UNIVERZA V LJUBLJANI

FAKULTETA ZA FARMACIJO

IZTOK PREKORŠEK

DIPLOMSKA NALOGA

UNIVERZITETNI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2014

Univerza *v Ljubljani*
Fakulteta *za farmacijo*

IZTOK PREKORŠEK

PROUČEVANJE SPROŠČANJA INDOMETACINA IZ TRDNIH DISPERZIJ MEZOPOROZNEGA SILICIJEVEGA DIOKSIDA

STUDYING RELEASE OF INDOMETHACIN FROM SOLID DISPERSIONS MESOPOROUS SILICON DIOXIDE

Ljubljana, 2014

Diplomsko nalogo sem opravljal na Fakulteti za farmacijo, na Katedri za farmacevtsko tehnologijo, pod mentorstvom prof. dr. Odona Planinška, mag. farm..

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelal pod mentorstvom prof. dr. Odona Planinška, mag. farm..

Iztok Prekoršek

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

Članica diplomske komisije: asist. dr. Jasna Omersel, mag. farm.

VSEBINA

POVZETEK ..... **V**

ABSTRACT ..... **VII**

SEZNAM OKRAJŠAV ..... **IX**

1 UVOD **1**

1.1 TRDNE DISPERZIJE 2

1.2 MEHANIZMI POVEČANJA TOPNOSTI IN RAZTAPLJANJA ZDRAVILNIH UČINKOVIN V TRDNIH DISPERZIJAH 3

1.3 METODE IZDELAVE TRDNIH DISPERZIJ 5

1.4 NOSILCI V TRDNIH DISPERZIJAH 6

1.4.1 Porozni nosilci *7*

1.4.2 Porozni SiO_2 ..... *7*

1.4.3 Fizikalno – kemijsko vrednotenje mezoporoznih nosilcev in trdnih disperzij .. *10*

1.5 SPROŠČANJE ZDRAVILNIH UČINKOVIN IZ TRDNIH DISPERZIJ S POROZNIM SiO_2 11

2 NAMEN DELA **15**

3 MATERIALI IN METODE **16**

3.1 MATERIALI 16

3.2 APARATURE 19

3.3 METODE DELA 20

3.3.1 Izdelava trdnih disperzij *20*

3.3.2 Določanje topnosti indometacina *22*

3.3.3 Termogravimetrična analiza *22*

3.3.4 Določanje vsebnosti indometacina v trdnih disperzijah *22*

3.3.5 Test stabilnosti raztopine indometacina *22*

3.3.6 Preskus sproščanja *23*

3.3.7 Določanje profila in kinetike sproščanja indometacina iz trdnih disperzijh s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti *23*

3.3.8 Infrardeča spektroskopija s Fourierjevo transformacijo *24*

3.3.9 Diferenčna dinamična kalorimetrija *24*

3.3.10 Določanje gostote s helijevim piknometrom *24*

4 REZULTATI IN RAZPRAVA 25

4.1 TOPNOST INDOMETACINA 25

4.2 TERMOGRAVIMETRIČNA ANALIZA 25

4.2.1 TGA indometacina 25

4.2.2 TGA Sylysie 350 in Syloida 244FP EU 26

4.2.3 TGA trdnih disperzij 29

4.3 VSEBNOST INDOMETACINA V TRDNIH DISPERZIJAH 32

4.4 STABILNOST INDOMETACINA 34

4.5 SPROŠČANJE INDOMETACINA IZ TRDNIH DISPERZIJ 34

4.6 INFRARDEČA SPEKTROSKOPIJA S FOURIERJEVO TRANSFORMACIJO 42

4.7 DIFERENČNA DINAMIČNA KALORIMETRIJA 44

4.8 MERJENJE GOSTOTE S HELIJEVIM PIKNOMETROM 45

5 SKLEP 48

6 LITERATURA 51

7 PRILOGA 60

KAZALO PREGLEDNIC

PREGLEDNICA I: PRIMERJAVA SPROŠČANJA ZDRAVILNIH UČINKOVIN IZ TRDNIH DISPERZIJ IZDELANIH Z UREJENIM POROZNIM SiO_2 12

PREGLEDNICA II: PRIMERJAVA SPROŠČANJA ZDRAVILNIH UČINKOVIN IZ TRDNIH DISPERZIJ IZDELANIH Z NEUREJENIM POROZNIM SiO_2..... 13

PREGLEDNICA III: NATEHTE SESTAVIN IN SESTAVA TD IZDELANIH S SYLYSIO 350..... 21

PREGLEDNICA IV: NATEHTE SESTAVIN IN SESTAVA TD IZDELANIH S SYLOIDOM 244FP EU..... 21

PREGLEDNICA V: IZGUBA MASE VZORCEV V ODSTOTKIH MED TGA PRI UPORABI SYLYSIE 350..... 29

PREGLEDNICA VI: IZGUBA MASE VZORCEV V ODSTOTKIH MED TGA PRI UPORABI SYLOIDA 244FP EU 30

PREGLEDNICA VII: VSEBNOST IMC DOLOČENA S TGA IN HPLC V ODSTOTKIH ZA SYLYSIO 350 IN NJENE TD 33

PREGLEDNICA VIII: VSEBNOST IMC DOLOČENA S TGA IN HPLC V ODSTOTKIH ZA SYLOID 244FP EU IN NJEGOVE TD 33

PREGLEDNICA IX: STABILNOST INDOMETACINA 34

PREGLEDNICA X: KINETIKA SPROŠČANJA OD 1. – 5. MIN. 40

PREGLEDNICA XI: KINETIKA SPROŠČANJA OD 30. – 120. MIN. 41

KAZALO SLIK

SLIKA 1: STRUKTURNA FORMULA INDOMETACINA..... 17

SLIKA 2: DIAGRAM TERMOGRAVIMETRIČNE ANALIZE INDOMETACINA..... 26

SLIKA 3: DIAGRAM TERMOGRAVIMETRIČNE ANALIZE SYLYSIE 350..... 27

SLIKA 4: DIAGRAM TERMOGRAVIMETRIČNE ANALIZE SYLOIDA 244FP EU 28

SLIKA 5: STRUKTURA POVRŠINE MP-SiO_2 S PRIKAZOM RAZLIČNO VEZANE VODE, KI SE DESORBIRA MED TGA. SLIKA JE PRIREJENA PO (83). 28

SLIKA 6: DIAGRAM TERMOGRAVIMETRIČNE ANALIZE TD 21,6% RV SYLYSIA 350 31

SLIKA 7: DIAGRAM TERMOGRAVIMETRIČNE ANALIZE TD 7,9% ADS SYLOID 244FP EU..... 31

SLIKA 8: PROFIL SPROŠČANJA IMC IZ TD IZDELANIH S SYLYSIO 350 Z METODO ODPAREVANJA TOPILA PRI ZNIŽANEM TLAKU (RV) IN PRIMERJAVA Z RAZTAPLJANJEM ČISTE ZU 35

SLIKA 9: PROFIL SPROŠČANJA IMC IZ TD IZDELANIH S SYLYSIO 350 Z METODO ADSORPCIJE (ADS) IN PRIMERJAVA Z RAZTAPLJANJEM ČISTE ZU 36

SLIKA 10: PROFIL SPROŠČANJA IMC IZ TD IZDELANIH S SYLOIDOM 244FP EU Z METODO ODPAREVANJA TOPILA PRI ZNIŽANEM TLAKU (RV) IN PRIMERJAVA Z RAZTAPLJANJEM ČISTE ZU 36
SLIKA 11: PROFIL SPROŠČANJA IMC IZ TD IZDELANIH S SYLOIDOM 244FP EU Z METODO ADSORPCIJE (ADS) IN PRIMERJAVA Z RAZTAPLJANJEM ČISTE ZU 37
SLIKA 12: DIAGRAM DELEŽA SPROŠČENEGA IMC V PRVI MINUTI V T. I. FAZI PULZA ZA TD IZDELANE S SYLYSIO 350 38
SLIKA 13: DIAGRAM DELEŽA SPROŠČENEGA IMC V PRVI MINUTI V T. I. FAZI PULZA ZA TD IZDELANE S SYLOIDOM 244FP EU 39
SLIKA 14: FTIR SPEKTER INDOMETACINA 42
SLIKA 15: FTIR SPEKTER SYLYSIE 350; 21,6% RV IN 43,3% ADS 43
SLIKA 16: DSC TERMOGRAM IMC IN IZBRANIH TD IZDELANIH S SYLYSIO 350 44
SLIKA 17: DSC TERMOGRAM IMC IN IZBRANIH TD IZDELANIH S SYLOIDOM 244FP EU 45
SLIKA 18: GOSTOTA TD IZDELANIH S SYLYSIO 350 V ODVISNOSTI OD VSEBNOSTI IMC 46
SLIKA 19: GOSTOTA TD IZDELANIH S SYLOIDOM 244FP EU V ODVISNOSTI OD DELEŽA IMC 47
SLIKA 20: KROMATOGRAM DNEVNEGA STANDARDA IMC 60
SLIKA 21: POROČILO ANALIZE KROMATOGRAMA DNEVNEGA STANDARDA IMC 60

POVZETEK

Indometacin je slabo in počasi topna zdravilna učinkovina v vodi, kar omejuje njeno hitro absorpcijo in posledično visoko biološko uporabnost. Topnost in hitrost raztapljanja lahko povečamo na različne kemijske in fizikalne načine. Izdelava trdnih disperzij je sodobna strategija za izboljšanje raztapljanja.

V diplomskem delu smo izdelali trdne disperzije indometacina z odparevanjem topila pri znižanem tlaku in adsorpcijo na porozni silicijev dioksid iz raztopine acetona. Uporabili smo dva različna komercialno dostopna mezoporozna nosilca učinkovin v trdnih disperzijah. To sta dva tipa silicijevega dioksida: Sylysia 350 in Syloid 244FP EU. Nastalim produktom smo določili profil sproščanja in jih medsebojno primerjali. Prav tako smo izvedli naslednje analize: termogravimetrično analizo s katero smo določili vsebnost učinkovine v trdnih disperzijah, stabilnostni test indometacina v raztopini na svetlobi, infrardečo spektroskopijo s Fourierjevo transformacijo, diferenčno dinamično kalorimetrijo in merjenje gostote s helijevim piknometrom. Z izdelavo trdnih disperzij indometacina s Sylysio 350 in Syloidom 244FP EU smo izboljšali njegovo raztapljanje v fosfatnem pufru pH 6,8. V večini primerov se je že po petnajstih minutah sprostilo več kot 90% zdravilne učinkovine. V nekaterih primerih se po dveh urah ni sprostila vsa zdravilna učinkovina. Predvidevamo, da je to posledica prisotnosti t. i. bottle ink por v nosilcih. Sproščanje indometacina iz trdnih disperzij s Sylysio 350 in Syloidom 244FP EU je pri vsebnosti 45 % adsorpcija boljši način izdelave kot odparevanje topila. Zdravilna učinkovina se hitreje sprosti. Pri 15 % sta metodi glede na hitrost sproščanja primerljivi. Sproščanja je iz trdnih disperzij izdelanih z odparevanjem topila ob uporabi Syloida 244FP EU hitrejše kot pri Sylysii 350. Pri metodi adsorpcije pa sta nosilca ekvivalentna. Profilu sproščanja ZU iz TD smo določili kinetiko sproščanja in jo primerjali s štirimi modeli (ničti red, prvi red, Higuchijev, Korsmeyer-Pepassov). Profile sproščanja smo razdelili na tri dele. V prvi minuti poteče pulzno sproščanje, sledi sproščenje po kinetiki 1. reda do pete minute, ki se po tridesetih minutah spremeni v Higuchijevo kinetiko. Na podlagi spektrov infrardeče spektroskopije s Fourierjevo transformacijo ne moremo z gotovostjo sklepati o nastanku vodikovih vezi med indometacinom in nosilcema. Na podlagi termogramov diferenčne dinamične kalorimetrije sklepamo, da se indometacin v trdnih disperzijah nahaja v amorfni obliki. Z merjenjem prave gostote smo ugotovili, da z večanjem deleža zdravilne

učinkovine prava gostota trdnih disperzij linearno pada. Sklenili smo, da ima indometacin v trdnih disperzijah podobno gostoto kot v čisti kristalni obliki.

Ključne besede: trdna disperzija, mezoporozni silicijev dioksid, indometacin, sproščanje

ABSTRACT

Indomethacin is a bad and slow soluble active substance in water, which limits fast absorption and consequently high bioavailability. Solubility and dissolution can be increased with a variety of chemical and physical ways. Making solid dispersions is a modern strategy to improve the dissolution.

In graduation work we have created solid dispersions of indomethacin with evaporation at reduced pressure and adsorption on porous silicon dioxide from solution of acetone. We used two different commercially available mesoporous carrier in solid dispersions. Those are two types of silicon dioxide Sylysia 350 and Syloid 244FP EU. We set a release profile and compared them with one another. We have also performed the following analysis: thermogravimetric analysis which has helped us determine the content of the active substance in solid dispersions, stability test of indomethacin in solution in the light, infrared spectroscopy with Fourier transformation, differential scanning calorimetry and the measurement of the density with a helium pycnometer. By making solid dispersions of indomethacin with Sylysia 350 and Syloid 244FP EU we have improved its solution in phosphate buffer ph 6,8. In most cases more than 90% of all active substance was released after 15 minutes. In some cases all of the active substance was not released after two hours. We assume that this is due to the presence of the bottle ink pores in carriers. Releasing indomethacin of solid dispersions with Sylysia 350 and Syloid 244 FP EU is with content 45% a better way of making adsorption than the evaporation of solvents. The active substance is released more quickly. At 15% the methods are comparable, depending on the speed of the release. The release of solid dispersions, made with evaporation of the solvent and using Syloid 244FP EU is faster from the one of Sylysia 350. At the adsorption method the carriers are equivalent. The release made from solid dispersions with evaporation of the solvent, using Syloid 244FP EU is faster than Sylysia 350. With the adsorption method the carriers are equivalent. We set the release kinetics to the release profile of active substance from the solid dispersion and compared it to the four models (the zero order, first order, Higuchi's, Korsmeyer-Pepass's). Profiles are divided into three parts. In the first minute pulse release expires and is followed by the release of the kinetics of the 1st order to the fifth minute when it turns into Higuchi's kinetics after 30 minutes. On the basis of infrared spectroscopy with Fourier transform spectra, we cannot conclude with certainty about the formation of hydrogen bonds between indomethacin and both

carriers. On the basis of differential scanning calorimetry we can conclude that indomethacin in solid dispersions exists in amorphous form. By measuring the true density we have found that by increasing the proportion of active substance there is a linear decrease of the real density in solid dispersions. We have concluded that indomethacin in solid dispersions has a similar density as in pure crystalline form.

Keywords: solid dispersion, mesoporous silicon dioxide, indomethacin, release

SEZNAM OKRAJŠAV

ADS	adsorpcija iz suspenzije z acetonom s sledečim filtriranjem in sušenjem
BCS	biofarmacevtska klasifikacija zdravil
DSC	diferenčna dinamična kalorimetrija
FTIR	infrardeča spektroskopija s Fourierjevo transformacijo
HPLC	tekočinska kromatografija visoke ločljiovosti
IMC	indometacin
mp-SiO_2	mezoporozni silicijev dioksid
R^2	kvadrat Pearsonovega koeficienta
RV	odparevanje topila pri znižanem tlaku
Sylysia	Sylysia 350
Syloid	Syloid 244FP EU
TD	trdna disperzija
T_g	temperatura steklastega prehoda
TGA	termogravimetrična analiza
ZU	zdravilna učinkovina

1 UVOD

Trdne disperzije (TD) so disperzije ene ali več zdravilnih učinkovin (ZU) v inertni pomožni snovi ali ogrodju imenovanem nosilec, kjer je ZU v kristalni ali amorfni obliki (1). Najpogosteje uporabljamo TD za peroralno dostavo ZU, ker je le ta v večini primerov najenostavnejša in najlažja pot aplikacije. Trdne peroralne oblike so boljše od tekočih, zaradi stabilnosti, manjšega volumna, natančnega odmerjanja in enostavne proizvodnje. Problem novih kemijskih entitet je v njihovi slabi topnosti v vodi. Ta znižuje obseg njihove absorpcije, ki je v večini primerov pogoj za doseg želenega učinka. Slabo topne ZU spadajo po biofarmacevtski klasifikaciji zdravil (BCS) v razreda II in IV. V razred II uvrščamo tiste, ki so dobro permeabilne, v razred IV pa tiste, ki so slabo permeabilne skozi membrano stene gastrointestinalnega trakta. Želimo si, da bi ZU iz drugega razreda izboljšali topnost in s tem povečali njihovo biološko uporabnost (2; 3). Topnost je količina snovi, ki se raztopi v enoti volumna izbranega topila pri določeni temperaturi. Hitrost raztapljanja pa je količina, ki nam pove kako hitro se snov raztopi v izbranem topilu pri določeni temperaturi. Osnovo za razumevanje hitrosti raztapljanja nam podaja modificirana Noyes-Whitney-eva enačba:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{AD(C_s - C)}{h} \qquad \text{(Enačba } 1\text{)}$$

kjer je dC/dt hitrost raztapljanja, A je površina, ki je na voljo za raztapljanje, D difuzijski koeficient ZU, C_s ravnotežna topnost ZU v mediju raztapljanja, C koncentracija ZU ob času t in h debelina difuzijske plasti. Hitrost raztapljanja lahko povečamo s povečanjem površine s katere poteka raztapljanje, tako da zmanjšamo velikost delcev in/ali izboljšamo močenje, z zmanjšanjem debeline difuzijske plasti, z zagotavljanjem sink pogojev ter s povečanjem navidezne topnosti (4; 5; 6). Topnost ZU pa lahko izboljšamo s kemijskimi in fizikalnimi metodami. Med kemijske uvrščamo tvorjenje soli in sintezo topnih predzdravil. Med fizikalne pa zmanjševanje velikosti delcev (mikronizacija, nanosuspenzije, nanokristali), tvorbo amorfne ZU, izdelavo polimorfov in psevdopolimorfov, kompleksacijo oziroma solubilizacijo z uporabo površinsko aktivnih snovi in ciklodekstrinov, izdelavo emulzij in mikroemulzij ter TD (2; 4). Izdelava TD je eden najuspešnejših načinov povečanja topnosti ZU in omogoča vgradnjo praktično vseh ZU (7;

8). Tvorba soli je primerna zgolj za ionogene ZU (9). Prahovi, ki jih pridobimo z mletjem izkazujejo slabše lastnosti za nadaljno manipulacijo kot TD (7; 8). Med univerzalne pristope uvrščamo tudi izdelavo nanokristalov in nanosuspenzij, katerih uporaba je omejena zaradi možne nanotoksičnosti (10). Pri paranteralni uporabi pripravkov s ciklodekstrini je problem nefrotoksičnost (11; 12). Potencialno toksičnost izkazujejo tudi površinsko aktivne snovi (13). Relativno nova in obetajoča metoda je izdelava kokristalov, kjer so potrebne še dodatne raziskave za uporabo v industriji (14).

1.1 Trdne disperzije

Ponavadi je v TD hidrofobna ZU dispergirana v hidrofilnem nosilcu. Na ta način povečamo neravnotežno topnost in hitrost raztapljanja (7; 15). ZU v obliki amorfnih ali kristalnih delcev je v ali na dispergiranem kristalnem ali amorfnem ogrodju (16). TD delimo glede na dispergiranost ZU in kristalnosti ali amorfnosti ogrodja na:

a. evtektične zmesi (kristalni delci ZU dispergirani v kristalnem ogrodju);
b. amorfni precipitati ZU v ali na kristalnem nosilcu;
c. (kristalne) trdne raztopine (molekularno porazdeljena ZU v ali na kristalnem ogrodju), ki jih razdelimo glede na:
    - medsebojno mešanje ZU in ogrodja na:
        1. kontinuirane trdne raztopine (mešanje v vseh razmerjih, enofazni sistem) in
        2. nekontinuirane trdne raztopine (delno mešanje, dvofazni sistem);
    - način porazdelitve ZU v kristalni mreži ogrodja:
        3. substitucijske kristalne trdne raztopine (molekule ogrodja so v kristalni mreži zamenjane z molekulami ZU) in
        4. intersticijske kristalne trdne raztopine (molekule ogrodja so vključene v intersticijski prostor molekul topila);
d. steklaste raztopine oziroma amorfne trdne raztopine (molekularno dispergirana ZU v amorfnem ogrodju) ter
e. steklaste suspenzije (kristalni ali amorfni delci ZU dispergirani v amorfnem ogrodju) (5; 6).

Amorfne snovi so za razliko od kristalnih neurejene. Vendar lahko kljub temu na kratkih razdaljah izkazujejo enako urejenost kot kristalne snovi. Amorfne snovi zaradi višje Gibbsove proste energije in termodinamične nestabilnosti kristalizirajo. To poskušamo v TD preprečiti, ker ima amorfna snov povečano neravnotežno topnost in hitrost raztapljanja (10; 17). Prav tako moramo zagotoviti nespremenjen profil sproščanja znotraj časa shranjevanja. Optimalno stabilnost amorfnih TD zagotovimo s čim nižjo molekularno mobilnostjo in odsotnostjo kristalnih delcev, ker le ti tvorijo jedra, ki so začetna točka za nadaljnjo kristalizacijo. V popolnoma homogenih TD je ZU molekularno razpršena po celotnem nosilcu. Zato mora ZU pred kristalizacijo migrirati skozi ogrodje, kar pozitivno vpliva na stabilnost formulacije. Na stabilnost vpliva tudi masno razmerje med ZU in nosilcem. Z nižanjem deleža ZU povečamo difuzno razdaljo med molekulami ZU, zvišamo delež ZU, ki je v neposrednem stiku z nosilcem in s tem posledično zmanjšamo tveganje za prenasičenost, ki vodi v neželeno kristalizacijo. Močno hidrofobna ZU zmanjša higroskopnost sistema in s tem količino vode, ki bi lahko ob povišani relativni vlažnosti prodrla v sistem ter povzročila kristalizacijo ZU (2; 18).

