

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

MIHA REPOVŽ

MAGISTRSKA NALOGA

UNIVERZITETNI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2014

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

MIHA REPOVŽ

**VPLIV NAČINA TEMPERIRANJA NA FIZIKALNO-KEMIJSKE IN
BIOFARMACEVTSKE LASTNOSTI FILMSKO OBLOŽENIH
PELET Z ETILCELULOZO**

**THE STUDY OF INFLUENCE OF CURING ON PHYSIO-
CHEMICAL AND BIOPHARMACEUTICAL PROPERTIES OF
ETHYLCELLULOSE FILM COATED PELLETS**

UNIVERZITETNI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2014

Magistrsko nalogo sem opravljal v razvojnem centru farmacevtske družbe Lek, d. d., na področju tehnologije trdnih farmacevtskih izdelkov, pod mentorstvom prof. dr. Staneta Srčiča, mag. farm., in somentorstvom dr. Matejke Burjak, mag. farm. Temperiranje v procesni komori za oblaganje sem izvajal na Fakulteti za farmacijo pod strokovnim nadzorom doc. dr. Roka Dreva, mag. farm. Meritve z nanoindenterjem je izvedla doc. dr. Biljana Janković, mag. farm. na naravoslovnotehniški fakulteti. Meritve MFFT sem izvajal v podjetju Helios, d. d.

Zahvala

Zahvaljujem se mentorju prof. dr. Stanetu Srčiču, mag. farm., in somentorici dr. Matejki Burjak, mag. farm., za strokovno pomoč pri izdelavi magistrske naloge.

Prav tako se zahvaljujem doc. dr. Roku Drevu, mag. farm., za strokovno pomoč in podporo pri izvedbi procesa, doc. dr. Biljani Janković, mag. farm., za strokovno pomoč in izvedbo meritev nanoindentacije ter dr. Katji Kristan, mag. farm., za strokovno pomoč pri visokozmogljivem testu sproščanja.

Zahvaljujem se g. Janezu Keclju iz podjetja Helios, d. d. za pomoč pri merjenju MFFT.

Za nasvete in pomoč se zahvaljujem vsem ostalim sodelavcem na oddelku za farmacevtsko tehnologijo.

Zahvaljujem se družini in prijateljem za njihovo podporo tekom celotnega študija.

Izjava

Izjavljam, da sem magistrsko delo izdelal samostojno pod mentorstvom prof. dr. Staneta Srčiča, mag. farm., in somentorstvom dr. Matejke Burjak, mag. farm.

Miha Repovž

Ljubljana, 2014

VSEBINA

POVZETEK.....	VI
ABSTRACT	VIII
SEZNAM OKRAJŠAV	X
1 UVOD	1
1.1 PELETE.....	1
1.2 IZDELAVA PELET	1
1.3 OBLAGANJE	2
1.3.1 Filmsko oblaganje	2
1.3.2 Tipi filmske obloge	2
1.3.3 Tehnologija zvrtničenih plasti.....	2
1.3.4 Polimeri za filmsko oblaganje.....	4
1.3.4.1 Etilceluloza – polimer za filmsko oblaganje s podaljšanim sproščanjem....	4
1.3.4.2 Surelease [®] , etilcelulozna koloidna disperzija	5
1.3.4.3 Surelease [®] E-7-19010 in Surelease [®] E-7-19040	6
1.3.4.4 Zmesi v vodi topnih in netopnih polimerov.....	6
1.4 MEHANIZEM TVORBE FILMA	8
1.5 KRITIČNI PARAMETRI PRI TVORBI FILMA	12
1.6 TEMPERIRANJE.....	13
1.7 VREDNOTENJE FILMSKE OBLOGE	14
2 NAMEN DELA.....	16
3 MATERIALI IN OPREMA	18
3.1 MATERIALI	18
3.2 OPREMA.....	18
4 METODE	20
4.1 MINIMALNA TEMPERATURA TVORBE FILMA (MFFT).....	20
4.2 DIFERENČNA DINAMIČNA KALORIMETRIJA (DSC)	20
4.3 STATIČNO TEMPERIRANJE	21
4.4 DINAMIČNO TEMPERIRANJE	22
4.4.1 Izguba pri sušenju	23

4.5	TEST SPROŠČANJA	23
4.6	MERJENJE NANOMEHANSKIH LASTNOSTI OBLOŽENIH PELET	25
4.7	VRSTIČNI ELEKTRONSKI MIKROSKOP (SEM).....	28
4.8	MODDE 9.1	28
5	REZULTATI	30
5.1	MINIMALNA TEMPERATURA TVORBE FILMA (MFFT).....	30
5.2	DIFERENČNA DINAMIČNA KALORIMETRIJA (DSC)	30
5.3	STATIČNO TEMPERIRANJE	33
5.3.1	<i>Vpliv Surelease[®] na temperiranje</i>	<i>33</i>
5.3.2	<i>Vpliv RV, temperature in časa na temperiranje.....</i>	<i>35</i>
5.4	DINAMIČNO TEMPERIRANJE	41
5.4.1	<i>Vpliv RV, temperature in časa na temperiranje.....</i>	<i>43</i>
5.5	NANOMEHANSKE LASTNOSTI OBLOŽENIH PELET	48
5.6	VRSTIČNI ELEKTRONSKI MIKROSKOP (SEM).....	50
6	RAZPRAVA	53
7	ZAKLJUČKI	58
8	LITERATURA	59

POVZETEK

Vodne disperzije polimerov za filmsko oblaganje imajo številne prednosti kot so manjša viskoznost, višja vsebnost suhih snovi in omogočajo višje hitrosti razprševanja. V primerjavi z organskimi raztopinami vodna disperzija ne onesnažuje okolja, ni toksična in ne eksplozivna. Ena od komercialno dostopnih etilceluloznih disperzij je Surelease®.

Mehanizem tvorbe filma iz vodnih polimernih disperzij je bolj kompleksen od mehanizma tvorbe filma iz polimernih organskih raztopin. Temperiranje je postopek, ki ima večji vpliv na filme iz vodnih polimernih disperzij. Sledi filmskemu oblaganju z vodnimi koloidnimi polimernimi disperzijami. Omogoča doseg popolne koalescence delcev polimera in zagotovitev stabilnega profila sproščanja. Temperatura, relativna vlažnost in čas so parametri, ki imajo pri temperiranju pomemben vpliv. Temperiranje se lahko izvede pod statičnimi pogoji na pladnjih v komori ali v dinamičnih pogojih v sistemih z vrtinčenjem zraka (ang. Fluid Bed).

Namen magistrske naloge je proučiti vpliv načina temperiranja ter procesnih parametrov na profile sproščanja učinkovine iz filmsko obloženih pelet. Temperiranje smo hkrati izvedli na dveh vzorcih pelet, obloženih z različnima modifikacijama Surelease®, ki se razlikujeta v viru, iz katerega je pridobljena oleinska kislina. Vzorce pelet smo temperirali v klimatski komori z nadzorovanimi pogoji (T, RV). Proces temperiranja smo ponovili v procesni komori za oblaganje (FBD).

Biofarmacevtske lastnosti filmske obloge smo vzorcem ocenili s preskusom sproščanja za trdne farmacevtske oblike ter primerjali izmerjene profile sproščanja učinkovine iz vzorcev pelet, temperiranih pri različnih pogojih. Fizikalno-kemijske lastnosti filmske obloge smo ovrednotili z merjenjem temperature steklastega prehoda, minimalne temperature za tvorbo filma, vtisne trdnosti in Youngovega modula.

S testom sproščanja smo ugotovili, da imata pri procesu statičnega in dinamičnega temperiranja najpomembnejši vpliv na upočasnitev profila sproščanja vlažnost in temperatura, čas pa ima manjši pomen. Modifikacija Surelease® ne vpliva na profil sproščanja učinkovine iz pelet po temperiranju. Ocenili smo, da je statično temperiranje učinkovito pri pogojih $RV > 65 \%$, $T > 45^{\circ}\text{C}$ po vsaj 2 urah temperiranja ter dinamično temperiranje z razprševanjem prečiščene vode pri $RV = 30 \%$, $T = 50^{\circ}\text{C}$ po 0,5 ure

temperiranja. Z znižanjem RV na 15% ali T na 40°C je bilo dinamično temperiranje neučinkovito.

Strukturne spremembe polimerne obloge zaradi temperiranja smo dopolnili in podprli tudi z merjenjem mehanskih lastnosti filmskih oblog pelet in potrdili ekvivalentnost med obema modifikacijama Surelease[®].

S topografskimi in strukturnimi lastnostmi (posnetki SEM) ter mehanskimi lastnostmi (vtisna trdnost, Youngov modul) filmske obloge pelet, temperiranih v procesni komori za oblaganje (dinamični pogoji), smo ugotovili, da so bile pri izbranih pogojih razprševanja vode (18, 19 in 25 g/min pri 1,8 bara) pelete po temperiranju poškodovane, stopnja aglomeracije pa visoka. Nanomehanske lastnosti filmske obloge teh pelet so pokazale, da je ta krhka in nekompaktna (prisotnost mehurčkov v filmu).

ABSTRACT

Aqueous pseudolatex colloidal polymer dispersions have several advantages, such as lower viscosity and higher solids content, and enable higher spray rates. Compared to organic solvents, aqueous dispersions are not harmful to the environment and are not toxic or explosive. Surelease® is one of the commercially available ethylcellulose dispersions.

The mechanism of pseudolatex film formation is more complex than that of polymer deposition from a solvent. Curing is a subsequent treatment after the coating process with colloidal polymer dispersions to achieve complete coalescence of the polymer spheres and provide a stable release profile. The crucial curing process parameters are temperature, relative humidity and time. Curing can be performed either under static conditions on trays in a chamber or under dynamic conditions in fluidized bed systems.

Our aim is to study the influence of process parameters on static and dynamic curing of pellets coated with two different modifications of Surelease®. The two modifications differ in the source from which oleic acid is derived. The curing process was first performed in a chamber with a controlled temperature and relative humidity. After that, the process was repeated in a FBD chamber.

Biopharmaceutical properties of film coating of pellet samples were evaluated by dissolution testing for solid dosage forms. We compared the measured dissolution profiles from samples of pellets which were cured at different conditions. Physicochemical properties of film coatings were evaluated by measuring the glass transition temperature, minimal film forming temperature, indentation hardness and Young's modulus.

Dissolution testing suggested that relative humidity and temperature have the greatest impact on the static and dynamic curing process. The impact of time is not so important.

We did not find any differences between the tested modifications of Surelease® regarding the dissolution profile of cured pellets.

We complemented and confirmed structural changes in polymer coating caused by curing also through measuring mechanical properties of film coatings of pellets. By measuring mechanical properties we also confirmed the equivalence between both modifications of Surelease®.

With SEM and mechanical properties of film coating of pellets cured in a coating chamber (dynamic conditions) we established that the conditions we used (50 °C, 30 % RH) were not suitable. After curing in the coating chamber pellets were damaged and the degree of agglomeration was high. In addition, mechanical properties showed fragility and incompactness of the film coating (presence of bubbles in the film).

SEZNAM OKRAJŠAV

FBD – vrtnčnoslojni sušilnik (fluid bed dryer)

FO – farmacevtska oblika

IUPAC – the International Union of Pure and Applied Chemistry

T_g – temperatura steklastega prehoda

GIT – gastrointestinalni trakt

EC – etilceluloza

HPMC – hidroksipropilmetil celuloza

MFFT – minimalna temperatura tvorbe filma

PVA – polivinil alkohol

PEG – polietilen glikol

SEM – vrstični elektronski mikroskop

BCS – biofarmacevtska klasifikacija zdravil

DSC – diferenčna dinamična kalorimetrija

RV – relativna vlažnost

RH – relativna vlažnost (ang. relative humidity)

TPP – testne plošče za tkivne kulture

UV – ultravijolično valovanje

DSI – naprava za zaznavanje globine vtisa

MLR – multipla linearna regresija

PLS – metoda delnih najmanjših kvadratov

1 UVOD

1.1 Pelete

Pelete so definirane kot majhni, sferični delci z dobrimi pretočnimi lastnostmi, proizvedene z aglomeracijo prahov ali granulata učinkovine in pomožnih snovi. Prednosti pelet pred enoenotnimi farmacevtskimi oblikami so se najbolj izkazale po pojavu farmacevtskih oblik, ki omogočajo kontrolirano sproščanje. Večenočne farmacevtske oblike omogočajo razdelitev v želeni odmerek brez procesnih sprememb, omogočajo združitev inkompatibilnih učinkovin in združitev pelet z različnim profilom sproščanja. Pri peroralni aplikaciji pelete prosto dispergirajo v gastrointestinalnem traktu, kar izboljša absorpcijo učinkovine, zmanjša lokalno draženje mukoze ter zmanjša variabilnost absorpcije učinkovine med bolniki in znotraj posameznega bolnika (1).

1.2 Izdelava pelet

Prednosti večenočnih FO so pripeljale do občutnega porasta proizvodnje le-teh in posledično do izboljšanja obstoječih tehnik izdelave pelet ter razvoja novih. Prvotno se je za izdelavo pelet z oblaganjem s prahovi (*powder layering*) uporabljal boben, namenjen oblaganju s sladkorjem. Pri tem postopku na peletna jedra istočasno razpršujemo raztopino veziva in fino mlet prah. Slabost bobnov za oblaganje je slabo mešanje in sušenje. Te omejitve je premagala uporaba rotorske komore (*tangential spray processing*), ki deluje po principu tehnologije v zvrtnjenih plasteh. Rotorska komora se uporablja tudi pri izdelavi pelet z oblaganjem raztopine ali suspenzije (*solution/suspension layering*). Boljša izbira naprave pri tem postopku je Wursterjeva komora zaradi učinkovitejšega sušenja (1).

Kasneje je bila razvita metoda iztiskanja in krogliččenja (*extrusion and spheronization*), ki se najpogosteje uporablja v industrijskem merilu. Omogoča izdelavo pelet z visokim deležem učinkovine in izdelavo ogrodnih pelet. Glavni procesni koraki so suho mešanje sestavin za dosego homogene zmesi, mokro gnetenje, da dobimo mokro plastično maso, iztiskanje za oblikovanje paličastih delcev enakomerne debeline, krogliččenje, da se zaokrožijo paličasti delci, sušenje, da dosežemo končno vsebnost vlage, in sejanje, da dosežemo ozko distribucijo velikosti delcev (1, 2).

Poleg opisanih postopkov obstajajo tudi postopki, ki se uporabljajo v manjši meri ali pa so še v fazi razvoja. To so sferična aglomeracija s krogličanjem, sušenje z razprševanjem, kriopeletizacija in peletiziranje s talinami (1).

1.3 Oblaganje

Oblaganje je proces, s katerim zunanji sloj materiala za oblogo naneseemo na površino farmacevtske oblike. Ločimo tri načine oblaganja: filmsko oblaganje, dražiranje in oblaganje s stiskanjem (2).

Farmacevtske oblike se obloga z namenom zaščite substance pred vplivom okolja, maskiranja okusa, olajšanja požiranja večjih FO, izboljšanja izgleda, hitrejše identifikacije, boljše sprejemljivosti s strani pacientov, enostavnejšega avtomatskega pakiranja zaradi boljšega pretoka ter za doseganje prirejenega sproščanja (2).

1.3.1 Filmsko oblaganje

Filmsko oblaganje pomeni odlaganje tanke plasti formulacije polimera na površino delca običajno z metodo razprševanja. Je najsodobnejša in najpogostejše uporabljena metoda za oblaganje trdnih peroralnih farmacevtskih oblik (2).

1.3.2 Tipi filmske obloge

Glede na vpliv filmske obloge na sproščanje učinkovine ločimo filmske obloge, ki omogočajo izdelavo farmacevtskih oblik s takojšnjim sproščanjem, ki nimajo vpliva na biofarmacevtske lastnosti oblik, imajo pa veliko drugih lastnosti in funkcij, in na filmske obloge, ki omogočajo izdelavo oblik s prirejenim sproščanjem, pri čemer ločimo med zakasnelim in podaljšanim sproščanjem (2).

Filmske obloge, ki omogočajo takojšnje sproščanje učinkovine iz farmacevtske oblike so dobro topne v vodi, neodvisno od pH, medtem ko so filmske obloge, ki omogočajo zadržano sproščanje topne v vodnem mediju s pH vrednostjo, višjo od 5-6. Obloge, ki omogočajo izdelavo FO s podaljšanim sproščanjem so netopne v vodi (2).

1.3.3 Tehnologija zvrtničenih plasti

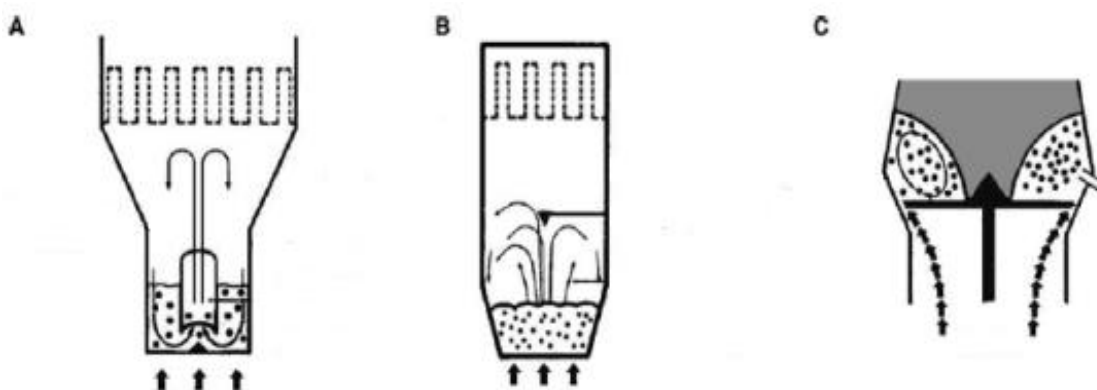
Tehnologija zvrtničenih plasti se uporablja za sušenje, aglomeracijo, oblaganje in direktno izdelavo pelet. S tehnologijo zvrtničenih plasti, ki uporablja nosilni plin, da obdrži delce v

gibanju, se oblagajo manjši delci, kot so praški, granule in pelete. Velik pretok zraka omogoča tehniki zvrtničenih plasti učinkovito odstranjevanje topila in s tem sušenje (3).

Najpogostejše uporabljena metoda zvrtničenih plasti za oblaganje je tehnika z razprševanjem od spodaj (Slika 1A). Komora stožčaste oblike ima na dnu perforirano ploščo, skozi katero pretok zraka potiska delce skozi vertikalno postavljen valj Wursterjeve komore do ekspanzijskega prostora, kjer začnejo delci zaradi prevladujoče gravitacijske sile ob steni komore padati proti dnu. Šoba je nameščena centralno na dnu komore, z njo razpršujemo v smeri toka delcev. Pot razpršenih kapljic do delcev je zelo kratka. Razprševanje od spodaj omogoča vzpostavitev idealnih razmer za popolno koalescenco filma. Ker pri oblaganju nastane obloga enakomerne debeline, ta komora omogoča oblaganje z disperzijami polimerov za prirejeno sproščanje (3).

Komora (Slika 1B), pri kateri s šobo razpršujemo od zgoraj, je stožčaste oblike. Širši del predstavlja ekspanzijski prostor. Delci potujejo s tokom zraka proti šobi, s katero razpršujemo tekočino. Ker ima pri oblaganju produkt neenakomerno debelino obloge, je komora primerna za oblaganje z namenom maskiranja okusa in vonja, kjer sproščanje učinkovine ni odvisno od debeline obloge. Komora je primernejša za granuliranje (3).

Rotorska komora (Slika 1C) je sestavljena iz spodnje komore z rotirajočo ploščo in ekspanzijske komore. Šoba je nameščena s strani, z njo razpršujemo tangencialno v smeri gibanja toka delcev. Komora omogoča neodvisno kontrolo pretoka in hitrosti zraka, zato se lahko nastavek uporablja za granuliranje, direktno izdelavo pelet, oblaganje z raztopinami, suspenzijami, talinami in praški ter filmsko oblaganje (3).



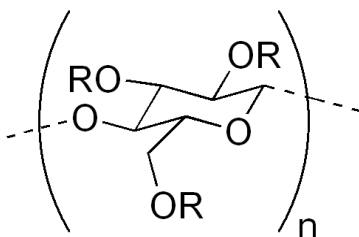
Slika 1: Enote za izvedbo tehnološkega procesa v zvrtničenih zračnih plasteh; A – komora z razprševanjem od spodaj, B – komora z razprševanjem od zgoraj, C – rotorska komora

1.3.4 Polimeri za filmsko oblaganje

Topnost polimera v vodi določa, kako se bo obložena farmacevtska oblika obnašala v gastrointestinalnem traktu. Za farmacevtske oblike s takojšnjim sproščanjem se uporabljajo polimeri, ki so dobro topni v vodi, neodvisno od pH. Takšne obloge se nanašajo kot vodne raztopine. Obloge, ki se uporabljajo za doseg priprave s sproščanjem, pri katerem zdravilna učinkovina prehaja iz farmacevtske oblike s časovnim zamikom ali pri katerem zdravilna učinkovina prehaja iz farmacevtske oblike kontinuirano daljše časovno obdobje, imajo omejeno topnost ali pa se sploh ne raztapljajo v vodi. Takšne obloge se običajno nanašajo kot raztopine organskih topil ali kot vodne polimerne koloidne disperzije. Po IUPAC priporočilih terminologije polimerov se koloidna disperzija polimernih delcev v vodi imenuje lateks sistem (2,4).

1.3.4.1 Etilceluloza – polimer za filmsko oblaganje s podaljšanim sproščanjem

Je dolgoverižni polimer delno O-etiliranih glukočnih enot, povezanih z β -1,4 glikozidno vezjo. Vsebuje 44,0 – 51,0 % etoksilnih skupin.



Slika 2: Strukturna formula etilceluloze

Je praktično netopna v vodi, topna v metilen kloridu in v mešanici 20 g etanola (96 vol. %) in 80 g toluena, rahlo topna v etilacetatu in metanolu, praktično netopna v glicerolu (85 vol. %) in propilenglikolu (5).

Glavna uporaba etilceluloze v peroralnih formulacijah je kot v vodi netopno sredstvo za oblaganje. Etilcelulozna obloga omogoča prirejeno sproščanje učinkovine, maskira neprijeten okus ali izboljša stabilnost farmacevtske oblike (6).

Etilceluloza ima temperaturo steklastega prehoda 129-133°C (6).

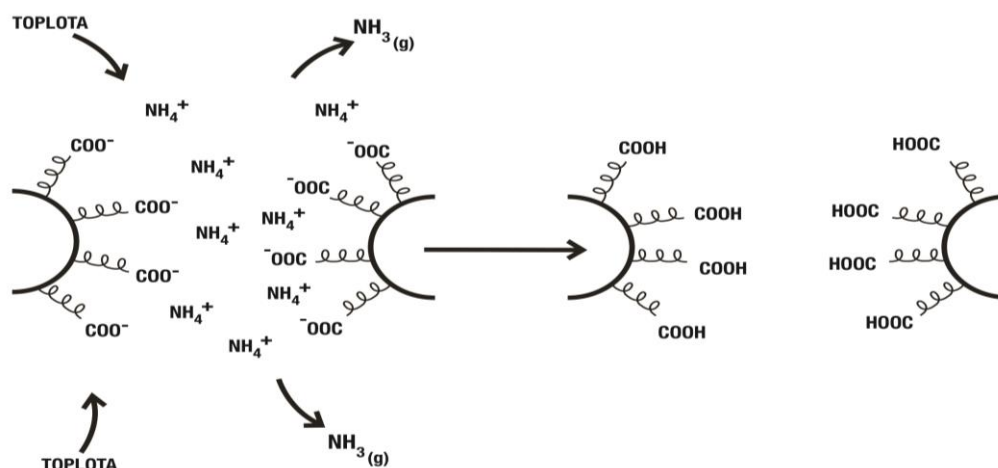
1.3.4.2 Surelease[®], etilcelulozna koloidna disperzija

Surelease[®] je koloidna disperzija polimernih delcev etilceluloze v vodi, t.i. lateks sistem. Koloidni delci polimerne etilceluloze imajo premer 0,1-10 μm , so trdni, netopni v vodnem mediju, termoplasti (7).

Disperzija se pripravlja po postopku indirektnega dispergiranja, imenovanem tudi inverzni proces. Zmes polimera in mehčala se s segrevanjem pretvori v talino. Z mešanjem majhne količine vode v talino polimera se najprej pripravi emulzija vode v polimeru, ki se nato z dodatkom vodnega medija pretvori v emulzijo polimera v vodi. Čas dispergiranja je pomemben, da se zagotovi zadovoljivo distribucijo velikosti delcev. Po dispergiranju polimera v vodni fazi se disperzija ohladi pod temperaturo tališča, da se dispergirani delci strdijo. Pomanjkljivosti procesa so slaba kontrola velikosti delcev, dolgotrajno mešanje, visoke temperature, draga topila in visoka poraba energije (7,8).

Disperzija vsebuje oleinsko kislino, ki ima funkcijo mehčala in stabilizatorja disperzije. Mehčalo zniža temperaturo steklastega prehoda polimera, kar neposredno vpliva na njegovo temperaturo tališča. T_g zmehčanega polimera mora ostati dovolj visok, da je polimer v trdnem agregatnem stanju pri temperaturi okolice od -10°C do 30°C . Po drugi strani pa mora biti T_g dovolj nizek, da je tališče polimera pri temperaturi, pri kateri je polimer še stabilen in ga je enostavno dispergirati v vodno fazo. Primerno je, da ima temperaturo tališča med 50°C in 170°C . Vloga oleinske kisline kot mehčala je tudi izboljšanje fizikalnih lastnosti filma, ki nastane po zlitju delcev polimera. Film ima zaradi prisotnosti oleinske kisline večjo plastičnost in žilavost (7).

