziskati. Kljub povišanju temperature steklastega prehoda, TD niso fizikalno stabilne. Po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C in 75 % RH vsa učinkovina kristalizira v različne polimorfne oblike karvedilola.

TD, izdelane z odparevanjem topila pri znižanem tlaku, so popolnoma amorfnе, sproščanje učinkovine iz njih pa je hitro in obsežno tudi zato, ker se učinkovina nalaga predvsem globoko pore in je močenje TD dobro. Učinkovina se počasneje sprošča iz TD z večjo vsebnostjo karvedilola (50 %), ker je v njih amorfnа učinkovina v porah naložena v več slojih, učinkovina pa se po zapolnjenju por nalaga tudi na površino Neusilina US2. Temperatura odparevanja topila ne vpliva na sproščanje ali fizikalno stabilnost TD. Fizikalno stabilne so le TD z vsebnostjo karvedilola 33 %, kjer je vsa amorfnа učinkovina globoko v porah Neusilina US2. V fizikalno nestabilnih TD del amorfnе učinkovine kristalizira v polimorfno obliko II. Iz primerjave DSC-krivulj smo ugotovili, da amorfen

karvedilol v TD, izdelanih z različnimi metodami, kristalizira v različne polimorfne oblike. Kristalizacija čistega amorfnega karvedilola ali njegove fizikalne zmesi z Neusilinom US2 je drugačna kot pri TD.

Z inovativno metodo izdelave multiplih TD karvedilola s PEG in Neusilinom US2, ki je kombinacija tehnik izdelave TD in sorpcije talin na porozni nosilec pri povišani temperaturi, smo lahko vgradili le do 25 % učinkovine, vendar pa je sproščanje neprimerljivo hitreje kot iz TD, izdelanih z drugima metodama. Že po 15 minutah se sprost enaka količina karvedilola kot po 120 minutah iz TD, izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku. Sproščanje je odvisno predvsem od raztapljanja PEG v mediju in je hitreje iz TD s PEG 400, manjši vpliv imata tudi volumen sorbirane disperzije in njena koncentracija. Po približno 45 minutah se sproščanje ustavi tudi, ko se ne sprost vsa učinkovina. Fizikalno stabilnost TD smo lahko ocenili le s primerjavo profilov sproščanja ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C in 75 % RH, saj z DSC-, IR- in X-RPD-analizo nismo mogli določiti, ali je učinkovina v amorfni ali kristalni obliki. Fizikalno stabilne so TD, kjer je raztopina karvedilola v PEG globoko v porah Neusilina US2 in TD s PEG 400 s koncentracijo sorbirane raztopine 200 mg/ml ali manj. TD s PEG 1500 so zaradi kinetične upočasnitve kristalizacije učinkovine stabilne tudi pri višjih koncentracijah molekularne disperzije. Opazili smo, da se delci TD začnejo združevati, kadar je volumen sorbirane tekočine večji od celokupnega volumna por.

Iz večine TD se niti po 24 urah sproščanja ne sprost ves vgrajen karvedilol, saj prej pride do njegove kristalizacije v mediju za sproščanje. Zanimivo, kristalizacija ni toliko povezana z doseženo koncentracijo učinkovine v mediju, hitrostjo sproščanja ali metodo izdelave, ampak je časovno določena (po približno 3 urah sproščanja). Kristalizacijo karvedilola v mediju za sproščanje bi lahko preprečili z dodatkom inhibitorjev kristalizacije.

Farmacevtsko uporabne so TD, izdelane z odparevanjem topila pri znižanem tlaku, in TD, izdelane s sorpcijo raztopine karvedilola v PEG pri povišani temperaturi. Kljub temu, da bi bila morda pri nižjih vsebnostih karvedilola hitrost sproščanja iz TD, izdelanih z odparevanjem topila pri znižanem tlaku, podobna kot pri TD karvedilola s PEG in Neusilinom US2, je pomembna prednost slednjih, da pri njihovi izdelavi ne uporabljamo hlapnih organskih topil. Te TD bi lahko bile tudi dobra alternativa SES, sorbiranim na mezoporozne nosilce, in sistemom tekoče-trdno, saj je sproščanje iz njih po mehanizmu in hitrosti podobno, izdelava pa bolj enostavna in v industrijskem merilu mogoča v hitrovrtečih mešalnikih.