Vzroki za redko uporabo TD v farmacevtski industriji so slaba ponovljivost fizikalno-kemijskih lastnosti, drage in težavne metode izdelave, težave pri nadaljnem formuliranju, zahteven prenos na proizvodnjo povečan obseg, fizikalna in kemijska nestabilnost učinkovine ter formulacije in slaba predvidljivost topnosti in raztapljanja, zaradi nepopolnega razumevanja obnašanja molekul znotraj TD (2; 4; 18).

1.2 Mehanizmi povečanja topnosti in raztapljanja zdravilnih učinkovin v trdnih disperzijah

Raztapljanje TD je kompleksno, ker poteka istočasno več različnih procesov, na katere vplivajo številni faktorji: lastnosti ZU, lastnosti nosilca, masno razmerje med ZU in nosilcem, interakcije med ZU in nosilcem, kristalizacija ZU med raztapljanjem ter struktura same TD (19; 20; 21). Ti določajo kateri mehanizmi povečanja topnosti in hitrosti sproščanja ZU iz TD so odločujoči pri raztapljanju TD. Raztapljanje lahko izboljšamo z:

- Zmanjšanjem velikosti delcev. TD so zadnja stopnja v postopku zmanjševanja delcev. Na tak način maksimalno povečamo površino ZU, ki je na voljo za

raztapljanje. Z uporabo poroznih nosilcev še dodatno prispevamo k povečanju površine. K temu dodatno doprinese boljše močenje. Na velikost delcev vplivajo tudi interakcije na molekularnem nivoju med ZU in nosilcem ter vsebnost ZU (6; 16; 21; 22).

- Izboljšanim močenjem. To dosežemo kadar je hidrofobna ZU obdana s hidrofilnim ali amfifilnim nosilcem. Močenje lahko izboljšajo tudi nosilci, ki ne izkazujejo lastnosti PAS. Imajo lahko solubilizacijski učinek, učinek sotopila ali neposredno raztapljajo ZU. S tem se poveča površina s katere se vrši sproščanje, zagotovi homogeno dispergiranost ZU in prepreči agregacijo in aglomeracijo (6; 16; 17).
- Amorfno obliko ZU, ker ima le ta večjo neravnotežno topnost in hitrost raztapljanja kot kristalna oblika, ker ni potrebna energija za razbitje kristalne rešetke. Dodatno se poveča tudi površina s katere se vrši raztapljanje (16; 17; 23).
- Odsotnostjo nukleacije in kristalizacije ZU. S tem dosežemo teoretično topnost amorfa, ki je bistveno večja od topnosti kristala. Nastanek nukleacijskih jeder in kristalizacijo ZU lahko preprečimo z izbiro ustreznega nosilca in z nizko vsebnostjo ZU v TD (19; 24; 25).
- Večjo poroznostjo nosilca in primerno velikostjo por znotraj nosilca. Večja kot je poroznost, hitrejše je sproščanje hidrofobne ZU, ki je v in na njem. V večjih porah lažje poteče kristalizacija, v manjših pa je problem nedostopnost površine, ki je namenjena adsorpciji ZU na nosilec. Oba primera negativno vplivata na sproščanje, zato je potrebno najti kompromis (16; 26).
- Vsebnostjo ZU. Manjša kot je vsebnost ZU v primerjavi z nosilcem, hitrejše je sproščanje ZU, ker s tem dosežemo večje zmanjšanje velikosti delcev v TD (24). Vsebnost nosilca lahko povečujemo do tiste točke, ko lahko vgradimo terapevtski odmerek ZU v izbrano farmacevtsko obliko (27).
- Interakcijami med ZU in nosilcem. Večje kot so, stabilnejša je amorfna oblika ZU, ker je manjša njena molekularna mobilnost. Na ta način se poveča tudi površina, ki je na voljo za sproščanje, saj so delci ZU manjši (21).

1.3 Metode izdelave trdnih disperzij

Namen izdelave je združitev ZU in nosilca, če je le mogoče na molekularnem nivoju. Metode izdelave delimo v dve večji skupini. To so metode taljenja, kjer uporabljamo povišano temperaturo in metode raztapljanja, ki vključuje uporabo topil. Izbira metode vpliva na lastnosti TD. TD z enako sestavo, a izdelane z različnimi metodami, lahko imajo različno topnost, profil sproščanja, velikost površine, ki je na voljo za sproščanje, delež kristalnosti, molekularno mobilnost, temperaturo steklastega prehoda (T_g), morfologijo površine, mehanske lastnosti in posledično tudi stabilnost.

Metoda taljenja je enostavna in ekonomična. Fizikalno zmes stalimo pri povišani temperaturi in jo nato ohladimo ter po potrebi zmeljemo in presejemo ali iztisnemo oziroma razpršimo talino, da se pri tem strdi. Metoda je primerna za termostabilne ZU in nosilce. Procesno temperaturo lahko znižamo z uporabo nosilcev, ki imajo nižjo temperaturo tališča. Za izdelavo homogene TD je potrebno zadostno mešanje ZU in nosilca v talini. Separacijo faz preprečimo z vzdrževanjem čim nižje molekularne mobilnosti. Separacija se lahko pojavi tudi med ohlajanjem taline, ker se večini snovi z nižanjem temperature manjša topnost in prihaja do rekristalizacije, ker se preseže topnost ZU v pomožni snovi in nastane suspenzija. Tovrstno težavo preprečimo s hitrim ohlajanjem taline. Hitrejše ohlajanje favorizira nastanek amorfne TD (3; 7; 16; 28; 29; 30; 31).

Prednost metod taljenja pred metodami raztapljanja je odsotnost organskih topil. Organska topila so problematična, zaradi njihovega zaostajanja v končnem produktu, onesnaževanja okolja, cene in zahteve po uporabi eksplozivno varne opreme (4; 32).

Metoda raztapljanja omogoča pripravo TD s termolabilnimi ZU in nosilci (27). Problema s katerima se soočimo med izdelavo je raztapljanje hidrofobne ZU in hidrofilnega nosilca v istem netoksičnem topilu in odstranjevanje topila do predpisanih vrednosti, ki veljajo za rezidualna topila. Voda je neprimerno topilo, ker bi potrebovali velike količine za raztopitev komponent in časa za njeno odparevanje. Hlapna organska topila so pogosto problematična, zaradi toksičnosti. Danes se uporabljajo zmesi topil kot so voda-etanol, etanol-aceton, aceton-metanol ali druga sotopila. Lahko pa v organskem topilu raztopimo ZU in ji nato dodamo staljeni nosilec. Glede na postopek odstranjevanje topila delimo metode raztapljanja na: sušenje z razprševanjem (angl. spray drying) (raztopino ZU in

nosilca razpršimo skozi šobo v komoro z vročim plinom), odparevanje topila pri znižanem tlaku (topilo odparimo v vakuumskem sušilniku ali z rotacijskim vakuumskim uparjevalnikom), sušenje z zamrzovanjem (liofilizacija) (uporaba sotopila z visoko temperaturo tališča, sotopilo izbire je terc-butilni alkohol) in obarjanje s superkritičnim fluidom (vlogo topila prevzame superkritični ogljikov dioksid) (4; 5; 7; 16; 32; 33; 34).

TD lahko izdelamo že med sintezo nosilca, tako da ZU vgradimo v nosilec med samo sintezo slednjega. Slabost te metode je, da lahko ZU razpade med samo izdelavo TD oziroma med sintezo nosilca (35).

1.4 Nosilci v trdnih disperzijah

Nosilec mora v TD vzpostaviti in vzdrževati prenasičenje v raztopini znotraj časa adsorpcije ZU in stabilizirati nestabilno amorfno ZU znotraj roka uporabnosti. To lahko dosežemo z izbiro nosilca z visoko T_g ali z izbiro nosilca, ki z ZU tvori vodikove ali ionske vezi. Nosilec mora biti inerten, hidrofilen, netoksičen, stabilen, imeti visoko intrinzično hitrost raztapljanja in ne sme izkazovati farmakološkega učinka. Za izdelavo TD z metodo taljenja mora imeti nizko tališče, se dobro mešati z ZU v talini in pri ohlajevanju hitro in popolnoma kristalizirati. Za izdelavo TD z metodo raztapljanja mora biti topen v različnih organskih topilih in pri odstranjevanju topila sočasno obarjati z ZU (36; 37).

Nosilce TD delimo na vodotopne, amfifilne (Tween, poloksameri Gelucire® itd.) in nevodotopne. K vodotopnim prištevamo kristalne (sladkorji, sečnina) in amorfne (polimerni nosilci: PVP, PEG, HPMC, Eudragit® E, L, S itd.) nosilce. Kristalni predstavljajo prvo generacijo TD. Amorfni in amfifilni pa drugo ter tretjo generacijo. Nevodotopne nosilce delimo na neporozne, ki jih delimo na nelipidne (EC, Eudragit® RL in RS) in lipidne (voski, gliceridi, parafin itd.), ki omogočajo predvsem izdelavo TD s podaljšanim sproščanjem ter porozne, ki jih uporabljamo za izdelavo TD s pospešenim in nadzorovanim sproščanjem. Te delimo na urejene porozne (urejen mezoporozen silicijev dioksid tipa FSM, MCM-41, SBA-15 itd.) in neurejene porozne (porozni SiO_2-Sylysia®, Syloid®, magnezijev aluminometasilikat-Neusilin®) nosilce (38).

1.4.1 Porozni nosilci

Porozni nosilci za izdelavo TD so nevodotopni in jih predstavljajo porozni silicijevi materiali, porozen silicijev dioksid, porozni kalcijevi in aluminijevi silikati, zeoliti, porozna keramika in $CaCO_3$. Za njih so značilne ozke pore, velika specifična površina in odsotnost nabrekanja in erozije. Po IUPAC nomenklaturi jih delimo glede na velikost por na mikroporozne (velikost por med 0.3 in 2 nm), mezoporozne (2-50 nm) in makroporozne (>50 nm). V farmaciji jih uporabljamo za izboljšanje stisljivosti in pretočnosti v procesu tabletiranja. Za izdelavo TD uporabljamo v glavnem hidrofilen mezoporozen silicijev dioksid (mp-SiO_2), ki je urejen ali neurejen in lahko z njim dosežemo pospešeno in nadzorovano sproščanje. Za urejene je značilna ozka porazdelitev velikosti por, periodična geometrijska ureditev (heksagonalna dvodimenzionalna simetrija z vzporednim cilindričnim potekom por). Za neurejene pa neurejene pore z relativno široko porazdelitvijo velikosti le teh (39; 40; 41; 42; 43).

1.4.2 Porozni SiO_2

Neurejeni porozni SiO_2 ima lahko velikost por od 1.5 do več 10 nm. Na površini poroznega SiO_2 so silanolne skupine. Te so nastale med procesom izdelave poroznega SiO_2 ali z rehidroksilacijo površinskih siloksanskih skupin. Poznamo tri vrste silanolnih skupin. To so izolirane, vicinalne (hidroksilni skupini na sosednjih silicijevih atomih) in geminalne oz. silandioli (hidroksilni skupini na istem silicijevem atomu). Silanolne skupine dajejo poroznemu SiO_2 polarni značaj in omogočajo tvorbo H-vezi z vodo, organskimi topili ali ZU. Površinske lastnosti lahko spreminjamo s funkcionalizacijo silanolnih skupin. S tem omogočimo široko uporabnost poroznega SiO_2 (44; 45).

TD s poroznim SiO_2 lahko izdelamo med sintezo nosilca, z metodo adsorpcije v organskem topilu s sledečim filtriranjem in sušenjem, metodo odparevanja topila pri znižanem tlaku, metodo taljenja, metodo sušenja z razprševanjem in z uporabo superkritičnih fluidov. Med sintezo nosilca izdelamo TD tako, da k silicijevemu alkoksidu pred hidrolizo ali v hidrolizirano sol obliko dodamo ZU, ki se vgradi med kondenzacijo. Dosežemo lahko visoke vsebnosti ZU. Slabost pa je, da lahko ZU razpade med samo izdelavo TD oziroma med sintezo nosilca. Najpogosteje uporabljena metoda je metoda adsorpcije pri kateri nosilec potopimo v koncentrirano raztopino ZU, ki na osnovi difuzije in kapilarnih sil prodre v pore nosilca, kjer se adsorbira na steno por. Napolnjene delce

nosilca ločimo od suspenzije s filtracijo. Slabosti so nizka končna vsebnost, dolgotrajnost postopka in izguba prebitne ZU pri filtraciji. Pri metodi odparevanja topila pri znižanem tlaku se temu izognemo, ker med sušenjem ustvarimo večji koncentracijski gradient. Posledica tega je višja vsebnost ZU v TD. Pri metodi impregnacije uporabimo zelo koncentrirano raztopino ZU v organskem topilu. Volumen raztopine ZU je za razliko od imerzijske metode precej manjši in je lahko v idealnem primeru enak volumnu por nosilca. Na ta način lahko vnaprej določimo količino ZU, ki se bo vgradila kar je nedvomno prednost. Če metodo večkrat ponovimo, dobimo visoko vsebnost ZU v TD. Slabosti sta nehomogenost in s tem večja verjetnost za rekristalizacijo. Pri metodi taljenja ZU in nosilec segrejemo nad temperaturo tališča ZU. ZU nato prodre v pore nosilca. Slabosti sta visoka temperatura, ki lahko povzroči razpad ZU in visoka viskoznost taline, kar zmanjša količino ZU v porah in poveča nehomogenost nastale TD s tem zmanjša stabilnost, ker se poveča verjetnost za rekristalizacijo ZU (35; 46; 47; 48; 49; 50).

Na vsebnost ZU v nosilcu poleg količine dodane ZU vpliva več faktorjev. Velikost por pomembno vpliva na vsebnost ZU v TD. Mezopore preprečujejo vstop prevelikim molekulam v pore nosilca. Pore morajo biti večje od velikosti molekule ZU. Da zapolnimo celotno prostornino pore pa morajo bit te vsaj trikrat večje od molekul ZU. Kadar se molekule ZU adsorbirajo na površino nosilca v obliki monosloja je kapaciteta nosilca odvisna zgolj od njegove specifične površine, ne pa tudi od volumna por. Tvorjenje monosloja lahko opišemo z Langmuirejevo izotermo. Ob uporabi raztopin ZU z visoko koncentracijo ali ob pojavu interakcij med molekulami ZU, se ta porazdeli v več slojev. Takrat na kapaciteto poleg specifične površine vpliva tudi volumen por. Površina nosilca močno vpliva na adsorpcijo ZU v porah nosilca. Med površino nosilca in ZU se lahko pojavijo ionske vezi, vodikove vezi, elektrostatske in hidrofobne interakcije, ki so gonilna sila nalaganja ZU v porah. Porozni SiO_2 ima na površini proste OH skupine, zato so vodikove vezi odločujočega pomena za adsorpcijo ZU. Lastnosti površine nosilca lahko spreminjamo s funkcionalizacijo OH skupin. Lastnosti topila pomembno vplivajo na adsorpcijo ZU na in v nosilcu. Porozni SiO_2 ima polarno površino. Zato zelo polarna topila tekmujejo z molekulami ZU za adsorpcijo na nosilec in s tem zmanjšajo količino adsorbirane ZU (22; 46; 49; 51).

Na profil sproščanja ZU iz poroznega SiO_2 vplivajo velikost in arhitektura por, interakcije med ZU in nosilcem, struktura vgrajene ZU, metoda izdelave TD, topilo, če ga uporabimo

med izdelavo, delež amorfne oblike ZU, masno razmerje ZU-nosilec, stabilnost itd.. Sproščanje je po navadi nadzorovano difuzijsko, zato ga lahko opišemo s Fickovima zakonoma. Če so v TD prisotne močnejše interakcije med ZU in nosilcem, lahko nad difuzijskim nadzorom prevlada kinetika tvorbe in razpada kompleksov. Večanje por povečuje hitrost sproščanja, zaradi hitrejše difuzije do točke, kjer lahko ZU začne kristalizirati. Saj je zmanjševanje mrežne energije kristalne ZU najpomembnejši faktor za izboljšanje hitrosti raztapljanja. Kristalizacija v porah ne more poteči dokler je velikost pore manjša od kritične velikosti kristalizacijskega jedra. Če pore niso medsebojno povezane, mora nukleacija poteči v vsaki pori posebej kar še dodatno prispeva k stabilnosti TD. Kristalizacija ZU lahko poteče tudi na zunanji površini nosilca in tako destabilizira amorfno obliko ZU znotraj nosilca. Tudi če pride do kristalizacije, ostane med kristalom in steno pore tako imenovana δ-plast ZU, ki nikoli ne kristalizira. Ker je ta plast tanka (le nekaj nm), manjše pore vseeno vsebujejo visok delež amorfne ZU. V stiku s poroznim nosilcem se nahaja veliko ZU, ker ima le ta veliko specifično površino. Interakcije, ki se pojavijo med poroznim SiO_2 in ZU, še dodatno stabilizirajo amorfno obliko ZU. Med molekulami ZU pa ne sme biti močnih interakcij, če želimo hitro sproščanje in takrat je najbolje, da je vezava monoslojna. S tem se izognemo hidrofobnim interakcijam med molekulami ZU, ki je slabo vodotopna. Z ustrezno funkcionalizacijo nosilca lahko dosežemo prirejeno sproščanje ZU (sproščanje ZU, zaradi spremembe pH, pojava magnetnega polja, UV svetlobe, prisotnosti specifičnih ionov) (24; 36; 42; 46; 52; 53; 54; 55; 56).

Sproščanje ZU iz poroznega nosilca navadno poteče v štirih fazah:

1. vodni medij se absorbira v pore nosilca na osnovi kapilarnih sil;
2. v absorbiranem mediju se raztopijo molekule ZU;
3. molekule ZU difundirajo iz por nosilca;
4. difuzija molekul ZU v medij za sproščanje (22).

Kinetiko sproščanja ZU iz poroznega nosilca opisujemo z uporabo najmanj treh modelov. Med temi so najpogosteje uporabljani:

Model prvega reda: $f = 1 - e^{-k_1 t}$ (Enačba *2*),

f je delež sproščene ZU ob času t in k_1 je konstanta prvega reda.

Higuchijev model: $Q = k_H\sqrt{t}$ (Enačba *3*),

Q je kumulativna količina sproščene ZU ob času t in k_H je Higuchijeva konstanta. Uporablja se za sproščanje nadzorovano z difuzijo.

Korsmeyer-Pepassov model: $F = \frac{M_t}{M} = kt^n$ (Enačba *4*),

F je delež sproščene ZU ob času t, M_t je kumulativna masa sproščene ZU ob času t, M je začetna količina ZU v nosilcu, konstanti k in n pa določata mehanizem sproščanja. Sproščanje temelji na Fickovi difuziji, kadar je n manjši od 0,5. Če je n enak 0, imamo kinetiko ničtega reda in kadar je njegova vrednost večja od 0,5, imamo opravka s ne-Fickovo difuzijo. Model je primeren zgolj za opis prvih 60 % sproščene ZU (46; 57; 58).

1.4.3 Fizikalno – kemijsko vrednotenje mezoporoznih nosilcev in trdnih disperzij

Najpomembnejši lastnosti mezoporoznih nosilcev ZU sta kemijska sestava in struktura por. Kemijsko sestavo preučujemo z jedrsko magnetno resonanco (NMR), ramansko spektroskopijo in infrardečo spektroskopijo s Fourierjevo transformacijo (FTIR). Strukturo por preučujemo z elektronsko mikroskopijo (EM), z merjenjem sorpcije dušika in rentgensko praškovno difrakcijo (XRPD), ki je primerna za urejene mezoporozne nosilce. EM nam daje podatek o obliki por, sorpcija dušika o premeru in volumnu por ter XRPD o pravilnosti strukture in povprečni razdalji med središči por. Iz tega lahko izračunamo debelino sten v porah, če poznamo podatek o velikosti por. Pomembna lastnost mezoporoznih nosilcev je tudi vrednost Zeta potenciala pri določeni pH vrednosti, ki ga določimo z elektrokemičnimi titracijami. Tovrstni izsledki nam omogočijo predvideti pri katerih pogojih bosta najbolje potekli adsorpcija in desorpcija ZU na oziroma z nosilca (59; 60; 61; 62; 63).

Pri TD vrednotimo interakcije med ZU in nosilcem, vsebnost ZU ter fizikalne lastnosti ZU v TD. Interakcije preučujemo s FTIR in z določitvijo adsorpcijskih izoterm ZU. Amorfnost oz. kristalnost ZU preučujemo z diferenčno dinamično kalorimetrijo (DSC). Kristali ZU na površini TD lahko namreč upočasnijo sproščanje ZU iz por nosilca. Vsebnost preučujemo s termogravimetrično analizo (TGA) in ekstrakcijo. Pri TGA opazujemo maso vzorca kot funkcijo temperature, ker ZU razpade pri veliko nižjih temperaturah kot nosilec. Pri metodi ekstrakcije ZU sproščamo iz TD. Iz koncentracije ZU v topilu nato določimo vsebnost ZU v TD. Pri tem pazimo, da se iz TD sprosti vsa ZU. Za določanje koncentracije ZU v topilu

najpogosteje uporabljamo tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPLC). Poleg HPLC se uporablja tudi UV/VIS spektroskopija za molekule, ki močno absorbirajo ultravijolično ali vidno svetlobo (49; 63; 64; 65; 66).