Oleinska kislina ima v disperziji več pomembnih funkcij. Ko je dodana polimeru pred dispergiranjem v vodni medij, v protonirani obliki zniža T_g polimera in posledično se zniža tališče polimera. Po dispergiranju taline polimera v amoniakalno vodno fazo (pH vrednost med 9 in 10,5) oleinska kislina disociira in deluje kot emulgator. Njena funkcija je stabilizacija dispergiranih polimernih delcev in preprečevanje aglomeracije (Slika 3). V disperziji je večina oleinske kisline v obliki soli. Med procesom oblaganja amoniak izhlapeva, kar povzroči znižanje pH. Oleinska kislina protonira (Slika 3), s čimer se njena funkcija emulgiranja in stabiliziranja disperzije izgubi, kar povzroči koalescenca polimernih delcev in tvorjenje filma. Po zlitju polimernih delcev v zvezen film deluje oleinska kislina v protonirani obliki kot mehčalo polimernega filma (7).



Slika 3: Stabilizirana disperzija polimernih delcev z ionizirano oleinsko kislino v amoniakalnem pufru in prehod v nestabilno obliko zaradi izhlapevanja amoniaka med procesom oblaganja

1.3.4.3 Surelease® E-7-19010 in Surelease® E-7-19040

Zaradi spoštovanja direktive Evropske komisije za omejevanje uporabe živalskih produktov v proizvodnji zdravil z namenom zmanjšanja rizika prenašanja živalskega povzročitelja spongiformne encefalopatije je Colorcon modificiral Surelease® E-7-19010. Ta vsebuje oleinsko kislino, ki je pridobljena iz goveda, njegova modificirana oblika Surelease® E-7-19040 pa oleinsko kislino rastlinskega izvora, natančneje iz palmovega in talovega olja (9).

Preglednica I: Sestavine v Surelease® E-7-19010 in Surelease® E-7-19040 ter njihov izvor

SESTAVINA	IZVOR (Surelease® E-7-19010)	IZVOR (Surelease® E-7-19040)
<i>Prečiščena voda</i>	<i>Naravni</i>	<i>Naravni</i>
<i>Etilceluloza</i>	<i>Rastlinski</i>	<i>Rastlinski</i>
<i>Amonijev hidroksid</i>	<i>Sintezni</i>	<i>Sintezni</i>
<i>Srednjeveržni trigliceridi</i>	<i>Rastlinski</i>	<i>Rastlinski</i>
<i>Oleinska kislina</i>	<i>Živalski</i>	<i>Rastlinski</i>

1.3.4.4 Zmesi v vodi topnih in netopnih polimerov

Zmesi polimerov kot materiali za oblaganje za sisteme s kontroliranim sproščanjem ponujajo velike prednosti. Omogočajo enostavno prilagoditev profila sproščanja učinkovine, mehanizma sproščanja učinkovine in mehanskih lastnosti filmov. Lastnosti filmske obloge so lahko spremenjene z mešanjem dveh polimerov, ki izkazujejo različne fizikalno-kemijske lastnosti, in s spreminjanjem njunega razmerja (10).

Etilceluloza je pogosto uporabljen v GIT netopen polimer za FO s kontroliranim sproščanjem. Zaradi slabe permeabilnosti etilceluloze za večino učinkovin je hitrost sproščanja učinkovine preko takšne membrane počasna. Te omejitve se lahko izboljšajo z dodajanjem vodotopnega polimera v etilcelulozno disperzijo. Po stiku takšnega filma z vodnim medijem vodotopen polimer hidratira in se izluži iz polimerne membrane, kar naredi film bolj porozen, sproščanje učinkovine se pospeši. Najpogosteje uporabljen vodotopen makromolekulski aditiv za etilcelulozne filmske obloge je hidroksipropilmetil celuloza (HPMC) (10).

Sproščanje učinkovine iz pelet, obloženih z oblogo iz etilceluloze (Surelease®) in vodotopnega makromolekulskega aditiva HPMC, je proučeval F. Sadeghi s sodelavci. Ugotovili so, da se s povečevanjem debeline obloge (4 %, 8 %, 12 %, 16 % in 20 % w/w) hitrost sproščanja učinkovine zmanjšuje, s povečevanjem deleža HPMC (5 %, 7,5 % in 10 %) v oblogi pa se hitrost sproščanja učinkovine povečuje. Pri 20 % nanosu obloge je hitrost sproščanja učinkovine pri oblogi z 10 % HPMC kar trikrat hitrejša kot pri oblogi s 5 % HPMC, kar pomeni, da je vpliv HPMC precejšen. Ugotovili so še, da debelina nanosa obloge in delež vodotopnega makromolekulskega aditiva HPMC v EC oblogi ne vplivata na kinetični model sproščanja učinkovine (11).

Za izboljšanje razumevanja mehanizma hitrejšega sproščanja učinkovine so film iz Surelease®, ki vsebuje 7,5 % HPMC, in film brez dodatka HPMC raztapljali v vodi. Pri filmu, ki je vseboval HPMC, se v 30 minutah izluži 45,5 % HPMC, določeno kot izguba mase. Pri raztapljanju filma brez HPMC izgube mase filma niso zaznali. To kaže na to, da se pri raztapljanju pelet HPMC v oblogi raztopi in izluži. Pri tem nastanejo pore, skozi katere se učinkovina sprošča (11).

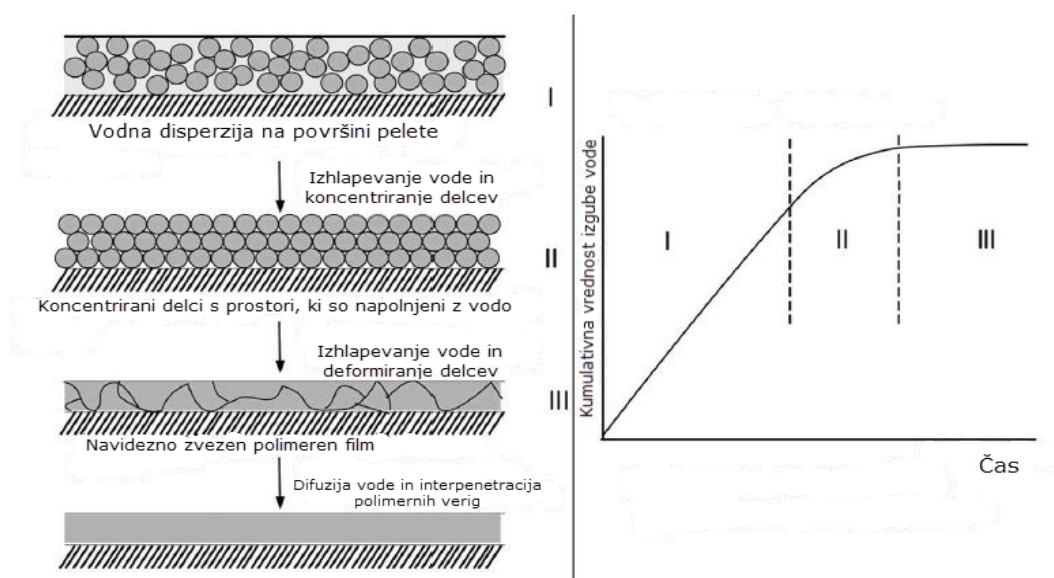
Poudariti je potrebno, da pri uporabi vodne koloidne disperzije EC za filmsko oblaganje lahko prihaja do flokulacije in sedimentacije dispergiranih delcev po dodatku raztopljene HPMC. Pojav nastopi nad kritično koncentracijo HPMC, ki se zniža pri zvišanju molekulske mase HPMC in z zvišanjem vsebnosti suhe snovi v disperziji. Koncentracije HPMC, ki se običajno uporabljajo pri filmskih oblogah (2 - 20% m/m) s podaljšanim sproščanjem na osnovi etilceluloze pogosto padajo v območje nestabilnosti (10).

Sakellariou in sodelavci so dokazali inkompatibilnost EC in HPMC, ki se kaže zaradi tvorjenja nehomogenega filma. Pri tvorjenju filma se s HPMC bogate domene dispergirajo

znotraj EC bogatega matriksa. Nekompatibilnost je tudi posledica prisotnosti dveh polimerov z različnima temperaturama steklastega prehoda. Tako flokulacija disperzije za oblaganje kot EC-HPMC inkompatibilnost vodita v spremembe strukture polimerne filmske obloge (10).

1.4 Mehanizem tvorbe filma

Pri tvorbi filma prihaja do pretvorbe stabilne vodne koloidne disperzije v zvezen polimeren film. Da se to zgodi, morajo posamezni delci polimera koalescirati. Proces tvorbe filma (Slika 4) nastopi z izhlapevanjem vodnega medija iz disperzije za oblaganje. Razdeljen je na več stopenj: izhlapevanje medija in koncentriranje polimernih delcev, deformacijo delcev, koalescenco oziroma fuzijo delcev in interpenetracijo polimernih verig (12, 13, 14).



Slika 4: Shema procesa tvorbe filma (levo) in graf kumulativnih vrednosti izgube vode v odvisnosti od časa med procesom tvorbe filma (desno), prirejeno po (14)

V prvi stopnji tvorjenja filma voda s konstantno hitrostjo izhlapeva s površine, zaradi česar se polimerni delci koncentrirajo. Ta faza je najdaljša in poteka, dokler delci ne dosežejo 60-70 % volumna disperzije. Sprva se delci gibljejo skladno z Brawnovim gibanjem, ko pa večina vode izhlapi, so delci izpostavljeni odbojnim silam zaradi naboja ali sterične stabilizacije. Z nadaljnjim približevanjem delcev začnejo prevladovati privlačne sile (12).

Ko so delci skoncentrirani in preidejo v ireverzibilni kontakt, se hitrost izhlapevanja upočasni zaradi zmanjšanja površine med okoljem in vodo. Z upočasnjevanjem izhlapevanja vodne faze med samim procesom (npr. oblaganje pri vlažnejših pogojih) lahko izboljšamo kakovost filma, ker so delci dlje časa pod vplivom sil, ki silijo delce

skupaj. Delci se deformirajo, tvorijo romboidni dodekahedron ter tako zapolnijo prazne prostore med delci, ki nastajajo z izhlapevanjem vode. Takšni polihedroni nastanejo, ko lateks izgubi večino vode in nastane struktura, ki je podobna peni (12, 14, 15).

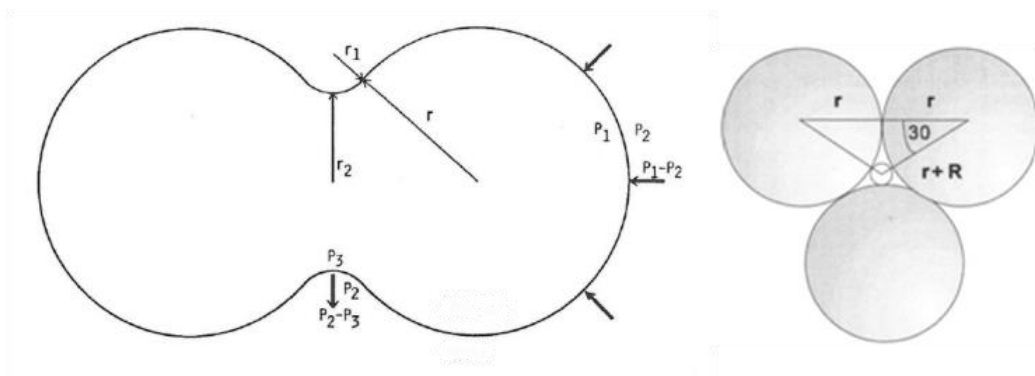
Gonilna sila, ki povzroča deformacijo in koalescenco polimernih koloidnih delcev, izhaja iz medfazne napetosti med polimerom in vodo (teorija mokrega sintranja) za delce, suspendirane v vodi, medfazne napetosti med zrakom in vodo (teorija kapilarnega tlaka) za plasti delcev, ki imajo različno stopnjo nasičenosti z vodo in z medfazno napetostjo med polimerom in zrakom (teorija suhega sintranja) za suhe plasti delcev (15, 16).

Privlačne sile med polimernimi koloidnimi delci, ki so posledica medfazne napetosti med površino polimernega delca in vodo ($\gamma_{p,v}$) ter majhnih polmerov v območju koalescence (r_1 in r_2), lahko opišemo z *Laplace*-ovo enačbo (Enačba 1), kjer je P_1 notranji tlak, P_3 notranji tlak v območju koalescence in r polmer delca (Slika 5, levo):

Enačba 1

$$P_1 - P_3 = \gamma_{p,v} \left(\frac{1}{r_1} - \frac{1}{r_2} + \frac{2}{r} \right)$$

Tlak narašča z naraščanjem površinske napetosti med polimernim delcem in vodo in je obratno sorazmeren z radijem polimernih delcev. Zaradi tlačne razlike je polimer prisiljen teči v smeri tlačnega gradienta, kar povzroči širitev kontaktne regije. Medtem gradient tlaka pada zaradi naraščanja r_1 in r_2 med deformacijo (12, 16).



Slika 5: Fuzija polimernih delcev, vir (16) slika levo in (12) slika desno

Privlačne sile, ki so posledica medfazne napetosti med zrakom in vodo ($\gamma_{z,v}$), nastanejo na z vodo nasičenem zunanjem sloju. S pomočjo *Laplace*-ove enačbe (Enačba 2) lahko izpeljemo kapilarni tlak, P_c , valja z radijem R med tremi delci polimera, glede na radij r delca polimera (Slika 5, desno). Zvezo med R in r predstavlja enačba (Enačba 3):

Enačba 2

$$P_c = \left(\frac{2\gamma_{z,v}}{R} \right) = \frac{12,9\gamma_{z,v}}{r}$$

Enačba 3

$$\frac{r}{R+r} = \cos 30^\circ$$

V primeru, da stični kot (ϑ) med vodo in polimerom ni enak 0° , velja (Enačba 4):

Enačba 4

$$P_c = \frac{12,9\gamma_{z,v}\cos\vartheta}{r}$$

Kapilarni tlak privlači delce polimera in izrine vodo iz prostorov med delci. Z zmanjševanjem radija valja kapilarne površine se kapilarni tlak povečuje. Ta proces se ponavlja, dokler voda ne ostane zgolj med kontaktnimi točkami med koloidnimi delci polimera, takrat kapilarni tlak deluje le v območju stika med delci, zaradi česar se delci zlijejo. Kapilarni tlak narašča z naraščanjem površinske napetosti med vodo in zrakom in je obratno sorazmeren z radijem polimernih delcev (12, 16).

Potem, ko voda popolnoma izhlapi, vodno fazo nadomesti zrak. Na pore z radijem r med polimernimi delci deluje gradient tlaka, povzročen z medfazno napetostjo med zrakom in polimerom ($\gamma_{p,z}$), kjer je P_1 notranji tlak in P_2 zunanji tlak:

Enačba 5

$$P_1 - P_2 = \frac{2\gamma_{p,z}}{r}$$

Stopnja suhega sintranja je običajno nizka, zato nadaljnja koalescenca lahko poteka še dolgo časa po oblaganju. V tem času se permeabilnost polimernega filma spreminja. Za doseganje popolnega zlitja polimernih delcev v filmu se produkt običajno temperira s segrevanjem na temperaturo, višjo od temperature steklastega prehoda polimera (t.im. curing) (12, 16).

Tudi *Frenkel*-ova enačba (Enačba 6) temelji na medfazni napetosti med polimerom in zrakom kot gonilni sili za koalescenca. Prepustnost polimera za ujet zrak in vodno paro ne vpliva na tlak, ki deluje na prostore med polimernimi delci. Obseg koalescence opisuje enačba:

Enačba 6

$$\theta^2 = \frac{3\gamma_{p,z}t}{2\pi\eta r}$$

Pri tem je θ kontaktni kot v času t , $\gamma_{p,z}$ medfazna napetost med zrakom in polimerom, r je polmer in η je viskoznost polimernega delca. Na začetku je kontaktni kot nič in s fuzijo dveh delcev narašča. Ta enačba prikazuje obratno sorazmernost med viskoznostjo polimernih delcev in stopnjo koalescence, kar utemeljuje dodajanje mehčala v formulacijo za oblaganje, da zmehča polimerne delce in olajša fuzijo. Enačba prav tako prikazuje prednost manjših delcev, saj potrebujejo manjšo silo za koalescenca (14).

Tvorjenje filma opisuje mehanizem kompresijske sile zaradi difuzije, ki predpostavlja, da se film najprej zlije na površini, zaradi medfazne napetosti med zrakom in vodo, nato pa se zgoščevanje in deformacija delcev nadaljujeta proti notranjosti površine, se pravi, film se tvori v smeri od površine proti notranjosti. Voda iz notranjosti filma difundira preko zgornjih plasti, kar ustvarja vakumu podobno kompresijsko silo, ki deluje v smeri pravokotno na površino filma. Mehanizem temelji na mehanizmu kapilarnega tlaka in osmotskega tlaka, povzročenega z difuzijo (12).

Teorija kohezije med delci je izpeljana iz *Hertz*-ove teorije za neprilavna elastična telesa, a hkrati dovoljuje adhezijo z *Van der Waals*-ovimi povezavami in medfazno površinsko napetostjo med elastičnimi sferami (12).

Mehanizem koalescence je razdeljen v dve skupini, v odvisno od sintranja ali kapilarnih procesov in v odvisno od interdifuzije polimernih verig. Interdifuzija ali prepletanje polimernih verig je zadnji korak pri nastajanju homogenega filma. Zaradi interdifuzije postaja polimerni film homogen. V začetku krhek film z izboljšanjem mehanskih lastnosti postaja vse bolj kompakten. Interdifuzija lahko poteka dolgo še posebej pri filmih, kjer koalescenca ni popolna. Proces interdifuzije intenzivneje poteka pri temperaturah, višjih od temperature steklastega prehoda polimera, saj je v steklastem stanju mobilnost polimera premajhna (12, 14).

Pomembno vlogo pri tvorjenju filma imata temperatura in hitrost izhlapevanja vode. Voda ima funkcijo mehčala in olajša koalescenca polimernih delcev. Temperatura, nižja od temperature steklastega prehoda polimera, in suhi pogoji oblaganja vodijo v nastanek poroznega, nepopolno zlitega filma. Nepopolno zlit film je nestabilen, saj nadaljnja koalescenca sčasoma povzroči upočasnjevanje hitrosti sproščanja učinkovine (14).

1.5 Kritični parametri pri tvorbi filma

Dispergirani koloidni delci polimera zahtevajo mehansko deformacijo in zlitje, da nastane homogen film. Zato ti sistemi izkazujejo minimalno temperaturo tvorjenja filma, MFFT. Pod temperaturo MFFT polimerna disperzija tvori opalescenten, nezvezen film, nad temperaturo MFFT pa nastane film, transparenten in zvezen. Sušenje pri temperaturi nad MFFT zagotavlja, da kapilarne sile zadoščajo za koalescenco delcev polimera. MFFT je odvisna od vrste polimera, velikosti polimernih delcev in sestave disperzije za oblaganje (15). MFFT je običajno blizu T_g polimera (12).

MFFT je določena pri počasni hitrosti izhlapevanja vode z vlivanjem disperzije. Formacija filma je dinamična lastnost disperzije, ki je odvisna od hitrosti izhlapevanja vode, oziroma od pogojev oblaganja. V praksi lahko temperatura tvorbe filma variira med temperaturo zmehčanja polimera (T_g) in MFFT, določeno s počasnim sušenjem disperzije (16).

S proučevanjem tvorjenja filma pri temperaturi, nekoliko nižji od MFFT, so ugotovili, da je kakovost nastalega filma odvisna od hitrosti sušenja. Pri nizki hitrosti sušenja nastane film boljše kakovosti, pri višjih hitrostih sušenja pa slabše. Hitro sušenje med procesom oblaganja je sicer zaželeno, vendar ima negativen vpliv na tvorbo filma. Hitra izguba vode ne omogoča zadostnega delovanja kapilarnih sil, ki so potrebne za deformacijo in koalescenco delcev polimera. Hitro sušenje tudi preprečuje razlitje kapljic po površini med procesom oblaganja. Poleg temperature vpliva na hitrost sušenja relativna vlažnost. Visoka vlažnost zmanjša hitrost sušenja, kar podaljša vpliv kapilarnih sil na deformacijo delcev in interdifuzijo polimernih verig. Voda sama deluje tudi kot mehčalo, ki zmehča polimerne delce, kar olajša interpenetracijo. Zato je idealno med procesom oblaganja kontrolirati temperaturo in relativno vlažnost. Višja vlažnost med procesom oblaganja se lahko zagotovi z uporabo disperzij z nižjim deležem trdnih delcev (manj kot 15 % w/w) (12, 15).

Na MFFT vpliva tudi velikost delcev polimera v disperziji. Z zmanjšanjem velikosti polimernih delcev za faktor sedem se MFFT zmanjša za približno 10°C. Z zmanjšanjem radija koloidnih polimernih delcev se poveča delovanje kapilarnega tlaka na delce, kar ugodno vpliva na tvorjenje filma (12, 15).

S preučevanjem povezave med T_g in temperaturo produkta pri Wursterjevem procesu so ugotovili, da se z višanjem temperature produkta med oblaganjem nad T_g polimera

kakovost filma izboljšuje. Oblaganje pri do 10°C nad T_g je najučinkovitejše, ker je pri takšnih pogojih formacija filma zelo dobra (16).

1.6 Temperiranje

Kadar se med procesom oblaganja ne zagotovi popolne tvorbe filma, večina polimerov zahteva nadaljnji korak sušenja, imenovan temperiranje (ang. curing) (15). V primeru ustrezne kontrole vlage med procesom oblaganja je zaradi popolnejše koalescence temperiranje nepotrebno ali pa že zadostuje enostavno suho temperiranje (14).

V primeru presušenih delcev polimera med oblaganjem enostavno temperiranje pri visokih temperaturah ob sobni relativni vlažnosti ne zadostuje za popolno koalescenco delcev polimera. Za doseg popolne koalescence je poleg višje temperature potrebno temperiranje pri višji relativni vlažnosti (14).

Izpostavitve obloženih pelet povišani temperaturi po procesu oblaganja spremeni strukturo filma. Temperiranje vpliva na mehanske lastnosti filma, adhezijo filma in na profil sproščanja učinkovine. Ključnega pomena je popolna koalescenca filma, saj zaradi nepopolne koalescence s časom prihaja do sprememb lastnosti polimera, kar je še posebej problematično pri farmacevtskih oblikah s prirejenim sproščanjem (15).

Parametri, ki so ključnega pomena v tem procesnem koraku, so temperatura, relativna vlažnost in čas, ki morajo biti optimizirani. Z naraščanjem temperature se mobilnost makromolekul povečuje, kar olajša koalescenco delcev polimera. Relativna vlažnost določa vsebnost vode v sistemu, ki zagotovi ustrezno delovanje kapilarnih sil, ki silijo delce skupaj. Voda deluje tudi kot mehčalo za večino polimerov, kar olajša zlitje polimernih delcev v homogen film (17).

Temperiranje obloženega substrata se izvaja na pladnjih v komori z regulacijo temperature in relativne vlažnosti, t.i. statično temperiranje, ali z nadaljevanjem procesa v napravi za oblaganje, t.i. dinamično temperiranje (14). Glavna slabost statičnega temperiranja je težji nadzor vlage v komorni sušilnici ter neenakomerna izpostavljenost pelet pogojem, ki favorizirajo koalescenco polimernih verig. Prednost dinamičnega temperiranja je v tem, da se izvaja v enaki opremi kot proces oblaganja. Tako je prenos substrata nepotreben, relativna vlažnost pa je enostavneje nadzorovana s hitrostjo razprševanja vode (18).

Muschert s sodelavci je preučeval vpliv statičnega in dinamičnega temperiranja etilcelulozne obloge z dodatkom PVA-PEG cepljenega kopolimera (85:15). Ugotovili so, da 8 ur statičnega temperiranja pri 50°C ali 2 uri pri 60°C zagotavlja stabilen profil sproščanja učinkovine tudi po daljšem času shranjevanja. Stabilen profil sproščanja so dosegli tudi po 2 urah dinamičnega temperiranja pri 57°C in 15 % relativni vlažnosti (18).

Q. W. Yang in sodelavci so z uporabo različnih mehčal z različnimi fizikalno-kemijskimi lastnostmi v vodni koloidni disperziji etilceluloze in z različnimi količinami nanosa filmske obloge (5-18 % povečanja mase) ugotovili, da je učinek temperiranja etilcelulozne obloge odvisen od vrste mehčala in debeline obloge. Predpostavili so dva učinka. Z naraščanjem temperature, relativne vlažnosti in časa temperiranja je koalescenca delcev polimera pospešena, kar izboljša tvorjenje filma. Posledično se zmanjša permeabilnost filmske obloge za učinkovino, sproščanje učinkovine se upočasni. To je učinek izboljšane tvorjenja filma. Učinkovina ima določeno afiniteto do filmske obloge, ki je odvisna od hidrofilnih oziroma lipofilnih lastnosti mehčala. V primeru uporabe mehčala z večjo afiniteto do učinkovine le-ta med temperiranjem migrira v oblogo, kar povzroča hitrejše sproščanje učinkovine. To je učinek migriranja učinkovine. V primeru tanjše obloge učinek izboljšanja tvorjenja filma prevladuje, zato po temperiranju substrata hitrost sproščanja učinkovine pade. Z naraščanjem debeline obloge vpliv učinka izboljšane tvorjenja filma pada, vpliv učinka migracije učinkovine pa ne. Pri srednji debelini obloge se oba učinka izenačita, kar vodi v nespremenjeno kinetiko sproščanja učinkovine. Pri večjih debelinah obloge pa učinek migracije učinkovine prevladuje, zato po temperiranju hitrost sproščanja učinkovine narašča, razen pri ostrih pogojih temperiranja, ko je izboljšanje tvorjenja filma izrazito, hitrost sproščanja učinkovine pade (17).

