

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



Podiplomski študij Biomedicine, smer Farmacija

ALEŠ DIMNIK

**PREUČEVANJE VPLIVOV TEHNOLOŠKIH PARAMETROV NA
ENAKOMERNOST VSEBNOSTI NAZALNE SUSPENZIJE BUDEZONIDA**

MAGISTRSKA NALOGA

Ljubljana, 2010

Magistrsko nalogo sem opravljal v farmacevtski družbi Lek pod mentorstvom prof. dr. Mirjane Gašperlin, mag. farm. in pod somentorstvom izr. prof. dr. Janeza Kerča mag. farm.. Eksperimentalni del je bil opravljen v farmacevtski družbi Lek.

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujemo moji mentorici prof. dr. Mirjani Gašperlin, mag. farm. in somentorju izr. prof. dr. Janezu Kerču mag. farm., ki sta spremljala moje delo, predstavljeno v tej nalogi. Najlepše se zahvaljujem tudi vsem sodelavcem v Leku, ki so mi kakorkoli pomagali pri izdelavi naloge, posebej Maji Vimpolšek, Nini Muhič ter njunim sodelavcem, Romani Šebenik, Klemenu Kočvarju, Aleksandru Resmanu, Sebastjanu Revnu ter Mateju Horvatu.

IZJAVA

Izjavljam, da sem magistrsko nalogo samostojno izdelal pod mentorstvom prof. dr. Mirjane Gašperlin, mag. farm. in pod somentorstvom izr. prof. dr. Janeza Kerča mag. farm..

Aleš Dimnik

Ljubljana, junij 2010

VSEBINA

POVZETEK	IV
ABSTRACT	V
SEZNAM OKRAJŠAV	VII
1 UVOD	1
1.1. SUSPENZIJE	1
1.2. LASTNOSTI TEKOČIH SUSPENZIJ	2
1.3. NESTABILNOST SUSPENZIJ	3
1.3.1. SEDIMENTACIJA	4
1.3.2. FLOTACIJA	7
1.3.3. FLOKULACIJA	11
1.3.4. NASTANEK POGAČE	12
1.3.5. RAST KRISTALOV	12
1.4. MEŠANJE SUSPENZIJ	16
2 NAMEN DELA	20
3 EKSPERIMENTALNO DELO	22
3.1. UPORABLJENI MATERIALI	22
3.1.1. BUDEZONID	22
3.1.2. AVICEL	24
3.1.3. POLISORBAT 80	25
3.1.4. METILHIDROKSIBENZOAT	25
3.1.5. PROPILHIDROKSIBENZOAT	26
3.1.6. SIMETIKON EMULZIJA	26
3.1.7. PROPILENGLIKOL	27
3.1.8. SAHAROZA	28
3.1.9. DINATRIJEV EDETAT	29
3.1.10. KLOROVODIKOVA KISLINA	29
3.1.11. DEMINERALIZIRANA VODA	30
3.2. NAPRAVE	31
3.3. METODE	32
3.3.1. DOLOČITEV VSEBNOSTI BUDEZONIDA V NAKLJUČNIH SLOJIH NAZALNE SUSPENZIJE	35
3.3.2. DOLOČITEV VSEBNOSTI BUDEZONIDA V ZNANIH SLOJIH NAZALNE SUSPENZIJE	36
3.3.3. VPLIV HITROSTI MEŠANJA NA VSEBNOST BUDEZONIDA V LABORATORIJSKEM MERILU	38
3.3.4. DOLOČITEV VISKOZNOSTI SUSPENZIJE	38
3.3.5. DOLOČITEV VELIKOSTI DELCEV UČINKOVINE IN VELIKOSTI ZRAČNIH MEHURČKOV Z OPTIČNIM MIKROSKOPOM	41
3.3.6. DOLOČITEV VELIKOSTI DELCEV BUDEZONIDA Z METODO LASERSKE DIFRAKCIJE	42
3.3.7. DOLOČITEV VELIKOSTI DELCEV BUDEZONIDA Z METODO VRSTIČNE ELEKTRONSKE MIKROSKOPIJE (SEM)	42
4 REZULTATI IN RAZPRAVA	43
4.1. DOLOČITEV VSEBNOSTI BUDEZONIDA V NAKLJUČNIH SLOJIH NAZALNE SUSPENZIJE	43
4.2. DOLOČITEV VSEBNOSTI BUDEZONIDA V ZNANIH SLOJIH NAZALNE SUSPENZIJE	46
4.3. VPLIV HITROSTI MEŠANJA NA VSEBNOST BUDEZONIDA V LABORATORIJSKEM MERILU	55

4.4. VISKOZNOST NAZALNE SUSPENZIJE.....	56
4.5. DOLOČITEV VELIKOSTI DELCEV BUDEZONIDA IN VELIKOSTI ZRAČNIH MEHURČKOV Z OPTIČNIM MIKROSKOPOM V NAZALNI SUSPENZIJI.....	58
4.6. DOLOČITEV VELIKOSTI DELCEV BUDEZONIDA Z METODO LASERSKE DIFRAKCIJE	68
4.7. DOLOČITEV VELIKOSTI DELCEV BUDEZONIDA Z METODO VRSTIČNE ELEKTRONSKE MIKROSKOPIJE (SEM).....	69
4.8. TEORETIČNE HITROSTI SEDIMENTACIJE DELCEV BUDEZONIDA	71
4.9. IZRAČUN REYNOLDSOVEGA ŠTEVILA ZA DELCE BUDEZONIDA, KI SEDIMENTIRAJO	73
4.10. TEORETIČNE HITROSTI DVIGANJA ZRAČNIH MEHURČKOV.....	73
4.11. IZRAČUN REYNOLDSOVEGA ŠTEVILA ZA DVIGAJOČE SE ZRAČNE MEHURČKE.....	75
4.12. IZRAČUN HITROST DVIGANJA ZRAČNIH MEHURČKOV SKUPAJ Z DELCI UČINKOVINE	76
5 SKLEP	78
6 LITERATURA	79

POVZETEK

Suspencije so grobodisperzni dvofazni sistemi, v katerih dispergirano fazo predstavljajo trdni delci, disperzni medij pa je tekočina ali gel. Velikost delcev dispergirane faze v večini primerov sega od 0,1 do okoli 75 μm . Pri načrtovanju in oblikovanju suspencij moramo doseči, da suspendirani delci sedimentirajo počasi, že sedimentirani pa se morajo po kratkem stresanju ponovno homogeno porazdeliti.

Suspencije so termodinamsko nestabilni sistemi in zato prehajajo v energijsko stabilnejše stanje, kar se odraža v sedimentaciji, flotaciji, flokulaciji, nastanku pogače in v rasti kristalov. Vse te spremembe vodijo v nehomogeno porazdelitev učinkovine v suspenciji. Zato je glavna pomanjkljivost suspencij njihovo nezanesljivo pravilno odmerjanje. Ustrezno pripravljena suspencija mora biti homogena v času odmerjanja, zato je glavni cilj pri izdelavi suspencije doseči homogeno porazdelitev učinkovine med procesom polnjenja in njeno počasno sedimentacijo, pred uporabo pa moramo zagotoviti njeno hitro resuspendiranje.

Namen magistrske naloge je bil, da na osnovi eksperimentalnega načrta preučimo vzroke in mehanizme, ki vodijo v nehomogeno porazdelitev učinkovine v nazalni suspenciji budezonida. Osredotočili smo se predvsem na vpliv hitrosti mešanja v različnih fazah izdelave na porazdelitev učinkovine v suspenciji. V okviru naloge smo najprej določili vsebnost budezonida naključnim vzorcem, za katere ni bilo znano, kateremu vertikalnemu sloju suspencije pripadajo, v nadaljevanju pa smo analizirali vzorce v določenih vertikalnih slojih. Ovrednotili smo tudi vsebnost budezonida v zgornjem in spodnjem sloju suspencije, premešane na dva različna načina v laboratoriju, viskoznost suspencije ter velikost delcev budezonida in zračnih mehurčkov v suspenciji. Suspencijo smo preučevali tudi z optično in elektronsko mikroskopijo.

Na osnovi dobljenih rezultatov lahko sklepamo, da je najverjetnejši vzrok za nehomogeno porazdelitev budezonida v suspenciji vmešavanje zraka med procesom izdelave, na katerega se lahko adsorbira določen delež suspendirane učinkovine, ki se zato dviga na površino nazalne suspencije, kar vodi v njeno nehomogeno porazdelitev. Na osnovi teoretičnih modelov smo ugotovili, da je hitrost flotacije veliko večja v primerjavi s hitrostjo sedimentacije. Kot kritičen procesni parameter pri izdelavi suspencije smo določili hitrost vrtenja mešala, ki mora zagotavljati ustrezno mešanje, hkrati pa ne sme prihajati do vmešavanja zraka v izdelek.