1.5 Sproščanje zdravilnih učinkovin iz trdnih disperzij s poroznim SiO_2

Pri literaturnem pregledu profilov sproščanja ZU iz številnih TD z različnimi tipi poroznega SiO_2 (Preglednici I in II) se ZU iz TD vedno hitreje sprošča kot pa sama. Pri nekaterih TD se sprosti vsa ZU, pri drugih ne. Tudi pri hitrosti sproščanja glede na vsebnosti ZU v TD ni splošnega pravila. Vaibhav in Rutesh ter Takeuchi in sodelavci so ugotovili, da se z višanjem deleža ZU v TD, poveča hitrost sproščanja ZU iz TD (67; 68). Do nasprotnih ugotovitev so prišli Kovačič in sodelavci ter Planinšek in sodelavci (39; 69). Glede na metodo izdelave so Planinšek in sodelavci ter Limnell in sodelavci ugotovili, da je adsorpcija boljša metoda izdelave kot odparevanje topila pri znižanem tlaku pri uporabi MCM-41 (39; 47). Nasprotno so objavili Limnell in sodelavci pri uporabi Syloida 244FP. Ugotovili so, da je adsorpcija slabša metoda kot odparevanje topila pri znižanem tlaku in sušenje z razprševanjem (47). Da je odparevanje topila pri znižanem tlaku boljše od taljenja so dognali Tozuka in sodelavci (70). V primeru uporabe Syloida 224FP je glede hitrosti sproščanja ZU adsorpcija boljša od sušenja z razprševanjem in še boljša kot odparevanje pri znižanem tlaku. Pri uporabi MCM-41 je adsorpcija boljša od odparevanja topila pri znižanem tlaku in še boljša kot sušenje z razprševanjem (47). Song in sodelavci so prišli do spoznanja, da je adsorpcija boljša kot izdelava TD med sintezo nosilca (45). Popovici in sodelavci so spoznali, da se ob uporabi adsorpcije pri višji temperaturi ZU hitreje sprošča kot pri adsorpciji, kjer uporabimo ob izdelavi TD nižjo temperaturo (62). Kovačič in sodelavci so ugotovili, da je sproščanje iz TD izdelane z impregnacijo, ki jo večkrat ponovimo boljša kot če nosilec polnimo samo enkrat (69). Izbira nosilca prav tako vpliva na hitrost sproščanja ZU iz TD. Kinnari in sodelavci so objavili, da je Syloid AL-1FP boljši nosilec kot Syloid 244FP (55). Heikkila in sodelavci, da je TUD-1 boljši kot MCM-41 (48). Van Speybroeck in sodelavci so ugotovili, da je sproščanje ZU iz TD s SBA-15 glede na ZU v naslednjem vrstnem redu začenši z najboljšim sproščanjem: nifedipin, cinarezin, indometacin, grisofulvin, ketokenazol, diazepam, fenofibrat,

fenilbutazon karbamazepin in danazol (65). Van Speybroeck in sodelavci so spoznali, da se glibenklamid in indometacin iz TD sproščata enako hitro (71).

Preglednica I: Primerjava sproščanja zdravilnih učinkovin iz trdnih disperzij izdelanih z urejenim poroznim SiO_2

ZU	NOSILEC	TD (delež ZU v %)	METODA IZDELAVE	DELEŽ SPROŠČENE ZU [%]		
				5'	60'	120'
flurbiprofen (70)	/	/	/	30		
	FSM-16	30%	taljenje	50		
		30%	odparevanje topila	60		
ibuprofen (48)	/	/	/	3	35	60
	MCM-41	20,8%	adsorpcija	12	70	80
indometacin (47)	/	/	/	2	20	
	MCM-41	17%	adsorpcija	35	70	
			odparevanje topila	20	45	
			sušenja z razprševanjem	10	45	
indometacin (71)	/	/	/	15	70	**90**
	SBA-15		adsorpcija	**90**	**100**	**100**
indometacin (65)	/	/	/	15	30	40
	SBA-15	20%	impregnacija	**90**	**90**	**90**
karbamazepin (65)	/	/	/	40	65	70
	SBA-15	20%	impregnacija	65	85	85
cinarizin (65)	/	/	/	5	10	15
	SBA-15	20%	impregnacija	**90**	**95**	**100**
danazol (65)	/	/	/	10	25	30
	SBA-15	20%	impregnacija	60	80	80
diazepam (65)	/	/	/	25	40	45
	SBA-15	20%	impregnacija	80	**90**	**90**
fenofibrat (65)	/	/	/	20	35	45
	SBA-15	20%	impregnacija	80	**90**	**90**
griseofulvin (65)	/	/	/	50	60	65
	SBA-15	20%	impregnacija	85	**90**	**90**
ketokenazol (65)	/	/	/	45	80	**90**
	SBA-15	20%	impregnacija	85	**90**	**90**
nifedipin (65)	/	/	/	10	30	40
	SBA-15	20%	impregnacija	**95**	**100**	**100**
fenilbutazon (65)	/	/	/	25	55	65
	SBA-15	20%	impregnacija	80	85	85

ibuprofen (45)	SBA-15	23,80%	adsorpcija	**95**	**100**	**100**
			med sintezo nosilca	**95**	**100**	**100**
	SBA-15	25,6%	adsorpcija	30	**95**	**100**
glibenklamid (71)	/	/	/	18	48	58
	SBA-15		adsorpcija	**90**	**100**	**100**
kaptopril (62)	SBA-15-derivatiziran		adsorpcija 23°C	20	80	
			adsorpcija 80°C	45	**90**	
ibuprofen (48)	/	/	/	3	35	60
	TUD-1	33,10%	adsorpcija	32	**90**	**93**

Preglednica II: Primerjava sproščanja zdravilnih učinkovin iz trdnih disperzij izdelanih z neurejenim poroznim SiO_2

ZU	NOSILEC	TD (delež ZU v %)	METODA IZDELAVE	DELEŽ SPROŠČENE ZU [%]		
				5'	60'	120'
karvedilol (kristal) (69)	/	/	/		10	15
karvedilol (amorf) (69)	/	/	/		8	10
karvedilol (69)	Sylysia 350	20%	enkratna impregnacija	40	60	70
		33%		12	20	30
		50%		5	10	10
		20% (2)	večkratna impregnacija	40	60	65
		40% (4)		28	40	48
		60% (6)		10	15	20
karvedilol (kristal) (39)	/	/	/	5	18	25
karvedilol (amorf) (39)	/	/	/	5	10	15
karvedilol (39)	Sylysia 350	33%	odparevanje topila	22	**95**	**100**
		50%		18	55	65
		67%			35	50
		34%	adsorpcija	70	**95**	**95**
		46%		50	**90**	**95**
		65%		45	85	**90**
indometacin (68)	/	/	/	5	40	55
	Sylysia 350		sušenja z razprševanjem	**90**	**95**	**95**
cefuroksim aksetil (72)	/	/	/	5	15	
	Sylysia 350	25%	odparevanje topila	**100**	**100**	

sulfatiazol (67)	/	/	/		10	20
	Syloid 244FP	33%	taljenje	30	65	80
		25%			30	40
		25%*		80	80	80
tadalofil (73)	/	/	/	10	35	40
	Syloid 244FP	42,50%	večkratna impregnacija	85	**100**	**100**
indometacin (47)	/	/	/	2	20	
	Syloid 244FP	11%	adsorpcija	35	40	
			odparevanje topila	40	75	
			sušenja z razprševanjem	20	80	
itrokonazol (55)	/	/	/	15		
	Syloid 244FP	21,90%	adsorpcija	65		
	Syloid AL-1FP	21,00%		85	**100**	
	Syloid AL-1FP - terminalno oksidiran	11,20%		80	**100**	
	Syloid AL-1FP - terminalno karboniran	11,30%		80	**100**	

((2),(4),(6)=število impregnacij; *=2-krat večja količina dodanega PVP)

2 NAMEN DELA

Indometacin (IMC) je po literaturnih podatkih težko topna in dobro permeabilna ZU in jo zato uvrščamo v drugi razred po BCS klasifikaciji. V diplomski nalogi bomo poskušali izboljšati njegovo raztapljanje. Izdelali bomo TD različnih vsebnosti IMC v dveh tipih mp-SiO_2 (Sylysia 350 in Syloid 244FP EU) z metodo odparevanja pri znižanem tlaku (RV) in metodo adsorpcije iz suspenzije z acetonom s sledečim filtriranjem in sušenjem (ADS) ter jih med seboj primerjali. Namen dela je preučevanje izdelanih TD s stališča kinetike sproščanja in morebitnih interakcij med ZU in nosilcem, ki bi lahko vplivale na upočasnitev sproščanja po začetnem pulzu.

Določili bomo topnost IMC v 0,05 M pufru KH_2PO_4 s pH 6,8. S tem bomo preverili ali preskuse sproščanja IMC iz TD izvajamo v sink pogojih.

Uspešnost nalaganja ZU v TD bomo preverjali s TGA in z metodo ekstrakcije s sledečo HPLC analizo.

V povezavi s pravilnim izvajanjem meritev bomo preverili stabilnost raztopine IMC glede na prisotnost svetlobe. Ugotoviti želimo ali tekom analiz v prisotnosti svetlobe ZU razpade.

S preskusom sproščanja IMC iz TD po Ph. Eur. 7th Ed. bomo preučili kinetiko sproščanja IMC iz izdelanih TD. S primerjavo profilov bomo lahko ocenili kako hitro, v kolikšni meri in s kakšno kinetiko se sprosti IMC iz TD ter kakšen delež ZU se ob začetku sproščanja sprosti v obliki pulza.

Z FTIR bomo preučili morebitne interakcije med ZU in nosilcem.

Z DSC bomo preučili amorfnost oz. kristalnost IMC v TD.

Pravo gostoto nosilcev, ZU in TD bomo izmerili s helijevim piknometrom. Ugotoviti želimo v kakšni obliki je ZU naložena v TD.

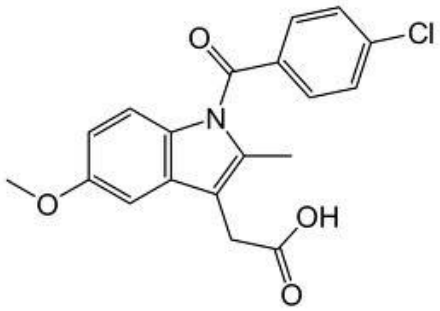
3 MATERIALI IN METODE

3.1 Materiali

Pri eksperimentalnem delu smo uporabljali naslednje materiale.

Zdravilna učinkovina

Indometacin (Sigma-Aldrich chemie GmbH, Nemčija) (2-{1-[(4-klorofenil)karbonil]-5-metoksi-2-metil-1H-indol-3-il}ocetna kislina, IMC) je protirevmatična in nesteroidna protivnetna ZU iz skupine derivatov indolocetne kisline, ki spada v podskupino selektivnih inhibitorjev encima ciklooksigenaze 2 (COX-2). Deluje protivnetno, analgetično in antipiretično. COX-2 je induciran pri vnetnih procesih, zaradi delovanja citokinov in rastnih dejavnikov. Pretvarja arahidonsko kislino v prostaglandin E2, ki je najpomembnejši posrednik vnetja. Poveča občutljivost nocireceptorjev, poviša telesno temperaturo in s povzročanjem vazodilatacije ter povišane žilne permeabilnosti še dodatno promovira vnetje. Istočasno IMC inhibira gibljivost polimorfonuklearnih levkocitov, ki sodelujejo pri vnetnem procesu. Uporablja se za zdravljenje: revmatskih bolezni - zlasti, ko druga nesteroidna protivnetna zdravila niso učinkovita: revmatoidni artritis, spondiloartritisi (ankilozirajoči spondilitis, psoriatični artritis, reaktivni artritis, enteropatični artritis); degenerativnih sklepnih bolezni: osteoartroza; artropatij, povzročenih z odlaganjem kristalov: akutni urični artritis (putika), psevdoprotin; zunajsklepnega revmatizma: burzitis, kapsulitis, tendinitis, tendosinovitis, sinovitis, humeroskapularni periartritis in bolečinskih stanj: lumbalgija, dismenoreja, po kirurških in zobozdravniških posegih. Začetni odmerek v prvem tednu zdravljenja je 50 - 75 mg dnevno, ki ga lahko po potrebi vsak teden povišamo za 25 - 50 mg dnevno, dokler ne dosežemo zadovoljivega učinka ali največjega dovoljenega dnevnega odmerka, ki je 200 mg. IMC je bel ali rumen kristalen prašek. Je praktično netopen v vodi in delno topen v etanolu. Po BCS klasifikaciji ga uvrščamo v razred II (3; 74; 75; 76).



Slika 1: Strukturna formula indometacina

Porozni nosilec za izdelavo trdnih disperzij

Silicijev dioksid Sylysia® 350 (Fuji Silysia Chemical Ltd., Japonska) (Sylysia) je suh, bel, mikroniziran amorfen prašek z visoko poroznostjo, neurejeno strukturo por in veliko specifično površino. Povprečna velikost delcev znaša od 3,1 do 20,0 µm, povprečen premer por 25 nm in specifična površina 277,5 m^2/g. Izdelan je iz kemijsko inertnega amorfnega silikagela visoke čistote (99,7 % SiO_2). V farmaciji se uporablja za izboljšanje pretočnih lastnosti in stisljivosti prahov pri procesu tabletiranja ter za izdelavo TD. V prehrambeni industriji se uporablja kot aditiv za preprečevanje aglomeracije, vezavo vlage, modifikacijo viskoznosti in izboljšanje pretočnih lastnosti (24; 63; 77; 78).

Silicijev dioksid Syloid® 244FP EU (Grace GmbH, Nemčija) (Syloid) je suh, bel, mikroniziran amorfen prašek z visoko poroznostjo, veliko specifično površino in neurejeno strukturo por. Povprečna velikost delcev znaša 5,5 µm, povprečen premer por 19 nm, povprečen volumen por 1.5 cm^3/g, gostota 96.1 kg/m^3 in specifična površina 314 m^2/g. V farmaciji se uporablja, zaradi odlične kompatibilnost z ZU, dobrih sušilnih lastnosti in s tem povezano povečano stabilnostjo ZU, ki so občutljive na vlago, visoke adsorpcijske sposobnosti za ZU in omogočanja hitrejšega sproščanje ZU (60; 79; 80).

Organska topila za izdelavo trdnih disperzij

Aceton; CH_3COCH_3 (Merck KGaA, Nemčija)

Filtri

Durapore® Membrane filters, type 0,1 µm VVPP (Millipore, Irska)

Minisart® RC 25, hidrofilen filter, pore velikosti 0,45 µm (Sartorius, Nemčija)

Kemikalije za preskus vsebnosti

Etanol; CH_3CH_2OH (Merck KGaA, Nemčija)

Prečiščena voda

Kemikalije za pripravo 0,05M fosfatnega medija pH 6,8 za preskus sproščanja

Kalijev dihidrogenfosfat; KH_2PO_4 (Merck KGaA, Nemčija)

Natrijev hidroksid; NaOH (Merck KGaA, Nemčija)

Prečiščena voda

6,8 g KH_2PO_4 smo zatehtali v 1000 ml bučo in dopolnili s prečiščeno vodo do 900 ml. Med mešanjem na magnetnem mešalu smo uravnali pH raztopine z dodatkom vodne raztopine 1M NaOH. Nato smo bučo s prečiščeno vodo dopolnili do oznake. Vodno raztopino 1M NaOH smo pripravili z raztapljanjem 4 g NaOH v 100 ml prečiščene vode.

Topila in reagenti za pripravo mobilne faze za HPLC

Prečiščena voda

Acetonitril; CH_3CN (Merck KGaA, Nemčija)

Ortofosforna kislina 85 %; H_3PO_4 (Merck KGaA, Nemčija)

Mobilno fazo acetonitril:0,2 % H_3PO_4=60:40 smo pripravili v 1 L steklenico. Vanjo smo vlili 0,60 L acetonitrila in 0,40 L predhodno pripravljene 0,2 % H_3PO_4 ter vsebino dobro premešali.

Plini

Argon stisnjen 4.6, Messer, Slovenija

Dušik stisnjen 5.0, Messer, Slovenija

Helij 5.0, Messer, Avstrija

Kisk stisnjen, Messer, Slovenija

3.2 Aparature

Seznam aparatur, ki smo jih uporabili pri eksperimentalnem delu:

Analizna tehtnica AND GH-300, ZDA

Analizna tehtnica Mettler Toledo AG 245, Švica

Diferenčni dinamični kalorimeter Mettler Toledo Differential scanning calorimeter DSC1, opremljen s programsko opremo Star® software v9.39, Švica

Helijev piknometer AccuPyc 1330, Micromeritics, ZDA

HPLC sistem naslednje konfiguracije:

- razplinjevalec DG 2.1S, Knauer, Nemčija;
- črpalka Knauer K-1001, Knauer, Nemčija;
- detektor UV detector K-2501, Knauer, Nemčija;
- avtomatski vzorčevalnik Midas, Spark Holland, Nizozemska;
- integrator računalniški program Barspec Data System (BDS) 1.12, Barspec System Inc., ZDA.

Magnetno mešalo Poly 15, Thermo scientific, Komet

Magnetno mešalo:

- Telesystem 15, Thermo scientific, Komet
- elektronika Thermo Electron LED GmbH Telemodul 20 C, Thermo scientific, Komet
- grelnik ED THERM60, Julabo, Nemčija

Magnetno mešalo Rotamix 550 MMH, Tehtnica, Slovenija

Merilnik pH vrednosti: pH METER, Mettler Toledo MA 235, Švica

Naprava z vesli za preskus sproščanja:

- ERWEKA DT 6, Švica
- grelnik ERWEKA T 1500, Švica

Rotacijski vakuumski uparjevalnik sestavljen iz:

- rotavapor R-114, Büchi, Švica;
- vodna kopel B-480, Büchi, Švica;
- vakuumska črpalka Vac V-500, Büchi, Švica;
- Vacuum controller B-721, Büchi, Švica;
- vodni povratni hladilnik, Büchi, Švica

Termogravimeter Mettler Toledo TGA/DSC1, opremljen s programsko opremo STARe Software v9.30, ZDA

Thermo Nicolet Nexus FT-IR

Ultrazvočna kadička: Sonis 4, Iskra, Slovenija

3.3 Metode dela

3.3.1 Izdelava trdnih disperzij

TD smo izdelali po dveh metodah. Prva je metoda odparevanja topila pri znižanem tlaku. V 100 mL bučko z okroglim dnom smo zatehtali IMC, ga raztopili v acetonu in dodali ustrezno količino nosilca. Nastala je suspenzija. Topilo smo odpareli s pomočjo rotacijskega vakuumskega uparjevalnika. Tlak smo postopno zniževali do končnega tlaka okrog 10 mbar. Hitrost vrtenja bučke je bila 40 obratov na minuto in tempertura vodne kopeli približno 50 °C. Ko smo dosegli končni tlak in je bila TD na videz suha, to je v obliki praška, smo jo še 30 min sušili pri končnem tlaku. Natehte sestavin in sestava TD so podane v Preglednici III in IV.

Druga metoda je metoda adsorpcije iz suspenzije z acetonom s sledečim filtriranjem in sušenjem. V bučko z ravnim dnom smo zatehtali IMC, ga raztopili v acetonu, dodali mp-SiO_2 in dopolnili z acetonom do oznake. Nastalo suspenzijo smo mešali 3 ure na magnetnem mešalu do vzpostavitve ravnotežja. Vsebino bučke smo prefiltrirali pri znižanem tlaku s pomočjo vodne črpalke skozi filter Durapore® Membrane filters z velikostjo por 0,1 μm. Filtrat je predstavljal izdelano TD, ki smo jo sušili v vakuumskem

sušilniku pri sobni temperaturi 30 min. Natehte sestavin in sestava izdelanih TD so podane v Preglednici III in IV.

Preglednica III: Natehte sestavin in sestava TD izdelanih s Sylysio 350

OZNAKA TD	IMC [g]	SYLYSIA [g]	ACETON [mL]
SLEPA RV	0	1	60
18,9% RV	0,4	2	60
21,6% RV	0,5	1,5	60
24,5% RV	0,5	1	60
45,5% RV	0,5	0,5	60
SLEPA ADS	0	1	100
6,0% ADS	1	5	50
7,9% ADS	0,5	1,5	100
14,9% ADS	0,5	1	100
27,9% ADS	1	0,5	10
43,3% ADS	1	0,25	10

Opomba: % predstavlja delež IMC v TD

Preglednica IV: Natehte sestavin in sestava TD izdelanih s Syloidom 244FP EU

OZNAKA TD	IMC [g]	SYLOID [g]	ACETON [mL]
SLEPA RV	0	1	60
17,6% RV	0,4	2	60
24,0% RV	0,5	1,5	60
33,4% RV	0,5	1	60
47,0% RV	0,5	0,5	60
SLEPA ADS	0	1	10
6,9% ADS	0,5	1,5	10
7,9% ADS	0,5	1	10
9,3% ADS	1	5	50
35,2% ADS	1	0,25	10
42,3% ADS	1	0,5	10

Opomba: % predstavlja delež IMC v TD

3.3.2 Določanje topnosti indometacina

Topnost IMC smo določali v 0,05 M KH_2PO_4 pH 6,8. V bučko smo zatehtali prebitno količino IMC, dopolnili do oznake in mešali na magnetnem mešalu 24 h. Koncentracijo smo določili s HPLC. Postopek smo ponovili v dveh paralelkah.

3.3.3 Termogravimetrična analiza

Izdelane TD in nosilca smo analizirali s termogravimetrično metodo. Določevali smo vsebnost IMC v TD in vsebnost vode ter zaostalih organskih topil. Uporabljen termogravimeter meri spremembo mase vzorca v odvisnosti od temperature oz. časa pri izotermnih pogojih (81). Vzorec smo zatehtali v 70 µL lonček iz aluminijevega oksida na 0,01 µg natančno in ga linearno segrevali od sobne temperature do 1100 °C s hitrostjo segrevanja 20 °C/min v dušikovi atmosferi s pretokom 50 mL/min. Vsebnost vode smo izračunali kot padec mase vzorca nosilca. Vsebnost vode in organskega topila je sorazmerna padcu mase vzorca slepe TD in obratno sorazmerna vsebnosti IMC v TD. Vsebnost IMC je sorazmerna padcu mase vzorca TD, zmanjšana za vsebnost vode in organskega topila.