6 LITERATURA

1. Dhirendra K, Lewis S, Udupa N, Atin K: Solid dispersions: A review. *Pak J Pharm Sci* 2009; 22: 234-246.
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; 420: 1-10.
3. The Biopharmaceutics Classification System (BCS) Guidance. Dostopno na (junij 2013):
<http://www.fda.gov/AboutFDA/CentersOffices/OfficeofMedicalProductsandTobacco/CDER/ucm128219.htm>
4. Horter D, Dressman JB: Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. *Adv Drug Del Rev* 1997; 25: 3-14.
5. Savjani KT, Gajjar AK, Savjani JK. Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques. *ISNR Pharm* 2012; 2012: 195727 (Published online).
6. Serajuddin ATM: Solid Dispersion of Poorly Water-Soluble Drugs: Early Promises, Subsequent Problems, and Recent Breakthroughs. *J Pharm Sci* 1999; 88: 1058-1066.
7. Bhurga C, Pikal MJ: Role of Thermodynamic, Molecular, and Kinetic Factors in Crystallization From Amorphous State. *J Pharm Sci* 2008; 97: 1329-1349.
8. Newman A, Knipp G, Zografi G: Assessing the Performance of Amorphous Solid Dispersions. *J Pharm Sci* 2012; 101: 1355-1377.
9. Hancock BC, Parks M: What is the True Solubility Advantage for Amorphous Pharmaceuticals?. *Pharm Res* 2000; 17: 397-404.
10. Laitinen R, Löbmann K, Strachan CJ, Grohgan H, Rades T: Emerging trends in the stabilization of amorphous drugs. *Int J Pharm* 2013; 453: 65-79.
11. Sekiguchi K, Obi N: Studies on absorption of eutectic mixture. I. A comparison of the behavior of eutectic mixture of sulfathiazole and that of ordinary sulfathiazole in man. *Chem Pharm Bull* 1961; 9: 866-872.
12. Saffon N, Uddin R, Huda NH, Sutradhar KB: Enhancement of Oral Bioavailability and Solid Dispersion: A Review. *J App Pharm Sci* 2011; 1: 13-20.
13. Chiou WL, Reigelman S: Pharmaceutical applications of solid dispersion systems. *J Pharm Sci* 1971; 60: 1281-1302.

14. Vasconcelos T, Sarmiento B, Costa P: Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs. *Drug Discovery Today* 2007; 12: 1068-1075.
15. Planinšek O: Sodobni pristopi k izdelavi trdnih disperzij z izboljšano biološko uporabnostjo učinkovin. *Farmacevtski vestnik* 2009; 60: 169-175.
16. Mogal SA, Gurjar PN, Yamgar DS, Kamod AC: Solid dispersion technique for improving solubility of some poorly soluble drugs. *Der Pharmacia Lettre* 2012; 4: 1574-1586.
17. Watanabe T, Ohno I, Wakiyama N, Kusai A, Senna M: Stabilization of amorphous indomethacin by co-grinding in a ternary mixture. *Int J Pharm* 2002; 241: 103-111.
18. Ford JL: The current status of solid dispersions. *Pharm Acta Helv* 1986; 3: 69-88.
19. Sakurai A, Sako K, Maitani Y: Influence of Manufacturing Factors on Physical Stability and Solubility of Solid Dispersions Containing a Low Glas Transition Temperature Drug. *Chem Pharm Bull* 2012; 60: 1366-1371.
20. Yu L: Amorphous pharmaceutical solids: preparation, characterization and stabilization. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2001; 48: 27-42.
21. Konno H, Taylor LS: Influence of different polymers on the crystallization tendency of molecularly dispersed amorphous felodipine. *J Pharm Sci* 2006; 95: 2692-2705.
22. Van den Mooter G, Wuyts M, Bleton N, Busson R, Grobet P, Augustijns P, Kinget R: Physical stabilisation of amorphous ketoconazole in solid dispersions with polyvinylpyrrolidone K25. *Eur J Pharm Sci.* 2001; 12: 261-269.
23. Ukmar T, Mali G, Planinšek O: Sistemi s prirejenim sproščanjem na osnovi mezoporoznih ogrodij. *Farm Vestn* 2009; 60: 313-318.
24. Van Speybroeck M, Mols R, Mellaerts R, *et al.*: Combined use of ordered mesoporous silica and precipitation inhibitors for improved oral absorption of the poorly soluble weak base itraconazole. *Eur J Pharm Biopharm* 2010; 75: 354-365.
25. Qian KK, Bogner RH: Application of Mesoporous Silicon Dioxide and Silicate in Oral Amorphous Drug Delivery System. *J Pharm Sci* 2012; 101: 444-463.
26. Kinnari P, Mäkilä E, Heikkilä T, Salonen J, Hirvonen J, Santos HA: Comparison of mesoporous silicon and non-ordered mesoporous silica materials as drug carriers for itraconazole. *Int J Pharm* 2011; 414: 148-156.
27. Kovačič B, Vrečer F, Planinšek O: Solid Dispersions of Carvedilol with Porous Silica. *Chem Pharm Bull* 2011; 59: 427-433.