ABSTRACT

Suspensions are heterogeneous two-phase systems with dispersed solid particles representing the internal phase, and liquid or gel representing the external phase. The particle size usually ranges from 0,1 to approx. 75 μm in diameter. The aim of designing and producing suspensions is that solid particles settle down slowly, the already settled particles, however, have to resuspend easily after shaking.

Suspensions are thermodynamically unstable systems and therefore they transform into more stable energy states resulting in different processes like sedimentation, flotation, flocculation, cake formation and growth of crystals. All these changes result in a non-homogenous distribution of the active ingredient in the suspension and hence the main disadvantage of suspensions as dosage forms is unreliable dosing. The suspension has to ensure homogeneity of the active ingredient at the time of dosing. Consequently, the main purpose of the suspension formulation is to achieve a homogeneous distribution of the active ingredient during the filling process, its slow sedimentation and an easy resuspension before administration.

The purpose of the master thesis was to investigate the reasons and the mechanisms which cause a non-homogenous distribution of the active ingredient in the suspension of budesonide. The analysis focused mainly on the influence of the mixing speed in different steps of the production on the homogenous distribution of the active ingredient in the suspension. The following items were measured: the content of budesonide, first in random samples and afterwards in the determined layers of the suspension, the content of budesonide in the upper and bottom layers of the suspension mixed in two different ways in the laboratory, the viscosity of the suspension and the particle size of budesonide, and air bubbles in the suspension. The suspension was investigated also with optical and electronic microscopy.

The results showed that the most probable reason for a non-homogenous distribution of budesonide is the introduction of air into the suspension during the production process. Air bubbles in the suspension can interfere with the particles of the active ingredient causing the flotation of the budesonide solid particles and its non-homogenous distribution in the suspension. It was found that the flotation process is much faster in comparison with the sedimentation process. And finally a critical parameter in the production process of the nasal budesonide suspension has been determined: the

mixing speed, which has to ensure adequate mixing, but at the same time it has to prevent the introduction of air into the product.

SEZNAM OKRAJŠAV

\bar{x}	aritmetična srednja vrednost
CMC	karboksimetilceluloza
KV	koeficient variacije
MAX	maksimalna (največja) vrednost
MCC	mikrokristalna celuloza
MIN	minimalna (najmanjša) vrednost
obr/min	obratov/minuto
Re	Reynoldsovo število
STDEV	standardna deviacija

1 UVOD

1.1. SUSPENZIJE

Zmes dveh ali več snovi, ki je navidezno homogena, imenujemo **disperzni sistem**. Snov, ki je v zmesi v manjši količini, imenujemo **notranja ali dispergirana faza**. Ta je porazdeljena v **zunanji fazi**, ki jo imenujemo **disperzni medij**. Tako notranja kot zunanja faza sta lahko v različnih agregatnih stanjih (1).

Glede na velikost struktur dispergirane faze ločimo (1, 2):

- grobodisperzne sisteme ($1\ \mu\text{m} - 50\ \text{do}\ 75\ \mu\text{m}$),
- koloidnodisperzne sisteme ali koloide ($1\ \text{nm} - 1\ \mu\text{m}$),
- molekularne raztopine ($< 1\ \text{nm}$).

Suspencije so **grobodisperzni dvofazni sistem**. Dispergirano fazo predstavljajo trdni delci, medtem ko je disperzni medij v obliki tekočine ali gela. Za razliko od raztopin je pri suspencijah dispergirana faza v disperznem mediju praktično netopna ali zelo težko topna in je po mešanju homogeno porazdeljena v zunanji fazi – vehiklu (3). Suspendirani delci so večji od $1\ \mu\text{m}$, njihova velikost v večini primerov znaša do okoli $75\ \mu\text{m}$ (2). Ker valovna dolžina vidne svetlobe sega od približno $380\ \text{nm}$ (vijolična) do $780\ \text{nm}$ (rdeča), jih lahko opazujemo s svetlobnim mikroskopom (4). Pri izdelavi suspencij moramo doseči, da suspendirani delci sedimentirajo počasi, že sedimentirani pa se morajo po kratkem stresanju ponovno homogeno porazdeliti (3).

1.2. LASTNOSTI TEKOČIH SUSPENZIJ

Mnoge novejšje učinkovine so v vodi težko topne. Raztopine teh učinkovin bi v ustreznem odmerku zavzemale nesprejemljivo velik volumen. Suspenzije nam tako omogočajo vgradnjo želene količine težko topne učinkovine v primeren volumen. Prednost suspenzij se kaže tudi v tem, da je učinkovina v suspenziji manj izpostavljena hidrolizi in oksidaciji v primerjavi z raztopljeno učinkovino. Poleg tega so suspenzije primerna farmacevtska oblika za prikrivanje neprijetnega okusa učinkovine. So zelo sprejemljiva oblika za veliko populacijo majhnih otrok in starostnikov, ki imajo pogosto težave pri zaužitju tablet ali kapsul. Nenazadnje suspenzije omogočajo podaljšano delovanje, pri katerih gre za počasno raztapljanje in absorpcijo učinkovine iz depoja (»skladišča«). Takšen primer je intramuskularna aplikacija suspenzije (5).

Suspenzije imajo kljub zgoraj navedenim prednostim v primerjavi z ostalimi farmacevtskimi oblikami tudi nekatere slabosti, ki jih je potrebno upoštevati tako pri procesu njihove izdelave, shranjevanju in tudi pri uporabi. Njihova glavna pomanjkljivost je nezanesljivo pravilno odmerjanje učinkovine, ki se ne more primerjati s pravilnim odmerjanjem učinkovine pri uporabi tablet, kapsul ali raztopin. Poglavitni razlog za nezanesljivo pravilno odmerjanje učinkovine pri uporabi suspenzij je njihova **termodinamska nestabilnost**. Ta se odraža v različnih procesih, ki povečujejo nehomogeno porazdelitev učinkovine v suspenziji. To so izzivi, ki jih nikakor ni možno vedno enostavno rešiti. Zato je potrebno suspenzijo pred uporabo pretresti, s čimer dosežemo homogeno porazdelitev učinkovine in njeno pravilno odmerjanje. Poleg tega je suspenzija tekoča, njen volumen je ponavadi večji kot pri ostalih farmacevtskih oblikah, kar predstavlja težavo tako za proizvajalce zdravil kot tudi za paciente. Zaradi navedenih slabosti je izdelava učinkovite, varne in kakovostne suspenzije največkrat veliko bolj zahtevna naloga kot izdelava trdnih farmacevtskih oblik z enako učinkovino (5). Vse navedene prednosti in pomanjkljivosti suspenzij v farmaciji so prikazane v preglednici 1.

Farmacevtske suspenzije vsebujejo učinkovine, ki so težko topne v vodi. Biološka uporabnost takih učinkovin, je na splošno zelo majhna, vzrok pa je premajhna nasičena topnost učinkovine. Običajno je nizka topnost povezana z nizko hitrostjo raztapljanja, kar še dodatno poslabša absorpcijo. Majhna nasičena topnost v tekočinah prebavnega trakta ima za posledico nizek koncentracijski gradient med lumnem prebavnega trakta in krvjo. Posledica je majhna hitrost pasivne difuzije učinkovine v sistemski krvni obtok.

Prednost suspenzij pa je v tem, da se absorpcija učinkovine v primerjavi s tabletami in kapsulami z isto učinkovino začne takoj po porazdelitvi suspendiranih delcev v prebavnih sokovih gastrointestinalnega trakta. Trdne peroralne farmacevtske oblike morajo najprej razpasti in šele nato lahko sprostijo učinkovino. Poleg tega je specifična površina suspendiranih delcev ponavadi večja in omogoča hitrejše raztapljanje učinkovine.

Torej lahko peroralne suspenzije po hitrosti absorpcije težko topnih učinkovin uvrstimo med peroralne raztopine in trdne peroralne farmacevtske oblike (2, 6).

Preglednica 1: Prednosti in pomanjkljivosti suspenzij v farmaciji (3, 6).