3.3.4 Določanje vsebnosti indometacina v trdnih disperzijah

Vsebnost IMC v TD smo določili z metodo ekstrakcije s sledečo HPLC analizo in TGA. Pri metodi z ekstrakcijo smo v bučko smo zatehtali TD in jo dopolnili do oznake s prečiščeno vodo ter etanolom v razmerju 50:50. Nastalo suspenzijo smo mešali 24 h na magnetnem mešalu, redčili v razmerju 1:10 in filtrirali skozi 0,45 µm Minisart® RC 25 filter v vialo. Koncentracijo smo določili z uporabo HPLC metode. Postopek smo ponovili v dveh paralelkah in tako dobili podatek o vsebnosti IMC v TD. Pri TGA smo vsebnost ZU izmerili s termogravimetrom kot spremembo mase vzorca v odvisnosti od temperature pri pogojih kot je opisano v poglavju 3.2.3.

3.3.5 Test stabilnosti raztopine indometacina

Test stabilnosti IMC smo izvedli glede na dva stresna faktorja. Prvi je bil čas, drugi pa svetloba. Test smo izvajali 120 h na svetlobi in v temi. Stabilnost ZU smo določili z metodo ekstrakcije. V bučko z navadnim in temnim steklom smo zatehtali IMC in ga dopolnili do oznake z acetonom. Aceton smo izbrali z namenom, da bi se izognili

počasnemu raztapljanju IMC in s tem kompenzaciji njegovega razpada. Nastalo raztopino smo mešali 120 h na magnetnem mešalu. Vsebnost smo določili po 24, 48 in 120 h s pomočjo HPLC. Postopek smo ponovili v dveh paralelkah.

3.3.6 Preskus sproščanja

Preskus sproščanja IMC iz TD smo izvedli po Ph. Eur. 7th Ed po protokolu 2.9.3 pri čemer smo uporabili aparaturo tipa 2, ki je opremljena z vesli (ERWEKA DT 6, Švica) (76). Kot medij za sproščanje smo uporabili 0,05 M KH_2PO_4 pH 6,8. V 900 ml medija za sproščanje s temperaturo 37°C ± 0,5°C smo zatehtali toliko TD ali čiste ZU, da je natehta vsebovala maso IMC, ki predstavlja velikostni razred enkratnega terapevtskega odmerka (50 mg). Hitrost vrtenja vesel je bila 50 obratov na minuto. Vzorčili smo z ročno brizgo ob časih 1, 2, 3, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 120 in 1440 minut. Vzorec je vseboval 5 mL suspenzije in smo ga pred HPLC analizo prefiltrirali skozi 0,45 µm Minisart® RC 25 filter v vialo, da je nastala čista raztopina IMC. Postopek smo ponovili v dveh paralelkah.

3.3.7 Določanje profila in kinetike sproščanja indometacina iz trdnih disperzijh s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti

Določanje koncentracije IMC v vodni raztopini smo povzeli po Limnellu in sodelavcih (47). Uporabili smo HPLC kolono A Luna 100 Å C18 RP, 150 x 4,6 mm; 3 µm (Phenomenex, ZDA). Mobilna faza je bila sestavljena iz acetonitrila in 0,2 % H_3PO_4 v razmerju 60:40. Pretok je znašal 1,5 mL/min, volumen injiciranja 20 µL in tlak na koloni 18,5 MPa. IMC smo kvantitativno določili z detektorjem na osnovi UV/VIS spektroskopije pri valovni dolžini 320 nm. Retencijski čas IMC je bil ~ 3,38 min. Umeritvena premica je bila linearna v koncentracijskem območju 0,1-100 mg/L. R^2 je znašal 0,999. Koncentracije vzorcev smo izračunali glede na dnevno pripravljen standard. Primer kromatograma (Slika 20) in poročilo analize kromatograma (Slika 21) je v prilogi na koncu diplomske naloge.

Dnevni standard IMC smo pripravili tako, da smo natančno približno na eno decimalno mesto zatehtali 50 mg IMC v 100 mL bučko z ravnim dnom in jo dopolnili s prečiščeno vodo ter etanolom v razmerju 50:50 do oznake. Nastalo raztopino smo 10 minut mešali na magnetnem mešalu in jo nato za 10 minut postavili v ultrazvočno kadičko. Postopek smo ponovili dvakrat. Sledilo je redčenje v razmerju 1:10, tako da smo dobili raztopino IMC s

koncentracijo približno 50 mg/L. Tako pripravljeno raztopino smo prefiltrirali skozi 0,45 µm Minisart® RC 25 filter. Postopek smo ponovili v dveh paralelkah.

Izmerjenim profilom sproščanja ZU iz TD smo poskušali določiti kinetiko sproščanja, tako da smo ugotavljali ujemanje izmerjenih profilov z lineariziranimi štirimi modeli. To so: model ničtega reda ($y=k_0t+n$), model prvega reda ($-\ln[1-y]=k_1t+n$), Higuchijev model ($y=k_Ht^{1/2}+n$) in Korsmeyer-Pepassov model ($y=k_{KP}t^n$). Ujemanje teh modelov z izmerjenim profilom sproščanja smo določili z uporabo kvadrata Pearsonovega koeficienta (R^2).

3.3.8 Infrardeča spektroskopija s Fourierjevo transformacijo

Analizo smo izvedli s tehniko oslabljene popolne odbojnosti (angl. Attenuated total reflectance – ATR). Princip te tehnike je, da s pomočjo zrcalne optike vodimo žarek spektrofotometra na površino vzorca, kjer se žarki odbijajo in jih naprej vodimo na detektor. Vzorce smo brez posebne predpriprave nanesli na diamantni kristal in izvedli meritev v območju 4000-500 cm^{-1} pri spektralni ločljivosti 1 cm^{-1}. Vsak spekter je povprečje 3 meritev. Spektre smo analizirali s programsko opremo Spectrum v5.3.1.

3.3.9 Diferenčna dinamična kalorimetrija

Termično analizo TD smo izvedli z uporabo diferenčnega dinamičnega kalorimetra (Metler Toledo DSC1, ZDA). Vzorce smo zatehtali na 0,01 mg natančno v 40 µL aluminijaste posodice za enkratno uporabo. Segrevali smo jih od -10 °C do 170 °C s hitrostjo segrevanja 20 °C/min v dušikovi atmosferi s pretokom dušika 50 mL/min. Kalorimeter je bil kalibriran z indijem. Spektre smo analizirali s programsko opremo STARe Software v9.30.

3.3.10 Določanje gostote s helijevim piknometrom

S helijevim piknometrom smo določili pravo gostoto nosilcev, ZU in TD. V prazno celico za vzorec, ki je bila predhodno očiščena s prečiščeno vodo in etanolom ter posušena s sušilnikom z vročim zrakom smo natehtali vzorec. Znotraj vsake določitve gostote helijev piknometer (AccuPyc 1330, Micromeritics, ZDA) izvede tri ponovitve. Meritve smo ponovili, tako da smo natehtan vzorec sušili v vakuumskem sušilniku pri sobni temperaturi. Tlak v sušilniku smo izenačili z argonom in takoj za tem določili gostoto s helijevim piknometrom.

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 Topnost indometacina

Topnost IMC smo določali v 0,05 M KH_2PO_4 pH 6,8. Ta pufer smo uporabili tudi kot medij za sproščanje. Izmerjena topnost je 712 mg/L. Iz tega sledi, da smo preskuse sproščanja v nadaljevanju izvajali v sink pogojih (<214 mg IMC v 900 mL) kar pomeni, da je bil volumen medija vsaj trikrat večji od volumna, ki je potreben, da se tvori nasičena raztopina IMC.

4.2 Termogravimetrična analiza

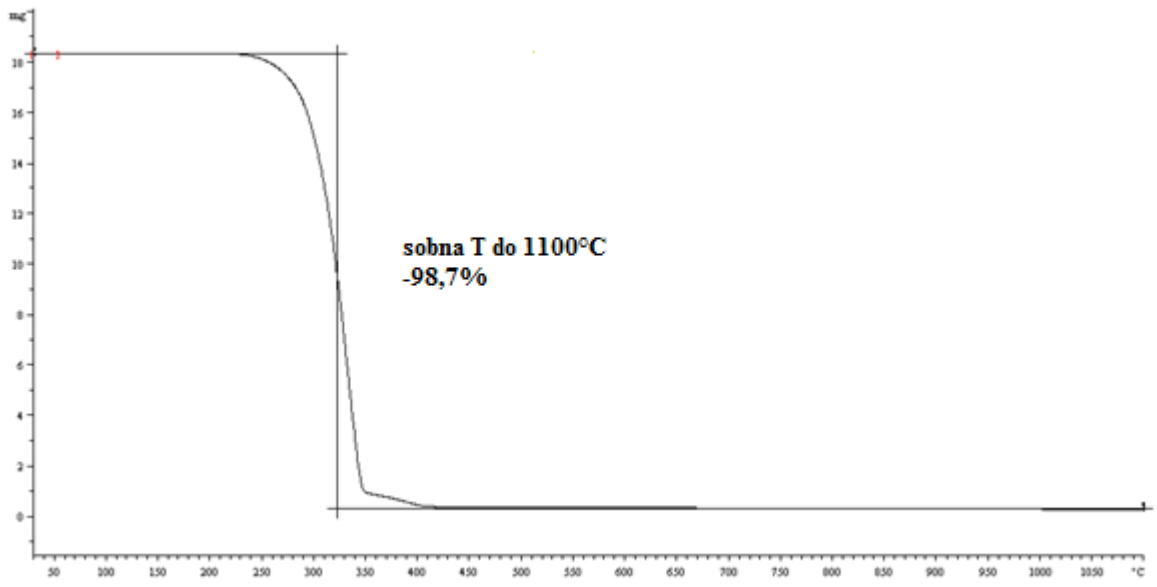
Predvidevamo, da lahko maso oz. vsebnost ZU v TD določimo s TGA. TGA temelji na merjenju mase vzorca kot funkcija temperature. V izbranem temperaturnem intervalu (od sobne temperature do 1100 °C) poteče popolna termična razgradnja in uparitev organske ZU, anorganski mp-SiO_2 pa zaradi svoje termične stabilnosti ostaja nedotaknjen in ohrani svojo maso. Metoda določevanja vsebnosti IMC v mp-SiO_2 s TGA ima prednosti in slabosti. Prednosti so: izvedba analize v enem koraku brez dodatne priprave vzorca, potrebna majhna količina vzorca (nekaj miligramov) in neuporaba organskih topil. Slabosti pa so: relativno dolgo merjenje, draga oprema in težka kvalitativna analiza. Poleg spremljanja mase vzorca v odvisnosti od temperature lahko hkrati spremljamo tudi termične dogodke z informativno DSC.

Da bi lahko ocenili ustreznost TGA za določevanje vsebnosti IMC v izdelanih TD smo posneli termograme IMC, obeh nosilcev in vseh TD.

4.2.1 TGA indometacina

Za potrditev predpostavke o popolni termični razgradnji in uparitvi IMC pri pogojih TGA smo najprej analizirali IMC. Iz termograma (Slika 2), ki opisuje spreminjanje mase vzorca v odvisnosti od temperature, lahko razberemo, da v temperaturnem intervalu od 200 do 430 °C poteče popolna termična razgradnja in uparitev IMC oziroma njegovih razpadnih produktov. Masa preiskovanega vzorca je padla za 98,7 %. To je skoraj celotna masa

vzorca. 1,3 % zaostanka lahko predstavljajo anorganske nečistote v vzorcu, ki v izbranem temperaturnem intervalu ne razpadejo oziroma eksperimentalno napako.

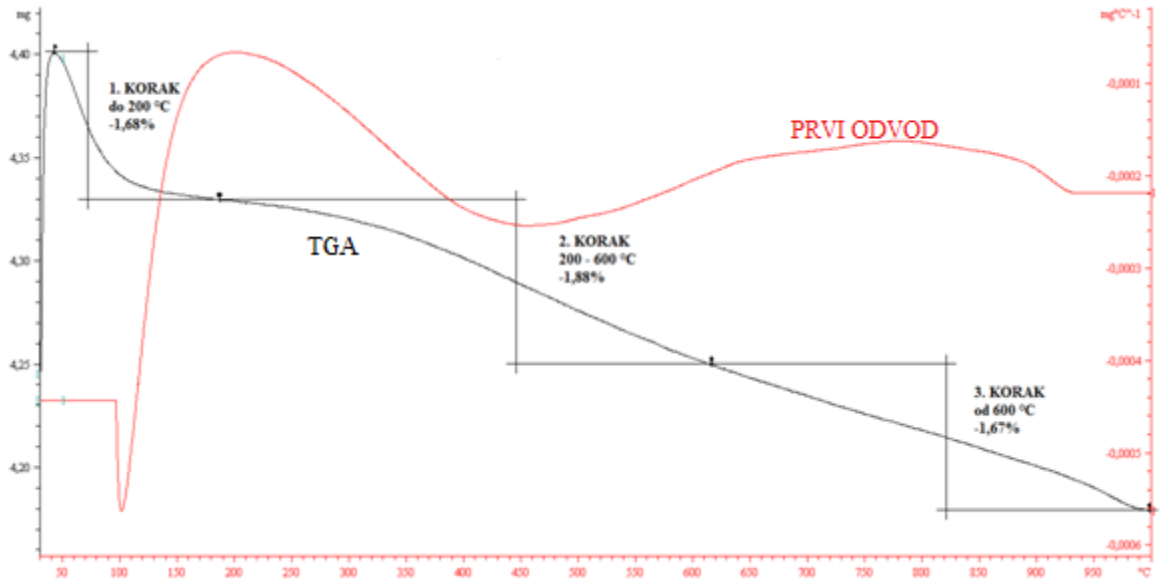


Slika 2: Diagram termogravimetrične analize indometacina

4.2.2 TGA Sylysie 350 in Syloida 244FP EU

Za določitev vsebnost IMC na podlagi padca mase v termogramu TD, se masa vzorca nosilca pri izbranih pogojih TGA ne bi smela spremeniti. Predvidevamo le zmanjšanje mase zaradi šibko vezane vode in zaostanka organskega topila v TD v območju do 200 °C. Z analizo termograma IMC (Slika 2) lahko določimo, da se do 200 °C razgradnja in uparitev IMC še ne prične oz. njegova masa ostaja konstantna, zato lahko padec mase zaradi odparevanja šibko vezane vode in zaostalih organskih topil odštejemo od vzorca TD oz. pri določevanju vsebnosti IMC v TD upoštevamo le padec mase v intervalu od 200 °C do 1100 °C.

Sylysio (Slika 3) in Syloid (Slika 4) smo s termogravimetrom analizirali pri enakih pogojih merjenja kot IMC. Iz termogravimetrične krivulje razberemo, da masa vzorca Sylysie v temperaturnem intervalu od sobne temperature do 1100 °C ni konstantna.

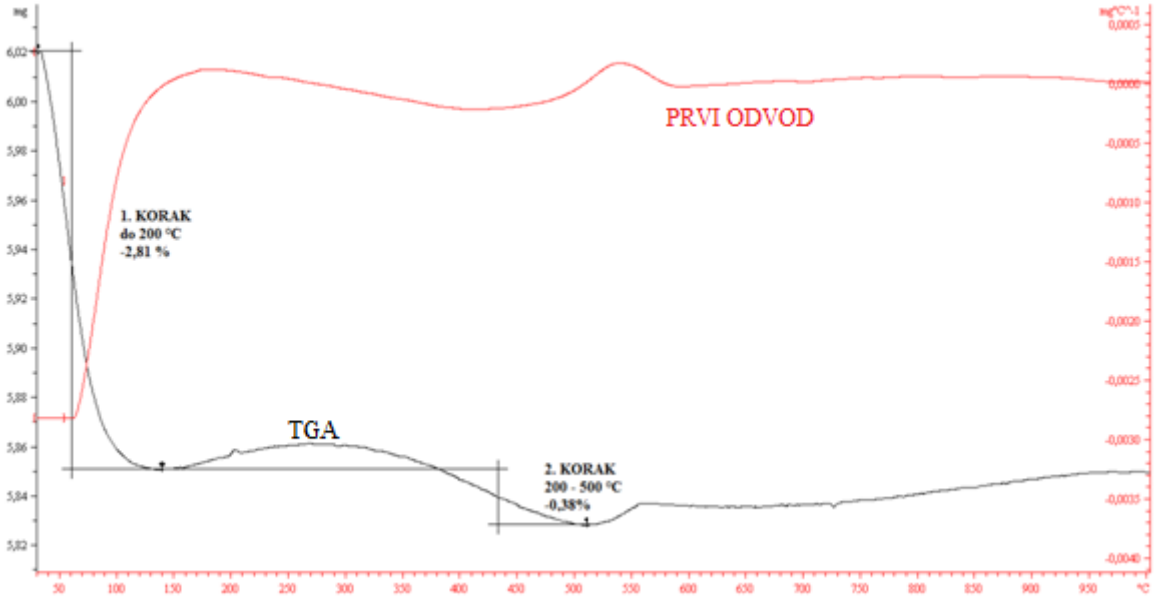


Slika 3: Diagram termogravimetrične analize Sylysie 350

Termogravimetrično krivuljo Sylysie smo odvajali. S prvim odvodom smo opredelili temperaturne intervale posameznega koraka desorpcije vode. Prvi odvod termogravimetrične krivulje prikaže tri minimume, ki predstavljajo tri točke, kjer je intenzivnost desorpcije vode največja. Iz teh podatkov smo lahko določili tri desorpcijska območja vode: med 30 in 200 °C se desorbira šibko oz. fizikalno vezana voda, ki je vezana na silanolne skupine na površini Sylysie (van der Waalsove vezi) in zaostala organska topila (82); med 200 in 600 °C narava izgubljene mase po literaturnih podatkih še ni popolnoma razjasnjena. Najverjetneje je izguba mase posledica močno vezane vode na površino Sylysie (vodikove vezi). Ne moremo pa izključiti, da se v tem temperaturnem intervalu desorbira tudi voda, ki je ujeta v zelo ozkih porah mp-SiO_2; med 600 °C in 1100 °C se eliminira kemijsko vezana voda, ki je posledica odcepitve molekule vode med kondenzacijo dveh silanolnih skupin v siloksansko skupino. Masa vzorca se tekom TGA zmanjša v treh korakih. V prvem koraku za 1,7 %, v drugem za 1,0 % in v tretjem za 2,5 % mase vzorca. Celokupen padec mase znaša 5,2 % in je posledica desorpcije vode.

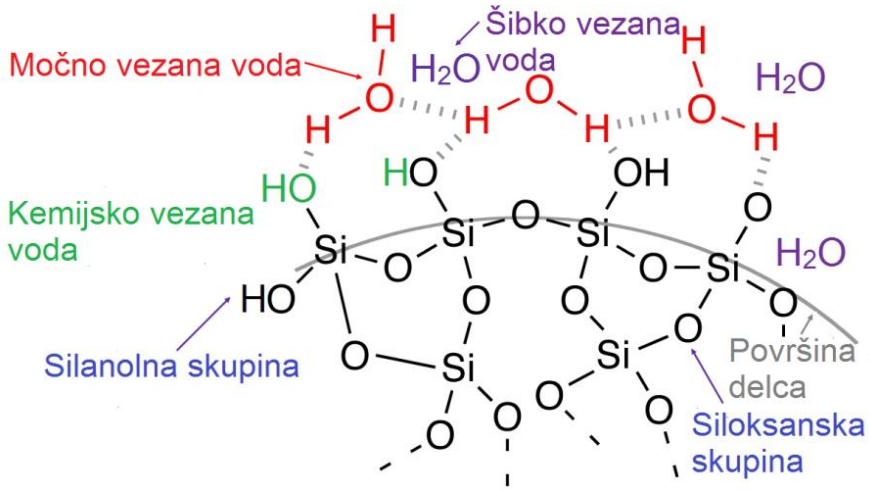
Pri TGA Syloida opazimo dve desorpcijski območji vode v približno enakih temperaturnih intervalih kot prva koraka desorpcije vode pri Sylysii. V prvem koraku, do 200 °C, pade masa vzorca za 2,81 % in v drugem, od 200 do 500 °C, za 0,38 %. Prvi padec mase je posledica desorpcije šibko vezane oz. fizikalne vode, drugi pa močno vezane vode. Iz tega

sklepamo, da za razliko od Sylysie Syloid pri izbranih pogojih merjenja ne izgubi kemijskno vezane vode.



Slika 4: Diagram termogravimetrične analize Syloida 244FP EU

Slika 5 prikazuje strukturo mp-SiO_2 in vse tri zgoraj naštete oblike vezane vode, ki se izločijo med TGA. Na površini mp-SiO_2 so prisotne silanolne skupine, ki so lahko izolirane, vicinalne (hidroksilni skupini na sosednjih silicijevih atomih) in geminalne oz. silandioli (hidroksilni skupini na istem silicijevem atomu). Kondenzacija kemijsko vezane vode običajno poteče med vicinalnima silanolnima skupinama.



Slika 5: Struktura površine mp-SiO_2 s prikazom različno vezane vode, ki se desorbira med TGA. Slika je prirejena po (83).

4.2.3 TGA trdnih disperzij

S TGA smo analizirali količino različnih vod v vzorcih in vsebnost IMC pri izbranih pogojih. Rezultati o vsebnosti IMC so predstavljeni v poglavju 4.4. Vsebnost vode je prikazana v preglednici V za Sylysio in v preglednici VI za Syloid. Samo vsebnost vode smo razdelili na dva dela. V vodo, ki izhlapi do 200 ºC (šibko vezana) in od 200 do 1100 ºC (močno in kemijsko vezana). Ker v temperaturnem območju med 200 in 1100 ºC razpade tudi IMC smo določili delež vode z predpostavko linearne obratne sorazmernosti med deležem vode in vsebnostjo IMC (večja kot je vsebnost IMC, manjši je delež vode). Izgube mas se pri nosilcih in slepih TD (brez ZU) razlikujejo. To je posledica izpostavitve slepih TD acetonu. Ta najverjetneje vsebuje tudi nekaj vode, ki se je vezala na nosilec in med sušenjem ni izhlapela v celoti.