1.7 Vrednotenje filmske obloge

Fizikalno-kemijske in biofarmaceutske lastnosti filmske obloge ter spremembe filmske obloge, ki se zgodijo med temperiranjem pelet, lahko ovrednotimo z različnimi metodami. Z diferenčno dinamično kalorimetrijo merimo spremembo v entalpiji vzorca s časom (dH/dt) z znanim temperaturnim programom (dT/dt). Razmerje teh dveh količin nam daje specifično toplotno kapaciteto (dH/dT). Amorfnе trdne polimerne snovi, ki gradijo filmsko oblogo, so v steklastem stanju. Temperatura steklastega prehoda je kritična temperatura, ki ločuje med steklastim in zmehčanim značajem amorfnih polimerov. Spremembe v

giblivosti polimernih verig, ki se zgodijo pri steklastem prehodu, povzročajo velike spremembe fizikalnih lastnosti, ki vključujejo gostoto, specifično toploto, mehanske lastnosti, dielektrični koeficient, viskoznost, propustnost plinov in tekočin (19, 20).

Za polimerne disperzije je značilna minimalna temperatura, pri kateri pride do tvorbe filma (MFFT). Meritev MFFT temelji na standardni metodi ASTM D2354-91. Aparat je sestavljen iz plošče iz nerjaveče kovine, oljne kopeli, sistemov za dovod zraka in pokrova iz pleksi stekla. Na plošči, kamor se nanese disperzija, se ustvari temperaturni gradient. MFFT je določena kot minimalna temperatura, pri kateri nastane homogen, zvezen film brez razpok, in se odčita optično na temperaturni skali (21).

Biofarmacevtske lastnosti pelet se po farmakopejskih in regulatornih predpisih običajno ovrednotijo z *in vitro* testi, ki pokažejo način in hitrost sproščanja oziroma raztapljanja učinkovine. Zmogljivost klasičnih testov sproščanja je omejena s številom pozicij na aparaturi za sproščanje, njihova dodatna slabost je velika poraba medija za raztapljanje. Zato so bili razviti modificirani testi sproščanja, pri katerih je poraba medija za raztapljanje manjša in so zmogljivejši (22).

Tanki plasti oziroma filmski oblogi obloženih pelet lahko določimo vtisno trdnost in Youngov modul z metodo vtiskovanja. Vtisna trdnost je definirana kot odpornost materiala proti plastični deformaciji, Youngov modul ali prožnostni koeficient pa je sorazmernostni koeficient med silo, s katero delujemo na ploskovno enoto in deformacijo. Pri merjenju nanomehanskih lastnosti z vtiskovanjem z določeno silo v material vtisnemo konico poznane geometrije (23).

Vrstični elektronski mikroskop (SEM) je mikroskop, ki omogoča opazovanje in karakterizacijo heterogenih organskih in anorganskih materialov na mikrometrski skali. Pri SEM je preiskovana površina obsevana z usmerjenim curkom elektronov. Odbite elektrone od vzorca zajame detektor, kjer nastane slika. Pri interakciji elektronskega curka z vzorcem nastanejo različni tipi signalov, in sicer sekundarni elektroni, povratno sipani elektroni, x-žarki in drugi fotoni z različno energijo. Pri slikanju so najpomembnejši signali sekundarni in povratno sipani elektroni, ker se razlikujejo predvsem zaradi različne topografije površine. Glavna uporaba SEM je topografsko slikanje pri povečavi 10-10.000x (24).

2 NAMEN DELA

Cilj magistrske naloge je proučiti vpliv načina temperiranja ter procesnih parametrov, kot so čas, temperatura in vlaga, na profile sproščanja učinkovine iz filmsko obloženih pelet. Temperiranje bomo hkrati izvedli na dveh vzorcih pelet, obloženih z različnima modifikacijama Surelease[®], etilcelulozne koloidne disperzije za oblaganje, ki se razlikujeta v viru, iz katerega je pridobljena oleinska kislina, ki ima funkcijo mehčala. Oleinska kislina v Surelease[®] E-7-19010 je živalskega izvora, v Surelease[®] E-7-19040 pa rastlinskega izvora. S primerjanjem fizikalno-kemijskih ter biofarmaceutskih lastnosti filmsko obloženih pelet bomo ovrednotili razlike med obema polimernima disperzijama (Surelease[®]).

Vzorci pelet bomo v petrijevkah temperirali v klimatski komori z nadzorovanimi pogoji: pri temperaturi v območju med 40°C in 50°C in relativni vlažnosti med 50 % in 80 %. Proces temperiranja bomo poskusili ponoviti v procesni komori za oblaganje (FBD) pri enaki temperaturi produkta, relativno vlažnost pa bomo s pomočjo razprševanja prečiščene vode vzdrževali pri 15 % oziroma 30 %.

Biofarmaceutske lastnosti filmske obloge bomo vzorcem ocenili s preskusom sproščanja za trdne farmacevtske oblike ter primerjali izmerjene profile sproščanja učinkovine iz vzorcev pelet, temperiranih pri različnih pogojih. Etilcelulozna filmska obloga, s katero so obložene preiskovane pelete, je slabo topna v GIT okolju, zato omogoča podaljšano sproščanje učinkovine. Ker med procesom oblaganja ni bilo doseženo popolno zlitje polimernih delcev, je potrebno izvesti temperiranje. Pričakovano je, da se bo hitrost sproščanja modelne učinkovine preko filmske obloge zaradi utrjevanja filma med temperiranjem zmanjšala. Za koliko se bo hitrost sproščanja učinkovine zmanjšala, pa je neposredno odvisno od stopnje utrditve filmske obloge, posredno pa od pogojev, ki jim bodo pelete med temperiranjem izpostavljene.

Fizikalno-kemijske lastnosti filmske obloge bomo ovrednotili z merjenjem temperature steklastega prehoda, minimalne temperature za tvorbo filma, vtisne trdnosti in Youngovega modula.

Spremembe biofarmaceutskih in fizikalno-kemijskih lastnosti, ki se zgodijo med temperiranjem, bomo razložili s pomočjo teoretičnih osnov tvorbe filma iz koloidnih disperznih sistemov, ki so predstavljene v uvodu.

S pomočjo vrstičnega elektronskega mikroskopa bomo ocenili morfološke lastnosti filmske obloge pred in po temperiranju pelet.

3 MATERIALI IN OPREMA

3.1 Materiali

- filmsko obloženi vzorci pelet z modelno učinkovino, BCS razred I, Lek, Ljubljana

Peletna jedra vsebujejo mikrokristalno celulozo (Avicel PH 101) in 3 % modelne učinkovine (BCS 1. razred: visoka hitrost raztapljanja, visoka permeabilnost). Izdelana so bila na industrijskem nivoju z vlažno hitro vrtečo granulacijo, ki ji je sledilo iztiskanje in krogličenje.

Peletna jedra so bila obložena na osnovi vrtinčno slojne tehnologije oblaganja. Disperzija za oblaganje je vsebovala etilcelulozno lateks disperzijo (dva različna vzorca s Surelease[®] E-7-19010 oziroma Surelease[®] E-7-19040) in hidroksipropilmetil celulozo (Methocel[®] E15 LV) za tvorjenje por v masnem razmerju 8:1. Disperzija za oblaganje se pripravi z dispergiranjem koloidne raztopine Methocela[®], v disperzijo Surelease[®]. Obloga predstavlja 11 % mase peletnega jedra. Obložena peletna jedra so bila dodatno obložena s tanko plastjo vodne raztopine hidroksipropilmetil celuloze in TiO₂, ki preprečuje lepljenje pelet.

- KH₂PO₄, Sodium dihydrogen phosphate monohydrate, for analysis, Merck KGaA, Germany
- NaOH, Sodium hydroxide, pellets for analysis, Merck KGaA, Germany
- etilcelulozna lateks disperzija, Surelease[®] E-7-19010; Colorcon, ZDA
- etilcelulozna lateks disperzija, Surelease[®] E-7-19040; Colorcon, ZDA
- hidroksipropilmetil celuloza, Methocel[®] E15 LV; Dow Chemical Company, ZDA
- prečiščena voda

3.2 Oprema

- klimatska komora PCC-50, Kambič, Slovenija
- petrijevke
- precizna tehtnica PS4500/Y, RADWAG, Poljska
- vrtinčnoslojni granulater GPCG1, Glatt, Nemčija
- vlagomer B-302, Büchi, Švica
- precizna tehtnica CP3202S, Sartorius, Nemčija

- stoparica
- čaša 3 L
- merilna bučka 5 L
- merilna bučka 1 L
- merilni valj 500 mL
- kapalka
- pH meter SevenMulti, Mettler Toledo, Švica
- pipetor m300, Biohit, Finska
- pipetor m10, Biohit, Finska
- pipetor m1000, Biohit, Finska
- pipetor Multipette Xstream, Eppendorf, Nemčija
- mikro tehtnica XP56, Mettler Toledo, Švica
- analitska tehtnica XP105, Mettler Toledo, Švica
- precizna tehtnica XP2002S, Mettler Toledo, Švica
- precizna tehtnica XS2002S, Mettler Toledo, Švica
- 6-celična testna plošča za tkivne kulture TPP Techno Plastic Products AG, Švica
- tesnilni trak Corning 6575, Corning Incorporated, ZDA
- stresalnik Grant bio PHMP-4, Grant Instruments Ltd, Velika Britanija
- 96-celična filterna plošča s hidrofilno membrano iz mešanih celuloznih estrov velikosti por 0.45µm MultiscreenHTS-HA, MerckMillipore, Nemčija
- UV transparentna 96-celična plošča Costar 3635, Corning Incorporated, ZDA
- čitalec mikroplošč Infinite® M1000 PRO, Tecan Group Ltd., Švica
- magnetno mešalo RET basic IKAMAG® safety control, IKA, Nemčija
- diferenčni dinamični kalorimeter DSC 1, STARe System, Mettler Toledo, Švica
- epoksi lepilo UHU plus sofortfest, Sylmasta, Nemčija
- nanoindenter Agilent G200, Agilent, ZDA
- elektronski mikroskop JSM-7001F, JEOL Ltd, Japonska
- MFFT 60 Minimum Film Forming Temperature Instrument, Rhopoint Instruments, Velika Britanija

4 METODE

4.1 Minimalna temperatura tvorbe filma (MFFT)

Na ploščo aparata smo s pomočjo aplikatorja nanegli vzorec disperzije debeline 50 µm, 100 µm in 300 µm. Prvo meritev temperature, pri kateri se tvori film, smo opravili v temperaturnem gradientu med 23°C in 50°C. Ker se je v celtem temperaturnem gradientu tvoril lep, zvezen film, smo znižali temperaturo, da bi določili minimalno temperaturo, pri kateri se še tvori film (MFFT). Drugo meritev smo opravili med 5°C in 23°C, nižjih temperatur pa smo se pri vodnih disperzijah zaradi zmrzišča vode izognili. Analizirali smo vzorce Surelease® E-7-19010, Surelease® E-7-19040 ter Surelease® E-7-19010 in Surelease® E-7-19040 z dodatkom 8 % Methocel® E15 LV. Meritve smo izvedli na napravi v podjetju Helios, d.o.o.

4.2 Diferenčna dinamična kalorimetrija (DSC)

Temperaturo steklastega prehoda smo izmerili štirim vzorcem filmov, pripravljenih z vlivanjem 5 ml suspenzije na petrijevko in sušenjem 3,5 h pri 50°C. Vzorce smo polnili v aluminijaste 40 µL zaprte DSC lončke, katerim smo pokrovček preluknjali tik pred analizo z diferenčnim dinamičnim kalorimetrom Mettler Toledo DSC 1, STAR^e System.

Temperaturni program meritve:

1. -50°C do 140°C z 20 K/min. (N₂ 50 mL/min)
2. 140°C do -50°C z -20 K/min. (N₂ 50 mL/min)
3. 5 min. na -50°C
4. -50°C do 140°C z 20 K/min. (N₂ 50 mL/min)

Vzorci:

1. suspenzija etilceluloze Surelease® E-7-19010,
2. suspenzija etilceluloze Surelease® E-7-19040,
3. suspenzija etilceluloze Surelease® E-7-19010 in hidroksipropilmetil celuloze Methocel® E15 LV v masnem razmerju 8:1,
4. suspenzija etilceluloze Surelease® E-7-19040 in hidroksipropilmetil celuloze Methocel® E15 LV v masnem razmerju 8:1.

4.3 Statično temperiranje

Načrt eksperimenta (Preglednica II) smo izdelali s pomočjo programskega orodja Modde 9.1. Proučevali smo vpliv štirih spremenljivk, in sicer relativne vlažnosti (RV), temperature, časa in modifikacije Surelease® na lastnosti vzorcev pelet. Prve tri spremenljivke so kvantitativne, zadnja je kvalitativna. Načrt eksperimenta je hibridni, D – optimal na treh parametrih (RV, temperatura in čas) in polni faktorski na enem parametru (Surelease®) z dvakrat po dvema ponovitvama v centralni točki.

Preglednica II: Načrt eksperimenta temperiranja v klimatski komori

Eksperiment	RV (%)	Temperatura (°C)	Čas (h)	Surelease®
1	50	40	2	E-7-19040
2	80	40	2	E-7-19040
3	50	50	2	E-7-19040
4	80	50	2	E-7-19040
5	50	40	24	E-7-19040
6	80	40	24	E-7-19040
7	80	50	24	E-7-19040
8	50	50	16,6667	E-7-19040
9	50	46,6667	24	E-7-19040
10	60	50	24	E-7-19040
11	80	45	13	E-7-19040
12	65	40	13	E-7-19040
13	65	45	2	E-7-19040
14	65	45	13	E-7-19040
15	65	45	13	E-7-19040
16	50	40	2	E-7-19010
17	80	40	2	E-7-19010
18	50	50	2	E-7-19010
19	80	50	2	E-7-19010
20	50	40	24	E-7-19010
21	80	40	24	E-7-19010
22	80	50	24	E-7-19010
23	50	50	16,6667	E-7-19010
24	50	46,6667	24	E-7-19010
25	60	50	24	E-7-19010
26	80	45	13	E-7-19010
27	65	40	13	E-7-19010
28	65	45	2	E-7-19010
29	65	45	13	E-7-19010
30	65	45	13	E-7-19010

Mejne vrednosti spremenljivk smo postavili na 40°C in 50°C za temperaturo ter 50 % in 80 % za relativno vlago. Čas temperiranja smo omejili na območje od 2 uri do 24 ur. Temperirali smo dva vzorca pelet, ki sta bila obložena z različnima modifikacijama

Surelease[®]. Načrtovanih 30 eksperimentov smo izvedli vzporedno za oba vzorca pelet naenkrat.

Vzorec obloženih pelet mase 40 g smo v petrijevi plošči premera 13,5 cm enakomerno razporedili, da je bil sloj pelet tanek. Petrijeve plošče z vzorcem smo v klimatski komori Kambič PCC-50 izpostavili predpisanim pogojem (Preglednica II).

4.4 Dinamično temperiranje

Preučevali smo vpliv treh kvantitativnih spremenljivk, in sicer relativne vlažnosti, temperature in časa na lastnosti vzorcev pelet. Temperaturo izhodnega zraka smo omejili na 40°C in 50°C, relativno vlažnost izhodnega zraka na 30 % oziroma 15 %. Časovni vpliv procesa smo ovrednotili z medprocesnim vzorčenjem po 0,5 ure, 1 uri, 2 urah in 4 urah.

Preglednica III: Načrt eksperimenta temperiranja v procesni komori za oblaganje

	Surelease [®]	T _{izhodnega zraka} (°C)	RV _{izhodnega zraka} (%)	t _{vzorčenja} (h)
Vzorec 1	E-7-19040	50	30	0,5, 1, 2, 4
Vzorec 2	E-7-19040	50	15	0,5, 1, 2, 4
Vzorec 3	E-7-19010	40	30	0,5, 1, 2, 4

Vzorec obloženih pelet mase 300 g smo v procesni komori za oblaganje Glatt GPCG1 izpostavili predpisanim pogojem (Preglednica III). Temperiranje smo izvajali z razprševanjem prečiščene vode od zgoraj. Šobo, izolirano s teflonom, smo postavili v spodnji položaj, razprševali smo pri tlaku 1,8 bara. Vzorčenje smo izvajali med procesom.

S pomočjo enačbe, ki upošteva temperaturo vhodnega zraka, pretok zraka, vlago vhodnega zraka in hitrost razprševanja vode, smo predvideli vsebnost vlage in temperaturo izhodnega zraka (Preglednica IV). Med procesom smo vzdrževali konstanten pretok zraka. Začrtane vrednosti temperature in vsebnosti vlage izhodnega zraka smo zaradi nihanja vlage vhodnega zraka, posebej pri temperiranju pri 50°C in 30 % relativni vlažnosti, ko smo delali brez razvlaževalnika vhodnega zraka, vzdrževali s spreminjanjem temperature vhodnega zraka in hitrosti razprševanja vode. Padec vlažnosti vhodnega zraka povzroči tudi padec vlažnosti izhodnega zraka, kar smo kompenzirali s povečanjem hitrosti razprševanja vode. Zaradi hitrejšega razprševanja vode pade temperatura izhodnega zraka, zato smo morali sočasno dvigniti tudi temperaturo vhodnega zraka.

Preglednica IV: Procesni parametri in predvidene vrednosti procesnih spremenljivk

Vzorec	Procesni parametri				Predvidene vrednosti	
	$T_{\text{vhodnega zraka}}$ (°C)	Φ_V zraka (m ³ /h)	AV_{vhodnega} zraka (g/kg)	Φ_m razprševanja vode (g/min)	$T_{\text{izhodnega zraka}}$ (°C)	$RV_{\text{izhodnega}}$ zraka (%)
Vzorec 1	85	100	10,1	24,7	49,6	29,8
Vzorec 2	72	120	4,1	18	50,3	15,2
Vzorec 3	66	105	4,1	19	40	29,3

4.4.1 Izguba pri sušenju

Izgubo pri sušenju smo vzorcu izmerili pred začetkom temperiranja, ob vsaki točki vzorčenja ter na koncu procesa z napravo Büchi Moisture Analyzer B-302 pri temperaturi 80°C in času 15 minut.

4.5 Test sproščanja

Priprava 0,05M fosfatnega pufru s pH=6,8:

Natehtali smo 136,1g KH₂PO₄ v 5000 mL merilno bučko in z vodo dopolnili do oznake. 1250 mL tako pripravljene 0,2M KH₂PO₄ smo prenesli v 5000 mL merilno bučko in z vodo dopolnili do oznake. Z 1M NaOH (pribl. 120 mL) smo uravnali pH pufru na 6,8.

Priprava 1M NaOH:

V 1000 ml merilno bučko smo natehtali 40,0 g NaOH, ga raztopili v vodi in z vodo dopolnili do oznake.

Priprava standarda za absorpcijski spekter:

Natehtali smo 21,33 mg delovnega standarda modelne učinkovine v 100 ml merilno bučko, ga raztopili v 0,05M fosfatnem pufru s pH=6,8 in dopolnili do oznake. 5,0 ml raztopine smo odpipetirali v 25 ml merilno bučko, dopolnili s topilom do oznake in premešali.

$$C_{(\text{učinkovine})} = 0,04 \text{ mg/ml}$$

Priprava vzorca za absorpcijski spekter:

V 100 ml merilno bučko smo natehtali 155 mg (ustreza 4 mg modelne učinkovine) pelet in dopolnili s topilom (0,05M fosfatni pufer s pH=6,8) do oznake. Mešali smo na magnetnem mešalu 30 minut in stresali v ultrazvočni kopeli še 30 minut, da so pelete razpadle.

$$C_{(\text{učinkovine})} = 0,04 \text{ mg/ml}$$

Standardno raztopino in raztopino vzorca smo prenesli na 96-celično filterno ploščo s hidrofilno membrano iz mešanih celuloznih estrov, velikosti por 0,45 µm, ter prefiltrirali. 200 µL prefiltriranega vzorca smo prenesli na 96-celično UV transparentno ploščo (Costar 3635), posneli absorpcijski spekter med 230 in 400 nm ter določili absorpcijski maksimum pri 282 nm.

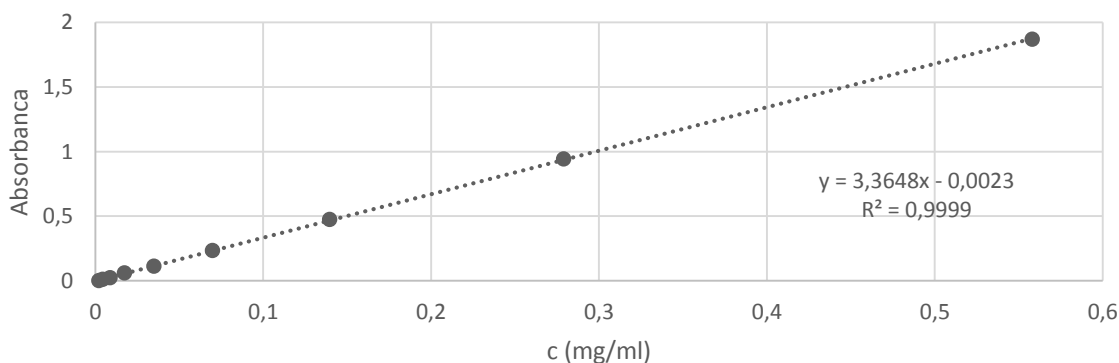
Priprava standarda za umeritveno krivuljo:

V 10 ml merilno bučko smo natehtali 5,58 mg delovnega standarda modelne učinkovine in dopolnili s topilom do oznake. Raztopino iz merilne bučke smo odpipetirali v celico 96-celične mikrotitrne plošče in jo stopenjsko redčili tako, da smo del vzorca odpipetirali v naslednjo celico in dodali enako količino topila. Redčenje smo tolikokrat ponovili, da smo dobili primeren nabor koncentracij. Vsem vzorcem smo izmerili absorbanco pri valovni dolžini 282 nm in izračunali enačbo umeritvene premice.

Po nekaj dneh smo ponovno naredili umeritveno krivuljo in izmerili absorbanco, s čimer smo potrdili ponovljivost meritev. Pred meritvijo absorbance smo raztopine tudi prefiltrirali, s čimer smo dokazali, da filtriranje ne vpliva na absorbanco.

Preglednica V: Vrednosti absorbanc po stopenjskem redčenju delovnega standarda modelne učinkovine

c (mg/ml)	0,558	0,279	0,1395	0,0698	0,0349	0,0174	0,0087	0,0044	0,0022
Absorbanca	1,8702	0,9433	0,473	0,2341	0,1123	0,0594	0,0234	0,0094	0,0015



Slika 6: Graf umeritvene krivulje

Profil sproščanja smo analizirali z visokozmogljivim testom sproščanja. Vzorce pelet s podaljšanim sproščanjem, katerih masa je bila enaka masi enega odmerka 155 mg, smo natehtali v 6-celične mikroplošče (TPP testne plošče za tkivne kulture) v treh paralelkah. Mikroplošče smo prekrili s tesnilnim trakom, ki preprečuje razlitje in izhlapevanje medija.

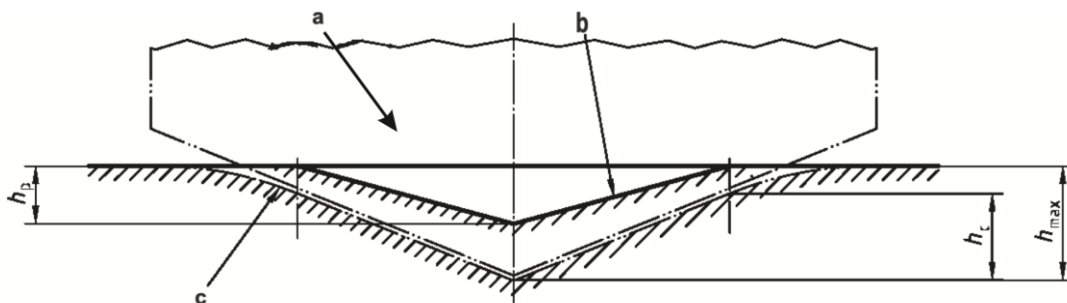
Po dodatku 9,0 mL medija za sproščanje, 0,05M fosfatnega pufru s pH 6,8 smo plošče prenesli v stresalnik z regulirano temperaturo Grant bio PHMP-4, izpostavili temperaturi 37°C in stresanju pri 250 obratih na minuto.

V časovnih točkah 0,5 ure, 1 ure, 2 ur, 3 ur, 4 ur in 7 ur smo vzorčili po 300 μL in vzorec prenesli na 96-celično filterno ploščo s hidrofilno membrano iz mešanih celuloznih estrov, velikosti por 0,45 μm . Po vsakem vzorčenju smo 300 μL pufru nadomeščali, kar smo upoštevali pri izračunu koncentracij. 200 μL prefiltriranega vzorca smo preneseli na 96-celično UV transparentno ploščo Costar 3635. Vzorcem smo izmerili absorbanco pri 282 nm s čitalcem mikrotitrskih plošč Infinite® M1000 PRO. Iz absorbance smo s spomočjo umeritvene krivulje izračunali delež sproščene učinkovine.