PREDNOSTI	POMANJKLJIVOSTI
primerna velikost farmacevtske oblike v primerjavi z raztopinami iste učinkovine	nezanesljivo pravilno odmerjanje
	sedimentacija
manjša izpostavljenost hidrolizi	flokulacija in tvorba pogače (cementa)
manjša izpostavljenost oksidaciji	flotacija
prikrivanje neprijetnega okusa	pred uporabo je potrebno redispergiranje s stresanjem
primerna oblika za otroke	
primerna oblika za starostnike	tekoča oblika
omogočajo podaljšano delovanje	relativno velika količina farmacevtske oblike
relativno velika hitrost absorpcije	

1.3. NESTABILNOST SUSPENZIJ

Suspenzije so termodinamsko nestabilni sistemi. Zato prehajajo v energijsko stabilnejše stanje, kar se odraža v različnih spremembah (6):

- **sedimentacija**
- **flotacija**
- **flokulacija**
- **nastanek pogače**
- **rast kristalov**

Te spremembe vodijo v nehomogeno porazdelitev učinkovine v suspenziji. Ustrezno pripravljena suspenzija mora biti homogena v času odmerjanja. Zato je glavni namen pri izdelavi suspenzije doseči homogeno porazdelitev učinkovine med procesom polnjenja ter njeno počasno sedimentacijo in njeno hitro resuspendiranje pred uporabo. Poleg same izbire pomožnih snovi je za doseganje homogenosti učinkovine bistvenega pomena ustrezna določitev procesnih parametrov izdelave suspenzije ter razumevanje samega sistema (7).

1.3.1. SEDIMENTACIJA

Sedimentacija (usedanje) dispergiranih delcev je odvisna tako od njihovih lastnosti (velikost in gostota) kot tudi od lastnosti disperznega medija (gostota in viskoznost). **Stokesova enačba** (enačba 1) opisuje sedimentacijo okroglih in monodisperznih delcev, ki se med procesom sedimentacije med seboj ne ovirajo (3, 5).

$$v = \frac{2 \cdot r^2 \cdot (\rho_1 - \rho_2) \cdot g}{9 \cdot \eta} = \frac{d^2 \cdot (\rho_1 - \rho_2) \cdot g}{18 \cdot \eta} \quad \text{Enačba 1}$$

v – hitrost sedimentacije ($\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$)
 r – polmer delcev dispergirane faze (m)
 d – premer delcev dispergirane faze (m)
 ρ_1 – gostota dispergirane faze ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)
 ρ_2 – gostota disperznega medija ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)
 g – težni pospešek ($9,8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$)
 η – viskoznost (Pa·s)

Stokesova enačba velja samo v primeru, ko je hitrost gibanja delcev tako majhna, da velja **linearni zakon upora**. V tem primeru se namreč upor povečuje linearno v odvisnosti od hitrosti gibanja delca, kot to prikazuje enačba 2 (8).

$$F_u = 6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r \cdot v \quad \text{Enačba 2}$$

F_u – upor (N)
 η – viskoznost disperznega medija (Pa·s)
 r – polmer delcev dispergirane faze (m)
 v – hitrost gibanja delcev dispergirane faze ($\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$)

Pri večji hitrosti pa začne veljati **kvadratni zakon upora**, kot to prikazuje enačba 3. V tem primeru upor narašča s kvadratom hitrosti gibanja delca (8).

$$F_u = \frac{1}{2} \cdot c_u \cdot \rho \cdot v^2 \cdot S$$

Enačba 3

F_u – upor (N)

C_u – koeficient upora (je odvisen od oblike telesa)

ρ – gostota disperznega medija ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)

v – hitrost gibanja delcev dispergirane faze ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)

S – čelni presek delca dispergirane faze (m^2)

Dejavnik, ki pove, kdaj velja linearni in kdaj kvadratni zakon upora, je **Reynoldsovo število** (brez dimenzije). Reynoldsovo število določa način gibanja tekočine. **Z večanjem Reynoldsovega števila tok ni več laminaren, temveč turbulenten, kjer velja kvadratni zakon upora** (8). Izračunamo ga lahko po enačbi 4. Za okrogle delce velja linearni zakon, če je Reynoldsovo število manjše ali enako 0,5 in če je delež suspendiranih delcev manjši od 0,5 – 2 g na 100 mL suspenzije (8, 9).

$$\text{Re} = \frac{2 \cdot r \cdot \rho \cdot v}{\eta}$$

Enačba 4

r – polmer delcev dispergirane faze (m)

ρ – gostota disperznega medija ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)

v – hitrost sedimentacije ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)

η – viskoznost disperznega medija (Pa·s)

Če je Reynoldsovo število večje (med 0,5 in 500), za hitrost sedimentacije velja enačba 5, ki pa se v farmaciji zaradi majhnih hitrosti sedimentacije le redko uporablja (9).

$$v = \sqrt{\frac{4 \cdot d \cdot (\rho_1 - \rho_2) \cdot g}{3 \cdot \rho_2} \cdot \frac{\text{Re}^{0,6}}{18,5}}$$

Enačba 5

v – hitrost sedimentacije ($\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$)
 d – premer suspendiranih delcev (m)
 ρ_1 – gostota dispergirane faze ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)
 ρ_2 – gostota disperznega medija ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)
 g – težni pospešek ($9,8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$)

Za razumevanje možnosti stabilizacije suspenzije lahko uporabimo Stokesovo enačbo (enačba 1). Hitrost sedimentacije bomo zmanjšali, če bodo delci dispergirane faze čim manjši in če bo viskoznost disperznega medija čim večja. Viskoznost suspenzij pa ne sme biti prevelika, ker se morajo zlahka zlivati iz primarne ovojnine (3). Dodatna možnost je zmanjševanje razlike med gostotama delcev dispergirane faze in disperznega medija. Popolna izenačitev gostot praviloma ni možna. Prvi razlog je v tem, da na gostoto delcev dispergirane faze ne moremo vplivati, pri regulaciji gostote disperznega medija pa smo omejeni, ker jo lahko povečamo samo do vrednosti relativne gostote okoli 1,3 in jo tako praktično nikoli ne moremo izenačiti z gostoto delcev dispergirane faze (5).

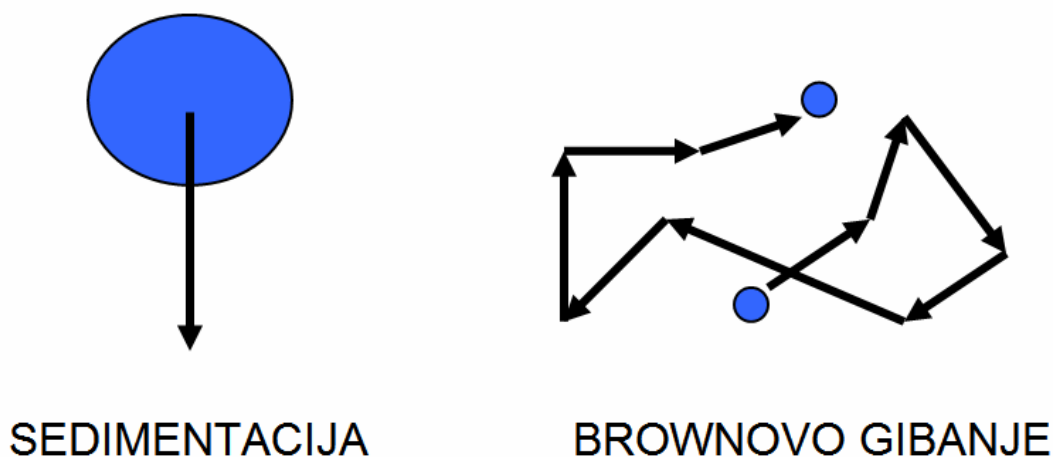
Delci, ki sedimentirajo, dosežejo neko končno višino sedimenta. Razmerje med končno višino sedimenta in prvotno višino suspenzije pred začetkom procesa usedanja imenujemo **volumen sedimentacije**. Merjenje volumna sedimentacije je ena izmed metod vrednotenja suspenzij in ga izračunamo s pomočjo enačbe 6.

$$V_s = \frac{H}{H_0} \cdot 100$$

Enačba 6

V_s – volumen sedimentacije (brez dimenzije)
 H – končna višina sedimenta (m)
 H_0 – prvotna višina suspenzije pred pričetkom sedimentacije (m)

Do sedimentacije ne prihaja, če so delci dovolj majhni in tako sledijo pravilu **Brownovega gibanja**, kjer gre za naključno gibanje, ki je posledica trkov delcev nanometrskih velikosti z molekulami topila (slika 1). Če se namreč velikost delcev dispergirane faze zmanjšuje, postaja proces Brownovega gibanja vse bolj pomemben v primerjavi s procesom sedimentacije (5). Pri zelo majhnih delcih, ki so manjši od $0,1\ \mu\text{m}$, proces Brownovega gibanja prevlada nad procesom sedimentacije (9). Za vsak sistem se lahko določi t.i. **nesedimentacijski premer delcev** (NSD ali No Sedimentation Diameter), pod katerim je vpliv Brownovega gibanja tako velik, da ne prihaja do procesa sedimentacije (5).