Preglednica V: Izguba mase vzorcev v odstotkih med TGA pri uporabi Sylysie 350

TD	šibko vezana voda (do 200 °C)	vsota močno in kemijsko vezane vode (200 – 1100 °C)
Sylysia 350	1,66	3,55
SLEPA RV	4,78	2,39
18,9% RV	1,52	1,94
21,6% RV	3,65	1,87
24,5% RV	3,36	1,8
45,5% RV	0,85	1,3
SLEPA ADS	2,37	1,15
6,0% ADS	3,11	1,08
7,9% ADS	1,43	1,06
14,9% ADS	2,07	0,98
27,9% ADS	2,21	0,83
43,3% ADS	1,4	0,65

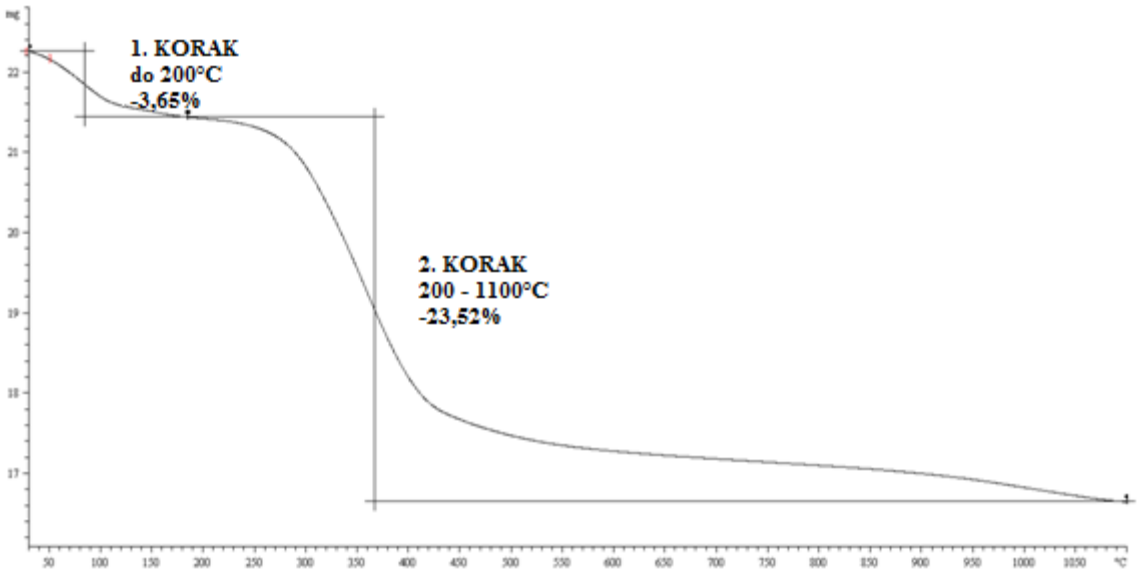
Opomba: % predstavlja delež IMC v TD

Preglednica VI: Izguba mase vzorcev v odstotkih med TGA pri uporabi Syloida 244FP EU

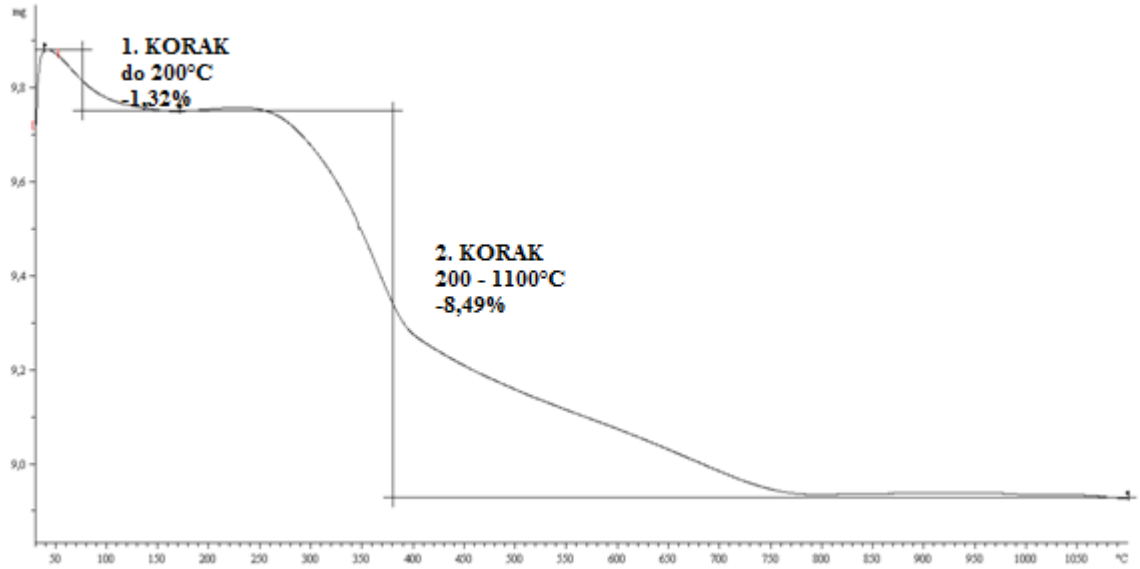
TD	šibko vezana voda (do 200 °C)	vsota močno in kemijsko vezane vode (200 – 1100 °C)
IZHODNA	2,81	0,38
SLEPA RV	2,95	0,81
17,6% RV	2,27	0,67
24,0% RV	1,26	0,62
33,4% RV	0,6	0,54
47,0% RV	1,06	0,43
SLEPA ADS	3,52	0,66
6,9% ADS	1,41	0,61
7,9% ADS	1,32	0,61
9,3% ADS	4,22	0,6
35,2% ADS	1,65	0,43
42,3% ADS	1,51	0,38

Opomba: % predstavlja delež IMC v TD

Slika 6 prikazuje TGA TD 21,6% RV Sylysia in slika 7 TGA TD 7,9% ADS Syloid. Termograma smo razdelili na dva dela. V prvem delu, to je do 200 °C, se desorbira šibko vezana voda in zaostalo organsko topilo. V drugem delu, to je od 200 do 1100 °C, poteče termična razgradnja in uparitev IMC ter desorpcija močno in kemijsko vezane vode. Vsebnost IMC smo določili kot padec mase vzorca v drugem koraku zmanjšane za delež močno in kemijsko vezane vode. Delež močno in kemijsko vezane vode smo izračunali relativno glede na delež ZU in odstotek močno in kemijsko vezane vode v slepi TD.



Slika 6: Diagram termogravimetrične analize TD 21,6% RV Sylysia 350



Slika 7: Diagram termogravimetrične analize TD 7,9% ADS Syloid 244FP EU

Metodo določevanja vsebnosti s TGA bi verjetno lahko izboljšali z drugače programiranim segrevanjem vzorca. Izboljšan program bi deloval na sledeč način: najprej bi vzorce segrevali do temperature okoli 150 °C linearno nato pa še izotermično, to je določen čas pri konstantni temperaturi. Tako bi zagotovili popolno odparitev šibko vezane vode in rezidualnih topil pod temperaturo začetka razgradnje in uparitve IMC.

4.3 Vsebnost indometacina v trdnih disperzijah

Vsebnost IMC v TD smo poleg TGA določali še z metodo ekstrakcije s sledečo HPLC analizo (Preglednici VII in VIII). Ustreznost izbrane metode smo potrdili tudi tako, da smo primerjali vsebnost določeno s TGA s teoretično vrednostjo vsebnosti za TD izdelane z metodo RV. Ker pri tej metodi ni izgub ZU, pričakujemo, da bo vsebnost IMC enaka teoretični vrednosti. Rezultat TGA to domnevo potrjuje, saj je izmerjena vrednost v vseh analiziranih TD približno enaka teoretični. Npr. pri TD Sylysia 45,5% RV in Syloid 47,0% RV je teoretična vsebnost 50%. S TGA pa smo določili za TD s Sylysio 45,5% in za Syloid 47,0%. Še več, rezultati vsebnosti teh TD se skladajo tudi v primeru HPLC analize. Skladnost je pričakovana, ker pri izdelavi nismo imeli izgub ZU.

Rezultati vsebnosti TD izdelanih z metodo ADS se skladajo v primeru TGA in HPLC analize. Ne ujemajo pa se s teoretičnim izračunom vsebnosti glede na uporabljeno količino IMC in nosilca za TD. Takšne rezultate smo pričakovali, ker je prišlo do izgub ZU med izdelavo v fazi filtriranja pri znižanem tlaku. Supernatant je bil rumene barve. Rumena barva je posledica raztopljenega IMC. Izgubo zaradi raztapljanja smo poskušali zmanjšati z uporabo čim manjše količine topila. Le to smo zmanjšali na tehnološki minimum. S podaljšanjem časa mešanja na magnetnem mešalu smo preverili ali se v 3 h vzpostavi ravnotežje med TD in raztopino. Čas mešanja smo podaljšali na 24 h, a vsebnost IMC v TD ni bila nič večja v primerjavi s TD, ki se je mešala 3 h. To pomeni, da se je ravnotežje med TD in raztopino vzpostavilo v največ 3 h.

Glede na vsebnost so med sabo primerljive naslednje TD: 45,5% RV in 43,3% ADS Sylysia ter 47,0% RV in 42,3% ADS Syloid z vsebnostjo okrog 45 % ZU.

Preglednica VII: Vsebnost IMC določena s TGA in HPLC v odstotkih za Sylysio 350 in njene TD

TD	SYLYSIA 350		
	TEOR.	TGA	HPLC
IZHODNA	0	0	0
SLEPA RV	0	0	0
18,9% RV	16,7	18,9	14,2
21,6% RV	25,0	21,6	23,9
24,5% RV	33,3	24,5	33
45,5% RV	50,0	45,5	45,8
SLEPA ADS	0	0	0
6,0% ADS	16,7	6,03	6,33
7,9% ADS	25,0	7,92	8,96
14,9% ADS	33,0	14,9	14,9
27,9% ADS	66,7	27,9	14,7
43,3% ADS	80,0	43,3	46,5

Opomba: % predstavlja delež IMC v TD

Preglednica VIII: Vsebnost IMC določena s TGA in HPLC v odstotkih za Syloid 244FP EU in njegove TD

TD	SYLOID 244FP EU		
	TEOR.	TGA	HPLC
IZHODNA	0	0	0
SLEPA RV	0	0	0
17,6% RV	16,7	17,6	13,6
24,0% RV	25,0	24	17,7
33,4% RV	33,3	33,4	27,3
47,0% RV	50,0	47	47,1
SLEPA ADS	0	0	0
6,9% ADS	16,7	6,88	8,4
7,9% ADS	25,0	7,88	8,41
9,3% ADS	33,0	9,26	6,38
35,2% ADS	66,7	35,2	45,1
42,3% ADS	80,0	42,3	13,9

Opomba: % predstavlja delež IMC v TD

4.4 Stabilnost indometacina

IMC smo testirali glede na njegovo stabilnost na svetlobi v raztopini. Ugotovili smo, da je v izbranih pogojih sproščanja IMC ves čas merjenja stabilen. To pomeni, da v prisotnosti svetlobe v času 120 h ne razpada oz. se njegova koncentracija ne zmanjšuje. Rast koncentracije je posledica počasnega raztapljanja IMC. Konstantna koncentracija ni posledica enakomernega razpada in sproščanja, ker se po 48 h sprosti ves IMC in je tudi po 120 h njegova koncentracija enaka. Iz tega lahko sklepamo, da IMC na svetlobi v časovnem obsegu naših meritev ni razpadel.

Preglednica IX: Stabilnost indometacina

	24 h [%]	48 h [%]	120 h [%]
Svetloba	94,5	98,5	100,0
Tema	93,3	97,9	100,0

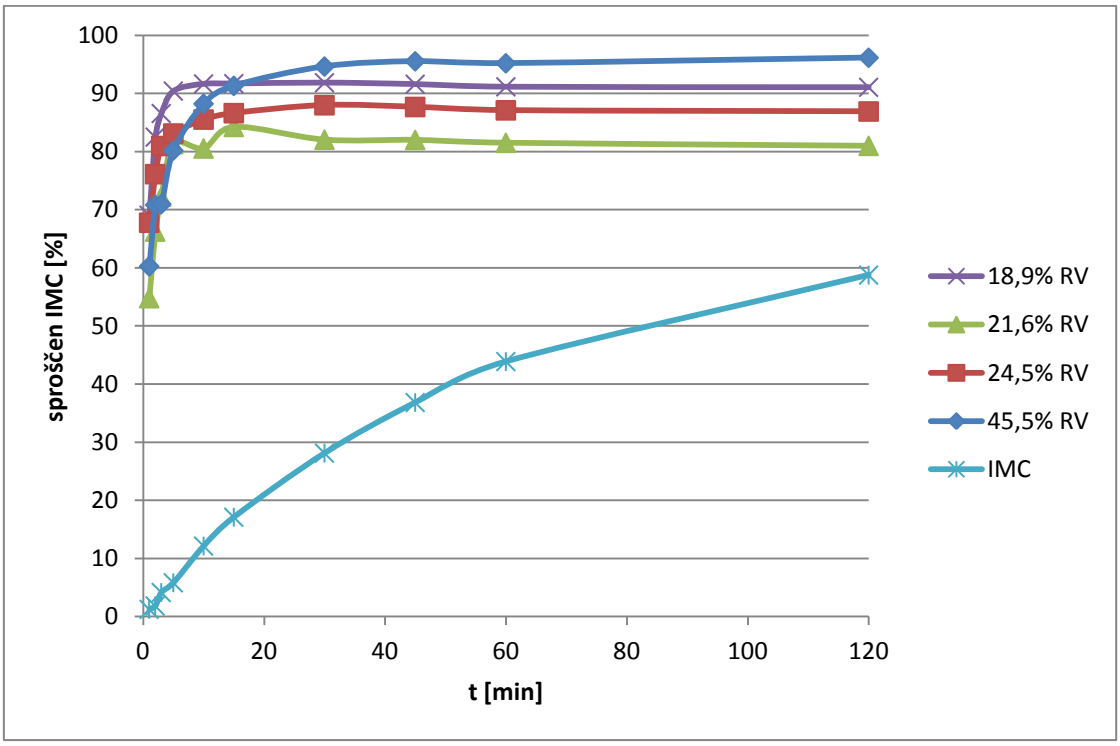
4.5 Sproščanje indometacina iz trdnih disperzij

Na podlagi profilov sproščanja, ki jih vidimo na slikah 8-11, lahko ugotovimo, da smo z vgradnjo IMC v TD izboljšali njegovo raztapljanje. Povišana hitrost raztapljanja IMC je verjetno posledica adsorpcije ZU na mp-SiO_2 in posledično povečanja njene specifične površine. Svoj delež pa k temu pridoda tudi amorfna oblika IMC in dobro močenje disperzije.

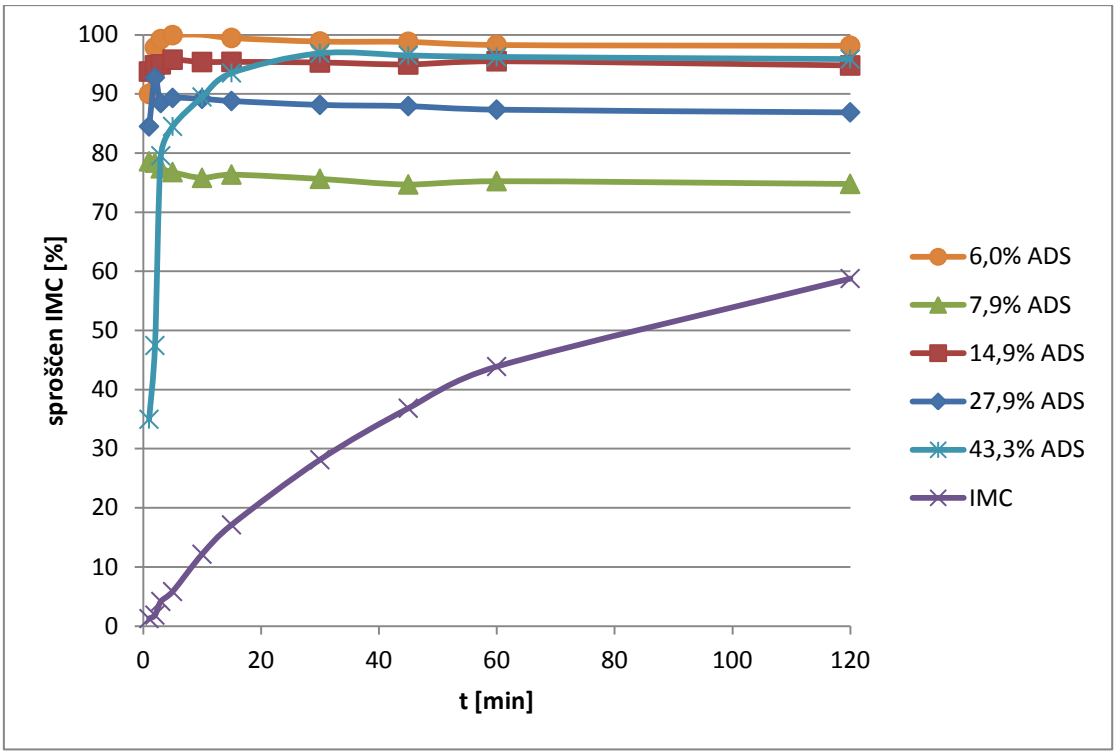
Vidimo lahko, da se je v prvih petih minutah sprosti vsaj 80 % IMC v vseh primerih razen pri TD 21,6% RV in 7,9% ADS Sylysia ter 35,2% ADS Syloid. V prvih 15 minutah se sprosti več kot 90 % ZU v skoraj vseh primerih. To se ne zgodi pri TD 21,6% in 24,5% RV Sylysia. Vendar pa se po 1440 min v obeh primerih sprosti ves IMC. Prav tako se ne sprosti več ko 90 % IMC v prvih 15 min pri TD 7,9% ADS Sylysia in TD 6,9% ter 35,2% ADS Syloid. V teh primerih se tudi po 24 h ne sprosti vsa ZU. Predvidevamo, da je to predvsem pri višjih deležih ZU posledica prisotnosti t. i. bottle ink por v nosilcih pri katerih se ZU lažje naloži v pore kot pa sprosti iz njih. (84) Pore takšnih oblik onemogočajo hitro sproščanje ZU, ker delujejo kot njen zadrževalnik.

Sproščanje IMC iz TD izdelanih z RV je ob uporabi Syloida kot nosilca v primerjavi s Sylysio hitrejše. Ob primerjavi metode ADS pa sta nosilca ekvivalentna.

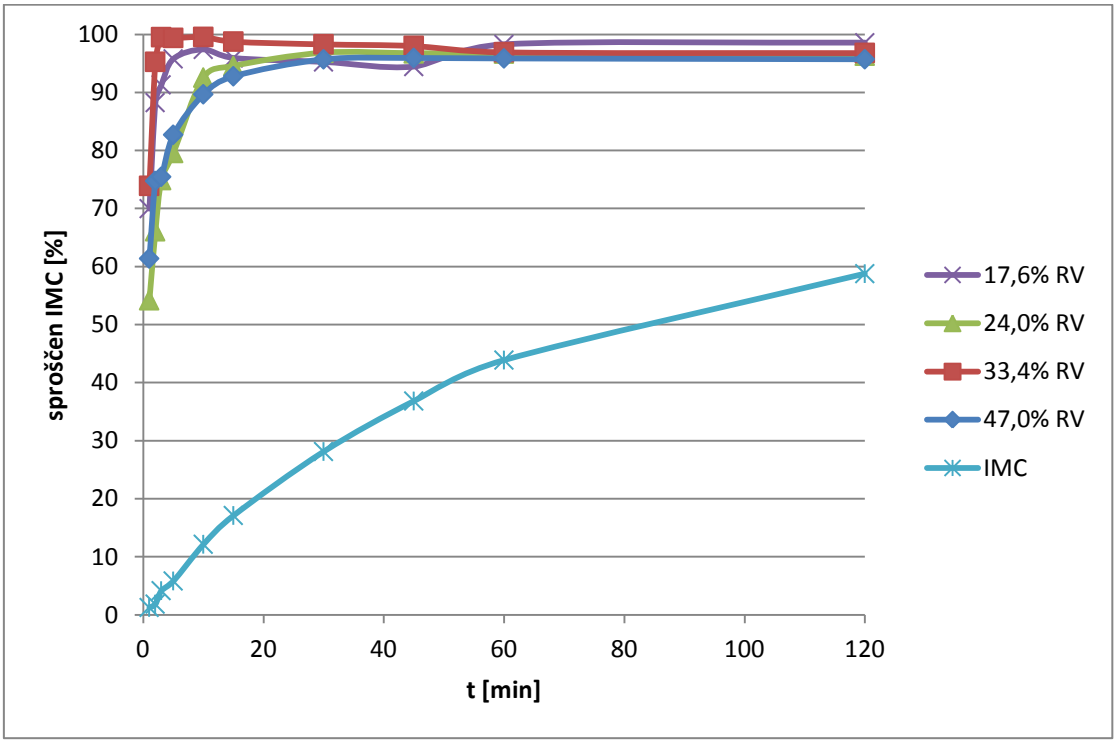
Sproščanje IMC iz TD pri katerih smo uporabili kot nosilec Sylysio je pri vsebnosti 45 % ADS boljši način izdelave kot RV. ZU se hitreje sprosti. Pri 15 % sta metodi glede hitrosti sproščanja primerljivi. Pri Syloidu je pri 45 % ADS boljši način izdelave, pri 15 % pa sta uporabljeni metodi glede na hitrost sproščanja ZU podobni.