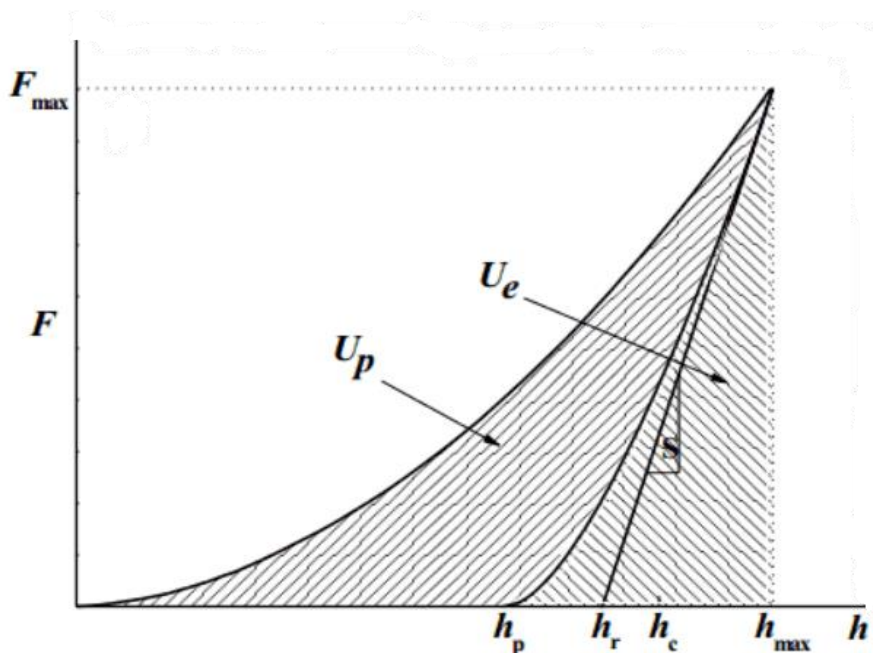
4.6 Merjenje nanomehanskih lastnosti obloženih pelet

Naprava za zaznavanje globine vtisa (*DSI – depth-sensing indentation*) omogoča merjenje vtisne trdnosti in *Young*-ovega modula na mikro- in nano-nivoju. Maksimalna sila, ki jo lahko dosežemo z nanoindenterjem, je 500 mN, z ločljivostjo 0,04 μN . Geometrija konice je lahko različna, najpogosteje se uporablja tristranska diamantna prizma (*Berkovich*) (23, 25).

Inštrument deluje tako, da vtiskuje diamantno konico v vzorec in po doseženi maksimalni sili konico odmakne. Osnovni cikel sestavljata faza obremenjevanja (sila narašča do predpisanega maksimuma) in faza razbremenjevanja. Med ciklom se zapisujejo podatki o globini in sili konice (Slika 8). Obtežitveni del krivulje izraža plastične in elastične lastnosti preizkušane materiala, razbremenitveni del pa vsebuje podatke o elastični relaksaciji vtisa (23, 25).



Slika 7: Shematski prikaz profila vtisa. a - indenter; b - površina vtisa po plastični deformaciji; c - površina vtisa pri maksimalni obremenitveni sili; h_p - globina vtisa po razbremenitvi; h_c - globina vtisa pri maksimalni sili; h_{max} - maksimalna globina vtisa, prirejeno po (25)



Slika 8: Krivulja sile konice v odvisnosti od globine vtisa (h_p – globina vtisa po razbremenitvi, h_r – globina, dobljena kot presečišče tangent in osi h , h_c – globina kontakta konice in vzorca pri maksimalni sili, h_{max} – maksimalna globina, F_{max} – maksimalna sila, S – togost stika, U_e – energija elastične deformacije, U_p – enrgija plastične deformacije, vir (25)

Ob predpostavki, da se površina pod krivuljo deformira delno elastično in delno plastično, lahko iz krivulje sile v odvisnosti od globine vtisa in z upoštevanjem geometrije konice določimo *vtisno trdnost* in *Young-ov modul* na osnovi *Oliver-Pharr-ove* teorije (Enačba 7, Enačba 8).

Za določitev vtisne trdnosti (H) in elastičnega modula (E) potrebujemo togost stika (S) in projekcijo površine kontakta med konico in vzorcem (A_p). Togost stika je odvod sile po globini za primer, ko ni plastične deformacije in se določi z linearno ekstrapolacijo začetka strmine krivulje pri razbremenjevanju (Enačba 7). Stik med konico in vzorcem lahko v tem primeru modeliramo kot kontakt med popolnoma togo konico in izotropno snovjo z reduciranim elastičnim modulom E_r (25).

Enačba 7

$$S = \frac{2}{\sqrt{\pi}} E_r \sqrt{A_p}$$

A_p je projekcija površine stika pri maksimalni sili. Opisuje jo funkcija oblike konice $A_p = f(h_c)$, ki za Berkovichevo konico znaša $23,96 h_c$.

Globino kontakta konice in vzorca pri maksimalni sili (h_c) dobimo kot:

Enačba 8

$$h_c = h_{max} - \varepsilon_k (h_{max} - h_r)$$

Pri tem je ε_k konstanta, odvisna od geometrije konice (za Berkovichovo konico je $\frac{3}{4}$). H_r je globina na presečišču tangente z osjo h (25).

Young-ov modul preiskovanega materiala (E) lahko torej izačunamo z upoštevanjem *Young*-ovega modula (E_i) in *Poisson*-ovega števila konice (ν_i) (Enačba 9).

Enačba 9

$$\frac{1}{E_r} = \frac{1 - \nu_i^2}{E_i} + \frac{1 - \nu^2}{E}$$

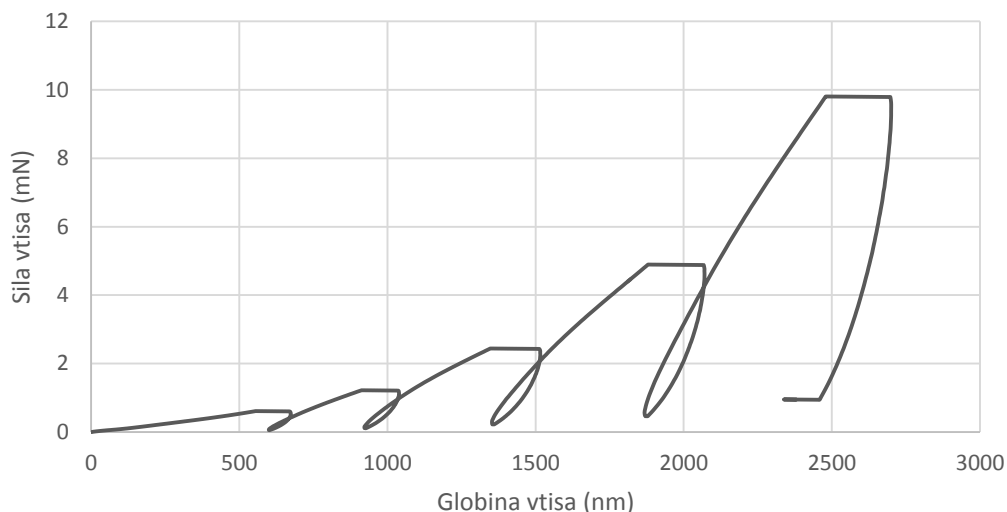
Vtisna trdnost (H) je definirana kot razmerje med maksimalno silo (F_{max}) in projekcijo površine kontakta (A_p) (Enačba 10) in je merilo odpornosti materiala proti plastični deformaciji (25).

Enačba 10

$$H = \frac{F_{max}}{A_p}$$

Pelete smo pred testiranjem pritrdili na kovinski nosilec s hitro sušečim epoksi lepilom. Za testiranje mehanskih lastnosti pelet smo uporabili nanoindenter Agilent G200 na Naravoslovnotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani. Za določanje mehanskih lastnosti smo uporabili Berkovich-ev indenter (konico), ki ima obliko tristrane piramide. Preizkuse smo izvajali pri sobni temperaturi. Kot kriterij za izvajanje analize oziroma cikel obremenjevanja (približevanje konice površini vzorca z nastavljeno hitrostjo) smo postavili vrednost termičnega lezenja (angl.: thermal drift), manjšo kot 0,05 nm/s.

Vsi preizkusi so izvedeni v cikličnem načinu obremenjevanja (Slika 9), pri čemer smo *Young*-ov modul (E) in vtisno trdnost (H) določili pri maksimalni nastavljeni sili 10 mN. Hitrost obremenitve in razbremenitve je bila 0,05 nm/s. Čas, pri katerem je vzorec izpostavljen maksimalni sili, je bil 15 s (rezidualni čas). Na ta način smo zmanjšali vpliv časovno odvisne plastične deformacije (lezenje, ang. creep) na elastično relaksacijo v razbremenitveni fazi. Variabilnost mehanskih lastnosti smo ovrednotili na vsaj treh peletah. Pri tem smo izvedli najmanj 20 vtisov. Za obdelavo podatkov smo uporabili *Oliver-Pharr*-ov model (25).



Slika 9: Graf odvisnosti globine vtisa pri cikličnem obremenjevanju pelete

Ovrednotili smo naslednje vzorce:

- pelete, obložene s Surelease® E-7-19010, netemperirane,
- pelete, obložene s Surelease® E-7-19040, netemperirane,
- pelete, obložene s Surelease® E-7-19010, po 24 urah temperiranja v klimatski komori pri 50°C in relativni vlažnosti 80 %,
- pelete, obložene s Surelease® E-7-19040, po 24 urah temperiranja v klimatski komori pri 50°C in relativni vlažnosti 80 %,
- pelete, obložene s Surelease® E-7-19040, po 4 urah temperiranja v procesni komori za oblaganje pri temperaturi produkta 50°C in relativni vlažnosti 30 %.

4.7 Vrstični elektronski mikroskop (SEM)

Z vrstičnim elektronskim mikroskopom smo proučili površino in prerez netemperiranih pelet in temperiranih vzorcev pelet, ki imajo najpočanejši profil sproščanja. Vzorcem pelet, ki so bili temperirani v procesni komori za oblaganje Glatt GPCG1, smo ocenili poškodovanost filmske obloge.

4.8 Modde 9.1

Modde je programsko orodje, ki omogoča statistično načrtovanje eksperimentov, statistično analizo podatkov in interpretacijo ter uporabo modela. Z enim modelom lahko proučujemo vpliv več parametrov in več odzivov hkrati.

Parametri, s katerimi ocenjujemo ustreznost regresijskega modela, so R^2 , Q^2 , veljavnost in ponovljivost. Najpomembnejša parametra, s katerima ocenjujemo prileganje modela, sta R^2 in Q^2 . S parametrom R^2 ocenjujemo ustreznost prileganja, torej kako dobro se regresijskemu modelu prilegajo eksperimentalne vrednosti. Mnogo boljši indikator uporabnosti regresijskega modela je Q^2 , parameter ustreznosti napovedovanja, ki ocenjuje napovedno moč modela. Parameter veljavnosti modela v splošnem smislu odraža primernost modela oziroma če je bil pri snovanju problema izbran pravi tip modela (linearni, interakcijski, kvadratni, itd.). Zadnji kazalec uspešnosti modela odraža ponovljivost. Določen je s sipanjem odzivov ponovljenih vzorcev (26).

Da je model ocenjen kot dober, morajo kazalci uspešnosti modela ustrezati naslednjim referenčnim vrednostim (26):

- *razlika R^2 - Q^2* $< 0,2 - 0,3$
- *Q^2* $> 0,5$
- *veljavnost modela* $> 0,25$
- *ponovljivost* $> 0,5$

5 REZULTATI

5.1 Minimalna temperatura tvorbe filma (MFFT)

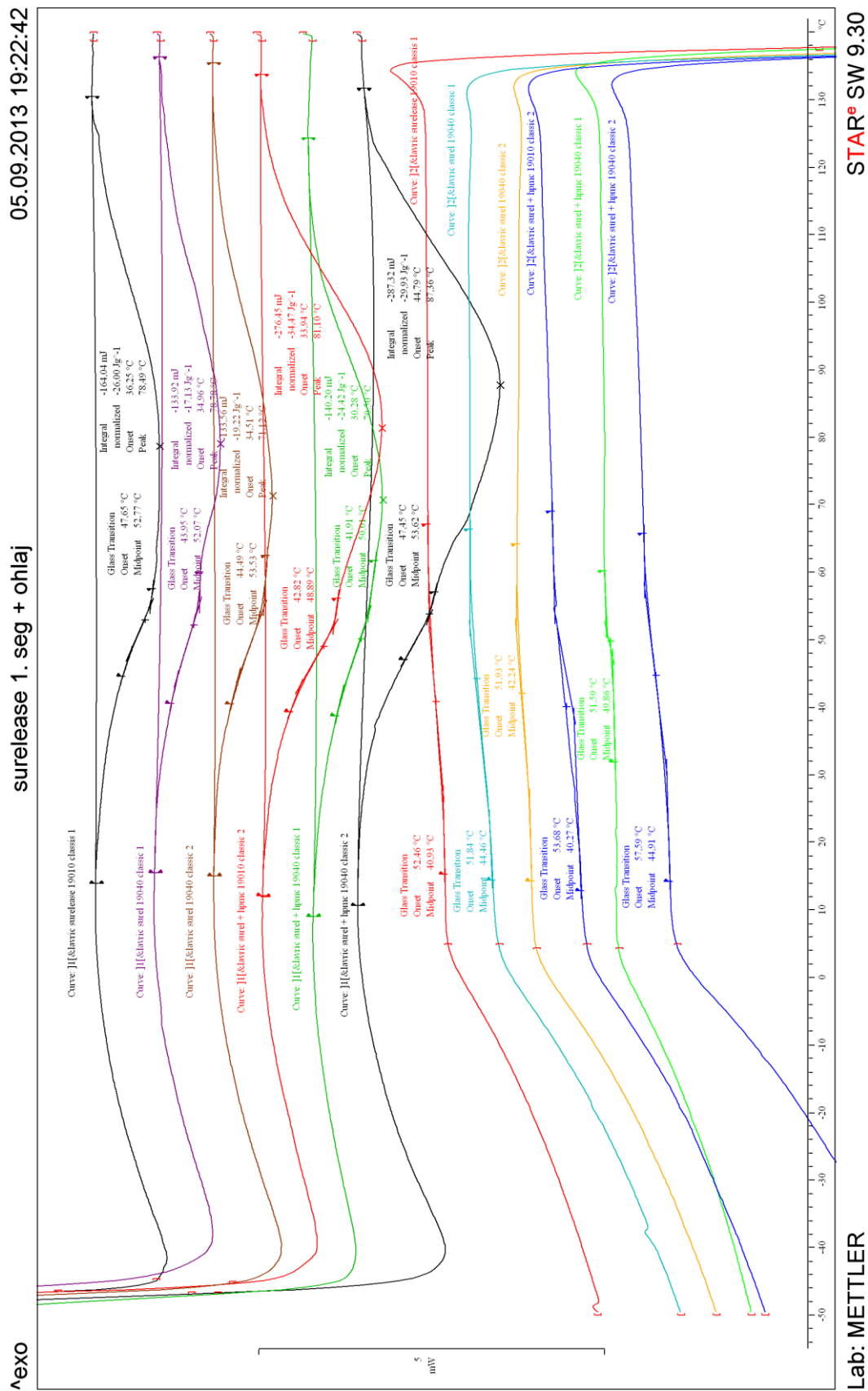
Z merjenjem MFFT smo ugotovili, da vzorci vseh analiziranih disperzij pri debelini nanosa 50 μm , 100 μm in 300 μm tvorijo vizualno lep, zvezen film v celotnem temperaturnem intervalu, v katerem smo vzorce testirali, torej med 5°C in 50°C. To pomeni, da je minimalna temperatura za tvorbo filma pri vseh disperzijah nižja od 5°C.

5.2 Diferenčna dinamična kalorimetrija (DSC)

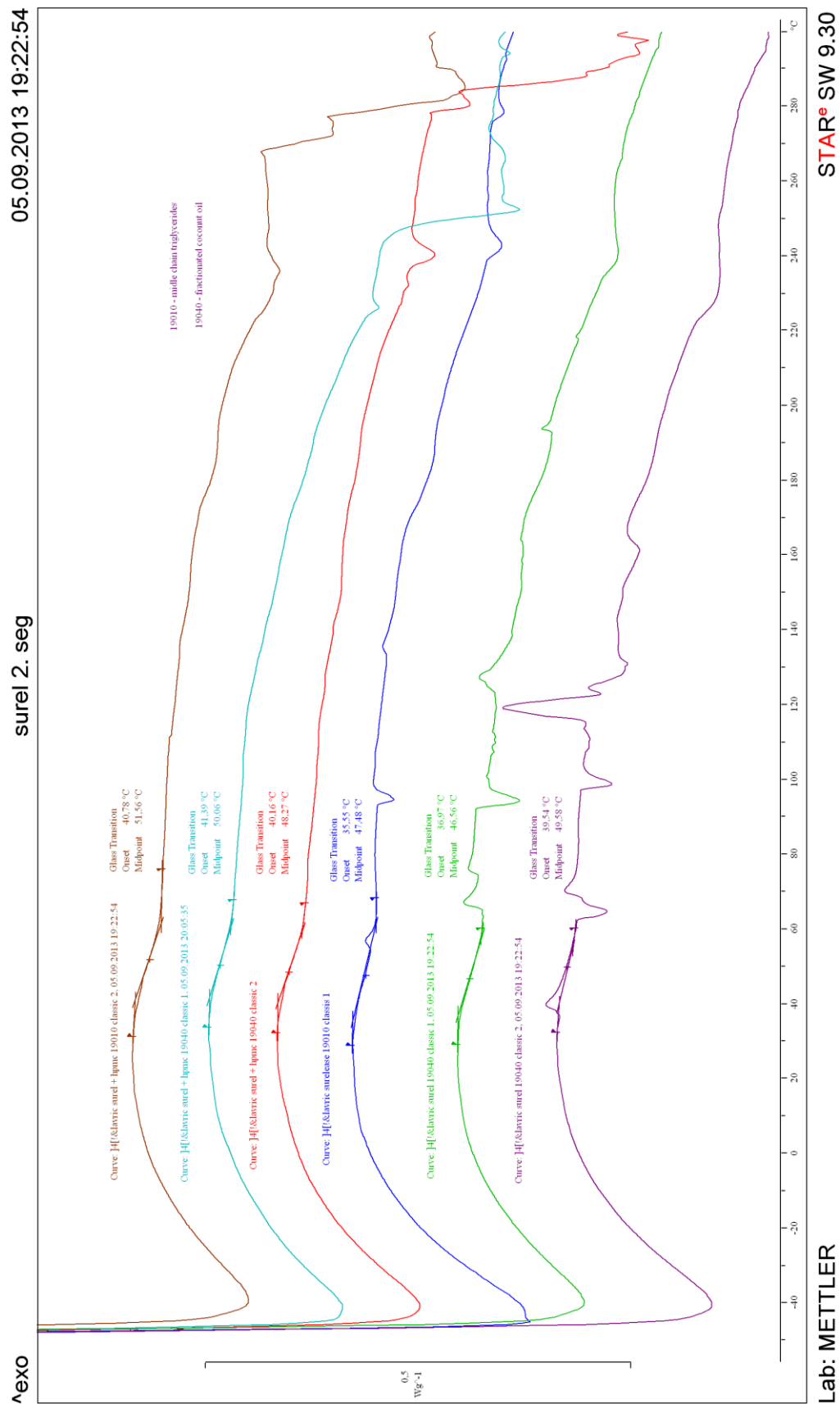
Termični prehodi polimernih filmov, izraženih s T_{onset} in T_g pri prvem segrevanju, ohlajanju in drugem segrevanju, se statistično signifikantno ne razlikujejo med vzorci. Temperatura steklastega prehoda obeh filmov iz Surelease[®] E-7-19010 in prav tako iz Surelease[®] E-7-19040 je v območju med 40°C in 53°C (Preglednica VI) in se statistično signifikantno ne spremeni kljub dodatku hidroksipropilmetil celuloze k Sureleaseu[®].

Preglednica VI: Izmerjene vrednosti termičnih prehodov z diferenčnim dinamičnim kalorimetrom

VZOREC	1. SEGREVANJE		OHLAJANJE		2. SEGREVANJE	
	T_{onset}	T_g	T_{onset}	T_g	T_{onset}	T_g
<i>Surelease[®] 19010</i>	47,7	52,8	52,5	40,9	36,3	47,8
<i>Surelease[®] 19040 – 1. ponovitev</i>	44	52,1	51,8	44,5	37	46,6
<i>Surelease[®] 19040 – 2. ponovitev</i>	44,5	53,5	51,9	42,2	38,9	50,9
<i>Surelease[®] 19010 + HPMC</i>	42,8	48,9	53,7	40,3	40,8	51,6
<i>Surelease[®] 19040 + HPMC – 1. pon.</i>	41,9	50	51,6	49,9	41,4	50,1
<i>Surelease[®] 19040 + HPMC – 2. pon.</i>	47,5	53,6	57,6	44,9	40,2	48,3



Slika 10: DSC diagram 1. segrevanja (zgornjih šest krivulj) in ohlajanja (spodnjih šest krivulj) vzorcev po vrstnem redu, kot so navedeni v Preglednici VI



Slika 11: DSC diagram 2. segrevanja vzorcev po vrstnem redu, kot so navedeni v Preglednici VI

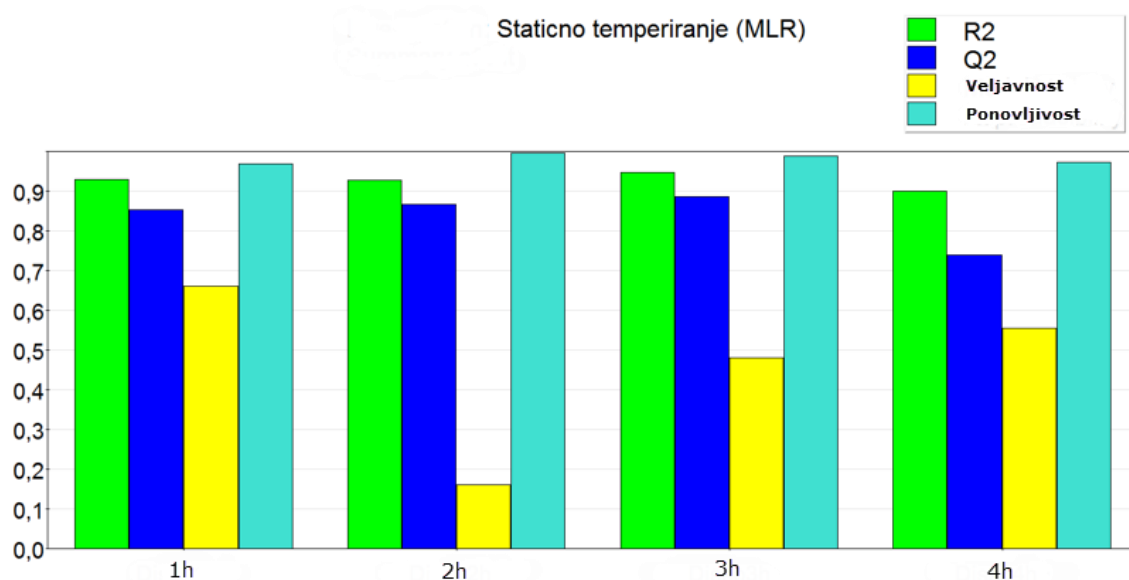
5.3 Statično temperiranje

Po izvedbi temperiranja v klimatski komori skladno z eksperimentalnim načrtom smo vzorcem določili delež sproščene učinkovine po 0,5 ure, 1 uri, 2 urah, 3 urah, 4 urah in 7 urah z metodo visokozmogljivega testa sproščanja.

S pomočjo programske opreme Modde smo rezultate testa sproščanja statistično ovrednotili z metodo multiple linearne regresije (MLR) in predpostavili kvadratni polinomski model ($y = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_{11}x_1^2 + \beta_{22}x_2^2 + \beta_{12}x_1x_2 + \dots + \varepsilon$) pri čemer smo kot odziv modela definirali delež sproščene učinkovine po 1 uri, 2 urah, 3 urah in 4 urah.

5.3.1 Vpliv Sureleasea® na temperiranje

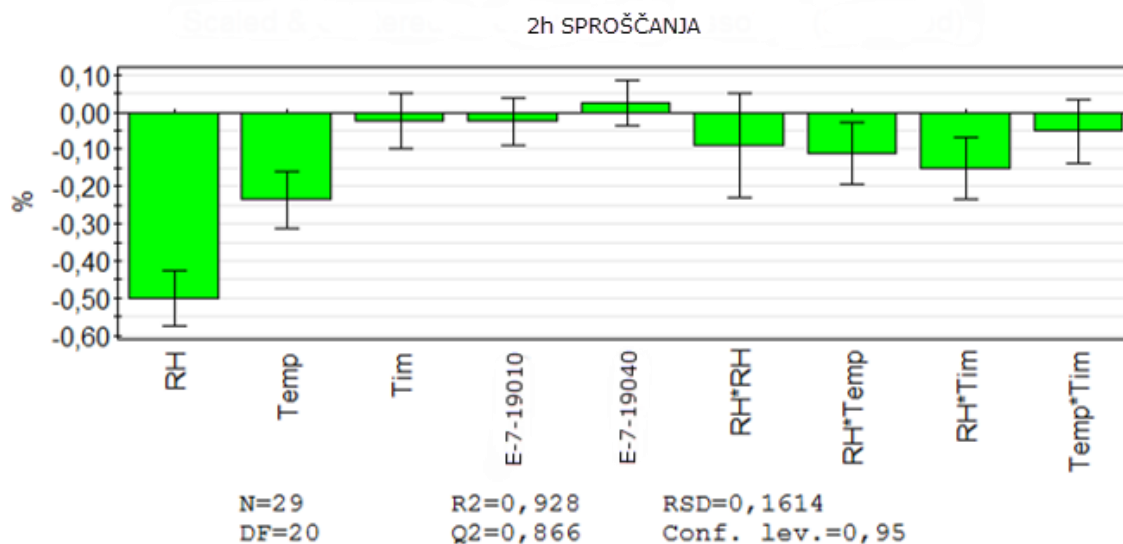
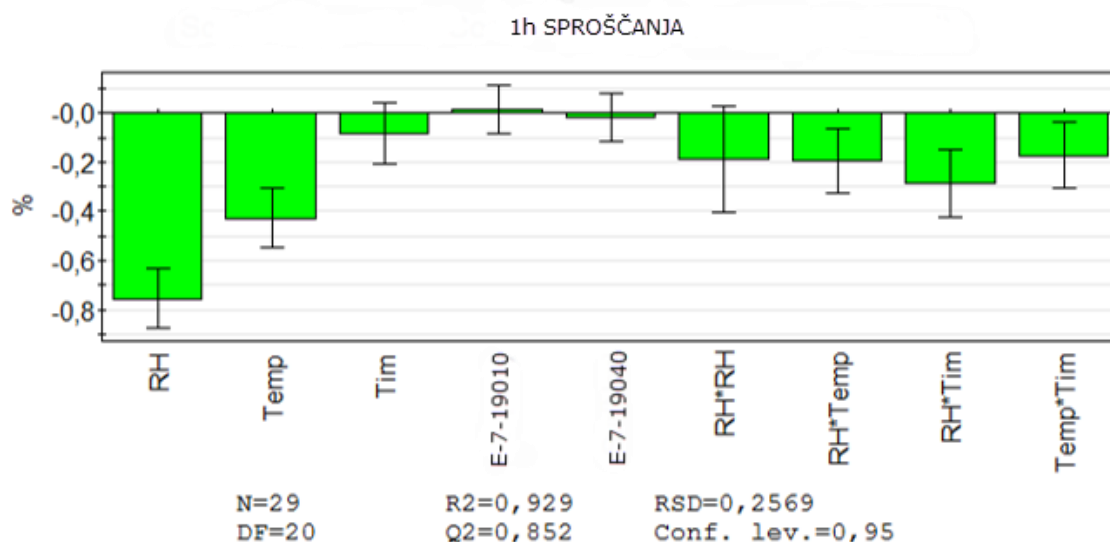
Parametri, s katerimi ocenjujemo ustreznost regresijskega modela (Slika 12), prikazujejo, da so razlike med R^2 in Q^2 odzivov pri merjenju deleža sproščene učinkovine po 1 uri, 2 urah, 3 urah in 4 urah manjše od 0,3. Glede na to, da so vrednosti Q^2 vseh štirih odzivov višje od 0,5, lahko potrdimo dobro prileganje modela in dobro napovedno moč. Ponovljivost je pri vseh odzivih višja od 0,9. Veljavnost modela je nekoliko nizka le pri odzivu merjenja deleža sproščene učinkovine po dveh urah. Zaključimo lahko, da so modeli vseh štirih odzivov zelo dobri.