Slika 1: Večji delci sedimentirajo, dovolj majhni delci sledijo pravilu Brownovega gibanja.

1.3.2. FLOTACIJA

V primeru, ko je gostota dispergirane faze manjša od gostote disperznega medija, je rezultat Stokesove enačbe negativen, kar pomeni, da poteka proces nasproten sedimentaciji, ki ga imenujemo **flotacija**. Do flotacije prihaja v vodnih suspenzijah, v katerih so prisotni mehurčki zraka in v katerih so suspendirani delci dovolj majhni in hidrofobni. Proces flotacije poteka pri delcih, ki so manjši od $150\ \mu\text{m}$ (10). Velikosti delcev učinkovine v farmacevtskih suspenzijah segajo do $75\ \mu\text{m}$ (2), zato lahko do procesa flotacije prihaja pri vseh vodnih farmacevtskih suspenzijah s hidrofobno učinkovino. Zaradi hidrofobnih lastnosti delcev učinkovine jih hidrofilni disperzni medij slabo moči. Molekule disperznega medija se ne adsorbirajo na površino delcev, ki so

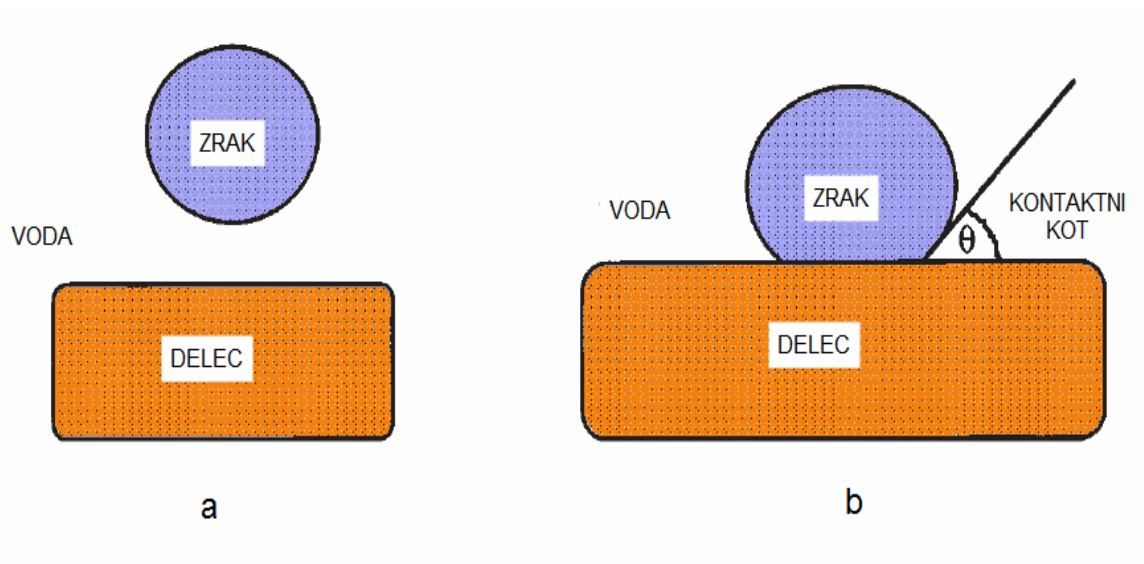
tako brez solvatnega zaščitnega ovoja. Takšni delci imajo večjo afiniteto do zraka, zato pri dispergiranju v vodo adsorbirajo molekule zraka, kot to prikazuje slika 2. Delci z adheriranimi zračnimi mehurčki imajo manjšo gostoto kot disperzni medij, tako da se dvignejo na površje na mejno površino med zrakom in tekočino. Zato je v teh primerih potreben dodatek amfifilnih spojin, ki zmanjšajo prosto površinsko energijo in posledično stični kot med trdnim delcem in vodo, kar vodi v povečano močenje in tako preprečujejo molekulam zraka, da bi se adherirale na suspendirane delce (2, 3). Na proces flotacije torej v največji meri vpliva lastnost površine suspendiranega delca (10). Hidrofilne delce pa vodni disperzni medij dobro moči in jih lahko brez večjih težav suspendiramo v vodnem mediju. Okrog delcev se tvori solvatni ovoj, ki preprečuje adsorpcijo molekul zraka kot tudi njihovo agregacijo. V teh primerih dodatek amfifilnih snovi z namenom povečevanja močenja suspendiranih delcev ni potreben (2, 3).

Flotacija je torej fizikalen proces, kjer prihaja do interakcije med naslednjimi mejnimi površinami (10):

- **tekoče / plinasto** (površina disperznega medija / površina zračnega mehurčka)
- **trdno / plinasto** (površina trdnega delca / površina zračnega mehurčka)
- **trdno / tekoče** (površine trdnega delca / površine disperznega medija)

Na vseh mejnih površinah je prisotna **prosta površinska energija**, ki jo imenujemo tudi medpovršinska energija, do katere pride zaradi razlik v medmolekulskih silah znotraj ene homogene faze in medmolekulskimi silami na mejni površini (11, 12).

Najpomembnejši dejavnik, ki vpliva na hitrost flotacije, je velikost delcev dispergirane faze. Delci, katerih premer se giblje med 20 in 60 μm , flotirajo najhitreje. Večji delci so težji in zato počasneje ali sploh ne flotirajo proti gladini suspenzije (10).



Slika 2: Shematski prikaz sistema zračni mehurček – voda – trden delec pred interakcijo med zračnim mehurčkom in trdnim delcem (a) in po interakciji (b).

Ko zračni mehurček pride v stik s trdnim delcem, pride do prekinitve mejne površine delec / voda in voda / zrak, nastane pa nova mejna površina delec / zrak z določenim kontaktnim kotom. Pri tem se vzpostavi ravnovesje sil, ki ga opisuje **Youngova enačba** (enačba 7). Hidrofilne delce vodni disperzni medij dobro moči in ne prihaja do interakcij z zračnimi mehurčki. V teh primerih je kontaktni kot enak vrednosti 0° . V primeru hidrofobnih delcev, ki jih vodni disperzni medij slabo moči, lahko pride do interakcij z zračnimi mehurčki. V teh primerih je kontaktni kot večji od vrednosti 0° (10).

$$\gamma(AS) = \gamma(SW) + \gamma(AW) \cdot \cos \theta$$

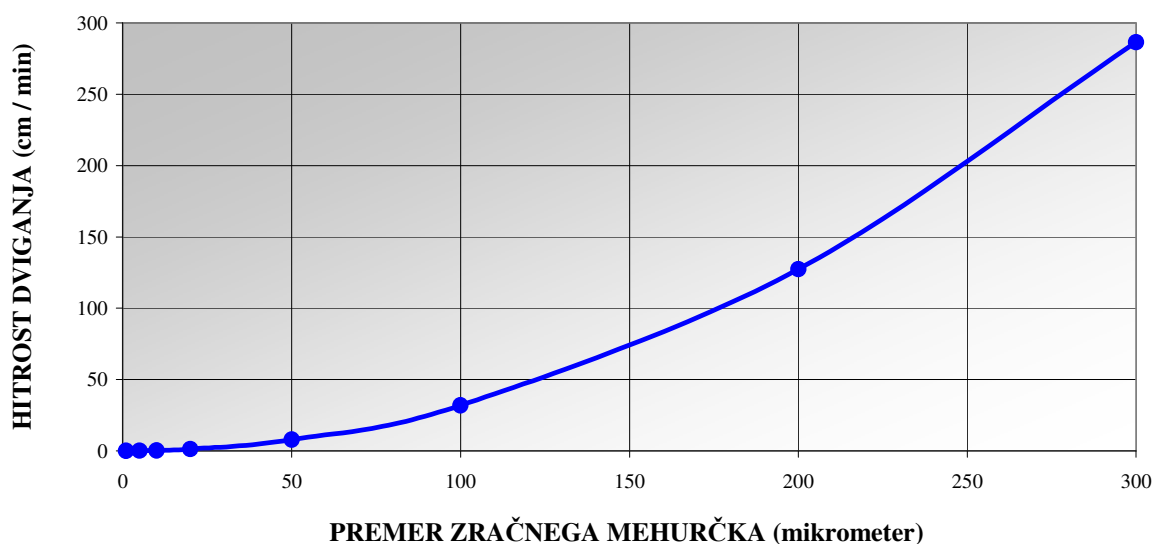
Enačba 7

$\gamma(AS)$ – medpovršinska energija na mejni površini zrak / Air – trdna snov / Solid
 $\gamma(SW)$ – medpovršinska energija na mejni površini trdna snov / Solid – voda / Water
 $\gamma(AW)$ – medpovršinska energija na mejni površini zrak / Air – voda / Water
 $\cos \theta$ – kosinus stičnega kota (theta), merjen preko vodne faze

Za hitrost flotacije lahko uporabimo Stokesovo enačbo. Izračuni hitrosti dviganja zračnega mehurčka v vodi so prikazani v preglednici 2 in na sliki 3. Ti kažejo, da se relativno majhni zračni mehurčki, katerih premer znaša okoli 20 mikrometrov, dvignejo v eni minuti za več kot centimeter. V eni uri torej več kot za pol metra. Hitrost dviganja je tako velika zaradi velike razlike med gostoto zraka in gostoto tekočega disperznega medija.