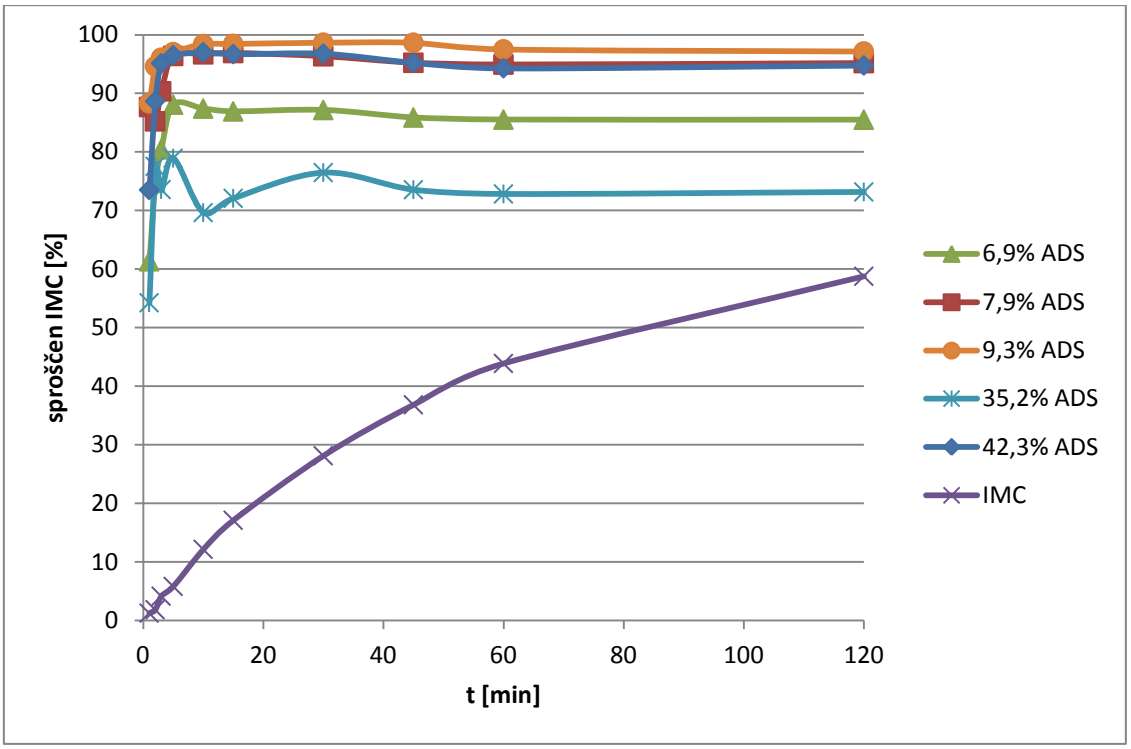
Slika 8: Profil sproščanja IMC iz TD izdelanih s Sylysio 350 z metodo odparevanja topila pri znižanem tlaku (RV) in primerjava z raztapljanjem čiste ZU



Slika 9: Profil sproščanja IMC iz TD izdelanih s Sylysio 350 z metodo adsorpcije (ADS) in primerjava z raztapljanjem čiste ZU



Slika 10: Profil sproščanja IMC iz TD izdelanih s Syloidom 244FP EU z metodo odparevanja topila pri znižanem tlaku (RV) in primerjava z raztapljanjem čiste ZU

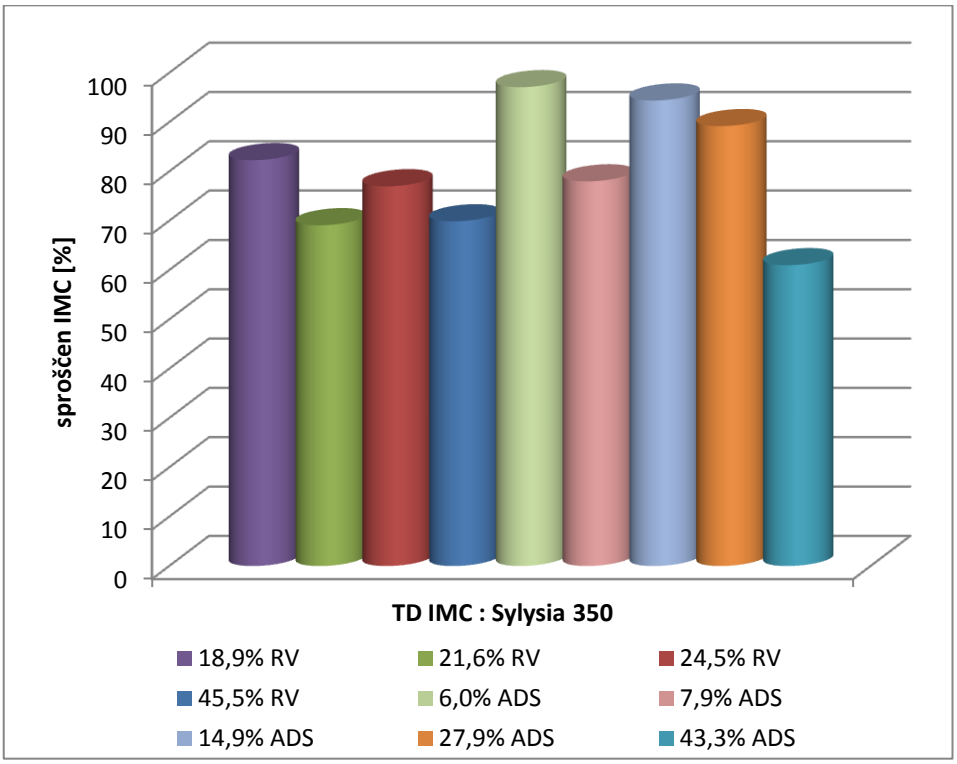


Slika 11: Profil sproščanja IMC iz TD izdelanih s Syloidom 244FP EU z metodo adsorpcije (ADS) in primerjava z raztapljanjem čiste ZU

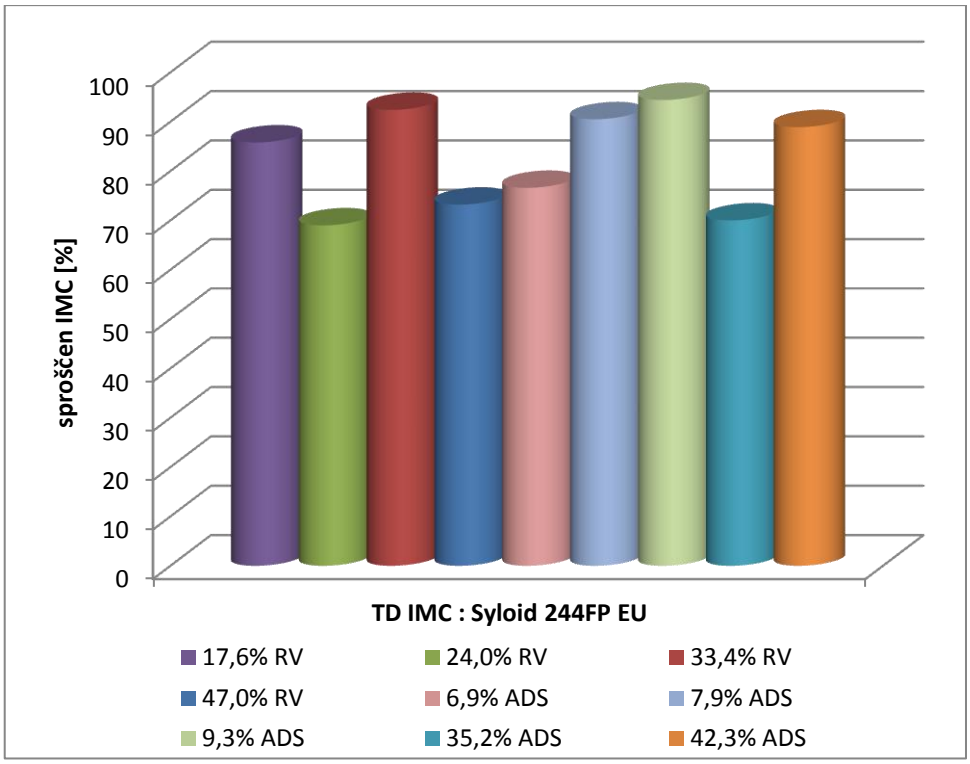
Profilu sproščanja ZU iz TD smo določili kinetiko sproščanja in jo primerjali z uporabo štirih modelov. To so: model ničtega reda ($y=k_0t+n$), model prvega reda ($-\ln[1-y]=k_1t+n$), Higuchijev model ($y=k_Ht^{1/2}+n$) in Korsmeyer-Pepassov model ($y=k_{KP}t^n$). Ujemanje teh modelov z izmerjeno kinetiko smo določili z uporabo R^2. Pearsonov koeficinet korelacije (R) je matematična in statistična številska mera, ki predstavlja velikost linearne povezanost spremenljivk x in y, merjenih na istem predmetu preučevanja. Koeficient je definiran kot vsota vseh produktov standardnih odklonov obeh vrednosti v razmerju s stopnjami prostosti oz. kot razmerje med kovarianco in produktom obeh standardnih odklonov. Dobljeni rezultat je eden izmed kvadratnih korenov koeficienta determinacije R^2, ki je razmerje med pojasnjeno varianco in skupno varianco. Njegova vrednost se giblje od 0 do 1 in nam pove ali linearna povezanost med spremenljivkama sploh obstaja in kako močna je njuna povezanost. Bližje kot je vrednosti 1, močnejša je njuna povezanost oz. bližje kot je vrednosti 0, šibkejša je njuna povezanost (85).

Na podlagi profilov in kinetik sproščanja smo predvideli, da sproščanje IMC iz TD poteka v treh fazah. Takoj po začetku sproščanja pride do tako imenovanega pulza. To pomeni, da

se velik del IMC sprosti že v prvi minuti in s tem največ pripomore k hitrejšemu sproščanju ZU iz TD v primerjavi s kristalno učinkovino. V tej fazi se sprosti IMC, ki se nahaja v porah delcev nosilca v obliki tanke plasti. Na podlagi ekstrapolacije premice deleža sproščene ZU v odvisnosti od korena časa do časa 0 smo določili, da se vsaj 60 % ZU sprosti v fazi pulza (Sliki 12 in 13). Tega deleža nato nismo upoštevali pri določanju kinetike sproščanja preostalega IMC, ki se sprošča počasneje. Za razliko od TD pri sami kristalni učinkovini ni mogoče zaznati učinka pulza.



Slika 12: Diagram deleža sproščenega IMC v prvi minuti v t. i. fazi pulza za TD izdelane s Sylysio 350



Slika 13: Diagram deleža sproščenega IMC v prvi minuti v t. i. fazi pulza za TD izdelane s Syloidom 244FP EU

Ker je Korsmeyer-Pepassov model primeren zgolj za opis prvih 60 % sproščenega IMC, ga v določevanju kinetike nismo več uporabljali.

V drugi fazi se sprosti ZU, ki je globje v porah oziroma naložena v več slojih. Ta del sproščanja traja od 1. do 5. minute. V tej fazi je sproščanje IMC upočasnjeno zaradi interakcij med površino mp-SiO_2 in molekulami ZU. Na podlagi R^2 vrednosti, ki so navedene v preglednici X vidimo, da sproščanje v drugi fazi najbolje korelira z modelom prvega reda. Tudi sama kristalna učinkovina izkazuje enake lastnosti.

Preglednica X: Kinetika sproščanja od 1. – 5. min.

Opomba: Osenčena polja pripadajo najvišjim R^2 vrednostim za posamezen vzorec.

NOSILEC	TD	1 - 5 min					
		0. red		1. red		Higuchi	
		k_0	R^2	k_1	R^2	k_H	R^2
/	IMC	0,0145	0,894	0,0125	0,9526	0,0028	0,9218
SYLYSIA 350	18,9% RV	0,0484	0,7908	0,0477	0,8126	-0,0074	0,238
	21,6% RV	0,0633	0,9465	0,0635	0,9641	-0,0031	0,0264
	24,5% RV	0,0361	0,8184	0,0358	0,8313	-0,003	0,1833
	45,5% RV	0,0452	0,9003	0,0458	0,9135	0,0016	0,0219
	6,0% ADS	0,0215	0,6375	0,0211	0,6445	-0,0029	0,4439
	7,9% ADS	-0,0048	0,9428	0,0048	0,9423	0,0001	0,6659
	14,9% ADS	0,0008	0,3516	0,0046	0,9135	0,00004	0,1128
	27,9% ADS	0,0064	0,1052	0,0062	0,0977	-0,0019	0,8577
	43,3% ADS	0,1294	0,8345	0,1318	0,8448	-0,0049	0,0134
SYLOID 244FP EU	17,6% RV	0,0568	0,7329	0,0559	0,7588	-0,01	0,2263
	24,0% RV	0,061	0,8702	0,0605	0,8894	-0,0068	0,1423
	33,4% RV	0,0545	0,5793	0,0522	0,5907	-0,0203	0,4766
	47,0% RV	0,0474	0,8296	0,0474	0,8511	-0,0029	0,0523
	6,9% ADS	0,0627	0,9008	0,0625	0,9243	-0,0063	0,0931
	7,9% ADS	0,0253	0,8087	0,0257	0,8152	0,0022	0,4055
	9,3% ADS	0,0193	0,7002	0,019	0,7078	-0,0021	0,4113
	35,2% ADS	0,049	0,5351	0,0476	0,5414	-0,013	0,4293
	42,3% ADS	0,0523	0,7207	0,051	0,7381	-0,0121	0,3617

V tretji fazi se sprošča ZU, ki se nahaja v mikroporah in v t.i. ink bottle porah nosilca. Ta del sproščanja traja od 30. do 120. minute. Interakcije med molekulami ZU in površino nosilca so še močnejše, zato ker se zaradi neposredne bližine nasprotnih sten mikropor adsorpcijski potenciali prekrivajo. K upočasnitvi sproščanja doprinesejo tudi ozke pore, ki lahko ovirajo difuzijo molekul ZU in ink bottle pore, ki delujejo kot zadrževalnik IMC. Na podlagi R^2 vrednosti, ki so navedene v preglednici XI vidimo, da sproščanje v tretji fazi najbolje korelira s Higuchijevim modelom. Tudi sama kristalna učinkovina izkazuje enake lastnosti.

Preglednica XI: Kinetika sproščanja od 30. – 120. min.

Opomba: Osenčena polja pripadajo najvišjim R^2 vrednostim za posamezen vzorec.

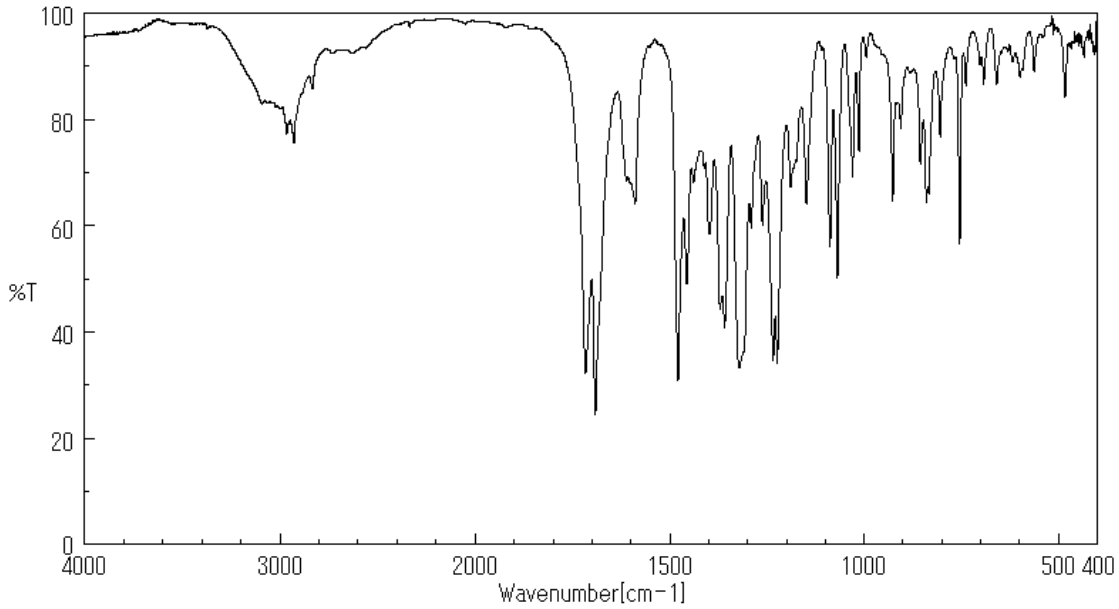
NOSILEC	TD	30 - 120 min					
		0. red		1. red		Higuchi	
		k_0	R^2	k_1	R^2	k_H	R^2
	IMC	0,0032	0,9581	0,006	0,9847	0,0448	0,9995
SYLYSIA 350	18,9% RV	-8E-05	0,6956	-9E-05	0,6952	-0,0003	0,7653
	21,6% RV	-0,0001	0,9305	-0,0001	0,9299	-0,0005	0,9737
	24,5% RV	-0,0001	0,7615	-0,0001	0,7607	-0,0004	0,8208
	45,5% RV	0,0001	0,7806	-0,0005	0,5396	-0,0012	0,8084
	6,0% ADS	-8E-05	0,7381	-8E-05	0,7378	-4E-05	0,7658
	7,9% ADS	-6E-05	0,3067	-6E-05	0,3072	0,00006	0,3226
	14,9% ADS	-0,0005	0,3599	-5E-05	0,3591	-2E-06	0,0548
	27,9% ADS	-0,0001	0,8896	-0,0001	0,8888	0,00008	0,9529
	43,3% ADS	-0,0001	0,8832	-0,0002	0,8818	-0,0012	0,9335
SYLOID 244FP EU	17,6% RV	0,0004	0,5903	0,0005	0,5926	0,0015	0,6424
	24,0% RV	-6E-05	0,9927	-8E-05	0,9927	-0,0005	0,9791
	33,4% RV	-0,0002	0,679	-0,0002	0,6786	-0,0003	0,737
	47,0% RV	-9E-06	0,096	-1E-05	0,0961	-5E-05	0,0547
	6,9% ADS	-0,0001	0,4639	-0,0001	0,463	-0,0005	0,5452
	7,9% ADS	-8E-05	0,2812	-9E-05	0,2816	-0,0002	0,3733
	9,3% ADS	-0,0002	0,7602	-0,0002	0,7593	-0,0002	0,7735
	35,2% ADS	-0,0003	0,3523	-0,0003	0,3522	-0,0004	0,4361
	42,3% ADS	-0,0002	0,3429	-0,0002	0,3436	-0,0004	0,4429

Če povzamemo, v prvi minuti poteče pulzno sproščanje, sledi do pete minute sproščanje po kinetiki 1. reda, ki se po tridesetih minutah spremeni v Higuchijevo kinetiko.

4.6 Infrardeča spektroskopija s Fourierjevo transformacijo

Na podlagi FTIR spektrov smo poskušali ugotoviti prisotnost interakcij med IMC in nosilcem. Intermolekularne interakcije amorfnih ZU z nosilcem imajo neposreden vpliv na zmanjšanje mobilnosti molekul ZU znotraj TD in posledično preprečevanje kristalizacije. Poleg tega pa interakcije med ZU in nosilcem vplivajo na T_g, strukturno relaksacijo in topnost. Najpomembnejše med njimi so vodikove vezi.

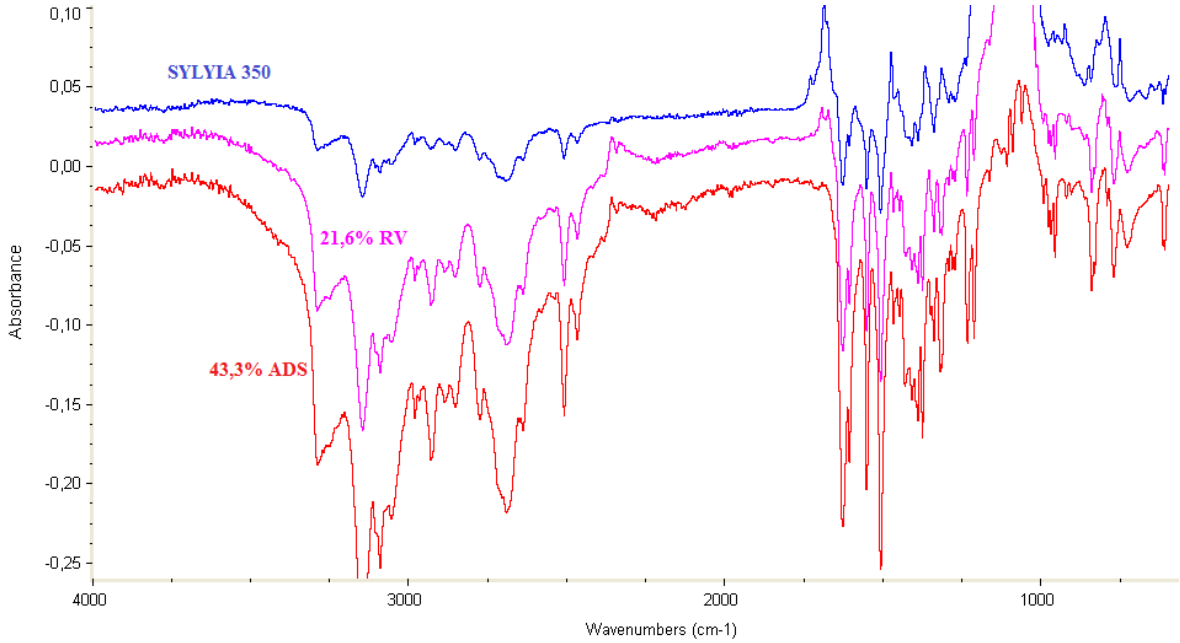
Molekula IMC vsebuje številne akceptorje vodikovih vezi med katere spadajo amidna, eterna, kloridna in karboksilna skupina, ki jo ob enem štejemo tudi med donorje vodikove vezi. V FTIR spektru kristalnega IMC (Slika 14) pri valovnem številu 2927 cm^{-1} vidimo širok vrh karboksilne O-H vezi in pri 1717 cm^{-1} nihanje C=O dvojne vezi karboksilne kisline. Vrh amidne C=O dvojne vezi je pri 1692 cm^{-1}, C-O enojne vezi karboksilne kisline pri 1322 cm^{-1}, C-O enojne vezi eterne skupine pri 1224 cm^{-1} in C-Cl vezi pri 1068 cm^{-1} (3; 86)



Slika 14: FTIR spekter indometacina

V spektru Sylysie (Slika 15) vidimo pri valovnem številu 3119 cm^{-1} širok vrh O-H vezi, ki pripada silanolni skupini. Na spektru TD 21,6% RV Sylysia (Slika 15) vidimo vrh silanolne O-H skupine pri valovnem številu 3117 cm^{-1}. Vrh karboksilne O-H vezi vidimo pri 2956 cm^{-1}, pri 1773 cm^{-1} C=O dvojno vez karboksilne kisline, pri 1665 cm^{-1} amidno

C=O dvojno vez, pri 1334 cm^{-1} C-O enojno vez karboksilne kisline, pri 1221 cm^{-1} C-O enojno vez eterne skupine in pri 1084 cm^{-1} C-Cl vez. Na spektru TD 43,3% ADS Sylysia (Slika 15) vidimo vrh silanolne O-H skupine pri valovnem številu 3117 cm^{-1}. Vrh karboksilne O-H vezi vidimo pri 2986 cm^{-1}, pri 1697 cm^{-1} amidno C=O dvojno vez, pri 1222 cm^{-1} C-O enojno vez eterne skupine in pri 1085 cm^{-1} C-Cl vez. Vidimo lahko, da so vrhovi TD zgolj rahlo zamaknjeni proti višjim valovnim številom v primerjavi s kristalnim IMC.