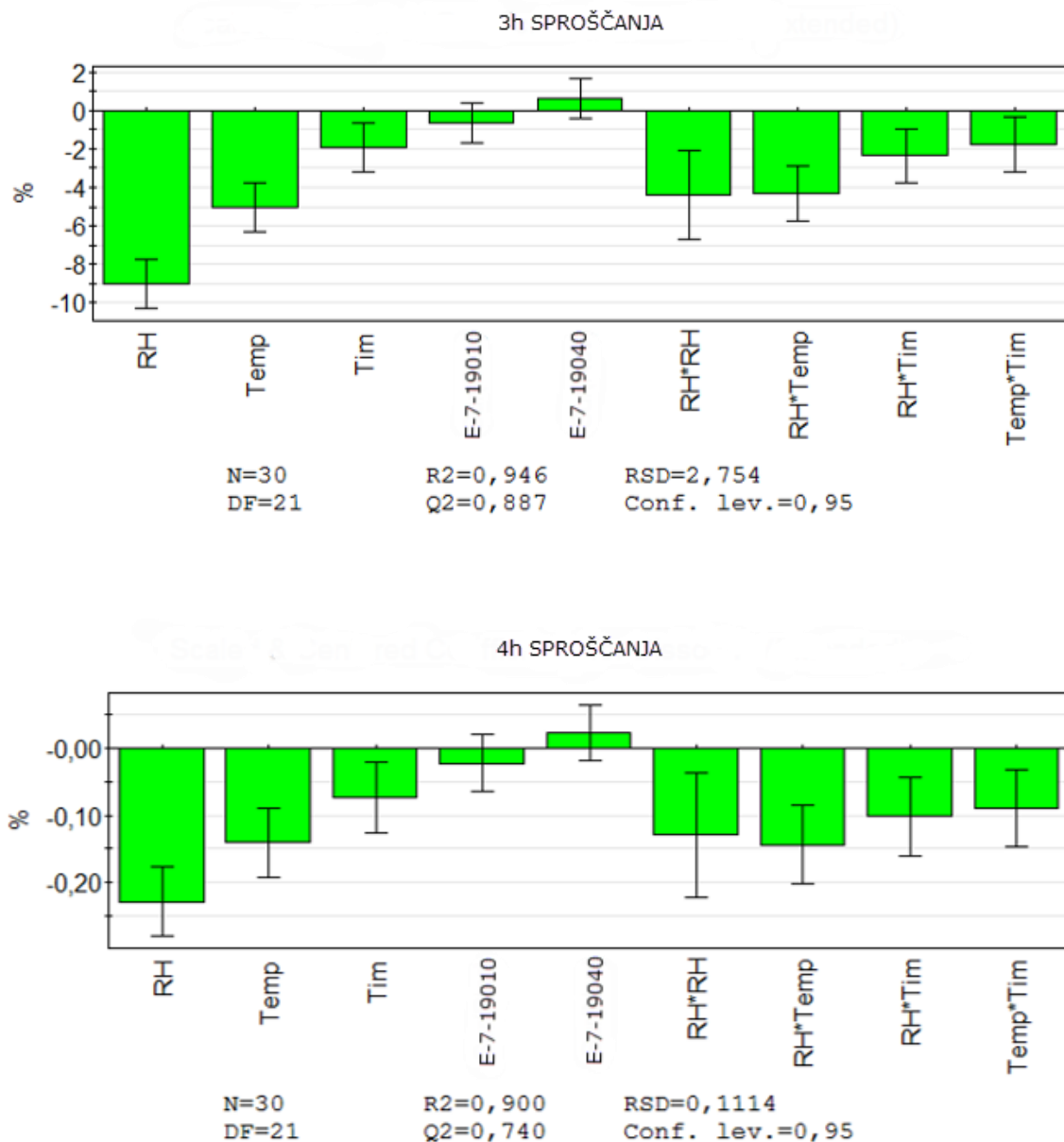


Slika 12: Grafični prikaz parametrov za oceno ustreznosti regresijskega modela pri temperiranju pelet v klimatski komori za odzive po 1 uri, 2 urah, 3 urah in 4 urah sproščanja

Za preučevanje vpliva faktorjev na temperiranje v klimatski komori lahko uporabimo grafični prikaz regresijskih koeficientov procesnih parametrov, ki so prikazani v obliki

stolpcev (Slika 13). Osredotočimo se na vpliv Sureleasea®. Opazimo lahko, da je pri vseh odzivih regresijski koeficient zelo nizek in hkrati manjši od intervala zaupanja, kar pomeni, da je vpliv modifikacije Sureleasea® statistično nesignifikanten. S tem smo dokazali, da se profili sproščanja učinkovine med vzorci pelet, obloženih z različnimi modifikacijama Sureleasea®, tudi po temperiranju v komori statistično ne razlikujejo.

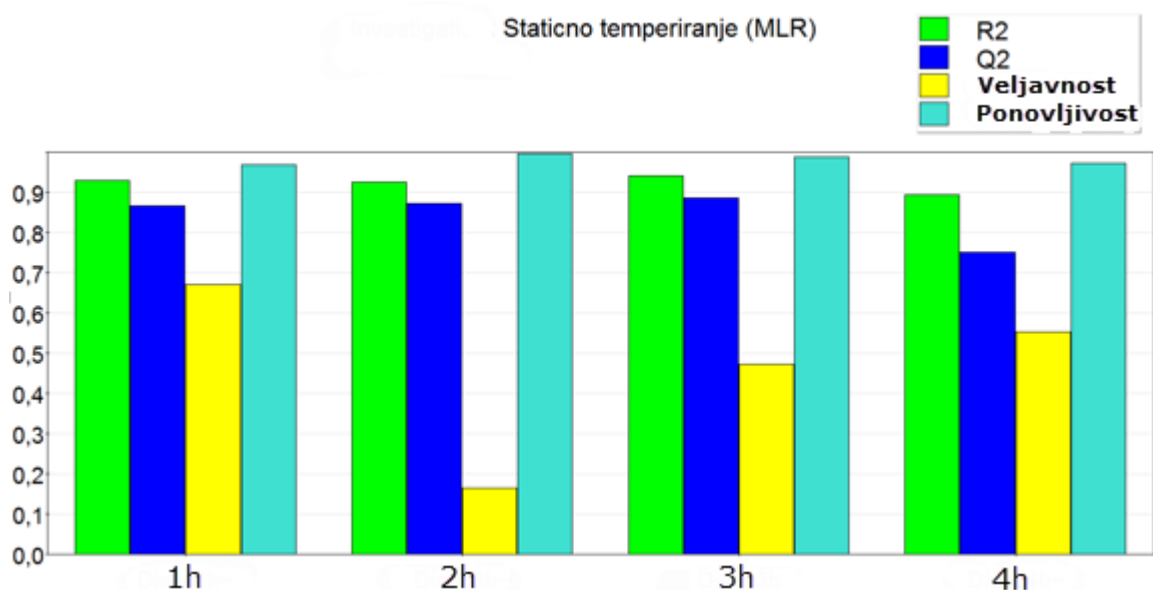




Slika 13: Grafični prikaz regresijskih koeficientov procesnih parametrov pri temperiranju pelet v klimatski komori za odzive po 1 uri, 2 urah, 3 urah in 4 urah sproščanja; vpliv tipa Sureleasea® je nesignifikanten; RH – relativna vlažnost, Temp – temperatura, Tim – čas, E-7-19010 in E-7-19040 – Surelease, RH*RH – kvadratni koeficient RV, RH*Temp – interakcija med RV in temperaturo, RH*Tim – interakcija med RV in časom, Temp*Tim – interakcija med temperaturo in časom

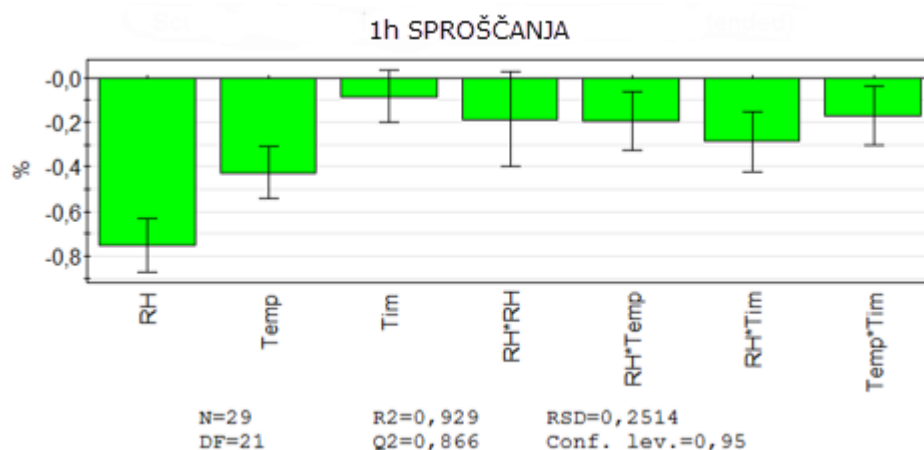
5.3.2 Vpliv RV, temperature in časa na temperiranje

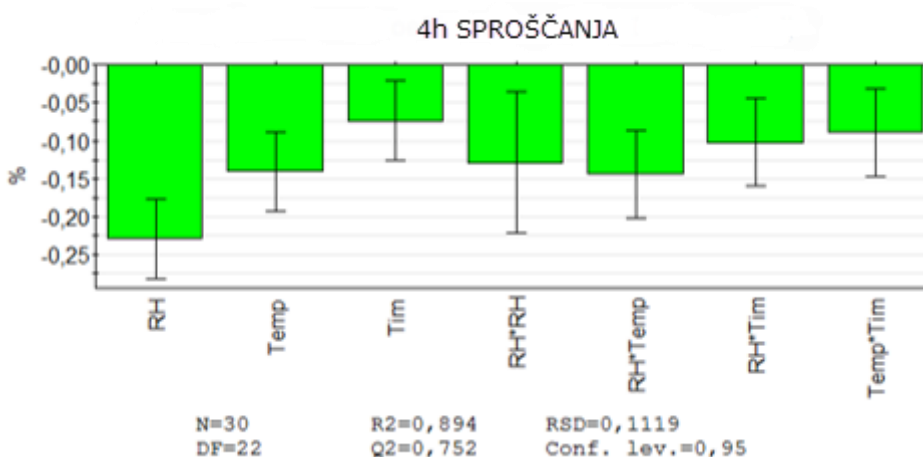
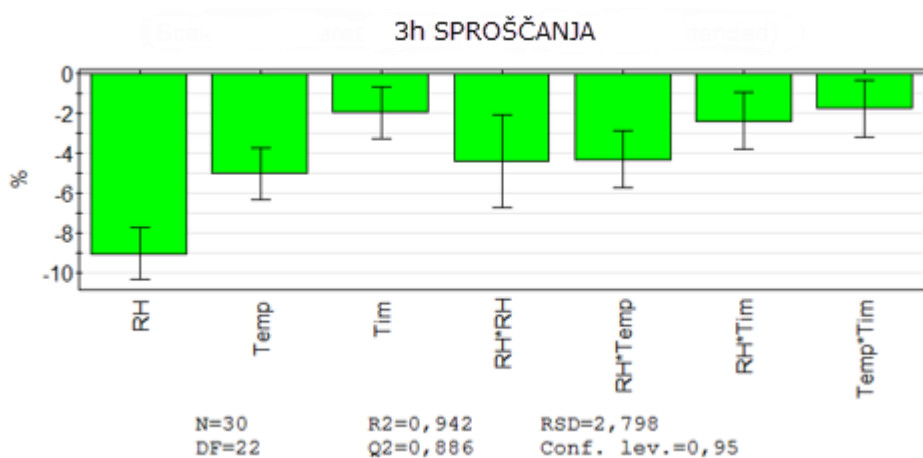
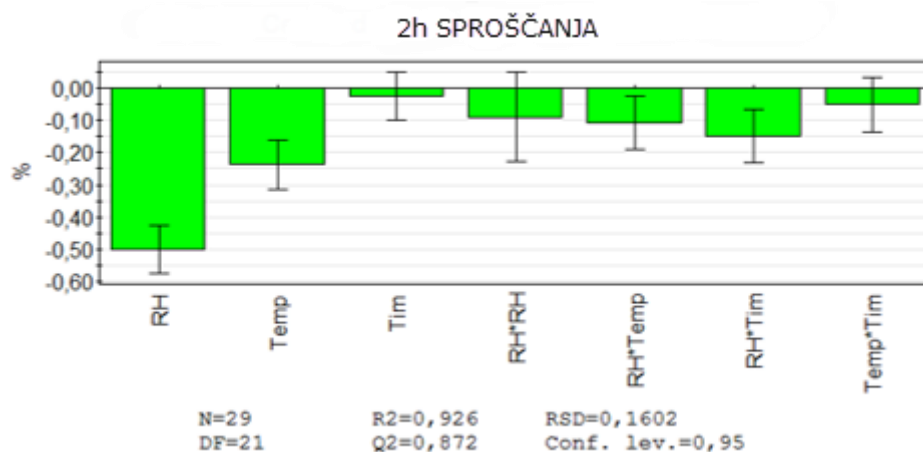
Model smo očistili neznačilnih vplivov (vpliv Sureleasea®), s čimer smo še nekoliko izboljšali ustreznost modela. Parametri, s katerimi ocenjujemo ustreznost regresijskega modela, so ponovno prikazani (Slika 14).



Slika 14: Grafični prikaz parametrov za oceno ustreznosti regresijskega modela pri temperiranju pelet v klimatski komori za odzive po 1 uri, 2 urah, 3 urah in 4 urah sproščanja

S pomočjo regresijskih koeficientov procesnih parametrov (Slika 15) lahko razložimo vpliv relativne vlažnosti, temperature in časa pri statičnem temperiranju na delež sproščene učinkovine po 1 uri, 2 urah, 3 urah in 4 urah oziroma, povedano z drugimi besedami, na profil sproščanja. Največji vpliv ima relativna vlažnost, nekoliko manjši temperatura in najmanjši vpliv čas. Regresijski koeficienti vseh treh spremenljivk so negativni, kar pomeni, da se z večanjem relativne vlažnosti, temperature in s podaljševanjem časa temperiranja hitrost sproščanja učinkovine zmanjšuje. Do enakih ugotovitev je prišel tudi Michelle M. Custred s sodelavci (27). Pri odzivih po 1 in 2 urah sproščanja je vpliv časa nesignifikanten, pri odzivih po 3 in 4 urah sproščanja pa statistično signifikanten.

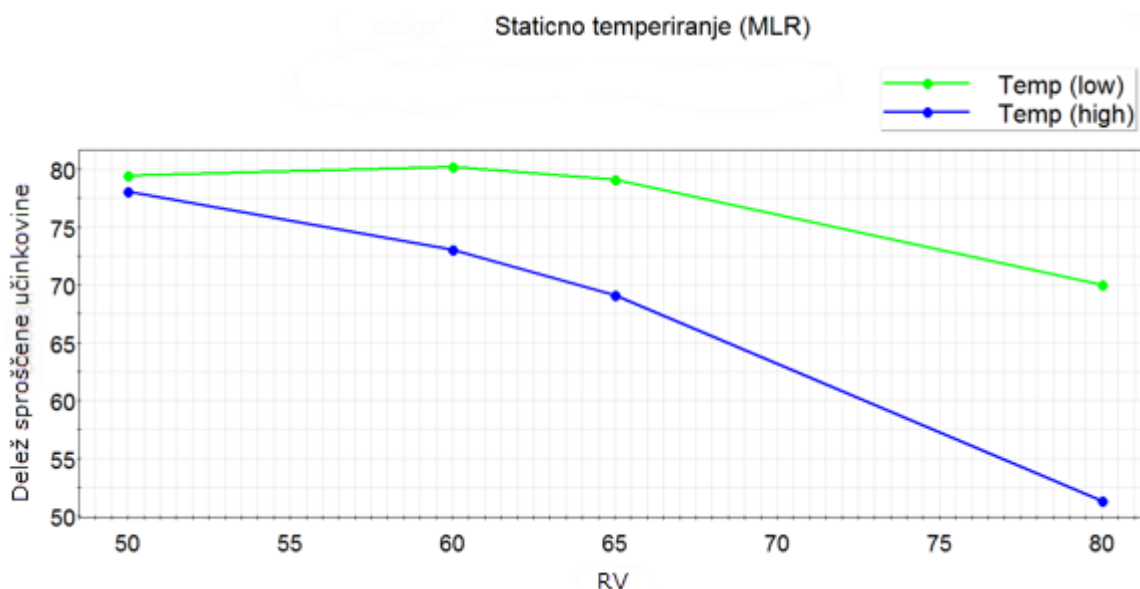




Slika 15: Grafični prikaz regresijskih koeficientov procesnih parametrov pri temperiranju pelet v klimatski komori za odzive po 1 uri, 2 urah, 3 urah in 4 urah sproščanja; RH – relativna vlažnost, Temp – temperatura, Tim – čas, E-7-19010 in E-7-19040 – Surelease, RH*RH – kvadratni koeficient RV, RH*Temp – interakcija med RV in temperaturo, RH*Tim – interakcija med RV in časom, Temp*Tim – interakcija med temperaturo in časom

Iz grafov (Slika 15) je razvidno, da na vse odzive vplivajo tudi interakcije med dvema faktorjema, interakcija med relativno vlažnostjo in temperaturo, interakcija med relativno vlažnostjo in časom ter interakcija med temperaturo in časom.

Interakcija med relativno vlažnostjo in temperaturo (Slika 16) prikazuje, da s spreminjanjem relativne vlažnosti iz nižje vrednosti proti višjim vrednostim dobimo večji vpliv na odziv, ko je drugi faktor, temperatura, višji. Po analogiji lahko razložimo drugi dve interakciji med relativno vlažnostjo in časom ter temperaturo in časom. Z višanjem relativne vlažnosti oziroma temperature dobimo večji vpliv na odziv, ko je čas daljši. To pomeni, da temperiranje najbolj vpliva na hitrost sproščanja učinkovine pri višjih vrednostih obravnavanih spremenljivk oziroma pri ostrejših pogojih.

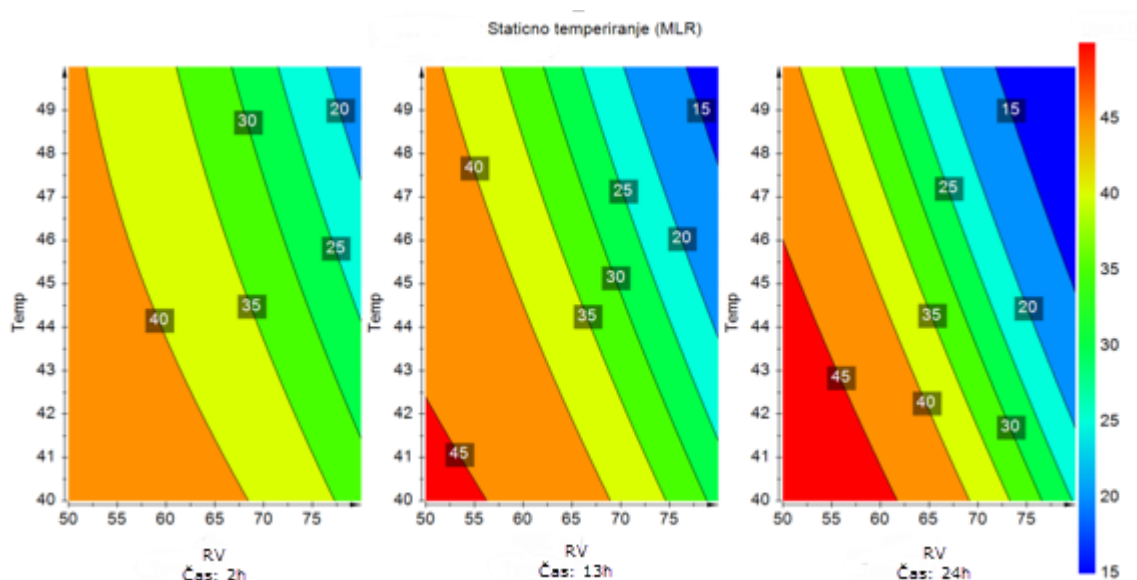


Slika 16: Grafični prikaz vpliva interakcije med relativno vlažnostjo in temperaturo na hitrost sproščanja učinkovine. Modra krivulja prikazuje vpliv RV pri višji temperaturi (50°C), zelena pa pri nižji (40°C). Graf prikazuje delež sproščene učinkovine po tretji uri testa sproščanja.

Na grafih (Slika 15) opazimo, da je pri preiskovanem modelu prisoten signifikanten vpliv kvadratnega regresijskega koeficienta $RV \cdot RV$, preostala dva pa smo iz modela očistili, ker sta bila neznačilna. To pomeni, da vpliv relativne vlažnosti v nasprotju z vplivom temperature in časa ni linearen.

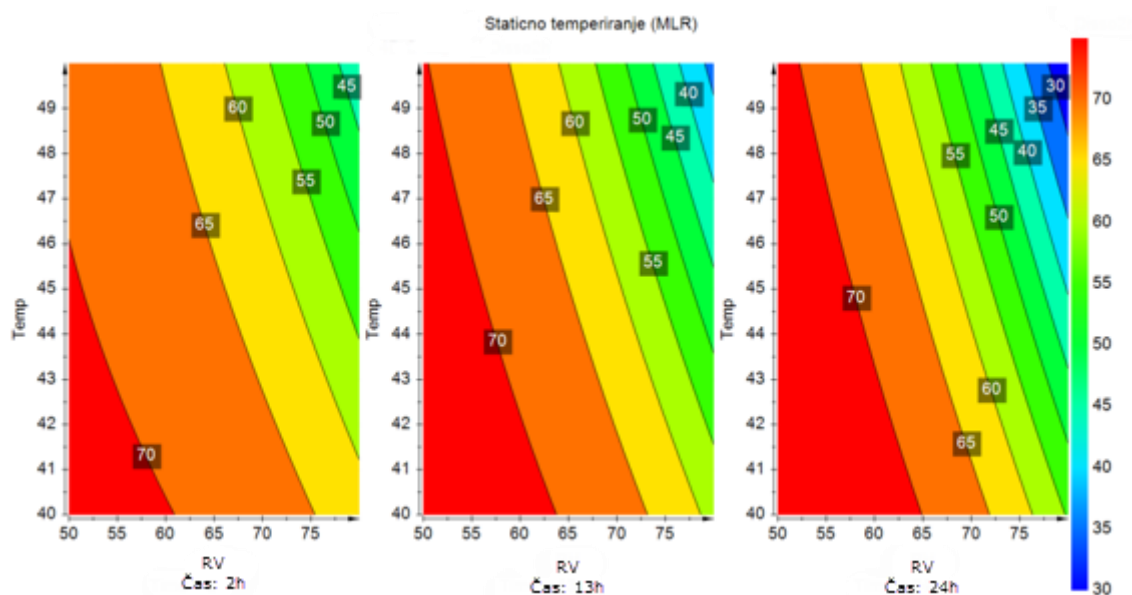
S pomočjo 4D konturnih diagramov lahko bolj pregledno predstavimo oziroma napovemo vpliv proučevanih faktorjev na delež sproščene učinkovine v določenem času. Na diagramih je predstavljena relativna vlažnost na osi x, temperatura na osi y in čas temperiranja na posameznem diagramu (2 uri, 13 ur in 24 ur). 4D konturni diagrami so predstavljeni za odzive po 1 uri, 2 urah, 3 urah in 4 urah sproščanja.

Diagrami (Slika 17) prikazujejo, da se po prvi uri pri testu sproščanja sprosti od 20 % učinkovine pri vzorcih z zelo ostrimi pogoji temperiranja (temperatura 50°C in relativna vlažnost 80 %) do 40 % učinkovine pri vzorcih z blažjimi pogoji temperiranja (temperatura 40°C in relativna vlažnost 50 %). S podaljšanjem časa temperiranja iz 2 ur na 24 ur se ta interval razširi na območje od 15 % do 45 % sproščene učinkovine.