Preglednica 2: Hitrosti dviganja zračnih mehurčkov v vodi v odvisnosti od njihovega premera (izračun po Stokesovi enačbi).

PREMER MEHURČKA mikrometer	HITROST FLOTACIJE cm·min ⁻¹
1	0,003
5	0,080
10	0,318
20	1,273
50	7,957
100	31,82
200	127,3
300	286,4



Slika 3: Prikaz izračunane hitrosti dviganja zračnih mehurčkov v vodi v odvisnosti od njihovega premera glede na Stokesovo enačbo.

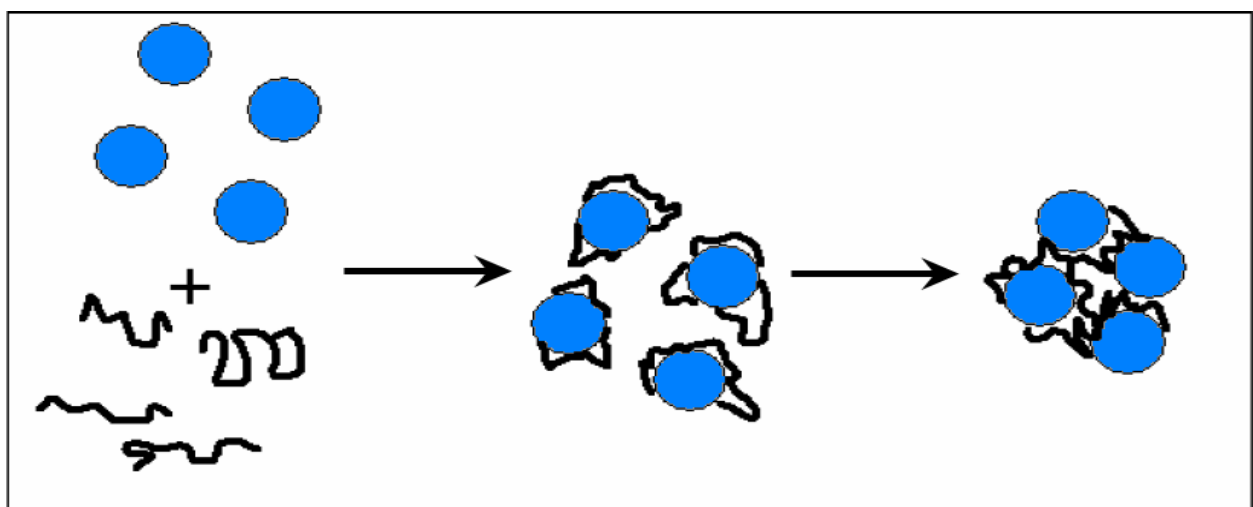
Če se hitrost mešanja povečuje, se povprečna velikost vgrajenih zračnih mehurčkov povečuje. Na prvi pogled je ta ugotovitev presenetljiva, saj povečana hitrost mešanja povečuje strižne sile, ki zmanjšujejo velikost zračnih mehurčkov. Vzrok za povečanje povprečne velikosti vmešanih zračnih mehurčkov temelji na dejstvu, da povečana hitrost mešanja povečuje količino vmešanega zraka, ki bolj prispeva k povečanju povprečne velikosti zračnih mehurčkov kot pa povečana strižna napetost (13). Velikost

zračnih mehurčkov je poleg velikosti delcev dispergirane faze pomemben dejavnik, ki vpliva na proces flotacije (10).

1.3.3. FLOKULACIJA

Flokulacija je pojav, pri katerem se suspendirani delci združujejo v **kosmiče (flokule)**. Gre za proces agregacije, kjer nastanejo tvorbe – kosmiči, ki imajo rahlo vlaknasto strukturo. Vlaknasto strukturo tvorijo makromolekule, tako da je znotraj strukture skupaj z delci dispergirane faze ujeta spremenljiva količina tekočega disperznega medija suspenzije (2). Shematsko je proces flokulacije prikazan na sliki 4. Po literaturnih podatkih (14) se proces flokulacije prične z adsorpcijo polimerne molekule na površino delca dispergirane faze. Sledi medsebojno povezovanje takšnih delcev (*bridging*). Kosmiči se enotno usedajo, tako da je končno zgornja plast bistra. Kosmiči tvorijo rahlo povezano usedlino, ki jo brez težav redispergiramo z rahlim stresanjem. Flokulacija je torej reverzibilen proces (2).

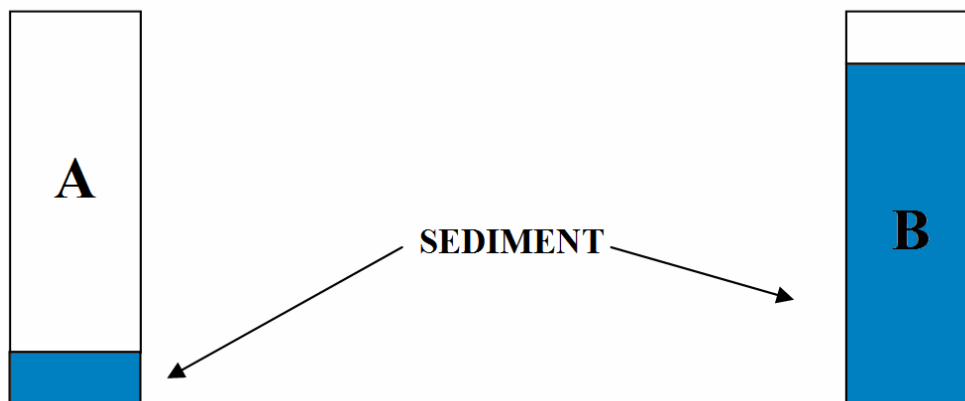
Pri močnem mešanju suspenzije prihaja do velikih strižnih napetosti in zato pride do porušitve vlaknastih struktur. Po prekinitvi mešanja ne pride takoj do ponovnega nastanka flokul, saj je za ta proces potreben določen čas. Bolj stabilni so flokuli, ki imajo optimalno koncentracijo polimera. Če je ta koncentracija previsoka, se na površino delca dispergirane faze adsorbira večja količina polimera. V takšnem primeru zaradi povečanih odbojnih sil težje pride do nastanka flokul (14).



Slika 4: Shematski prikaz flokulacije. Modri krogci predstavljajo delce dispergirane faze, črne črte predstavljajo polimerno molekulo.

1.3.4. NASTANEK POGAČE

Do tvorbe pogače (cementa) prihaja, kadar delci ostanejo deflokulirani. Takšni delci so zato ločeni in se sicer usedajo počasneje kot flokuli, toda v končni fazi oblikujejo gosto usedlino – cement (cake). Takšna usedlina je znatno bolj čvrsta kot usedlina flokuliranega sistema. Če pride do tvorbe cementa, je suspenzija neuporabna, ker jo ne moremo več ponovno dispergirati. Kot prikazuje slika 5, je v primeru cementa končni volumen sedimentacije manjši kot v primeru flokulirane suspenzije. Čim večji je volumen sedimentacije, tem bolj je suspenzija stabilna. Flokulirano suspenzijo (B) namreč lahko redispergiramo z rahlim stresanjem. V tem primeru gre za disperzijsko nestabilno suspenzijo, ker delci flokulirajo in zato hitro sedimentirajo. Suspenzija A je deflokulirana, delci zato počasi sedimentirajo v zbit sediment, ki ga je težko resuspendirati. S farmacevtskega stališča je torej suspenzija B primernejša od suspenzije A (2, 5).