28. Streubel A, Siepmann J, Bodmeier R: Floating matrix tablet based on low density foam powder: effects of formulation and processing parameters on drug release. *Eur J Pharm Sci* 2003; 18: 37-45.
29. Kinoshita M, Baba K, Nagayasu A *et al.*: Improvement of Solubility and Oral Bioavailability of a Poorly Water-Soluble Drug, TAS-301, by Its Melt-Adsorption on a Porous Calcium Silicate. *J Pharm Sci* 2002; 91: 362-370.
30. Bahl D, Bogner RH: Amorphization of Indomethacin by Co-grinding with Neusilin US2: Amorphization Kinetics, Physical Stability and Mechanism. *Pharm Res* 2006; 23: 2317-2325.
31. Okonoi S, Oguchi T, Yonemochi E, Puttipatkhachorn S, Yamamoto K: Physicochemical properties of ursodeoxacholic acid dispersed in controlled pore glass. *J Colloid Interface Sci* 1999; 216: 276-284.
32. Ali AS, Yamamoto K, El-Sayed AM, Habib FS, Nakai Y: Molecular behaviour of flufenamic acid in physical and ground mixtures with flourite. *Chem Pharm Bull* 1992; 40: 1289-1294.
33. Kawanabe K, Okada Y, Matsuse Y, Iida H, Nakamura T: Treatment of osteomyelitis with antibiotic-soaked porous ceramic. *J Bone Joint Surg* 1998; 80B: 527-530.
34. Charnay C, Bégu S, Tourné-Péteilh C, Nicole L, Lerner DA, Devoisselle JM: Inclusion of ibuprofen in mesoporous templated silica: drug loading and release property. *Eur J Pharm Biopharm* 2004; 57: 533-540.
35. Ukmar T, Godec A, Planinšek O, Kaučič V, Mali G, Gaberšček M. The phase (trans)formation and physical state of a model drug in mesoscopic confinement. *Phys Chem Chem Phys* 2001; 12: 16046-16054.
36. Parida SK, Dash S, Patel S, Mishra BK. Adsorption of organic molecules on silica surface. *Adv Colloid Interface Sci* 2006; 121: 77-110.
37. Mellaerts R, Jammaer JA, Van Speybroeck M, Chen H, Van Humbeeck J, Augustijns P, Van den Mooter G, Martens JA: Physical state of poorly water soluble therapeutic molecules loaded into SBA-15 ordered mesoporous silica carriers: a case study with itraconazole and ibuprofen. *Langmuir* 2008; 24: 8651-8659.
38. Bahl D, Hudak J, Bogner RH: Comparison of the Ability of Various Pharmaceutical Silicates to Amorphize and Enhance Dissolution of Indomethacin Upon Co-grinding. *Pharm Dev Technol* 2008; 13: 255-269.