Slika 15: FTIR spekter Sylysie 350; 21,6% RV in 43,3% ADS

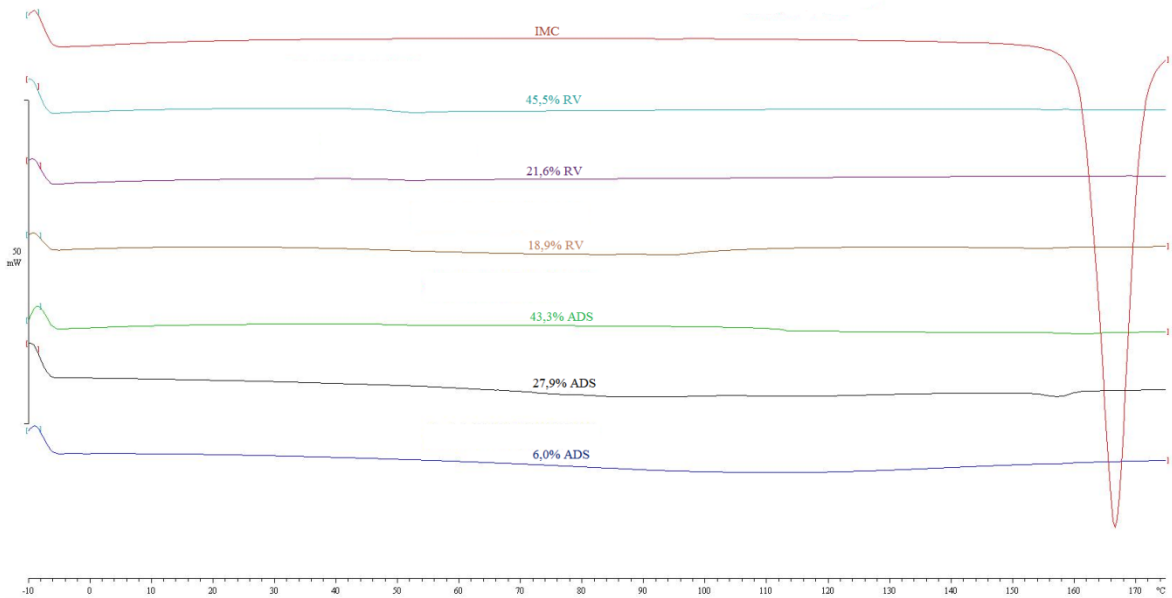
V spektru Syloida vidimo pri valovnem številu nad 3000 cm^{-1} širok vrh O-H vezi, ki pripada silanolni skupini. Na spektru TD 24,0% RV Syloid vidimo vrh karboksilne O-H vezi vidimo pri 2998 cm^{-1}, pri 1695 cm^{-1} amidno C=O dvojno vez, pri 1334 cm^{-1} C-O enojno vez karboksilne kisline, pri 1221 cm^{-1} C-O enojno vez eterne skupine in pri 1089 cm^{-1} C-Cl vez. Na spektru TD 42,3% ADS Syloid vidimo vrh karboksilne O-H vezi vidimo pri 2987 cm^{-1}, pri 1697 cm^{-1} amidno C=O dvojno vez, pri 1323 cm^{-1} C-O enojno vez karboksilne kisline, pri 1214 cm^{-1} C-O enojno vez eterne skupine in pri 1085 cm^{-1} C-Cl vez. Vidimo lahko, da so vrhovi TD zgolj rahlo zamaknjeni proti višjim valovnim številom v primerjavi s kristalnim IMC.

Na podlagi FTIR spektrov ne moremo z gotovostjo sklepati o nastanku vodikovih vezi med IMC in Sylysio, niti o nastanku vodikovih vezi med IMC in Syloidom.

4.7 Diferenčna dinamična kalorimetrija

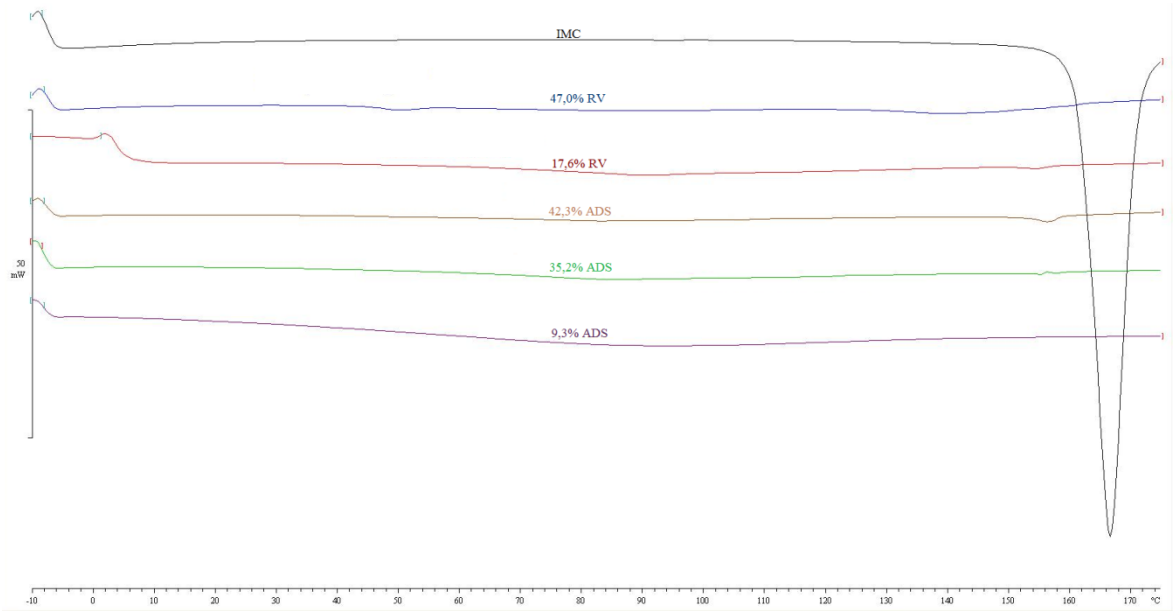
Z DSC smo želeli dokazati amorfnost oz. kristalnost IMC v TD. Pri tej metodi merimo toplotni tok v ali iz vzorca in določamo temperaturo termičnih sprememb pri nadzorovanem segrevanju. Pri tem prihaja do sprememb v strukturi ali sestavi vzorca. Rezultat meritve je diagram odvisnosti toplotnega toka od temperature, ki ga imenujeno termogram. Za prehode prvega reda nam da integracija površine pod krivuljo energijo, ki se v tem procesu sprosti ali porabi. Med prehode prvega reda štejemo tudi kristalizacijo.

Na termogramu (Sliki 16 in 17) na krivulji čiste kristalne ZU opazimo ozek talilni vrh pri 167 °C. Delež amorfne ZU določimo s primerjavo integralov talilnega vrha TD in čistega IMC. Na krivuljah TD izdelanih s Sylysio (Slika 16) tega vrha ne opazimo, razen pri TD 27,9% ADS, kjer je delež amorfne ZU 98,1 %. Iz tega lahko sklepamo, da se ZU v TD izdelanih s Sylysio nahaja v amorfni obliki.



Slika 16: DSC termogram IMC in izbranih TD izdelanih s Sylysio 350

Na krivuljah TD izdelanih s Syloidom (Slika 17) vrha kristalnega IMC ne opazimo, razen pri TD 17,6% RV, kjer je delež amorfne ZU 99,0 % in pri 42,3% ADS, kjer je delež amorfne ZU 98,8 %. Iz tega lahko sklepamo, da se ZU v TD izdelanih s Syloidom nahaja v amorfni obliki.



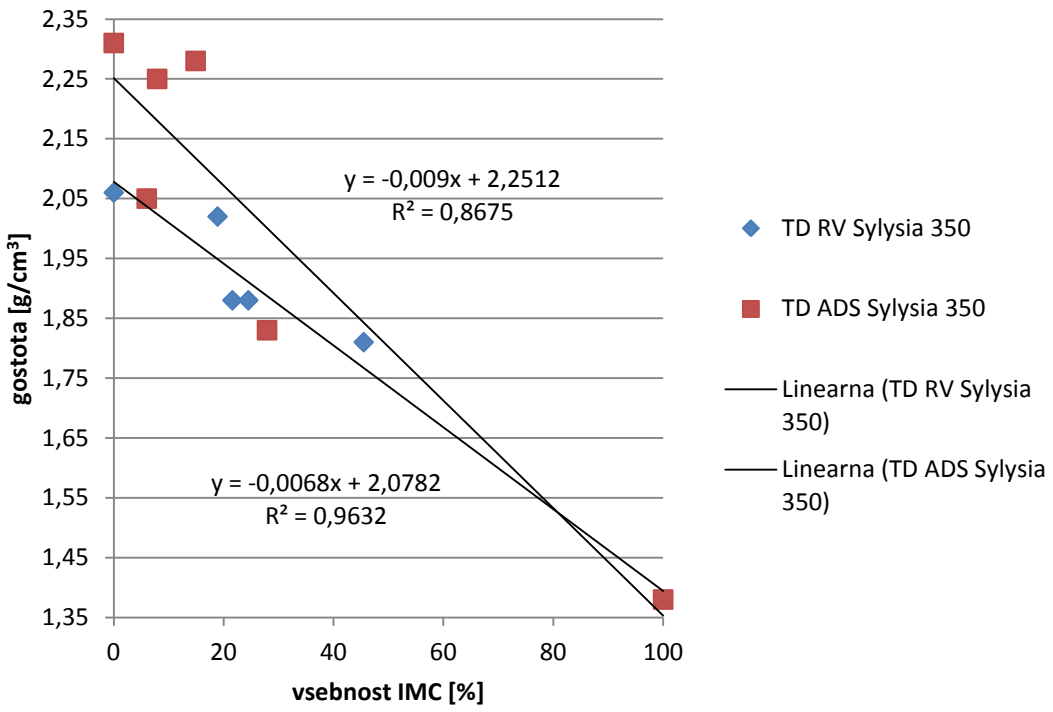
Slika 17: DSC termogram IMC in izbranih TD izdelanih s Syloidom 244FP EU

4.8 Merjenje gostote s helijevim piknometrom

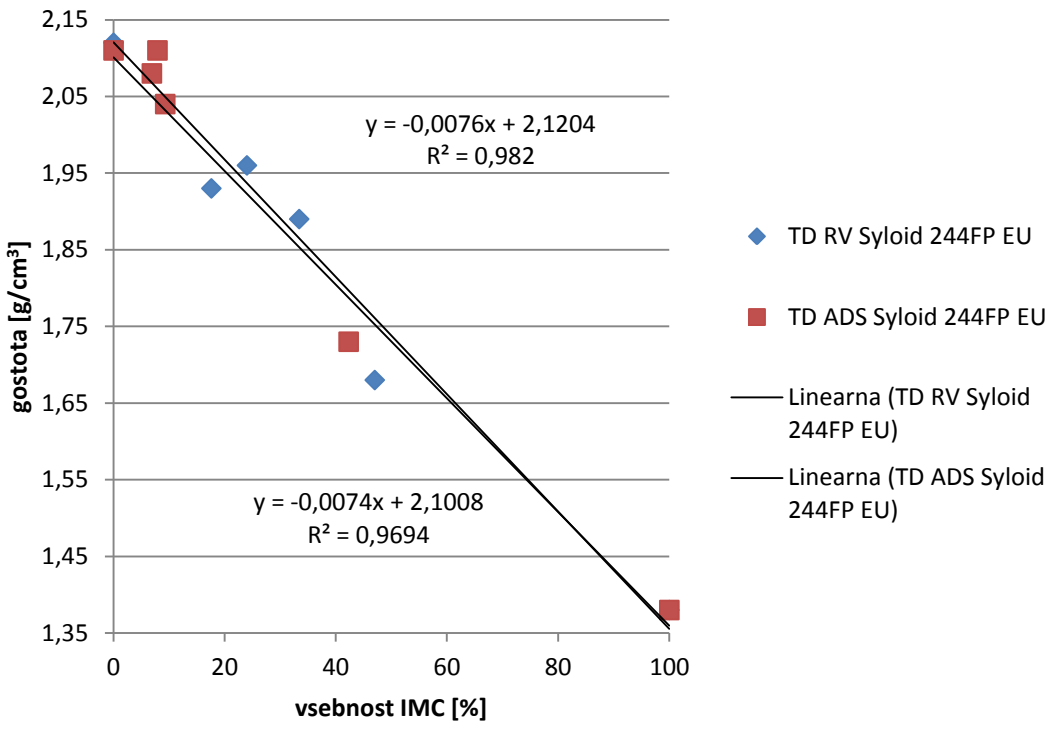
Analizirali smo TD različnih vsebnosti ZU izdelane z RV in ADS. S helijevim piknometrom določamo volumen vzorca po spremembi tlaka helija v celici z določenim volumnom (15). Helijevi atomi zaradi svoje majhnosti ($r=31{,}8 \times 10^{-12}$ m) prodirajo tudi v najmanjše pore. Težava nastane, ko želimo določiti pravo gostoto trdnih snovi, ki vsebujejo vodo (amorfna ZU, hidrati …). Ti prahovi desorbirajo vodo, ko jih izpostavimo suhi helijevi atmosferi. Pare vode spremenijo tlak v celici in vodijo do napačnih rezultatov (87). Zato smo vzorce po 30 minutnem sušenju v vakuumskem sušilniku prepihovali z argonom in s tem poskušali preprečiti ponovno vezavo vode v vzorec. Rezultati se niso bistveno razlikovali od izmerjenih gostot brez sušenja v vakuumskem sušilniku in prepihovanja z argonom. Iz tega sklepamo, da z argonom nismo uspeli preprečiti ponovne vezave vode.

Na podlagi rezultatov prejšnjih poglavij vemo, da lahko Sylysia in Syloid zaradi svoje hidrofilne narave in velike specifične površine vežeta precejšnjo količino vode. Delež celokupne vode je lahko do 7,2 %, šibko vezane pa do 4,8 %.

Sliki 18 in 19 prikazujeta odvisnost prave gostote od vsebnosti IMC v TD. Vse TD kažejo zelo dobro korelacijo med vsebnostjo IMC v TD in pravo gostoto. Večji kot je delež IMC, manjša je prava gostota TD. Iz tega sklepamo, da ima ZU v TD podobno gostoto kot v čisti kristalni obliki. Pri TD izdelanih s Sylysio z ekstrapolacijo premice gostote dobimo različni vrednosti za gostoto čistega nosilca. To je zanesljiv pokazatelj napake metode, ki smo jo opisali zgoraj.



Slika 18: Gostota TD izdelanih s Sylysio 350 v odvisnosti od vsebnosti IMC



Slika 19: Gostota TD izdelanih s Syloidom 244FP EU v odvisnosti od deleža IMC

5 SKLEP

V diplomski nalogi smo primerjali dva različna komercialno dostopna mezoporozna nosilca učinkovin v trdnih disperzijah. To sta dva tipa silicijevega dioksida Sylysia 350 in Syloid 244FP EU. Izdelali smo TD IMC z RV in ADS. Pri izdelavi TD z ADS smo se soočili s težavo doseganja želenih vsebnosti IMC v TD, ker je prišlo do izgub ZU v supernatant v fazi filtriranja pri znižanem tlaku. Izgubo zaradi raztapljanja smo poskušali zmanjšati z uporabo čim manjše količine topila. S podaljšanjem časa mešanja na magnetnem mešalu smo preverili ali se v 3 h vzpostavi ravnotežje med TD in raztopino. Ugotovili smo, da se ravnotežje med TD in raztopino vzpostavi v največ 3 h.

Topnost IMC smo določali v 0,05 M KH_2PO_4 pH 6,8. Ta pufer smo uporabili tudi kot medij za sproščanje. Izmerjena topnost je 712 mg/L. Iz tega sledi, da smo preskuse sproščanja v nadaljevanju izvajali v sink pogojih.

S TGA smo analizirali količino različnih tipov vezane vode v vzorcih in vsebnost IMC pri izbranih pogojih. V izbranem temperaturnem intervalu (od sobne temperature do 1100 °C) poteče popolna termična razgradnja in uparitev organske ZU, anorganski mp-SiO_2 pa zaradi svoje termične stabilnosti ostaja nedotaknjen in ohrani svojo maso. Za potrditev predpostavke smo analizirali IMC in oba nosilca. Ugotovili smo, da v temperaturnem intervalu od 200 do 430 °C poteče popolna termična razgradnja in uparitev IMC. Masa nosilcev ni konstantna. Masa Sylysie pade v treh korakih na račun šibko, močno in kemijsko vezane vode. Masa Syloida pa v dveh korak v približno enakih temperaturnih intervalih kot šibko in močno vezana voda v Sylysii. Iz tega sklepamo, da za razliko od Sylysie Syloid pri izbranih pogojih merjenja ne izgubi kemično vezane vode. Vsebnost IMC v TD smo določili kot padec mase vzorca od 200 do 1100 °C zmanjšane za delež močno in kemijsko vezane vode. Delež močno in kemijsko vezane vode smo izračunali relativno glede na delež ZU in odstotek močno in kemijsko vezane vode v slepi TD. Metodo določevanja vsebnosti s TGA bi verjetno lahko izboljšali z drugače programiranim segrevanjem vzorca. Izboljšan program bi deloval na sledeč način: najprej bi vzorce segrevali do temperature okoli 150 °C linearno nato pa še izotermično, to je določen čas pri konstantni temperaturi. Tako bi zagotovili popolno odparitev šibko vezane vode in rezidualnih topil pod temperaturo začetka razgradnje in uparitve IMC. Vsebnost IMC v TD

smo določali prav tako z metodo ekstrakcije s sledečo HPLC analizo. Rezultati obeh analiz se med seboj ujemajo.

IMC smo testirali glede na njegovo stabilnost na svetlobi v raztopini. Ugotovili smo, da je v izbranih pogojih sproščanja IMC ves čas merjenja stabilen.

Z izdelavo TD IMC s Sylysio in Syloidom smo izboljšali njegovo raztapljanje v fosfatnem pufru pH 6,8. V večini primerov se je že po petih minutah sproščanja sprostilo več kot 80% in po petnajstih minutah več kot 90% ZU. Povišana hitrost sproščanja IMC iz TD, je verjetno posledica adsorpcije ZU na mp-SiO_2 in posledično povečanja njene specifične površine. Svoj delež pa k temu pridoda tudi amorfna oblika IMC in dobro močenje disperzije. V nekaterih primerih se po dveh urah ni sprostila vsa ZU. Predvidevamo, da je to posledica adsorpcije ZU v t. i. bottle ink porah. Sproščanje IMC TD s Sylysio in Syloidom je pri vsebnosti 45 % ADS boljši način izdelave kot RV. ZU se hitreje sprosti. Pri 15 % sta metodi glede na hitrost sproščanja primerljivi. Sproščanje IMC je iz TD izdelanih z RV ob uporabi Syloida hitrejše kot pri Sylysii. Pri metodi ADS pa sta nosilca ekvivalentna.

Profil sproščanja smo razdelili na tri dele. V prvi minuti poteče pulzno sproščanje. To pomeni, da se velik del IMC sprosti že v prvi minuti in s tem največ pripomore k hitrejšemu sproščanju ZU iz TD v primerjavi s kristalno učinkovino. V prvi fazi se sprosti ZU, ki se nahaja v porah delcev nosilca v obliki tanke plasti. V drugi fazi, ki traja do 5. minute poteka sproščanje po kinetiki 1. reda. V tej fazi se sprosti IMC, ki je globlje v porah oziroma naložen v več slojih. Sproščanje je upočasnjeno zaradi interakcij med površino mezoporoznega nosilca in molekulami ZU. Po tridesetih minutah se sproščanje spremeni v Higuchijevo kinetiko. To je tretja faza v kateri se sprosti IMC, ki se nahaja v mikroporah in v t.i. ink bottle porah nosilca. Ta del sproščanja traja od 30. do najmanj 120. minute. Interakcije med molekulami ZU in površino nosilca so še močnejše, zato ker se zaradi neposredne bližine nasprotnih sten mikropor adsorpcijski potenciali prekrivajo. K upočasnitvi sproščanja doprinesejo tudi ozke pore, ki lahko ovirajo difuzijo molekul ZU in ink bottle pore, ki delujejo kot zadrževalnik IMC.