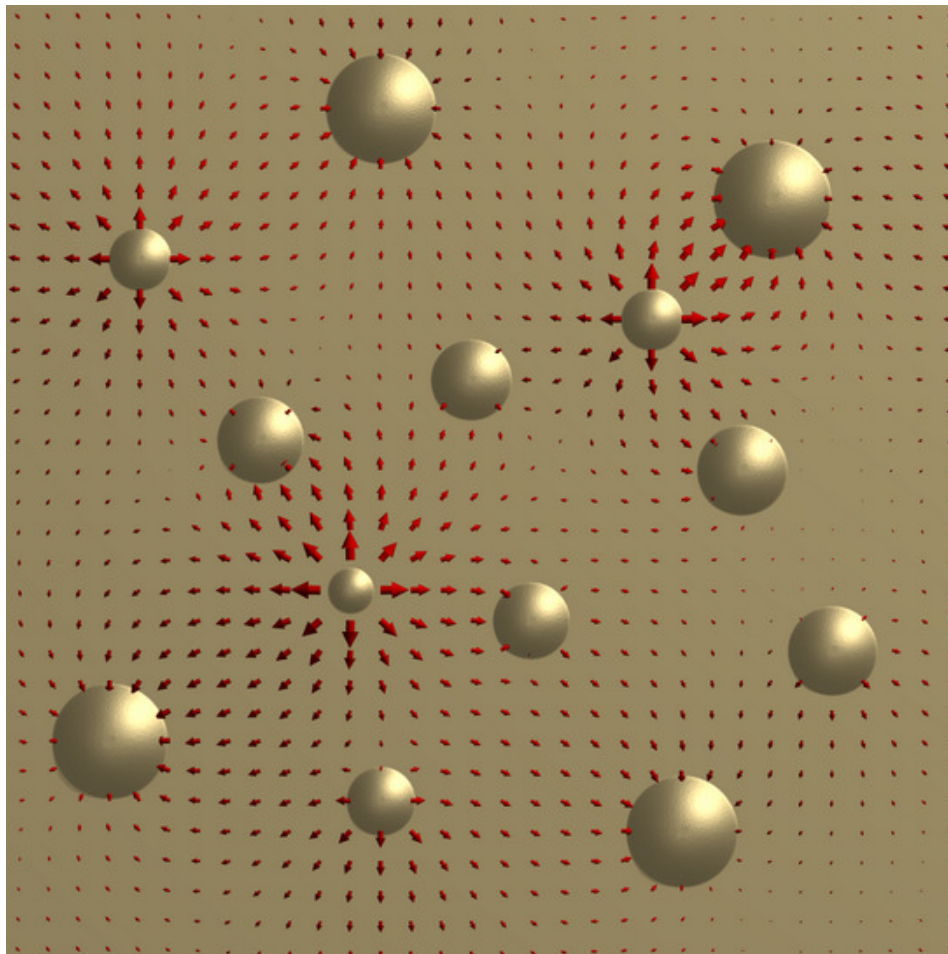


Slika 5: Volumen sedimentacije v primeru deflokulirane (A) in flokulirane suspenzije (B).

1.3.5. RAST KRISTALOV

Glede na to, da imajo površine manjših delcev večjo prosto površinsko energijo kot površine večjih delcev, so manjši delci znatno bolj topni kot večji delci. Kot je prikazano na sliki 6, molekule prehajajo z energijsko bogatih površin v raztopino (se raztapljajo) in difundirajo v smeri manjše koncentracije, kjer so večji delci z manjšo prosto površinsko energijo. Zato prihaja v okolici večjih delcev do prenasičenja, ki vodi do rekristalizacije na površinah večjih delcev. Ker je prenasičenje majhno, ne nastajajo nova

kristalizacijska jedra, temveč pride do rasti kristalov na obstoječih, to je večjih delcih (6, 15). Ta proces imenujemo tudi **Ostwaldova rast** (5).

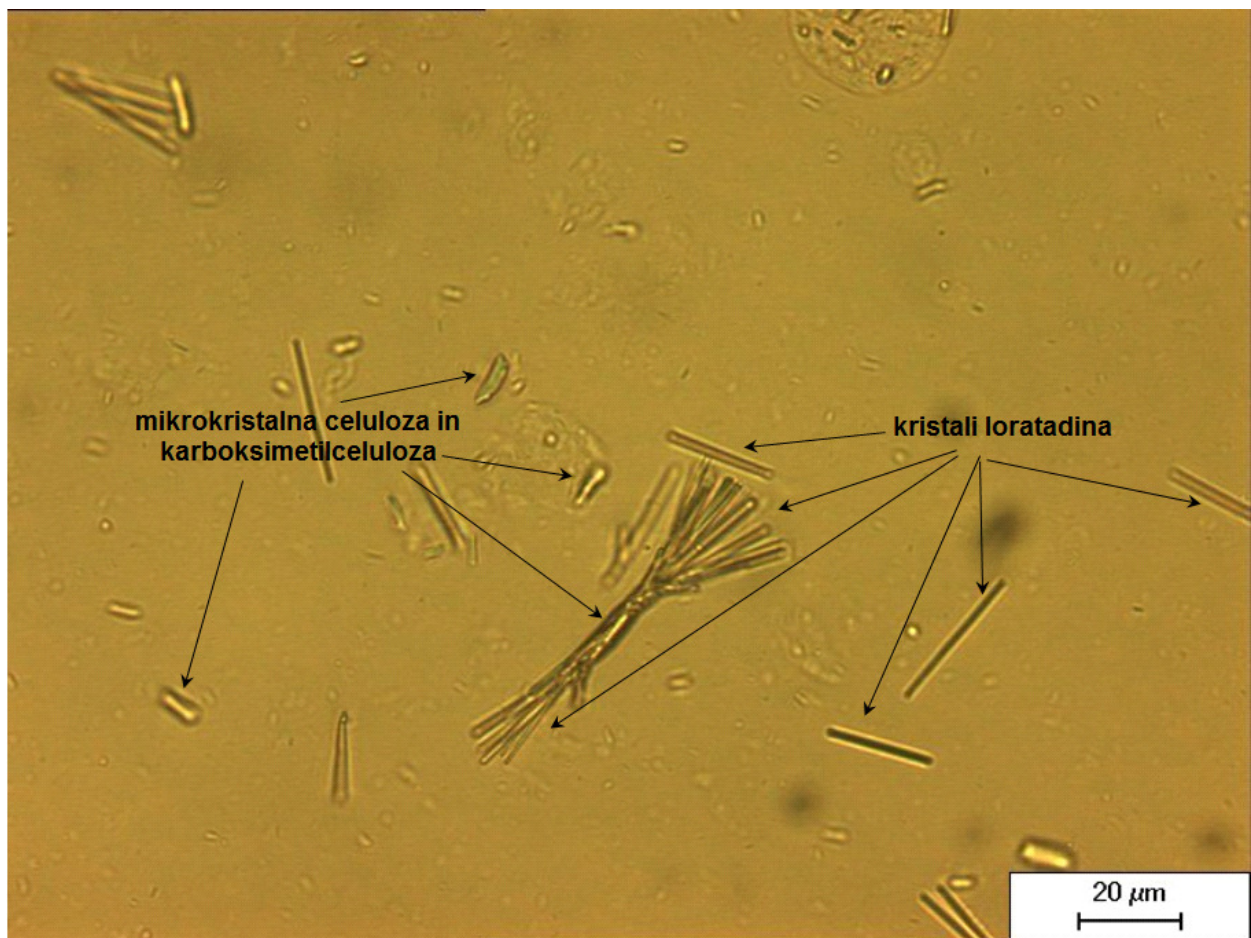


Slika 6: Shematski prikaz rasti kristalov (16). Krogi predstavljajo delce učinkovine različnih velikosti. Puščice ponazarjajo smer prehoda raztopljene učinkovine proti večjim delcem. Večja širina puščic ponazarja večjo hitrost difuzije raztopljenih učinkovine.

Do procesa rasti večjih kristalov na račun manjših torej prihaja v suspenzijah, kjer so prisotne večje razlike v prosti površinski energiji med delci, torej tam, kjer prihaja do večjih razlik v velikosti suspendiranih delcev. V takšnih suspenzijah se že majhno nihanje temperature odraža v rasti kristalov. Z višanjem temperature prihaja do raztapljanja manjših delcev, z nižanjem temperature pa prihaja do rekristalizacije na obstoječih večjih delcih (6).