39. Xu W, Riikonen J, Lehto VP: Mesoporous systems for poorly soluble drugs. *Int J Pharm.* 2013; 453: 181-197.
40. Takeuchi H, Nagira S, Yamamoto H, Kawashima Y: Solid dispersion particles of tolbutamide prepared with fine silica particles by the spray-drying method. *Powder Technology* 2004; 141: 187-195.
41. Miura H, Kanebako M, Shirai H, Nakao H, Inagi T, Terada K: Enhancement of dissolution rate and oral absorption of a poorly water-soluble drug, K-832, by adsorption onto porous silica using supercritical carbon dioxide. *Eur J Pharm Biopharm* 2010; 76: 215-221.
42. Konno T: Physical and chemical changes of medicinals in mixtures with adsorbents in the solid state. IV. Study on reduced-pressure mixing for practical use of amorphous mixtures of flufenamic acid. *Chem Pharm Bull* 1990; 38: 2003-2007.
43. Gupta MK, Vanwert A, Bogner RH: Formation of Physically Stable Amorphous Drugs by Milling with Neusilin. *J Pharm Sci* 2003; 92: 536-551.
44. Bahl D, Bogner RH: Amorphization alone does not account for the enhancement of solubility of drug co-ground with silicate: the case of indomethacin. *AAPS PharmSciTech* 2008; 9: 146-153.
45. Maclean J, Medina C, Daurio D, Alvares-Nunes F, Jona J. Manufacture and performance evaluation of a stable amorphous complex of an acidic drug molecule and Neusilin. *J Pharm Sci.* 2011; 8: 3332-3344.
46. Mallick S, Pattnaik S, Swain K et al. Formation of physically stable amorphous phase of ibuprofen by solid state milling with kaolin. *Eur J Pharm Biopharm.* 2008; 68: 346-351.
47. Hanawa T, Ikoma R, Watanabe A, Hidaka M, Sugihara M: Preparation and characterization of sealed heated mixture of ethenzamide and porous calcium silicate. *Chem Pharm Bull* 1996; 44: 1367-1371.
48. Spireas S, Sadu S, Grover R: In Vitro Release Evaluation of Hydrocortisone Liquisolid Tablets. *J Pharm Sci* 1998; 87: 867-872.
49. Spireas S, Sadu S: Enhancement of prednisolone dissolution properties using liquisolid compacts. *Int J Pharm* 1998; 166: 177-188.
50. Tang B, Cheng G, Gu JC, Xu CH: Development of solid self-emulsifying drug delivery systems: preparation techniques and dosage forms. *Drug Discovery Today* 2008; 13: 606-612.