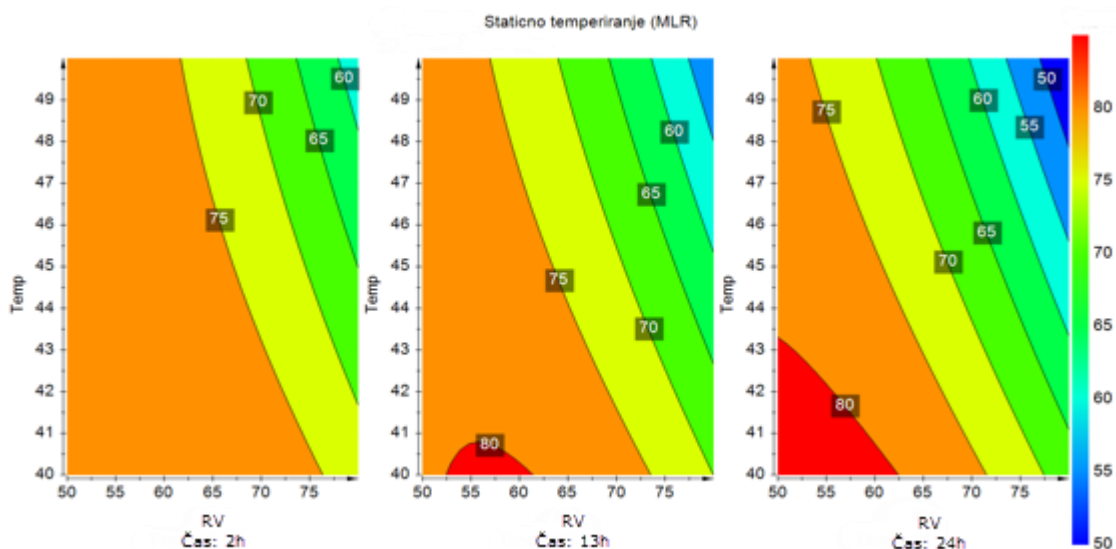
Slika 17: 4D konturni diagrami, ki napovedujejo vpliv proučevanih faktorjev (T, RV in čas) na delež sproščene učinkovine po prvi uri sproščanja

Po drugi uri pri testu sproščanja, kar prikazujejo diagrami (Slika 18), se sprosti od 45 % učinkovine pri vzorcih z zelo ostrimi pogoji temperiranja do 70 % učinkovine pri vzorcih z blažjimi pogoji temperiranja. S podaljšanjem časa temperiranja iz 2 ur na 24 ur se delež sproščene učinkovine pri vzorcih z zelo ostrimi pogoji temperiranja postopoma zmanjša na 30 %. Vpliv časa temperiranja na hitrost sproščanja učinkovine iz pelet je po dveh urah sproščanja največji, kar se vidi iz zmanjšanja širine črt na 4D konturnih diagramih po 2 urah, 13 urah in 24 urah temperiranja.



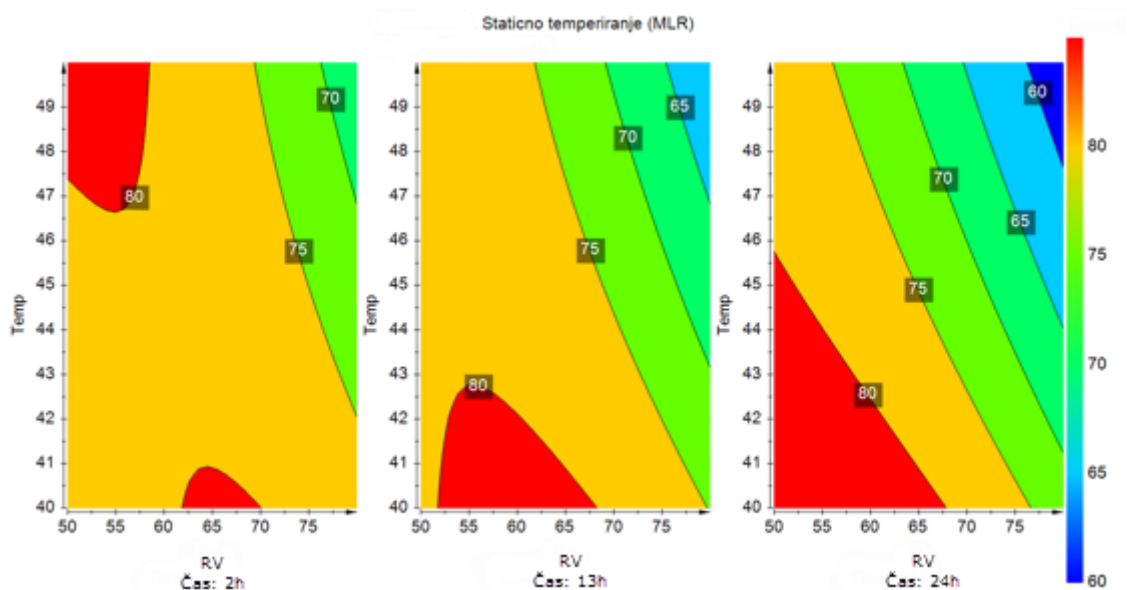
Slika 18: 4D konturni diagrami, ki napovedujejo vpliv proučevanih faktorjev (T, RV in čas) na delež sproščene učinkovine po drugi uri sproščanja

Diagrami (Slika 19) prikazujejo, da se po tretji uri pri testu sproščanja sprosti od 60 % učinkovine pri vzorcih z zelo ostrimi pogoji temperiranja do 75 % učinkovine pri vzorcih z blažjimi pogoji temperiranja. S podaljšanjem časa temperiranja iz 2 ur na 24 ur se ta interval razširi na območje od 50 % do 80 % sproščene učinkovine.



Slika 19: 4D konturni diagrami, ki napovedujejo vpliv proučevanih faktorjev (T, RV in čas) na delež sproščene učinkovine po tretji uri sproščanja

Po četrti uri pri testu sproščanja se sprosti od 70 % učinkovine pri vzorcih z zelo ostrimi pogoji temperiranja do 80 % učinkovine pri vzorcih z blažjimi pogoji temperiranja, kar prikazujejo diagrami (Slika 20). S podaljšanjem časa temperiranja iz 2 ur na 24 ur se delež sproščene učinkovine pri vzorcih z zelo ostrimi pogoji temperiranja postopoma zmanjša na 60 %.

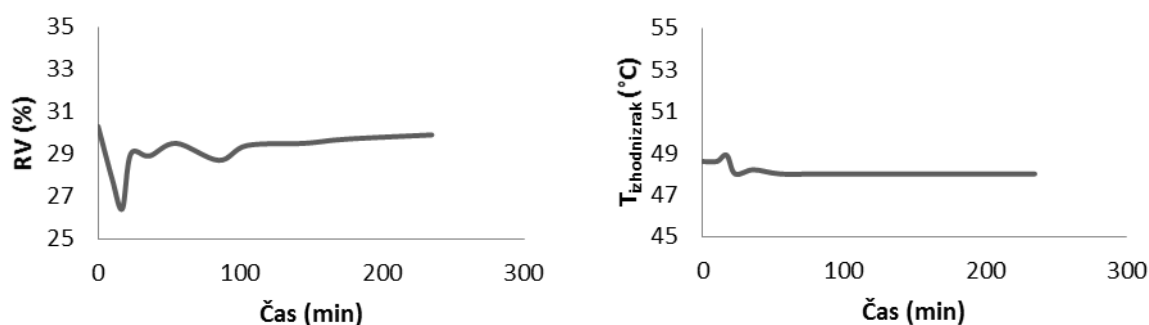


Slika 20: 4D konturni diagrami, ki napovedujejo vpliv proučevanih faktorjev (T, RV in čas) na delež sproščene učinkovine po četrty uri sproščanja

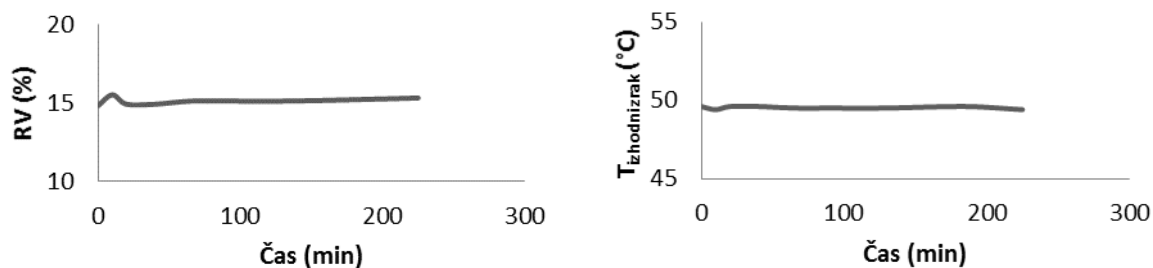
Temperiranje najbolj vpliva na hitrost sproščanja učinkovine po 1 uri, 2 urah in 3 urah sproščanja, po 4 urah sproščanja pa je vpliv temperiranja najmanjši. To se vidi s primerjanjem širine črt med grafi po 1 uri, 2 urah, 3 urah in 4 urah testa sproščanja (Slika 17, Slika 18, Slika 19, Slika 20).

5.4 Dinamično temperiranje

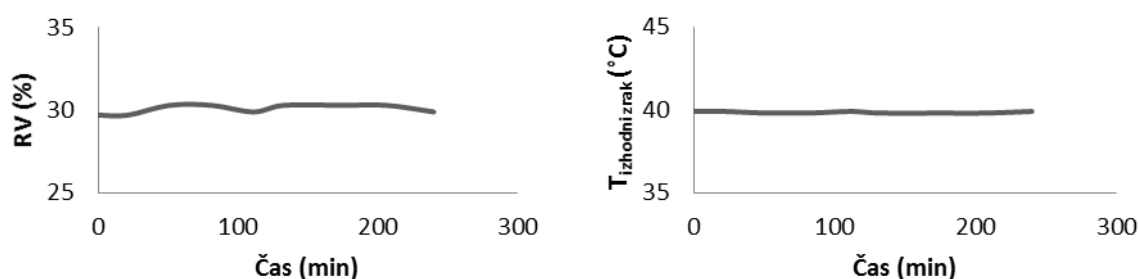
Temperiranje v procesni komori za oblaganje je dinamični proces, zato smo morali med procesom stalno spremljati relativno vlago in temperaturo izhodnega zraka ter z rahlo regulacijo procesnih parametrov zagotoviti, da sta bila parametra tekom procesa čimbolj konstantna.



Slika 21: Graf relativne vlažnosti v odvisnosti od časa ter graf temperature izhodnega zraka v odvisnosti od časa pri procesu temperiranja vzorca 1 v procesni komori za oblaganje Glatt GPCG1 pri temperaturi vhodnega zraka 85°C, pretoku procesnega zraka 100 m³/h, absolutni vlažnosti vhodnega zraka 10,1 g/kg in pretoku razprševanja vode 24,7 g/min. Vzorec pelet obložen s Surelease E-7-19040. Vrednosti relativne vlažnosti in temperature izhodnega zraka so predvidene s pomočjo enačbe.



Slika 22: Graf relativne vlažnosti v odvisnosti od časa ter graf temperature izhodnega zraka v odvisnosti od časa pri procesu temperiranja vzorca 2 v procesni komori za oblaganje Glatt GPCG1 pri temperaturi vhodnega zraka 72°C, pretoku procesnega zraka 120 m³/h, absolutni vlažnosti vhodnega zraka 4,1 g/kg in pretoku razprševanja vode 18 g/min. Vzorec pelet obložen s Surelease E-7-19040. Vrednosti relativne vlažnosti in temperature izhodnega zraka so predvidene s pomočjo enačbe.

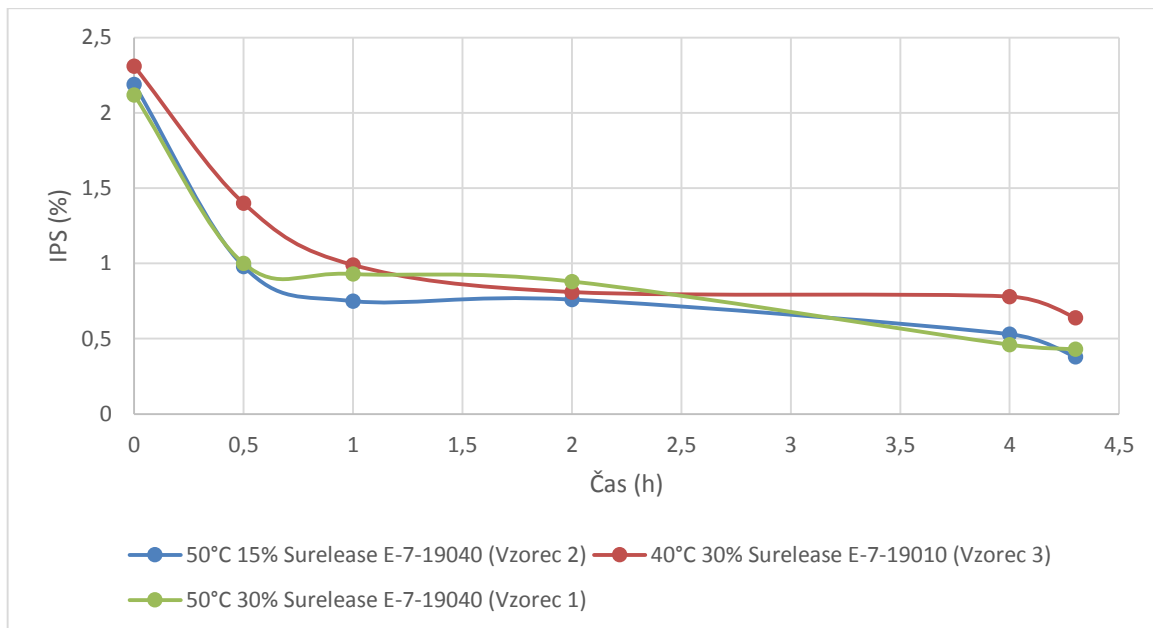


Slika 23: Graf relativne vlažnosti v odvisnosti od časa ter graf temperature izhodnega zraka v odvisnosti od časa pri procesu temperiranja vzorca 3 v procesni komori za oblaganje Glatt GPCG1 pri temperaturi vhodnega zraka 66°C, pretoku procesnega zraka 105 m³/h, absolutni vlažnosti vhodnega zraka 4,1 g/kg in pretoku razprševanja vode 19 g/min. Vzorec pelet obložen s Surelease E-7-19010. Vrednosti relativne vlažnosti in temperature izhodnega zraka so predvidene s pomočjo enačbe.

Iz grafov (Slika 22 in Slika 23) je razvidno, da smo pri vzorcu 2 in 3 uspeli konstantno vzdrževati načrtovane pogoje. Nekaj težav smo imeli pri vzorcu 1 (Slika 21), saj smo morali pri temperaturi izhodnega zraka 50°C z razprševanjem prečiščene vode dosegati 30 % relativno vlažnost izhodnega zraka. Pri tem so igrale pomembno vlogo vremenske razmere, saj smo eksperiment izvajali v zimskem času, ko je zrak suh. Možnosti dovlaževanja vhodnega zraka ni bilo, zato smo s procesnim zrakom v komoro prinesli malo vlage, kar smo morali kompenzirati s hitrejšim razprševanjem vode. To posledično zniža temperaturo izhodnega zraka, zato je bilo potrebno delati z zelo visoko temperaturo vhodnega zraka, kar je bilo na robu zmogljivosti naprave. Kljub vsemu so bile vrednosti relativne vlažnosti in temperature izhodnega zraka med procesom ustrezne.

Izgubo pri sušenju smo vzorcem določili pred začetkom temperiranja, ob vsaki točki vzorčenja ter na koncu procesa. Vsebnost vlage v peletah je med procesom padala, tudi pri

vzorcih, ki smo jih temperirali pri višjih relativnih vlažnostih in močnejšem razprševanju s prečiščeno vodo. Rezultati so predstavljeni grafično (Slika 24).



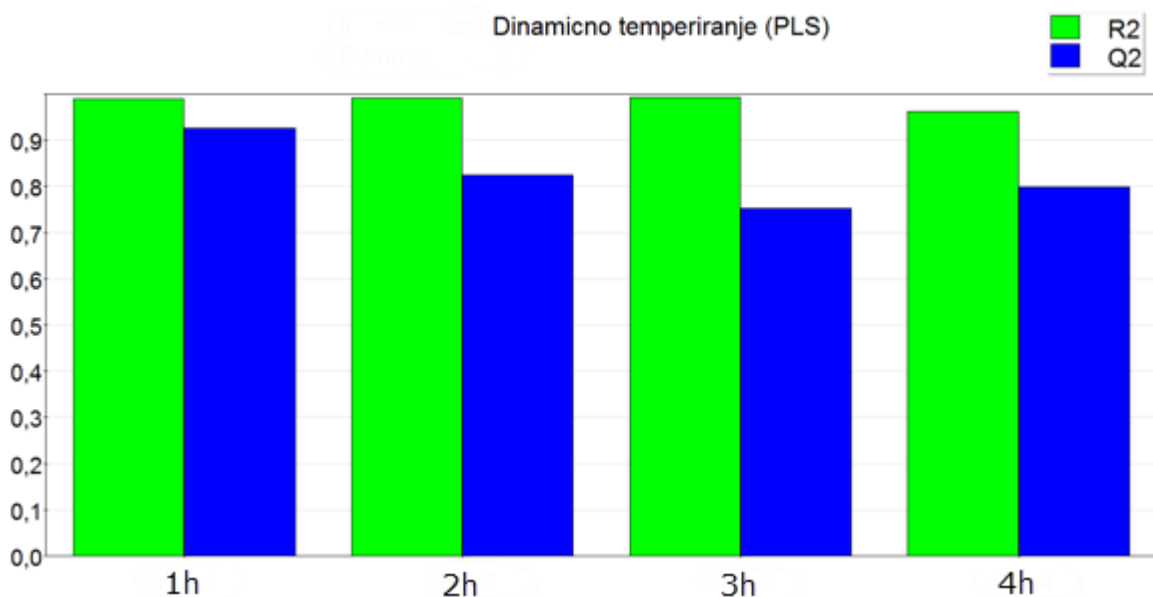
Slika 24: Graf izgube pri sušenju vzorca (IPS) med procesom temperiranja

Po izvedbi temperiranja v procesni komori za oblaganje skladno z eksperimentalnim načrtom smo vzorcem določili delež sproščene učinkovine po 0,5 ure, 1 uri, 2 urah, 3 urah, 4 urah in 7 urah z visokozmogljivim testom sproščanja.

S pomočjo programske opreme Modde smo rezultate testa sproščanja statistično ovrednotili z metodo delnih najmanjših kvadratov (PLS), ki ločeno modelira X in Y vrednosti ($X = TP' + E$, $Y = UC' + G$), nato pa ju poveže v enodimenzijski model ($U = T + H$). Kot odziv modela smo opazovali delež sproščene učinkovine po 1 uri, 2 urah, 3 urah in 4 urah.

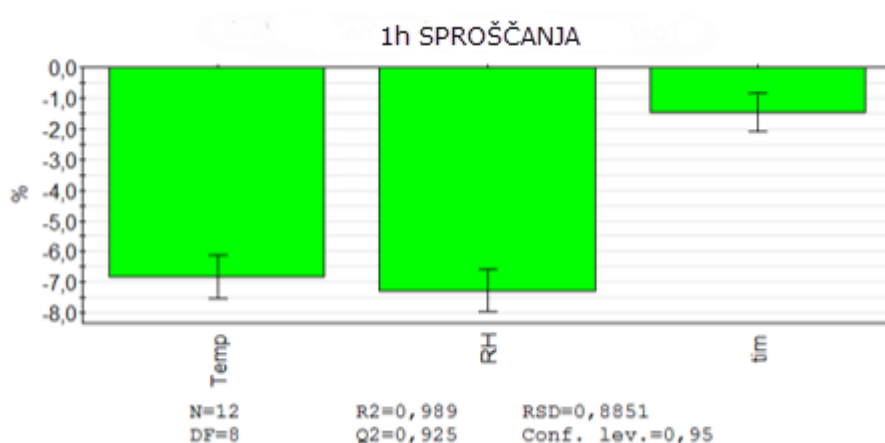
5.4.1 Vpliv RV, temperature in časa na temperiranje

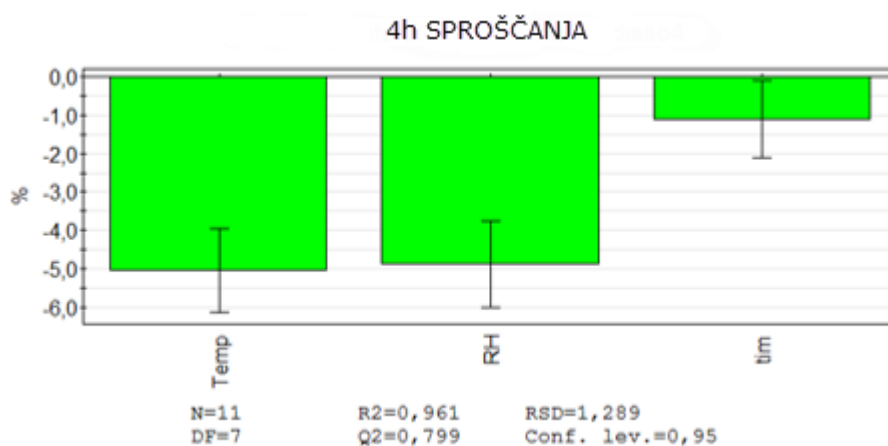
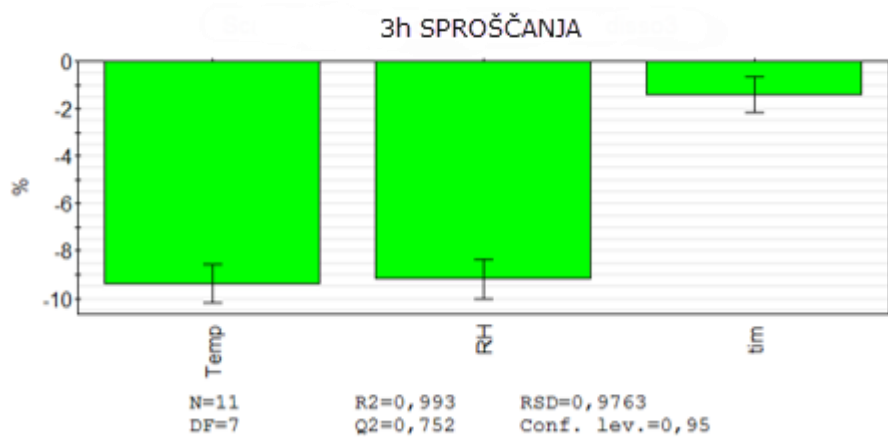
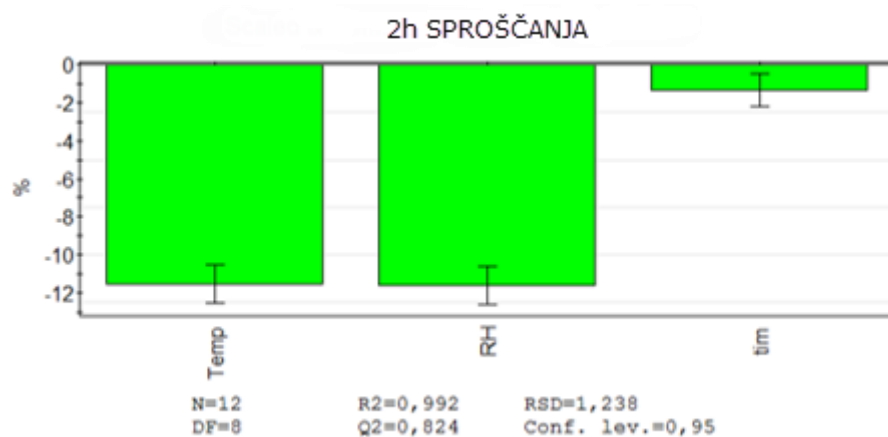
Parametri, s katerimi ocenjujemo ustreznost regresijskega modela (Slika 25), prikazujejo, da so razlike med R^2 in Q^2 odzivov pri merjenju deleža sproščene učinkovine po 1 uri, 2 urah, 3 urah in 4 urah manjše od 0,3. Ob predpostavki, da so vrednosti Q^2 vseh štirih odzivov višje od 0,5, lahko potrdimo dobro prileganje modela in dobro napovedno moč.



Slika 25: Grafični prikaz parametrov za oceno ustreznosti regresijskega modela pri temperiranju pelet v procesni komori za oblaganje za odzive po 1 uri, 2 urah, 3 urah in 4 urah sproščanja

Za preučevanje vpliva temperature, relativne vlažnosti in časa na temperiranje v procesni komori za oblaganje lahko uporabimo grafični prikaz regresijskih koeficientov, ki so prikazani v obliki stolpcev (Slika 26). Kot odziv smo spremljali delež sproščene učinkovine po 1 uri, 2 urah, 3 urah in 4 urah, kar predstavlja profil sproščanja učinkovine. Največji vpliv pri temperiranju imata temperatura in relativna vlažnost, vpliv časa je majhen. Regresijski koeficienti vseh treh spremenljivk so negativni, kar pomeni, da se z večanjem relativne vlažnosti, temperature in s podaljševanjem časa temperiranja hitrost sproščanja učinkovine zmanjšuje.