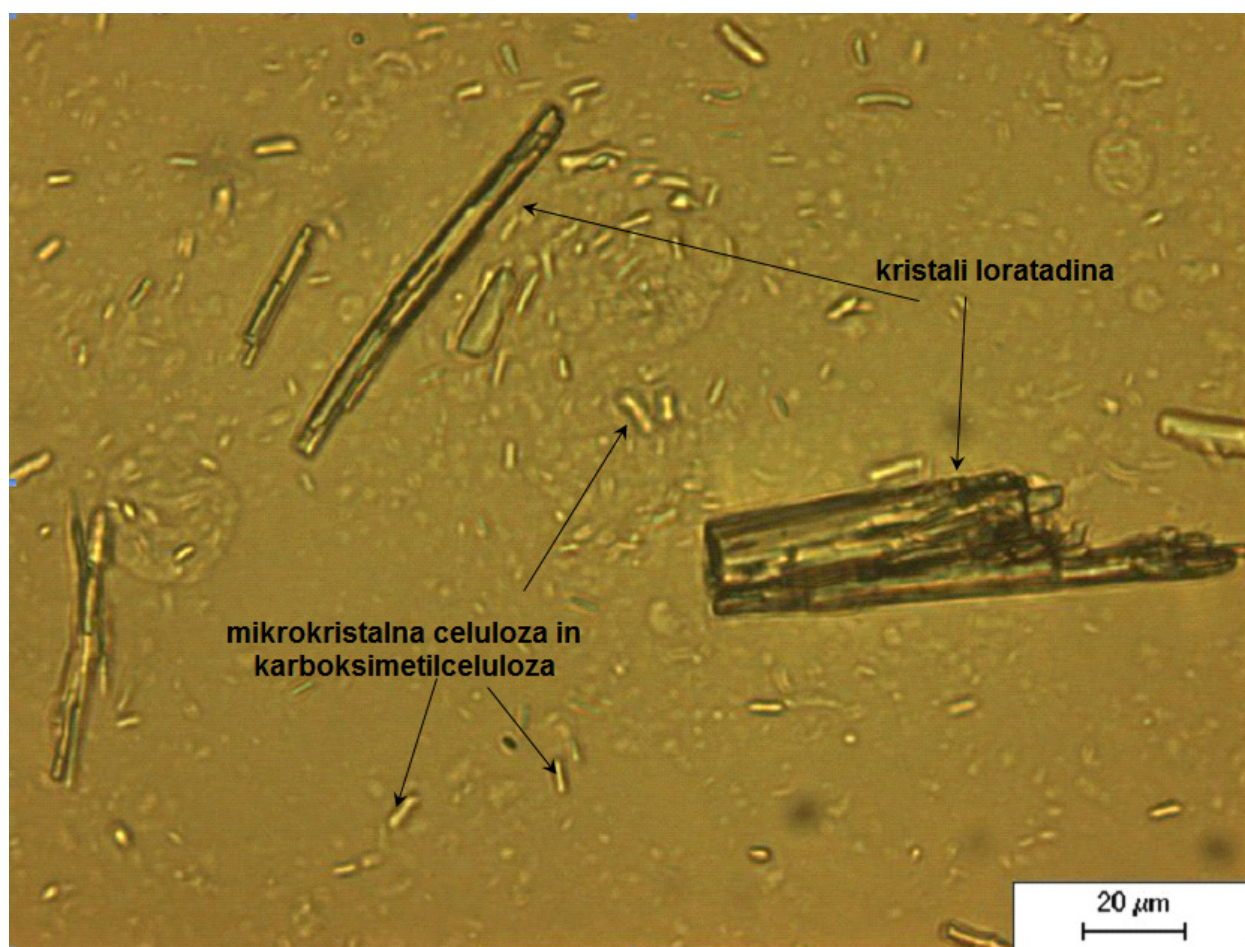
Delci, pridobljeni z mletjem, imajo praviloma široko porazdelitev velikosti in zato površine z različno prosto površinsko energijo. To vodi do rasti kristalov, zato so takšni delci manj primerni za pripravo suspenzij. Bistveno bolje se obnašajo delci, pridobljeni z

obarjanjem (6). Ta primer pojasnjuje slika 7, kjer so prikazani delci loratadina, ki so pridobljeni z obarjanjem. Delci so nastali tako, da so učinkovino loratadin najprej raztopili v propilenglikolu. Nato so raztopino loratadina v propilenglikolu med mešanjem prenesli v vodno fazo, ki že vsebuje nabreklo karboksimetilcelulozo (CMC) in mikrokrystalno celulozo (MCC). Ker je učinkovina v vodi skoraj netopna, pride do nadzorovanega obarjanja loratadina. Tako so delci loratadina enakomerno ločeni oziroma deloma kristalizirajo na delcih MCC in verigah CMC, tako da pride do tvorbe pahljačastih oblik (17).



Slika 7: Suspenzija loratadina, pridobljenega z obarjanjem (17).

V primeru suspenzije, kjer loratadina predhodno ne raztapljamo v propilenglikolu, ampak jo prenesemo v praškasti obliki neposredno v vodno fazo in homogeniziramo, dobimo večje delce, ki predstavljajo večino mase učinkovine v suspenziji. Takšen primer je prikazan na sliki 8.



Slika 8: Suspenzija loratadina, izdelana po neobarjalnem postopku (17).

Primerjava velikosti delcev učinkovine je pokazala, da vsebuje suspenzija, izdelana s procesom obarjanja, manjše delce, katerih velikost manj niha kot pri suspenziji, izdelani z neposrednim vnosom praškaste oblike v vodno fazo in naknadno homogenizacijo. Proces kristalizacije je torej kritična faza pri izdelavi suspenzije. Ta je pogosto odvisen od koncentracije učinkovine v topilu, temperature, pH vrednosti in prisotnih nečistot. Le te lahko izrazito vplivajo na potek kristalizacije. Ko so raziskovali potek kristalizacije hidrokortizon acetata (kortikosteroid) kot modelne učinkovine iz nasičene raztopine propilenglikola po mešanju z vodo, so ugotovili, da prihaja do spontanega nastanka kristalizacijskih jeder. Če pa je bil v vodi prisoten polimer (hidroksipropil metilceluloza, metilceluloza, polivinilpirolidon ali polietilen glikol 400), je bil proces kristalizacije zadržan. Poleg počasnejšega nastajanja kristalizacijskih jeder je prišlo tudi do upočasnjene rasti kristalizacijskih jeder, tako da je bila velikost kristalov manjša. Hitrost nastajanja kristalizacijskih jeder je bila manjša v primeru višjih koncentracij polimera v vodi. Največji vpliv na manjšo hitrost nastajanja kristalizacijskih jeder so imeli polimeri

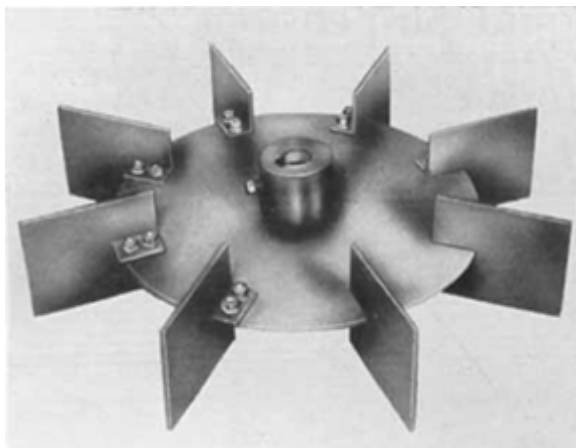
celuloze. Sam mehanizem zaviranja nastanka in rasti kristalizacijskih jeder še ni povsem razjasnjen (18). Pri procesu kristalizacije je potrebno z mešanjem zagotoviti čimbolj enakomerno prenasičenje učinkovine v celotnem volumnu disperznega medija, ker le tako dobimo delce dispergirane faze podobnih velikosti. V nasprotnem primeru v določenih delih disperznega medija prihaja do velikega prenasičenje učinkovine v primerjavi z drugimi področji disperznega medija, kjer je prenasičenje majhno, kar vodi do različne hitrosti rasti kristalov (19).

1.4. MEŠANJE SUSPENZIJ

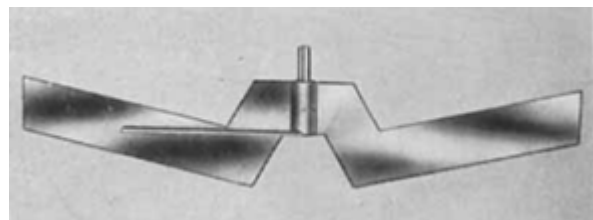
Delci dispergirane faze v suspenziji večinoma nimajo enake gostote kot disperzni medij. V večini primerov je gostota delcev večja, zato pride do njihove sedimentacije. Če pa imajo delci dispergirane faze manjšo gostoto ali vsebujejo adheriran zrak, lahko flotirajo proti površju disperznega medija. Zato je potrebno suspenzije mešati, s čimer preprečimo nehomogeno porazdelitev delcev učinkovine v suspenziji (19). Mešala v splošnem delimo na dve skupini (20):

- radialna mešala
- aksialna mešala

Pri radialnih mešalih teče tekočina proč od mešala proti steni mešalne posode. Primera radialnega mešala sta turbinsko mešalo (slika 9) in lopatasto mešalo (slika 10) (20). Ob steni se tekočinski tok razdeli in se deloma usmeri navzgor in deloma navzdol v posodi.