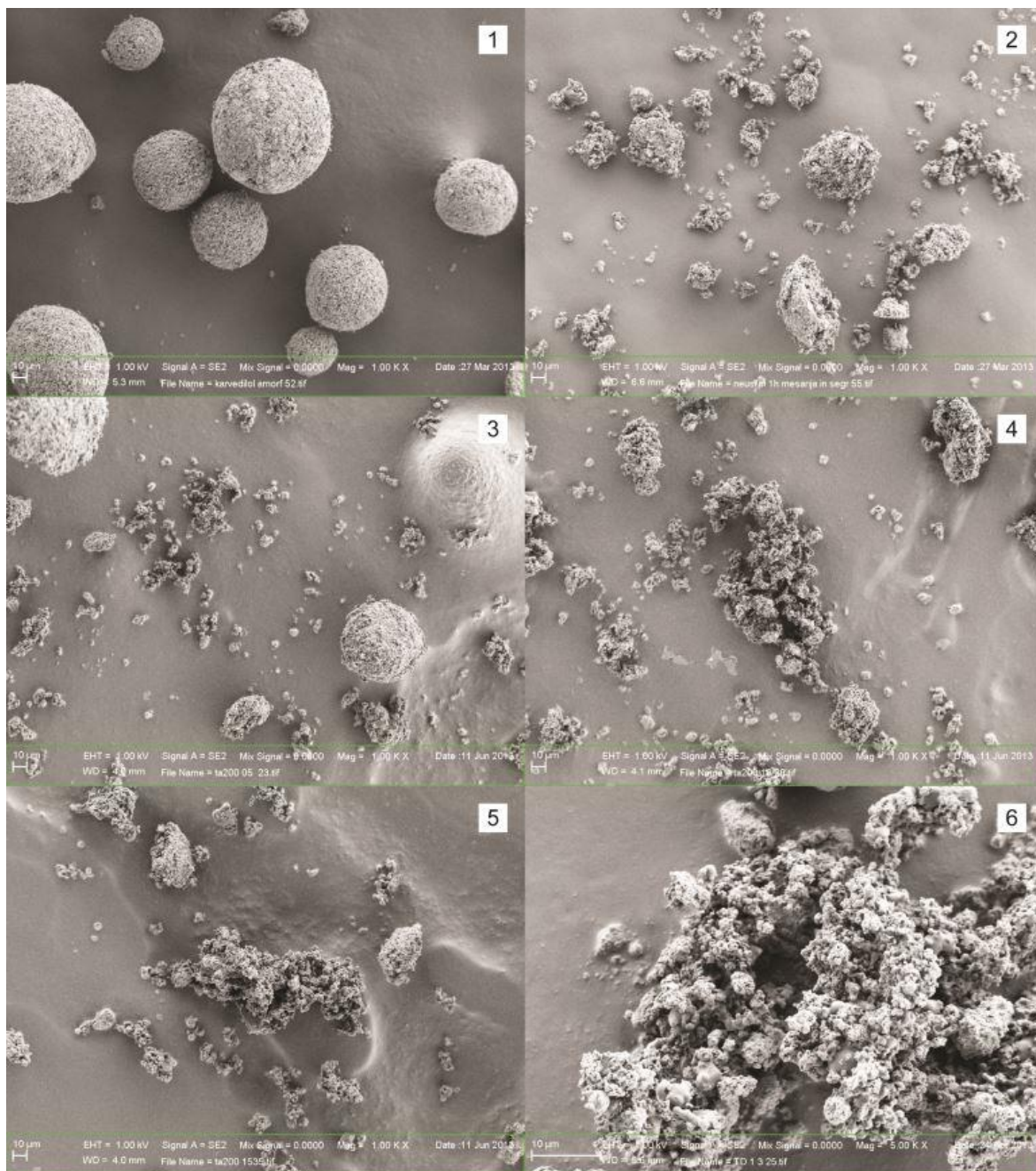
51. Agarwal V, Siddiqui A, Ali H, Nazzal S: Dissolution and powder flow characterization of solid self-emulsified drug delivery system (SEDDS). *Int J Pharm* 2009; 366: 44-52.
52. Milović M, Djuriš J, Djekić L, Vasiljević D, Ibrić S: Characterization and evaluation of solid self-microemulsifying drug delivery systems with porous carriers as systems for improved carbamazepine release. *Int J Pharm* 2012; 436: 58-65.
53. Gupta MK, Goldman D, Bogner RH, Tseng Y: Enhanced Drug Dissolution and Bulk Properties of Solid Dispersions Granulated with a Surface Adsorbent. *Pharm Dev Tech* 2001; 6: 563-572.
54. Gupta MK, Bogner RH, Goldman D, Tseng Y: Mechanism for Further Enhancement in Drug Dissolution from Solid-Dispersion Granules upon Storage. *Pharm Dev Tech* 2002; 7: 103-112.
55. Gupta MK, Tseng Y, Goldman D, Bogner RH: Hydrogen Bonding with Adsorbent during Storage Governs Drug Dissolution from Solid-Dispersion Granules. *Pharm Res* 2002; 19: 1663-1672.
56. Khan AY, Talegaonkar S, Iqbal Z, Ahmed FJ, Khar RK: Multiple emulsions: an overview. *Curr Drug Deliv.* 2006; 3: 429-443.
57. Kavitha K, Lova Raju KNS, Ganesh NS, Ramesh B: Effect of dissolution rate by liquisolid compact approach: An overview. *Der Pharmacia Lettre* 2011; 3: 71-83.
58. Hentzschel CM, Alnaief M, Smirnova I, Sakmann A, Leopold CS: Enhancement of griseofulvin release from liquisolid compacts. *Eur J Pharm Biopharm* 2012; 80: 130-135.
59. Chen B, Wang Z, Quan G, Peng X, Pan X, Wang R, Xu Y, Li G, Wu C: In vitro and in vivo evaluation of ordered mesoporous silica as a novel adsorbent in liquisolid formulation. *Int J Nanomedicine.* 2012; 7:199-209.
60. Chen B, Quan G, Wang Z, Chen J, Wu L, Xu Y, Li G, Wu C: Hollow mesoporous silicas as a drug solution delivery system for insoluble drugs. *Powder Technology* 2013; 240: 48-53.
61. Cvek M: Izdelava multiplih trdnih disperzij karvedilola pri povišani temperaturi. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2013.
62. Morgan T: Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of carvedilol. *Clin Pharmacokinet* 1994; 26: 335-346.
63. Carvedilol. *European Pharmacopoeia*, 7th Ed.