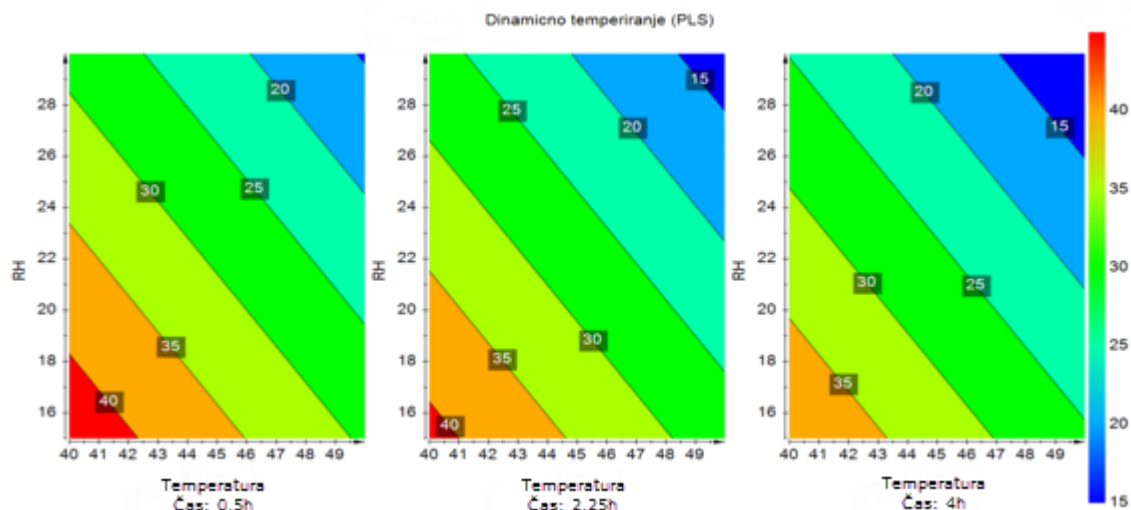




Slika 26: Grafični prikaz regresijskih koeficientov procesnih parametrov pri temperiranju pelet v procesni komori za oblaganje za odzive po 1 uri, 2 urah, 3 urah in 4 urah sproščanja; RH – relativna vlažnost, Temp – temperatura, Tim – čas, E-7-19010 in E-7-19040 – Surelease, RH*RH – kvadratni koeficient RV, RH*Temp – interakcija med RV in temperaturo, RH*Tim – interakcija med RV in časom, Temp*Tim – interakcija med temperaturo in časom

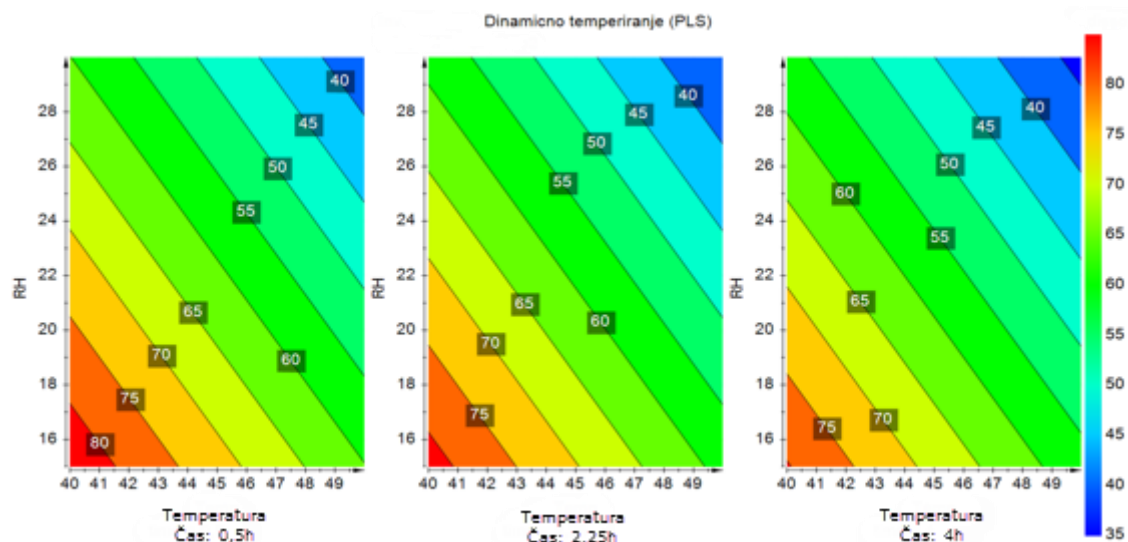
Bolj pregledno lahko predstavimo oziroma napovemo vpliv proučevanih faktorjev na temperiranje s pomočjo 4D konturnih diagramov. Na diagramih je predstavljena relativna vlažnost na osi y, temperatura na osi x in čas na posameznem diagramu. 4D konturni diagrami so predstavljeni za odzive po 1 uri, 2 urah, 3 urah, in 4 urah sproščanja.

Diagrami (Slika 27) prikazujejo, da se po prvi uri pri testu sproščanja sprosti od 20 % učinkovine pri vzorcih z zelo ostrimi pogoji temperiranja (temperatura izhodnega zraka 50°C in relativna vlažnost izhodnega zraka 30 %) do 40 % učinkovine pri vzorcih z blažjimi pogoji temperiranja (temperatura izhodnega zraka 40°C in relativna vlažnost izhodnega zraka 15 %). S podaljšanjem časa temperiranja iz 0,5 ure na 4 ure se sprosti od 15 % do 35 % učinkovine, odvisno od pogojev.



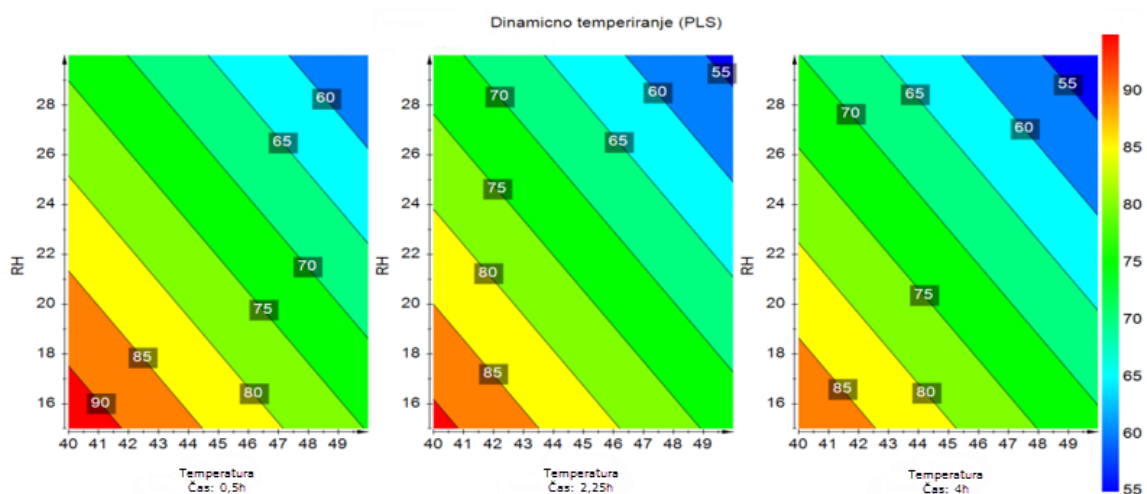
Slika 27: 4D konturni diagrami, ki napovedujejo vpliv proučevanih faktorjev (T, RV in čas) na delež sproščene učinkovine po prvi uri sproščanja

Po drugi uri pri testu sproščanja se sprosti od 40 % učinkovine pri vzorcih z zelo ostrimi pogoji temperiranja do 80 % učinkovine pri vzorcih z blažjimi pogoji temperiranja. S podaljšanjem časa temperiranja iz 0,5 ure na 4 ure se sprosti od 35 % do 75 % učinkovine, odvisno od pogojev (Slika 28).



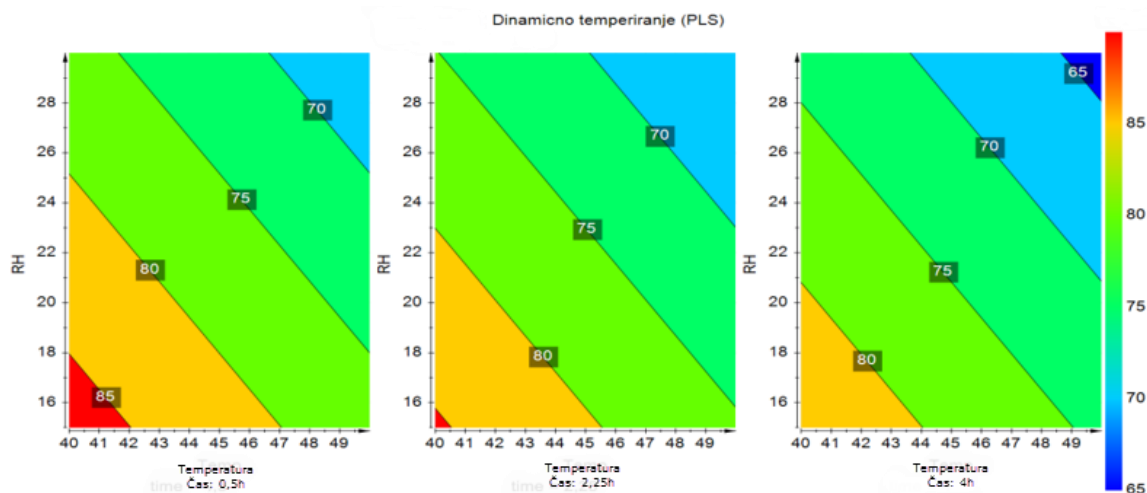
Slika 28: 4D konturni diagrami, ki napovedujejo vpliv proučevanih faktorjev (T, RV in čas) na delež sproščene učinkovine po drugi uri sproščanja

Diagrami (Slika 29) prikazujejo, da se po tretji uri pri testu sproščanja sprosti od 60% učinkovine pri vzorcih z zelo ostrimi pogoji temperiranja do 90% učinkovine pri vzorcih z blažjimi pogoji temperiranja. S podaljšanjem časa temperiranja iz 0,5 ure na 4 ure se sprosti od 55% do 85% učinkovine, odvisno od pogojev.



Slika 29: 4D konturni diagrami, ki napovedujejo vpliv proučevanih faktorjev (T, RV in čas) na delež sproščene učinkovine po tretji uri sproščanja

Po četrti uri pri testu sproščanja se sprosti od 70% učinkovine pri vzorcih z zelo ostrimi pogoji temperiranja do 85% učinkovine pri vzorcih z blažjimi pogoji temperiranja. S podaljšanjem časa temperiranja iz 0,5 ure na 4 ure se sprosti od 65% do 80% učinkovine, odvisno od pogojev temperiranja (Slika 30).



Slika 30: 4D konturni diagrami, ki napovedujejo vpliv proučevanih faktorjev (T, RV in čas) na delež sproščene učinkovine po četrti uri sproščanja

Vpliv časa temperiranja na hitrost sproščanja učinkovine iz pelet je skozi celoten profil sproščanja enakomeren, kar se vidi iz enakomerne širine črt med grafi po 0,5 ure, 2,25 ure in 4 urah temperiranja pri vseh proučevanih časih sproščanja. S primerjanjem širine črt med grafi po 1 uri, 2 urah, 3 urah in 4 urah testa sproščanja (Slika 27, Slika 28, Slika 29, Slika 30) sklepamo, da temperiranje najbolj vpliva na hitrost sproščanja učinkovine po 2 urah in 3 urah sproščanja.

5.5 Nanomehanske lastnosti obloženih pelet

Vtisno trdnost (H) in *Young*-ov modul (E) smo določili dvema vzorcema netemperiranih pelet, ki sta bila obložena s Surelease® E-7-19010 in Surelease® E-7-19040, dvema vzorcema obloženih pelet s Surelease® E-7-19010 in Surelease® E-7-19040 po 24-urnem temperiranju v klimatski komori pri temperaturi 50°C in relativni vlažnosti 80 %, in enemu vzorcu pelet, obloženemu s Surelease® E-7-19040, po 4-urnem temperiranju v procesni komori za oblaganje pri temperaturi izhodnega zraka 50°C in relativni vlažnosti 30 %. Vrednosti meritev so prikazane v preglednicah (Preglednica VII, Preglednica VIII in Preglednica IX).

Meritve mehanskih lastnosti se izvajajo na nanometrskem nivoju, zato na rezultate vplivajo vsi površinski efekti, kot so hrapavost, razlika v lokalni gostoti materiala in heterogenost filma, kar smo tudi zaznali z visoko variabilnostjo izmerjenih parametrov. S primerjanjem H in E filmske obloge med vzorcema netemperiranih pelet, obloženih s Surelease® E-7-19010 in Surelease® E-7-19040 (Preglednica VII), opazimo razliko med njima, ki je nepojasnjena, saj rezlike med enako obloženima vzorcema pelet po temperiranju ni. Test

sproščanja je pokazal, da se profila sproščanja netemperiranih vzorcev pelet ne razlikujeta (Slika 31).

Preglednica VII: Youngov modul in vtisna trdnost filmske obloge netemperiranih pelet

Temperiranje	Brez		Brez	
Surelease [®]	E-7-19010		E-7-19040	
Parameter	Young-ov modul (GPa)	Vtisna trdnost (MPa)	Young-ov modul (GPa)	Vtisna trdnost (MPa)
<i>Povprečje</i>	2,030	23	2,414	44
<i>SD</i>	0,344	6	1,052	28

S primerjanjem mehanskih lastnosti filmske obloge med vzorcem netemperiranih pelet in vzorcem pelet, temperiranih v klimatski komori (Preglednica VII in Preglednica VIII), smo ugotovili, da se po temperiranju odpornost materiala proti vdoru drugega telesa poveča. Povečanje *H* filmske obloge po temperiranju lahko pojasnimo z bolj kompaktno urejenostjo polimernih verig etilceluloze v filmski oblogi. Posledica močnejšega povezovanja med polimernimi molekulami zaradi temperiranja se kaže tudi kot rahlo povečanje *E*, kar pomeni manjšo elastičnost filmske obloge. Strukturne spremembe filmske obloge zaradi temperiranja se kažejo tudi kot zmanjšana hitrost sproščanja učinkovine iz pelet (Slika 31).

Preglednica VIII: Youngov modul in vtisna trdnost filmske obloge pelet, temperiranih v klimatski komori

Temperiranje	Statično, 50°C 80 % 24 h		Statično, 50°C 80 % 24 h	
Surelease [®]	E-7-19010		E-7-19040	
Parameter	Young-ov modul (GPa)	Vtisna trdnost (MPa)	Young-ov modul (GPa)	Vtisna trdnost (MPa)
<i>Povprečje</i>	2,821	51	2,920	52
<i>SD</i>	1,039	22	0,897	23

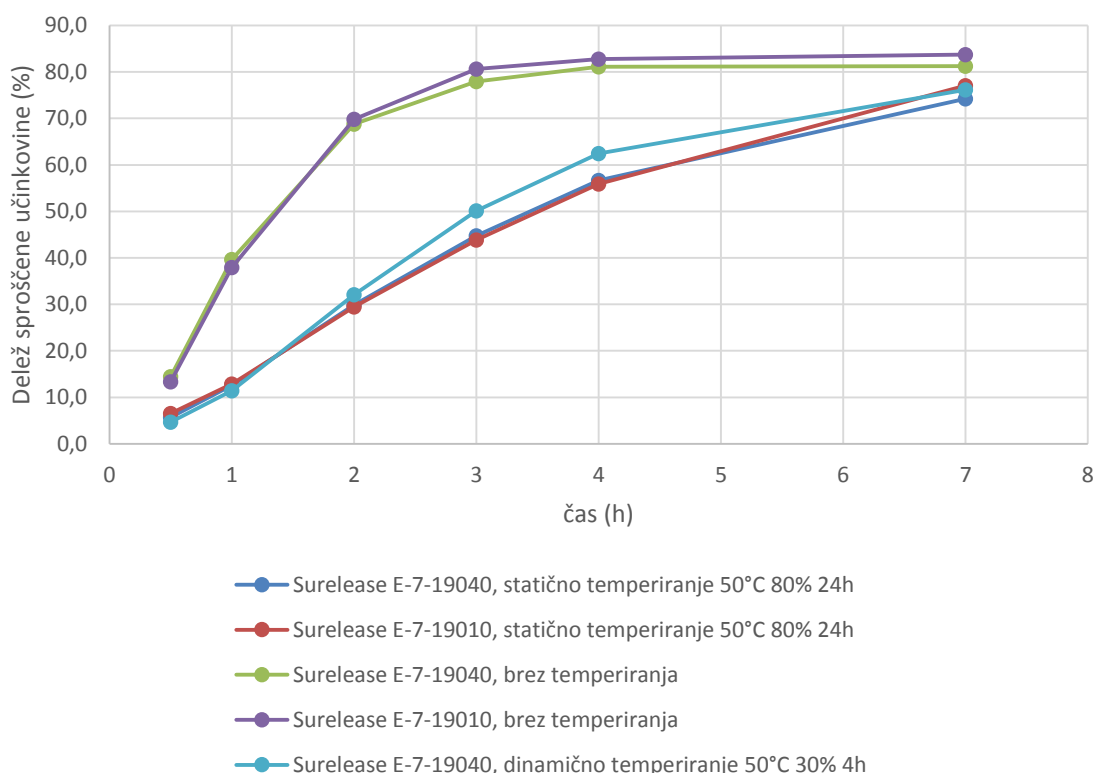
Mehanske lastnosti obeh modifikacij polimernih filmov (Surelease[®] E-7-19010 in Surelease[®] E-7-19040) se kljub zamenjavi oleinske kisline, ki je mehčalo v oblogi, po temperiranju v klimatski komori ne razlikujejo. Na ta način potrjujemo ekvivalentnost med njima.

Vrednosti *H* in *E* filmske obloge pelet, temperiranih v procesni komori za oblaganje (Preglednica IX), so nižje od filmske obloge pelet, temperiranih v klimatski komori (Preglednica VIII).

Preglednica IX: Youngov modul in vtisna trdnost filmske obloge pelet, temperiranih v procesni komori za oblaganje

Temperiranje	Dinamično, 50°C 30 % 4 h	
Surelease®	E-7-19040	
Parameter	Young-ov modul (GPa)	Vtisna trdnost (MPa)
Povprečje	2,003	46
SD	1,234	25

Rezultati testa sproščanja enakih temperiranih vzorcev pelet, kot smo jim določili mehanske lastnosti filmske obloge (Slika 31) kažejo razmeroma enak profil sproščanja učinkovine. Zato smo pri teh vzorcih pričakovali tudi enake mehanske lastnosti filmske obloge. S pomočjo SEM smo ugotovili, da struktura filmske obloge pelet, temperiranih v procesni komori za oblaganje ni kompaktna (prisotnost mehurčkov v filmu). Ker merjenje na nanoindenterju poteka lokalno, smo z deformacijo nekompaktnega filma določili nižje vrednosti E in H .

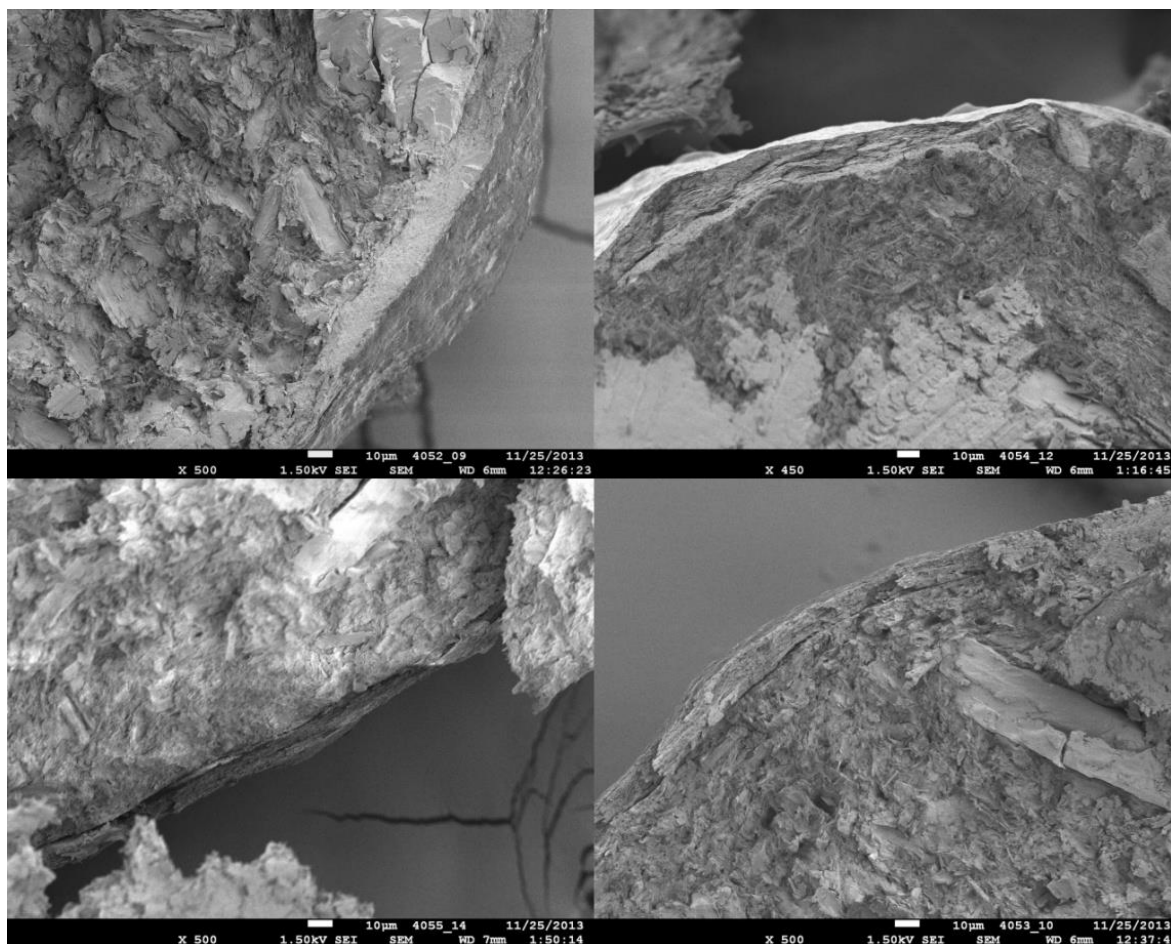


Slika 31: Graf profilov sproščanja učinkovine iz vzorcev pelet

5.6 Vrstični elektronski mikroskop (SEM)

S slik prereзов pelet, posnetih z vrstičnim elektronskim mikroskopom (Slika 32), smo opazovali strukturo filmske obloge netemperiranih pelet in pelet, temperiranih v klimatski

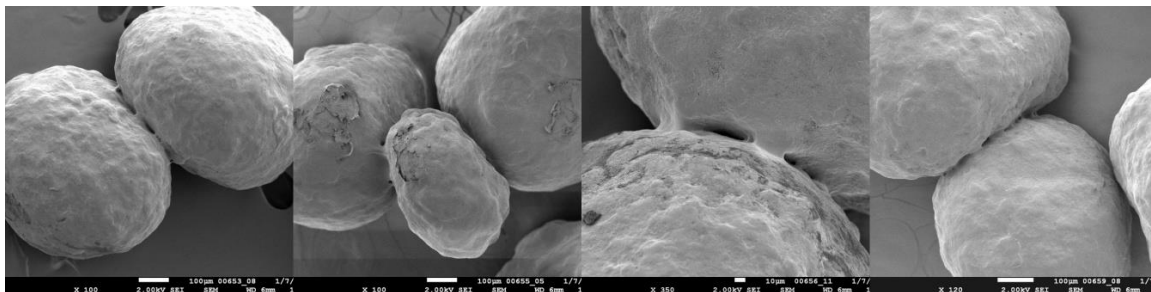
komori ter procesni komori za oblaganje. Prav tako smo primerjali strukturi filmov iz Surelease[®] E-7-19010 in E-7-19040. Ugotovili smo, da z opazovanjem strukture filma pri 500-kratni povečavi ne moremo razlikovati med načinom temperiranja niti med modifikacijama Surelease[®] E-7-19010 in E-7-19040. Opazimo lahko le majhno razliko pri strukturi temperiranega in netemperiranega filma. Po temperiranju postane film nekoliko bolj slojevit.



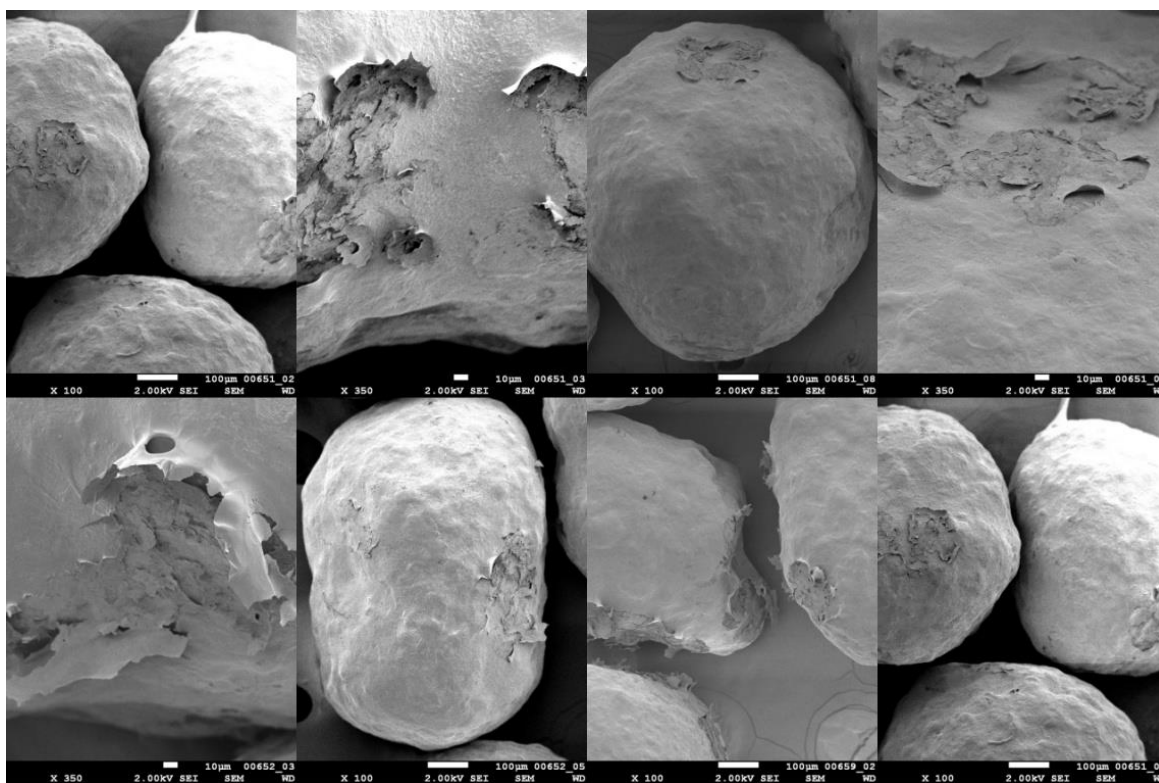
Slika 32: Prerezi pelet. Zgoraj levo netemperirana peleta, zgoraj desno peleta po 4 urah dinamičnega temperiranja pri 50°C in 30 % RV, spodaj peleti po 24 urah statičnega temperiranja pri 50°C in 80 % RV, levo obložena s Surelease[®] E-7-19010, desno obložena s Surelease[®] E-7-19040.