Na podlagi FTIR spektrov ne moremo z gotovostjo sklepati o nastanku vodikovih vezi med IMC in Sylysio, niti o nastanku vodikovih vezi med IMC in Syloidom.

Na DSC termogramih TD za razliko od čiste ZU ne opazimo vrha kristalnega IMC. Iz tega lahko sklepamo, da se IMC v TD nahaja v amorfni obliki.

S helijevim piknometrom smo izmerili zelo dobro korelacijo med vsebnostjo IMC v TD in pravo gostoto TD. Večji kot je delež IMC, manjša je prava gostota. Iz tega sklepamo, da ima ZU v TD podobno gostoto kot v čisti kristalni obliki. Pri merjenju smo naleteli na težavo, da prahovi desorbirajo vodo, ko jih izpostavimo suhi helijevi atmosferi. Pare vode pa spremenijo tlak v celici in na ta način vodijo do napačnih rezultatov. Zato smo vzorce po 30 minutnem sušenju v vakuumskem sušilniku prepihovali z argonom in s tem poskušali preprečiti ponovno vezavo vode v vzorec. Rezultati se niso bistveno razlikovali od izmerjenih gostot brez sušenja v vakuumskem sušilniku in prepihovanja z argonom. Iz tega sklepamo, da z argonom nismo uspeli preprečiti ponovne vezave vode.

6 LITERATURA

1. Liu R: Water-insoluble drug formulation, s.l., Boca Raton, 2008: Zv. 2nd ed.

2. Buckley S T, Fischer S M, Fricker G, et. al: In vitro models to evaluate the permeability of poorly soluble drug entities: Challenges and perspectives. Eur. J Pharm. Sci. 14.2.2012: 235-250.

3. Wang F., Hui H., Barnes T. J., et al.: Oxidized mesoporous silicon microparticles for improved oral delivery of poorly soluble drugs. Mol. Pharm. 2010: 227-236.

4. Planinšek O.: Sodobni pristopi k izdelavi trdnih dispertzij z izboljšano biološko uporabnostjo učinkovin. Farm. Vestn. 2009: 169-175.

5. Leuner C., Dressman J.: Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. Eur. J Pharm. Biopharm. 2000: 47-60.

6. Planinšek O.: Nekatere metode za povečanje topnosti in hitrosti raztapljanja v vodi težko topnih učinkovin-2. del. Farm. Vestn. 2002: 117-127.

7. Tiwari R., Tiwari G., Srivastava B., Rai A. K.: An overview to modify bioavailability of poorly water soluble drugs. Int. J Pharm. Tech. Res. 2009: 1338-1349.

8. Monhanachandran P. S., Sindhumol P. G., Kiran T. S.: Enhancement of solubility and dissolutin rate: An overview. Pharm. Globale (IJCP) 2010: 1-10.

9. Serajuddin Abu T. M.: Salt formation to improve drug solubility. Adv. Drug Delivery Rev. 2007: 603-616.

10. Bansal S., Bansal M., Kumria M.: Nanocrystals: Current strategies and trends. Int J Res. Pharm. Biomed. Sci. 2012: 406-419.

11. Planinšek O.: Nekatere metode za povečanje topnosti in hitrosti raztapljanja v vodi težko topnih učinkovin – 1. del. Farm. Vestn. 2001: 221-230.

12. Solubilization of drugs by using cyclodextrins. [Elektronski] http://www.authorstream.com/Presentation/i.venkey-1187820-solubilization-of-drugs-by-using-cyclodextrins01/.

13. Rozman B., Bogataj M.: Pregled mikroemulzijskih sistemov za peroralno uporabo. Farm. Vestn. 2006: 195-198.

14. Kovačič B., Planinšek O., Vrečer F.: Kokristali zdravilnih učinkovin. Farm. Vestn. 2010: 30-36.

15. Planinšek O., Srčič S.: Navodila za vaje pri predmetu fizikalna farmacija. Ljubljana : s.n., 2006.

16. Dhirendra K., Lewis S., Udupa N., Atin K.: Solid dispersions: A Review. Pak. J Pharm. Sci. 2009: 234-246.

17. Sharma A., Jain C. P.: Solid dispersion: A promising technique to enhance solubility of poorly water soluble drug. Int. J Drug Delivery 2011: 149-170.

18. Bansal S. S., Kaushal A. M., Bansal A. K.: Molecular and thermodynamic aspects of solubility advantage from solid dispersions. Mol. Pharmaceutics 2007: 794-802.

19. Langham Z. A., Booth J., Hughes L. P., Reynolds G. K., Wren S. A. C.: Mechanistic insights into the dissolution of spray-dried amorphous solid dispersions. J Pharm. Sci. 2012: 2798-2810.

20. Craig D. Q. M: The mechanisms of drug release from solid dispersions in water-soluble polymers. Int. J Pharm. 2002: 131-144.

21. Karavas E., Georgarakis E., Sigalas M. P., Avgoustakis K., Bikiaris D.: Investigation of the release mechanism of a sparingly water-soluble drug from solid dispersions in hydrophilic carriers based on physical state of drug, particle size distribution and drug-polymer interactions. Eur. J Pharm. Biopharm. 2007: 334-347.

22. Vallet-Regi M., Balas F., Arcos D.: Mesoporous materials for drug delivery. Angew. Chem. Int. 2007: 7548-7558.

23. Bansal S. S., Kaushal A. M., Bansal A. K.: Molecular and thermodynamic aspects of solubility advantage from solid dispersions. Mol. Pharm. 2007: 794-802.

24. Alonzo D. E., Gao YS. I., Zhou D., Mo H., Zhang G. G. Z., Taylor L. S.: Dissolution and precipitation behavior of amorphous solid dispersions. J Pharm. Sci. 2011

25. Drooge D. J. V.,. Hinrichs W. L. J., H. W. Frijlink: Anomalous dissolution behaviour of tablets prepared from sugar glass-based solid dispersions. J. Controlled Release 2004: 441-452.

26. Sharma A., Jain C. P.: Solid dispersion: A promising technique to enhance solubility of poorly water soluble drug. Int. J Drug Delivery 2011: 149-170.

27. Leuner C., Dressman J.: Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. Eur. J Pharm. Biopharm. 2000: 47-60.

28. Kovačič B.: Izboljšanje farmacevtsko-tehnoloških lastnosti karvedilola z izdelavo trdnih disperzij in kokristalov. Ljubljana: s.n., 2011.

29. Yeo S. D., Kiran E.: Formation of polymer particles with supercritical fluids: A review. J Supercrit. Fluids 2005: 287-308.

30. Collett J. H., Flood B. L., Sale F. R.: Some factors influencing dissolution from salicylic acid-urea solid dispersions. J Pharm. Pharmacol. 1976: 305-308.

31. Urbanetz N. A., Lippold B. C.: Solid dispersions of nimodipine and polyethylene glycol 2000: dissolution properties and physico-chemical characterisation. Eur. J Pharm. Biopharm. 2005: 107-118.

32. Homar M., Gašperlin M., Kreč. J.: Tehnologije s talinami, Farm. Vestn. 2003: 697-703.

33. Paudel A., Worku Z. A., Meeus J., Guns G., Mooter V. den:. Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations. 2013: 253-284.

34. S. Shah, S. Maddineni, L. Jiannan, A. Michael Repka. Melt extrusion with poorly soluble drugs. Int. J Pharm. : s.n., 2013: 233-252.

35. Planinšek, O. Koloidni silicijev dioksid kot nosilec učinkovine Farm. Vestn. 2006: 155-161.

36. Kawakami K.: Modification of physicochemical characteristics of active pharmaceutical ingredients and application of supersaturable dosage forms for improving bioavailability of poorly absorbed drugs., Ad. Drug Delivery 2012.

37. Janssens S., Van den Mooter G.: Review: physical chemistry of solid dispersions. J Pharm. Pharmacol. 2009: 1571-1586.

38. Giri T. K.: A novel and alternative approach to controlled release drug delivery system based on solid dispersion technique. Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University 2012: 147-159.

39. Planinšek O., Kovačič B., Vrečer F.: Carvedilol dissolution improvement by preparation of solid dispersions with porous silica. Int. J Pharm. 2011: 41-48.

40. Mali G., Planinšek O., Ukmar T.: Sistemi s prirejenim sproščanjem na osnovi mezoporoznih ogrodij. Farm. Vestn. 2009: 313-318.

41. Barbe C., Barlett J., Kong L., Finnie K., Lin HQ, Larkin M., Calleja S., Bush A.: Silicia particles: a novel drug-delivery system. Adv. Mater 2004: 1959-1966.

42. Kumar C.: Nanomaterials for medical diagnosis and therapy. Willey-VCH, Weinheim. 2007: 288-297.

43. Mavera U., Belea M., Jamnika J., Gaberščeka M., PlaninšekO.: A fast and simple method for preparation of calcium carbonate–drug composites for fast drug release. Mater. Res. Bull. 2013: 137-145.

44. Zhuravlev L. T.: The surface chemistry of amorphous silica. Zhuravlevmodel. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 2000: 1-38.

45. Song S. W., Hidajat K., Kawi S.: Functionalized SBA-15 materials as carriers for controlled drug delivery: influence of surface properties on matrix-drug interactions. Langmuir 2005: 9568-9575.

46. Xu W., Riikonen J., Lehto V. P.: Mesoporous system for poorly soluble drugs. Int. J Pharm. 2012: 181-197.

47. Limnell T., Santos H. A., Mäkilä E., Heikkilä T., Salonen J., Murzin D. Y., Kumar N., Laaksonen T., Peltonen L., Hirvonen J.: Drug delivery formulations of ordered and nonordered mesoporous silica: comparison of three drug loading methods. J Pharm. Sci. 2011: 3294-3306.

48. Heikkilä T., Salonen J., Tuura J., Hamdy M. S., Mul G., Kumar N., Salmi T., Murzin D. Y., Laitinen L., Kaukonen A. M., Hirvonen J., Lehto V. P.: Mesoporous silica material TUD-1 as a drug delivery system. Int. J Pharm. 2007: 133-138.

49. Ohta K. M., Fuji M., Takei T., Chikazawa M.: Development of a simple method for the preparation of a silica gel based controlled delivery system with a high drug content. Eur. J Pharm. Sci. 2005: 87-96.

50. Watanabe T., Wakiyama N., Usui F., Ikeda M., Isobe T., Senna M.: Stability of amorphous indomethacin compounded with silica. Int. J Pharm. 2001: 81-91.

51. Hata H., Saeki S., Kimura T., Sugahara Y. Kuroda K.: Adsorption of taxol into ordered mesoporous silicas with various pore diameters. Chem. Mater. 1999: 1110-1119.

52. Charnay C., Begu S., Tourne-Peteilh C., Nicole L., Lerner D. A., Devoisselle J. M.: Inclusion of ibuprofen in mesoporous templated silica: drug loading and release property. Eur. J Pharm. Biopharm. 2004: 533-540.

53. Vialpando M., Martens J. A., Van den Mooter G.: Potential of ordered mesoporous silica for oral delivery of poorly soluble drugs. the Deliv. 2011: 1079-1091.

54. Limnell T.: Mesoporous silica and silicon-based materials as carriers for poorly water soluble drugs. [Doktorska disertacija]. Faculty of Pharmacy of the University of Helsinki : s.n., 2011.

55. Kinnari P., Makila E., Heikkila T., et al.: Comparison of mesoporous silicon and non-ordered mesoporous silica materials as drug carriers for itraconazole. Int. J Pharm. 2011: 148-156.

56. Smirnova I., Suttiruengwong S., Arlt W.: Feasibility study of hydrophilic and hydrophobic silica aerogels as drug delivery systems. J Non-Crysts. Solids 2004: 54-60.

57. Costa P., Lobo J. M. S.: Modeling and comparison of dissolution profiles. Eur. J Pharm. Sci. 2001: 123-133.

58. Heikkilä T., Salonen J., Tuura J., Kumar N., Salmi T., Murzin D. Y., Hamdy M. S., Mul G., Laitinen L., Kaukonen A. M.. Hirvonen J., Lehto V. P.: Evaluation of mesoporous TCPSI, MCM-41, SBA-15 and TUD-1 materials as API carriers for oral drug delivery. Drug Delivery, 2007: 337-347.

59. Qian K. K., Bognera R. H.: Application of mesoporous silicon dioxide and silicate in oral amorphous drug delivery systems. J Pharm. Sci. 2012: 444-463.

60. Jesionowski T. Pokora M., Sobaszkiewicz K., Pernak J.: Preparation and characterization of functionalized precipitated silica Syloid 244 using ionic liquids as modifiers. Surf. Interface Anal., 2004: 1491-1496.

61. Babonneau F., Yeung L., Steunou N., Gervais C., Ramila A., Vallet-Regi M.. Solid state NMR characterisation of encapsulated molecules in mesoporous silica. J Sol-Gel Sci. Technol. 2004: 219-223.

62. Popovici R. F., Seftel E. M., Mihai G. D., Popovici E., Voicu V. A.: Controlled drug delivery system based on ordered mesoporous silica matrices of captopril as angiotensin-converting enzyme inhibitor drug. J Pharm. Sci. 2011: 704-714.

63. Rosenholm J. M., Lindén M.. Towards establishing structure-activity relationships for mesoporous silica in drug delivery applications. J Controlled Release 2008: 157-164.

64. Khanfar M., Farres M. M, Salem M. S., Qandil A. M.: Mesoporous silica based macromolecules for dissolution enhacement of irbesartan drug using pre-adjusted pH method Microporous Mesoporous Mater 2003: 22-28.

65. Van Speybroeck M., V. Barillaro, T. D. Thi, R. Mellaerts, J. Martens, J. V. Humbeeck, J. Vermant, P. Annaert, G. V. D.Mooter, P. Augustijns. Ordered mesoporous silica material SBA-15: a broad-spectrum formulation platform for poorly soluble drugs. J Pharm. Sci. 2009: 2648-2658.

66. Lehto V. P., Vähä-Heikkilä K., Paski J., Salonen J.: Use of thermoanalytical methods in quantification of drug load in mesoporous silicon microparticles. J Therm. Anal. Calorim. 2005 DSC: 393-397.

67. Vaibhav P. I., Reutsh D. H.: Evaluation of colloid solid dispersions: Physoichemical considerations and in vitro release profile., AAPS Pharm. Sci. Tech. 2013: 620-628.

68. Takeuchi H., Nagira S., Tanimura S., et al.: Tabletting of solid dispersion particles consisting of indomethacin and porous silica particles, Chemical&pharmaceutical bulletin 2005: 487-491.

69. Kovačič B., Vrečer F., Planinšek O.: Solid dispersions of carvedilol with porous silica. Chem. Pharm. Bull. 2011: 427-433.

70. Tozuka Y., Wongmekiat A., Kimura K., et al.: Effect of pore size of FSM-16 on the entrapment of flurbiprofen in mesoporous structures., Chemical&pharmaceutical bulletin 2005: 974-977.

71. Van Speybroeck M., Mellaerts R., Thao D. T. et al.: Preventing release in the acidic environment of the stomach via occlusion in ordered mesoporous silica enhances the absorption of poorly soluble weakly acidic drugs. J Pharm. Sci. 2011: 4864-4876.

72. Sruti J., Patra C. N., Swain S., Dinda S. C., Bhanoji Rao. M. E.: Cefuroxime Axetil dissolution improvement by preparation of solid dispersions with porous carrier. J. Advanced Pharm. Research 2012: 42-48.

73. Mehanna M. M., Nanda S., Madan A. K.: Tadalafil inclusion in microporous silica as effective dissolution enhancer: optimization of loading procedure and molecular state characterization. J Pharm. Sci. 2011: 180-1818.

74. www.cbz.si. Centralna baza zdravil. [Elektronski] 14. marec 2013. [Navedeno: 10. januar 2014.] http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/8582CB7A39A79525C12579C2003F5314/$File/s-012415.pdf.

75. Rang H. P., Dale M. M., Ritter J. M., Flower R. J.:. Rang and Dale's Pharmacology. 6th. 2007: 226-237.

76. EDQM, European directorate for the Quality of Medicines & Health Care. European Pharmacopoeia - 7th edititon. 2010: 226-237.

77. Zakrajšek M.: Načrtovanje, izdelava in vrednotenje dostavnih sistemov z dvofaznim sproščanjem težko topne modelne učinkovine. [Diplomska naloga]. Fakulteta za farmacijo, Ljubljana : s.n., 2011.

78. Sylysia FCP, Product information. [Elektronski] [Navedeno: 10. 03 2014.] http://www.tcrindustries.com/Principals/BROCHURES/fujibrochures/FCP%20Brochure.pdf.

79. SYLOID® FP Pharmaceutical Excipient Tehnical Note. [Elektronski] [Navedeno: 21. 03 2014.] http://www.discoverysciences.com/uploadedFiles/Preparative_and_Process/M309_Syloid_Tech_Note_USver_LR.pdf.

80. Zvonar A., Rozman B., Bešter Rogač M., Gašperlin M.: The influence of microstructure on celecoxib release from a pharmaceutically applicable system: Mygliol 812®/Labrasol®/Plurol Oleique®/Water mixtures. Acta Chim. Slov. 2009: 131-138.

81. TGA/DSCA STARe System, Mettler Toledo, Product Brochure. [Elektronski] [Navedeno: 14. 03 2014.] http://us.mt.com/dam/mt_ext_files/Editorial/Generic/4/TGA_DSC_1_Product_Brochure_Editorial-Generic_1186143058785_files/51724559_tga_dsc1brosche.pdf.

82. Burneau A., Lepage J., Maurice G.: Porous silica – water interactions. I. Structural and dimensional changes induced by water adsorption. J Non-Cryst. Solids 1997: 1-10.

83. Schematic silica gel surface. [Elektronski] 21. 03 2014. http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Schematic_silica_gel_surface.png.

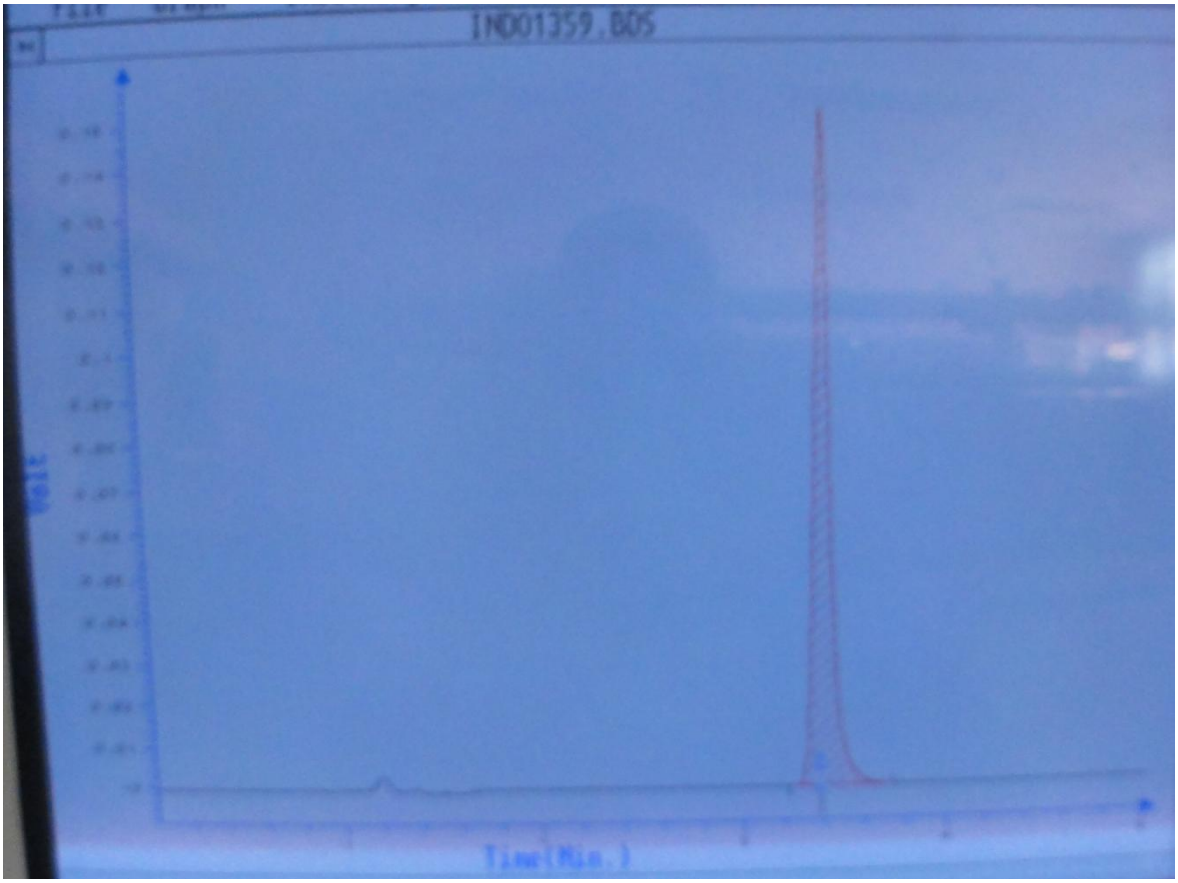
84. Chunyan F., Do D. D., Nicholson D.: On the Cavitation and Pore Blocking in Slit-Shaped Ink-Bottle Pores. Langmuir 2011: 3511-3526.

85. Adamič Š.: Temelji biostatistike. Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, Ljubljna 1995: 117-120.

86. Spectral Database for Organic Compounds SDBS. [Elektronski] [Navedeno: 2014. 04 07.] http://sdbs.db.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi.

87. Sun C. C.: A novel method for deriving true density of pharmaceutical solids including hydrates and water-containing powders. J Pharm. Sci.

7 PRILOGA



Slika 20: Kromatogram dnevnega standarda IMC

IND01359.BDS PEAK REPORT

#	RT	Height	Width	Type	Area	%Area	Plate N
1	3.38	0.1520	0.077	BB	80545	100.0	10750

Slika 21: Poročilo analize kromatograma dnevnega standarda IMC