64. Singh B, Singh R, Bandyopadhyay S, Kapil R, Garg B: Optimized nanoemulsifying systems with enhanced bioavailability of carvedilol. *Colloids Surf B: Biointerfaces* 2013; 101: 465-474.
65. Galanopoulou O, Rozou S, Antoniadou-Vyza E: HPLC analysis, isolation and identification of a new degradation product in carvedilol tablets. *J Pharm Biomed Anal.* 2008 Sep 10;48: 70-77.
66. Brook CS, Chen W, Spoons PG: Carvedilol phosphate salts and/or solvates thereof, corresponding compositions and/or methods of treatment. United States Patent, Patent number 7,268,156, 2007.
67. Čurič M: Poskus izdelave kokristalov karvedilola z aminokislinami, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2011.
68. SmPC (Povzetek glavnih značilnosti zdravila) za Coryol[®] tablete. Dostopno na <http://www.zdravila.net> (junij 2013).
69. Sweetman SC et al.: Martindale: The Complete Drug Reference. 36th Ed., Pharmaceutical Press, London, 2009: 1241-1242.
70. Wei L, Sun P, Nie S, Pan W: Preparation and Evaluation of SEDDS and SMEDDS Containing Carvedilol. *Drug Dev Ind Pharm* 2005; 31: 785-794.
71. <http://www.neusilin.com> (julij 2013).
72. [http://www.fritsch-milling.com/products/milling/ball-mills/pulverisette-0/description/-](http://www.fritsch-milling.com/products/milling/ball-mills/pulverisette-0/description/) (februar 2013)
73. European Pharmacopoeia, 7th Ed., 2.9.3 Dissolution test for solid dosage forms: 256-263.
74. ICH Topic Q 1 A (R2): Stability Testing of new Drug Substances and Products. Dostopno na: <http://www.ich.org/products/guidelines/quality/article/quality-guidelines.html>
75. Pokharkar VB, Mandpe LP, Padamwar MN, Ambike AA, Mahadik KR, Paradkar A: Development, characterization and stabilization of amorphous form of a low T_g drug. *Powder Technology* 2006; 167: 20-25.
76. Hildesheim J, Finogueev S, Aronhime J, Dolitzky BZ, Ben-Valid S, Kor I: Carvedilol. WIPO Patent Application, Patent number WO 02/00216 A1, 2001.
77. Chen W, Gallop M, Oh C, PCT Publication, Patent number WO 03/005970, 2003.
78. Planinšek O, Kovačič B, Vrečer F. Carvedilol dissolution improvement by preparation of solid dispersion with porous silica. *Int J Pharm* 2011; 406: 41-48.

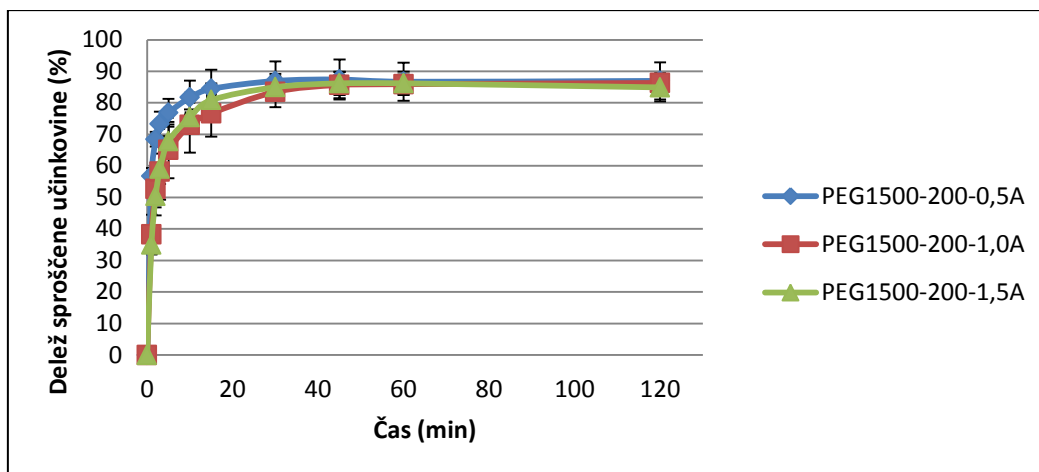
79. Khan N, Craig DQ: The influence of drug incorporation on the structure and release properties of solid dispersions in lipid matrices. *J Control Release* 2003; 93: 355-368.
80. Potluri RHK, Bandari S, Jukanti R, Veerareddy PR: Solubility Enhancement and Physicochemical Characterization of Carvedilol Solid Dispersion with Gelucire 50/13. *Arch Pharm Res* 2011; 34: 51-57.