Pri opazovanju posnetkov površine pelet smo ugotovili precejšnjo poškodovanost filmske obloge, ki se je zgodila med temperiranjem pelet v procesni komori za oblaganje (Slika 33 in Slika 34). Poškodovanost pelet je najvišja pri vzorcu 1, ki smo ga temperirali pri višji relativni vlažnosti in temperaturi (30 % in 50°C). Nekoliko manj poškodb smo opazili pri vzorcu 3 (30 % RV in 40°C), najmanj poškodb je bilo pri temperiranju vzorca 2 (15 % RV in 50°C), pri katerem je bil pretok vode za razprševanje najmanjši. Čas temperiranja vpliva na poškodovanost pelet. Po 0,5 ure temperiranja je bilo poškodb najmanj, po 4 urah pa

največ. Vzrok za poškodbe je lepljenje pelet med fluidizacijo v procesni komori zaradi razprševanja vode. Pri fluidizaciji pelet pri višji vlažnosti prihaja do obsežnejše aglomeracije.



Slika 33: Aglomerirane pelete po temperiranju v procesni komori za oblaganje Glatt GPCG1

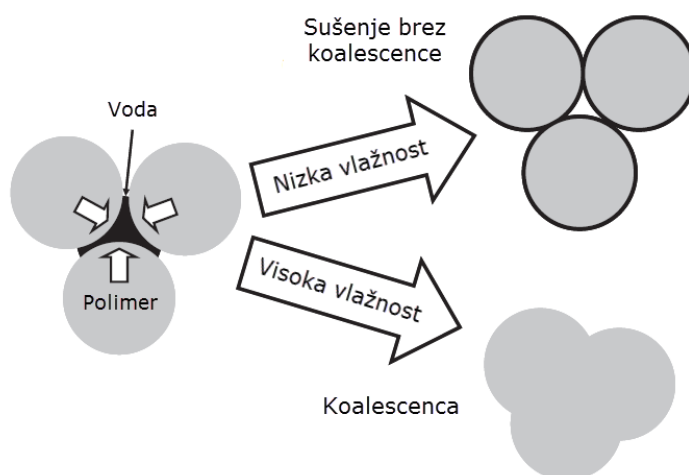


Slika 34: Primeri poškodovanih pelet po temperiranju v procesni komori za oblaganje Glatt GPCG1

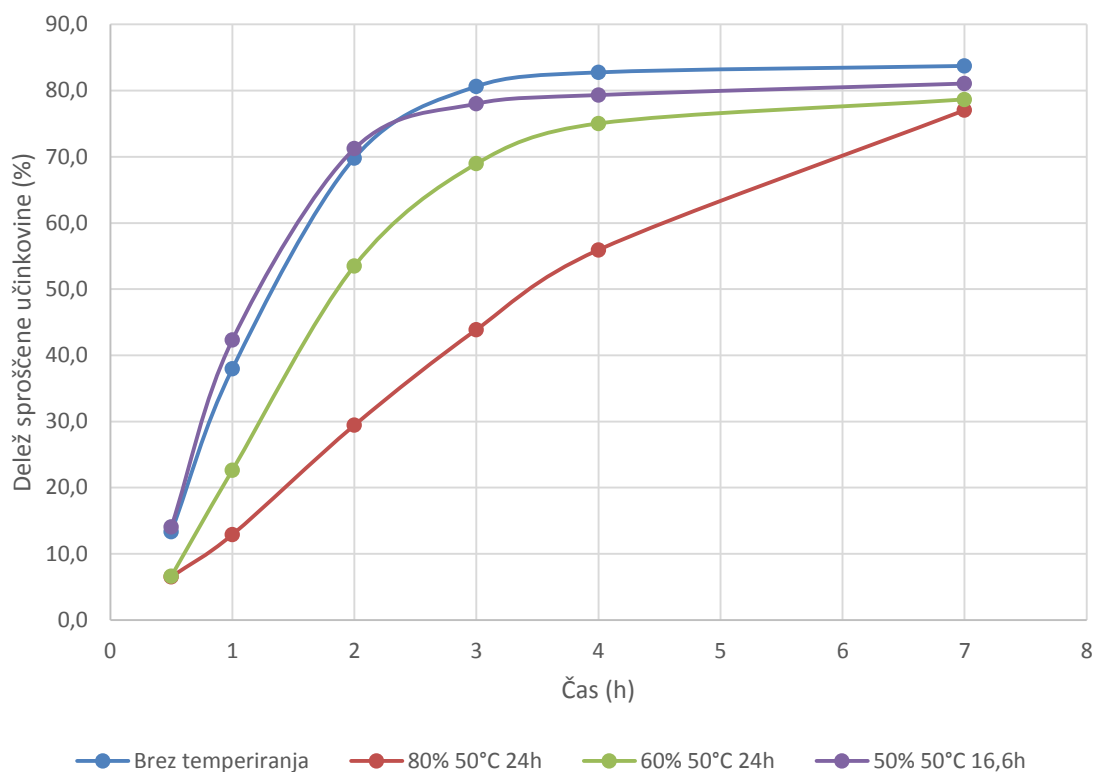
6 RAZPRAVA

Pri temperiranju filmske obloge se dogajajo spremembe strukture polimernega filma na molekulskem nivoju, zato je najpomembnejši parameter, ki vpliva na uspešnost zlitja delcev polimera, ureditev polimernih verig in njihova interpenetracija med procesom temperiranja polimera. Posledica spremembe strukture polimernega filma je upočasnjena profil sproščanja učinkovine iz pelet. MFFT je dejavnik, ki vpliva na makroskopske lastnosti filma, kot sta razpokanost, zveznost. Rezultati sproščanja učinkovine iz pelet, temperiranih pri različnih pogojih, kažejo, da je stopnja utrditve filmske obloge večja pri temperiranju pelet pri temperaturi, višji od T_g filmske obloge, ki smo jo s pomočjo diferenčne dinamične kalorimetrije določili med 43°C in 50°C. Ko je polimer segret nad temperaturo steklastega prehoda, je v zmehčanem stanju, kar pomeni, da je gibljivost polimernih verig večja, zlitje polimernih delcev, ureditev polimernih verig in njihova interpenetracija so zaradi tega olajšane.

Za optimalno zlitje polimernih delcev v zvezan film pri temperiranju je bila pomembna visoka relativna vlažnost (Slika 36), ki zagotavlja močan prispevek kapilarnih sil, ki dodatno pripomorejo k tvorjenju filma. Kadar temperiranje pri visoki vlažnosti zagotavlja počasnejše profile sproščanja kot temperiranje pri nižji relativni vlažnosti, je to znak, da je bil zaradi suhih pogojev med procesom oblaganja produkt presušen, zato je prišlo med procesom tvorbe filma zgolj do minimalnega zlitja delcev polimera (Slika 35) (14).



Slika 35: Tvorjenje filma iz koloidne disperzije med različnimi pogoji oblaganja, prirejeno po (14)



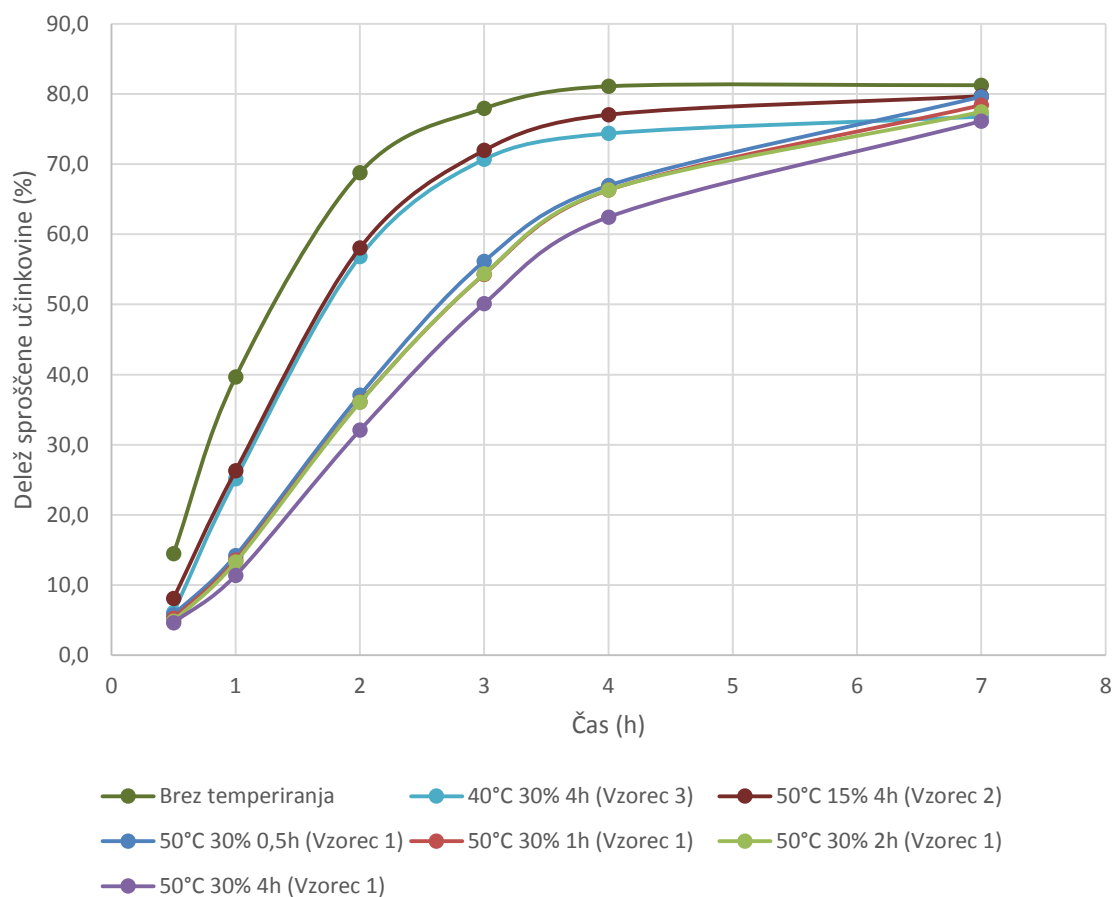
Slika 36: Graf profilov sproščanja učinkovine iz pelet, obloženih s Surelease® E-7-19010, statično temperiranih pri različnih relativnih vlažnostih v klimatski komori, ki prikazujejo vpliv relativne vlage temperiranja na profil sproščanja

Z modeliranjem smo dokazali, da ima pri statičnem temperiranju največji vpliv relativna vlažnost, nekoliko manjši temperatura in najmanjši vpliv čas. Dokazali smo, da modifikacija etilcelulozne disperzije ne vpliva na hitrost sproščanja učinkovine po temperiranju obloženih pelet. Surelease® E-7-19010 in Surelease® E-7-19040 se razlikujeta v viru, iz katerega je pridobljena oleinska kislina, ki ima funkcijo mehčala. Oleinska kislina v Sureleaseu® E-7-19010 je živalskega izvora, v Sureleaseu® E-7-19040 pa rastlinskega izvora.

Pri dinamičnem temperiranju ima največji vpliv temperatura, nekoliko manjši relativna vlažnost in najmanjši vpliv čas.

Zaradi visoke T_g polimera, zahtev po visoki relativni vlažnosti za uspešno utrditev filma, so pogoji temperiranja zahtevni. To se je odražalo tudi pri prenosu tehnologije temperiranja v procesno komoro za oblaganje, saj smo imeli precej težav pri zagotavljanju tako ostrih procesnih pogojev (50°C in 30% RV). Da se produkt med procesom zaradi vlage ni lepil na steno procesne komore, smo morali biti z njeno izbiro previdni. Odločili smo se za procesno komoro za oblaganje Glatt GPCG1. Pri prvem poskusu temperiranja

pri temperaturi izhodnega zraka 50°C in relativni vlažnosti 30% smo bili s postavitvijo šobe na zgornjem nivoju in tlaku razprševanja 2 bara neuspešni. Z prilagoditvijo pozicije šobe za razprševanje na spodnji nivo, zmanjšanjem tlaka razprševanja na 1,8 bara in uporabo šobe, izolirane s teflonom, nam je uspelo vzpostaviti želene procesne pogoje, pri katerih smo uspešno izvedli proces temperiranja v procesni komori za oblaganje. Z zmanjšanjem tlaka razprševanja smo ustvarili večje kapljice vode, z uporabo izolirane šobe pa smo zmanjšali kondenzacijo vodne pare na šobi za razprševanje in posledično lepljenje pelet. Z vzorcem 1 smo s temperiranjem pri ostrejših pogojih temperature in vlage uspeli vplivati na profil sproščanja, z vzorcem 2 in vzorcem 3 pa smo pokazali vpliv vlage in temperature na temperiranje. Z znižanjem temperature izhodnega zraka na 40°C in tudi z znižanjem relativne vlažnosti izhodnega zraka na 15 % se učinkovitost temperiranja v procesni komori za oblaganje občutno zmanjša (Slika 37).



Slika 37: Graf profilov sproščanja učinkovine iz pelet, dinamično temperiranih pri različnih temperaturah in relativnih vlažnostih izhodnega zraka v procesni komori za oblaganje

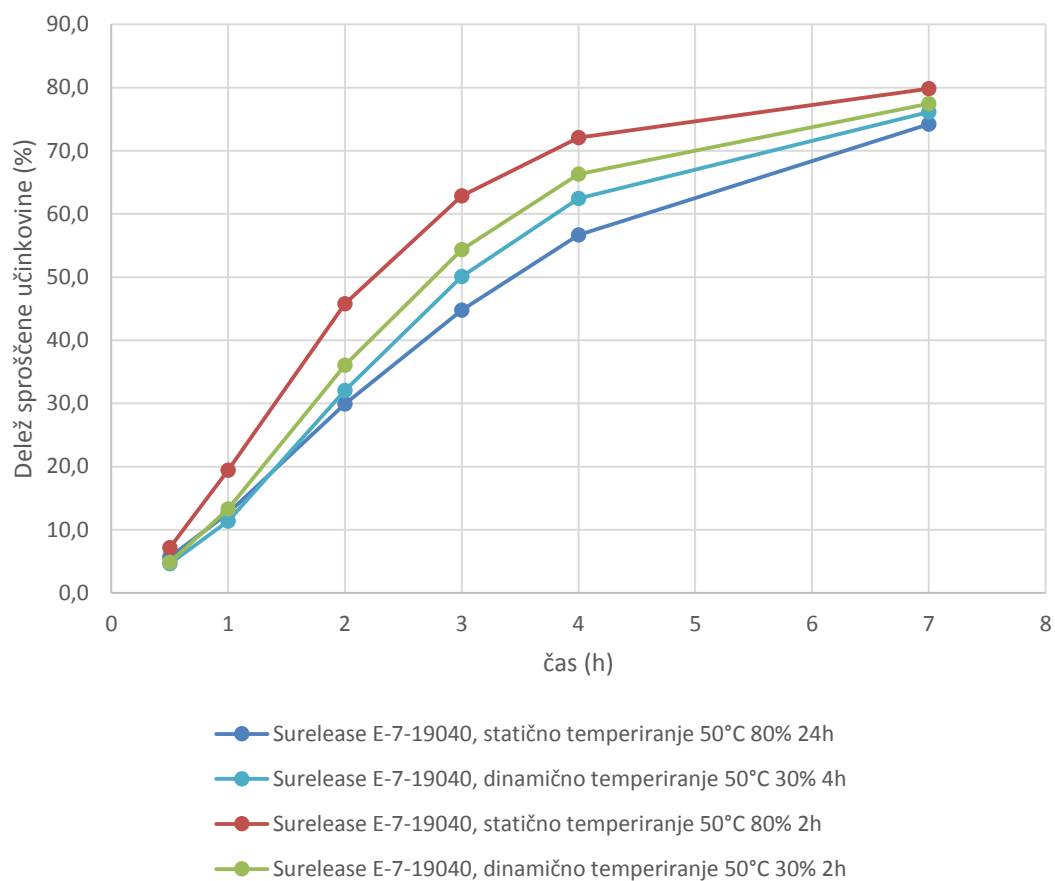
Mehanske lastnosti (vtisna trdnost H in Youngov modul E) obeh modifikacij polimernih filmov (Surelease[®] E-7-19010 in Surelease[®] E-7-19040) se kljub zamenjavi oleinske kisline, ki je mehčalo v oblogi, po temperiranju v klimatski komori ne razlikujejo. To potrjuje ekvivalentnost med njima.

S primerjanjem mehanskih lastnosti filmske obloge med vzorcem netemperiranih pelet in vzorcem pelet, temperiranih v klimatski komori smo ugotovili, da se po temperiranju odpornost materiala proti vdoru drugega telesa poveča. Posledica močnejšega povezovanja med polimernimi molekulami zaradi temperiranja se kaže tudi kot rahlo povečanje E , kar pomeni manjšo elastičnost filmske obloge.

Vrednosti H in E filmske obloge pelet, temperiranih v procesni komori za oblaganje, so nižje kot pri filmski oblogi pelet, temperiranih v klimatski komori. S pomočjo SEM smo ugotovili, da struktura filmske obloge pelet, temperiranih v procesni komori za oblaganje ni kompaktna (prisotnost mehurčkov v filmu). Ker merjenje na nanoindenterju poteka lokalno, smo z deformacijo nekompaktnega filma določili nižje vrednosti E in H .

Po pregledu SEM posnetkov smo opazili obsežne poškodbe filmske obloge, ki so nastale med temperiranjem v procesni komori za oblaganje zaradi lepljenja pelet, ki so bile zelo omočene zaradi razprševanja vode. Predvidevam, da bi z optimizacijo razprševanja ta vpliv lahko zmanjšali. Sklepamo, da poškodbe vplivajo tudi na hitrost difuzije učinkovine skozi oblogo in na profil sproščanja učinkovine iz pelet, ki je tako hitrejši, kot bi bil, če poškodb ne bi bilo.

Učinkovitost dinamičnega temperiranja v primerjavi s statičnim lahko primerjamo s pomočjo profilov sproščanja (Slika 38). Sklepamo lahko, da je dinamično temperiranje učinkovitejše, saj je čas za dosego primerljivih profilov krajši, pogoji temperiranja pa milejši. Vendar zaradi poškodovanosti pelet ne moremo z gotovostjo primerjati profilov sproščanja, saj lahko poškodbe vplivajo na sproščanje. Z optimizacijo procesa dinamičnega temperiranja bi lahko dosegli hitro in učinkovito temperiranje pelet.



Slika 38: Graf izbranih profilov sproščanja statično in dinamično temperiranih pelet

7 ZAKLJUČKI

- Modifikacija etilcelulozne disperzije (Surelease® E-7-19010 in Surelease® E-7-19040) ne vpliva na lastnosti obloženih pelet, kar smo potrdili s testom sproščanja in z merjenjem nanomehanskih lastnosti obloženih pelet.
- Najpomembnejša procesna parametra, ki imata pri temperiranju največji vpliv, sta relativna vlažnost in temperatura. Pri statičnem temperiranju je pomembnejša relativna vlažnost, pri dinamičnem temperiranju ima nekoliko večji vpliv temperatura. Čas ima pri obeh načinih temperiranja najmanjši vpliv. Za dosego učinkovitega temperiranja morajo biti izpolnjeni vsi trije pogoji, to pomeni za določen čas izpostaviti obložen vzorec pelet zadosti visoki temperaturi in relativni vlagi (statično temperiranje: $RV > 65 \%$, $T > 45^{\circ}\text{C}$ in čas vsaj 2h; dinamično temperiranje z razprševanjem prečiščene vode: učinkovito temperiranje smo dosegli pri $RV = 30 \%$, $T = 50^{\circ}\text{C}$ in času 0,5 ure, z znižanjem RV na 15% ali T na 40°C je bilo temperiranje neučinkovito).
- S temperiranjem filmskih oblog iz Sureleasea® se profil sproščanja učinkovine upočasnjuje, ker se spreminja struktura filma.
- Trdnost filmske obloge iz Sureleasea® se po temperiranju poveča, elastičnost pa zmanjša.
- Dinamično temperiranje je bolj učinkovito od statičnega, obenem se izognemo enemu procesnemu koraku.

8 LITERATURA

1. Swarbick J, Boylan JC. Encyclopedia of pharmaceutical technology. 3rd ed. Informa Healthcare, London, 2006: 2651-2663.
2. Aulton EM. The design and manufacture of medicines. 3rd ed. Elsevier Health Sciences, London, 2007: 419-421, 500-508.
3. Srčič S, Dreu R, Ilić I, Petek P, Pišek R, Dimnik A. Vaje iz industrijske farmacije. Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2009: 1-13.
4. Slomkowski S, Aleman JV, Gilbert RG, Hess M, Horie K, Jones RG, Kubisa P, Meisel I, Mormann W, Penczek S, Stepto RFT. Terminology of polymers and polymerization processes in dispersed systems (IUPAC Recommendations 2011). Pure and Applied Chemistry 2011; 83 (12): 2229-2259.
5. European pharmacopoeia. 7th ed. Council of Europe, Strasbourg, 2011.
6. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6th ed. Pharmaceutical Press, UK, 2009.
7. Leng DE, Sigelko WL, Saunders FL. Aqueous dispersions of plasticized polymer particles. United States Patent, Patent number 4,502,888, date of patent March 5, 1985.
8. Warner GL, Leng DE. Continuous process for preparing aqueous polymer microsuspension. United States Patent, Patent number 4,123,403, date of patent October 31, 1978.
9. Colorcon: Surelease® Ethylcellulose Dispersion Type B NF. Specification and Documentation Comparison: E-7-19010 and E-7-19040. Regulatory Datasheet, 2010.
10. Siepmann F, Siepmann J, Walther M, MacRae RJ, Bodmeier R. Polymer blends for controlled release coatings. Journal of Controlled Release 2008; 125 (1): 1-15.
11. Sadeghi F, Ford JL, Rubinstein MH, Rajabi-Siahboomi AR. Study of Drug Release from Pellets Coated with Surelease Containing Hydroxypropylmethylcellulose. Drug Development and Industrial Pharmacy 2001; 27 (5): 419-430.
12. Steward PA, Hearn J, Wilkinson MC. An overview of polymer latex film formation and properties. Advances in Colloid and Interface Science 2000; 86: 195-267.

13. Kucera SA, Felton LA, McGinity JW. Physical aging in pharmaceutical polymers and the effect on solid oral dosageform stability. *International Journal of Pharmaceutics* 2013; 457: 428-436.
14. McGinity JW, Felton LA. Aqueous polymeric coating for pharmaceutical dosage forms. 3rd ed. *Drugs and the pharmaceutical sciences* vol. 176. Informa healthcare, New York, 2008: 6-16.
15. Felton LA. Mechanisms of polymeric film formation. *International Journal of Pharmaceutics* 2013; 457: 423-427.
16. Ghebre-Sellassie I. Multiparticulate oral drug delivery. *Drugs and the pharmaceutical sciences* vol. 65, Taylor & Francis Group, USA, 1994: 79-111.
17. Yang QW, Flament MP, Siepmann F, Busignies V, Leclerc B, Herry C. Curing of aqueous polymeric film coatings: Importance of the coating level and type of plasticizer. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2010; 74: 362-370.
18. Muschert S, Siepmann F, Leclercq B, Siepmann J. Dynamic and static curing of ethylcellulose: PVA–PEG graft copolymer film coatings. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2011; 78: 455-461.
19. Brandrup J, Immergut EH, Grulke EA. *Polymer handbook*. 4th ed. Wiley, USA, 1999.
20. Skoog DA, Holler FJ, Crouch SR. *Principles of instrumental analysis*. 6th ed. International student ed. Brooks/Cole, USA, 2007: 900-904.
21. Obara S, McGinity JW. Influence of processing variables on the properties of free films prepared from aqueous polymeric dispersions by a spray technique. *International Journal of Pharmaceutics* 1995; 126: 1-10.
22. Kristan K, Horvat M. Rapid exploration of curing process design space for production of controlled-release pellets. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2012; 101: 3924-35.
23. Čekada M, Panjan P. Nasveti: Kako merimo mikrotrdoto in Youngov modul tankih plasti. *Vakuumist* 1999; 19/4.
24. Goldstein JI, Newbury DE, Echlin P, Joy DC, Lyman CE, Lifshin E, Sawyer L, Michael JR. *Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis*. 3rd ed. Springer US, USA, 2003: 1-2.

25. Panjan M, Čekada M. Merjenje mikrotrdote trdih PVD-prevlek z nanoindenterjem, 2.del. Vakuumist 2005; 25/4.
26. Eriksson L, Johansson E, Kettaneh-Wold N, Wikström C, Wold S. Design of Experiments Principles and Applications. 3rd revised and enlarged edition. Umetrics AB, Sweden, 2008.
27. Custred MM, Vesey CF, Rajabi-Siahboomi AR. The influence of post coating thermal treatment on film properties and drug release from ethylcellulose barrier membrane coating systems. American Association of Pharmaceutical Scientists (AAPS) Annual meeting. Colorcon, november, 2008.