PRILOGA

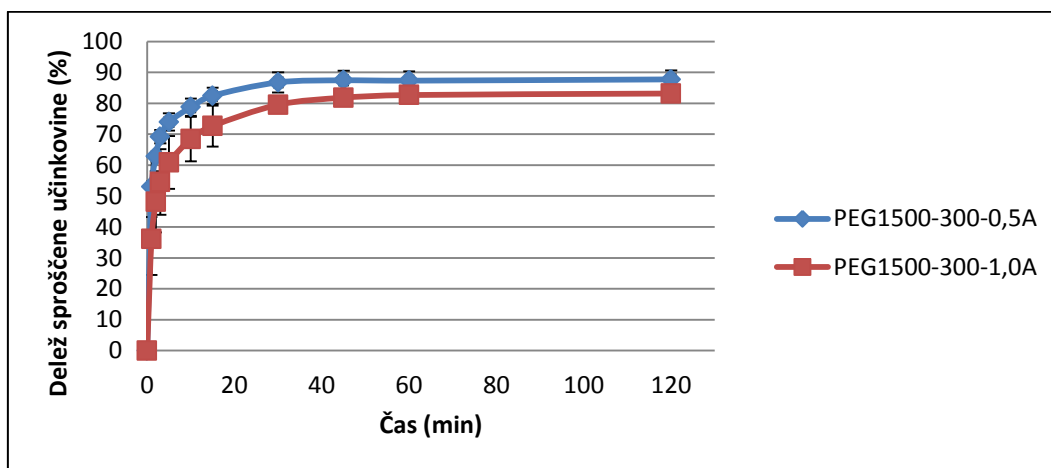
V prilogi so rezultati multiplih trdnih disperzij karvedilola s PEG 1500 in Neusilinom US2.



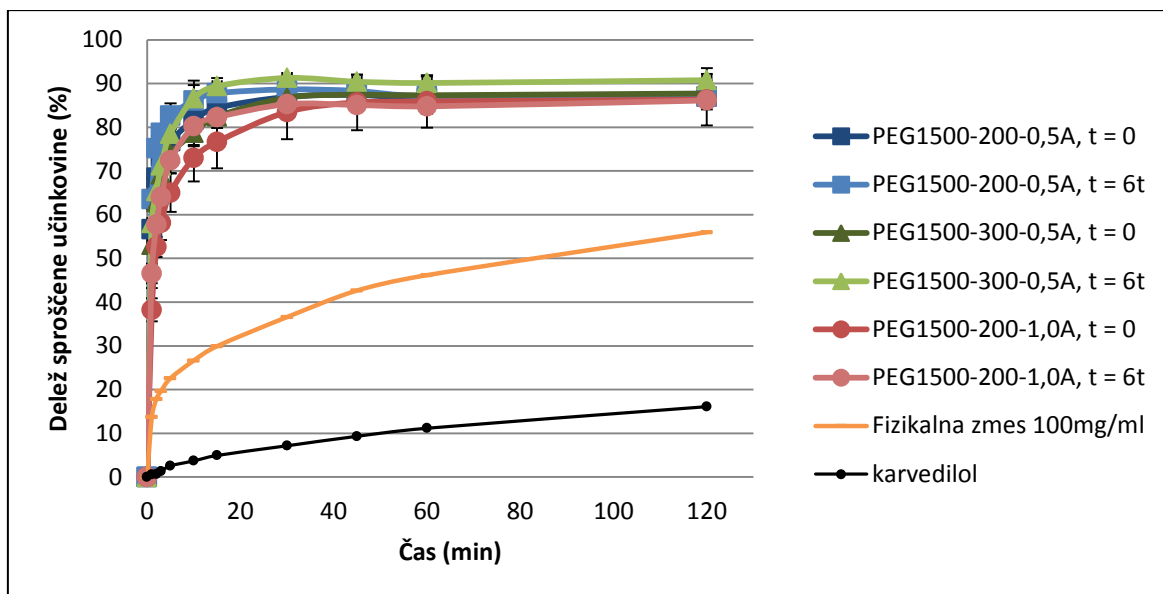
Slika 40: Posnetki Neusilina US2 in vzorcev z vrstičnim elektronskim mikroskopom pri 1000-kratni povečavi. (1) granule Neusilina US2, (2) Neusilin US2 po 1 uri mešanja v bučki na segreti silikonski kopeli, (3) PEG1500-200-0,5A, (4) PEG1500-200-1,5A, (5) PEG1500-200-1,5A, (6) PEG1500-200-1,5A (5000-kratna povečava)



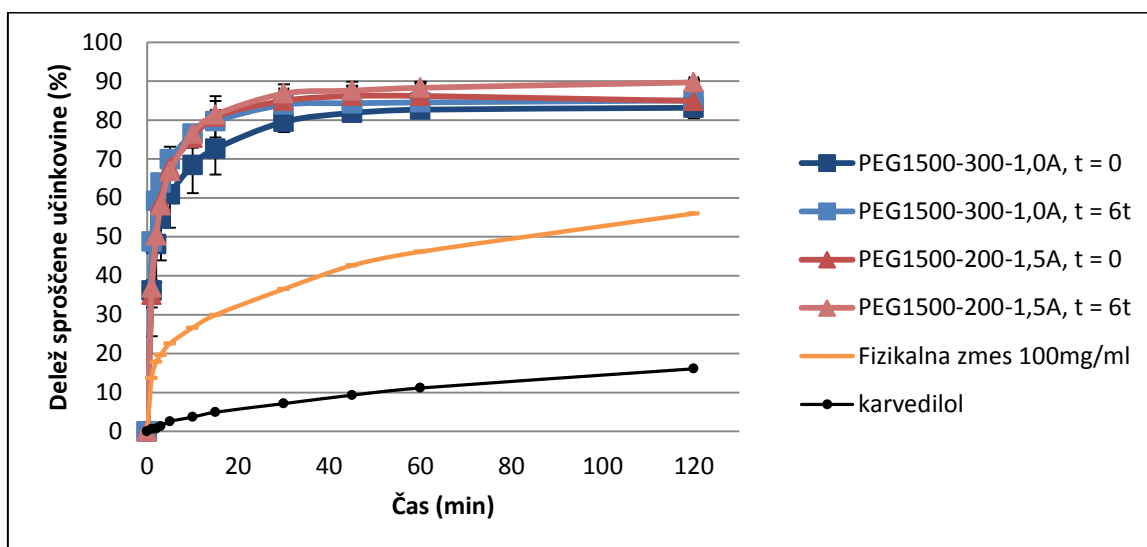
Slika 41: Graf sproščanja učinkovine iz multiplih trdnih disperzij z različnim volumnom sorbirane disperzije karvedilola v PEG 1500. Koncentracija karvedilola v disperziji je 200 mg/ml. Medij: fosfatni pufer, pH = 6,8



Slika 42: Graf sproščanja učinkovine iz multiplih trdnih disperzij z različnim volumnom sorbirane disperzije karvedilola v PEG 1500. Koncentracija karvedilola v disperziji je 300 mg/ml. Medij: fosfatni pufer, pH = 6,8



Slika 43: Raztapljanje karvedilola, sproščanje karvedilola iz fizikalne zmesi in iz multiplih trdnih disperzij s PEG 1500 in Neusilinom US2 z volumnom sorbirane raztopine karvedilola 0,5 ml/ 1 g Neusilina US2 ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C in 75 % RH. Medij: fosfatni pufer, pH = 6,8



Slika 44: Raztapljanje karvedilola, sproščanje karvedilola iz fizikalne zmesi in iz multiplih trdnih disperzij s PEG 1500 in Neusilinom US2 z volumnom sorbirane raztopine karvedilola 0,5 ml/ 1 g Neusilina US2 ob času 0 in po 6 tednih shranjevanja pri 40 °C in 75 % RH. Medij: fosfatni pufer, pH = 6,8