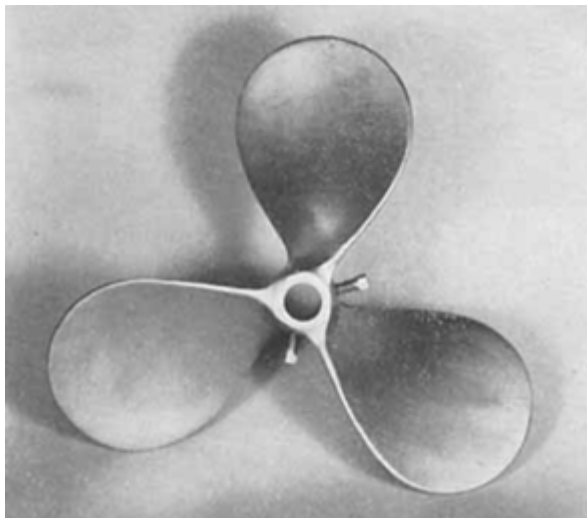


Slika 9: Turbinsko mešalo kot primer radialnega mešala.

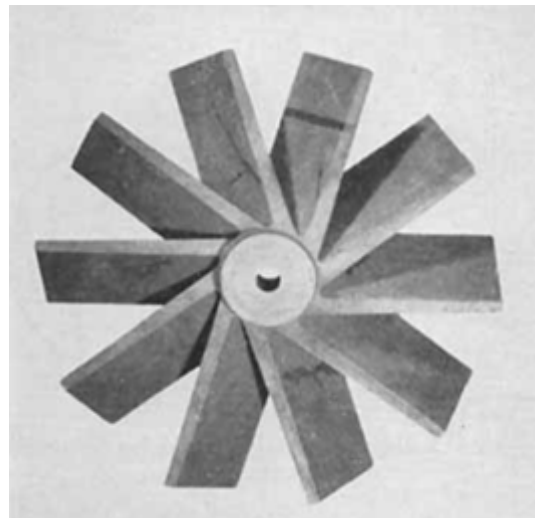


Slika 10: Lopatasto mešalo kot primer radialnega mešala.

Aksialna mešala proizvajajo močno gibanje tekočine v navpični smeri. Primera aksialnega mešala sta propellersko mešalo (slika 11) in turbinsko mešalo s poševnimi lopaticami (slika 12) (19). Pri uporabi propellerskega mešala se tekočina v posodi giblje ob pogonski gredi navzdol, na dnu posode pa se obrne in dvigne ob obodu posode navzgor. Nekatera mešala, na primer turbinsko mešalo s poševnimi lopaticami, povzročajo mešano radialno – aksialno pretakanje tekočine (21). Poleg teh osnovnih vrst obstaja na trgu zelo veliko drugih različnih vrst mešal (20).

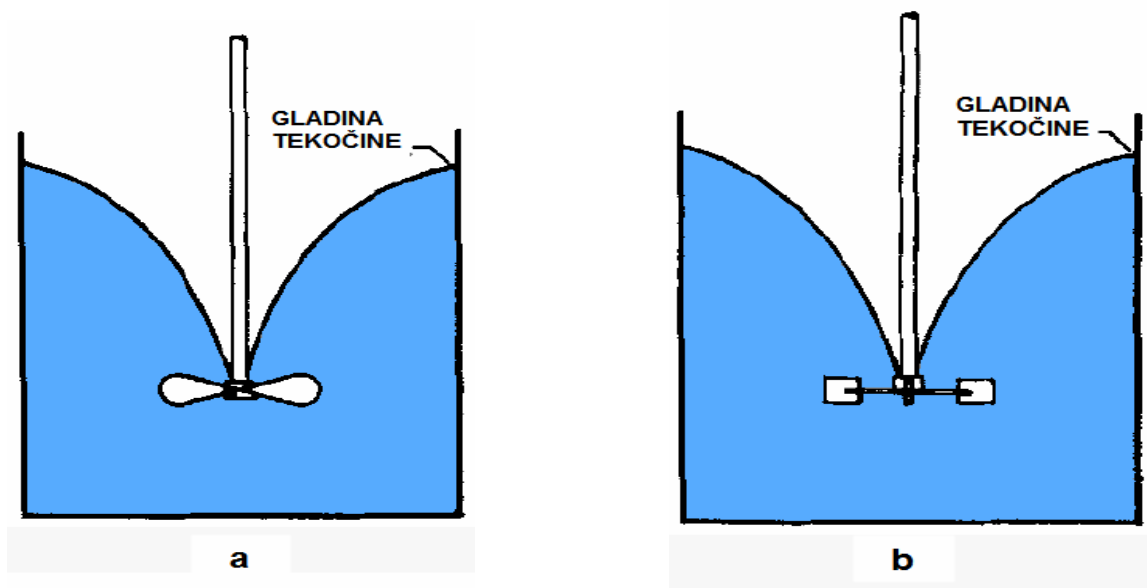


Slika 11: Propellersko mešalo kot primer aksialnega mešala.



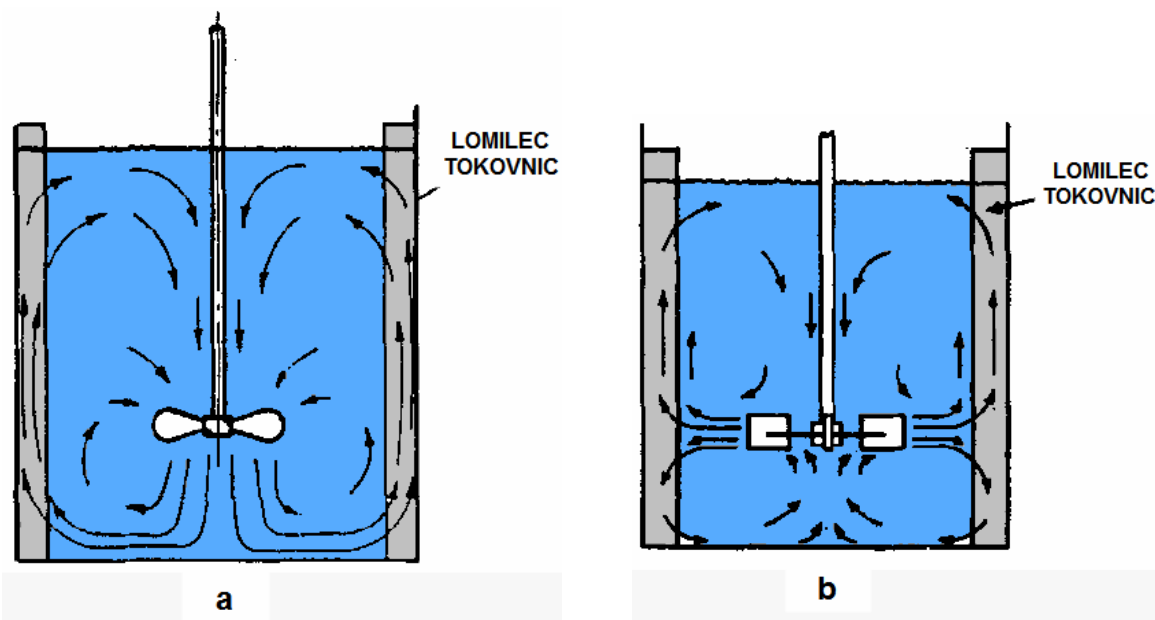
Slika 12: Turbinsko mešalo s poševnimi lopaticami kot primer aksialnega mešala.

Zaradi radialnih tokov, ki jih povzročajo tako radialna kot tudi aksialna mešala, nastaja v bližini pogonske gredi podtlak, tako da je od zgoraj navzdol opazen srk tekočine (slika 13). Srk tekočine in zraka zmanjšamo z **lomilci tokovnic ob stenah posode** (slika 14), ki preprečujejo vrtinčenje tekočine in posledično vmešavanje zraka in v veliki meri izboljšajo učinek mešanja. Če lomilcev tokovnic ne uporabljamo, pride do vrtinčenja tekočine tako v primeru uporabe radialnih kot tudi v primeru aksialnih mešal (slika 13) (21). V obeh primerih prihaja do vmešavanja zraka v tekočino, prav tako ni izrazitega navpičnega mešanja tekočine. Mešanje zato ni učinkovito (20).



Slika 13: Vzorec mešanja z aksialnim (a) in radialnim (b) mešalom brez uporabe lomilcev tokovnic. V obeh primerih prihaja do vrtinčenja tekočine (20).

Z uporabo lomilcev tokovnic preprečimo vrtinčenje tekočine in dosežemo boljše navpično mešanje tekočine v sami tekočini pod gladino tekočine (slika 14). S tem dosežemo dvig suspendiranih delcev z dna posode in njihovo enakomerno porazdelitev po celotnem volumnu tekočine (21).



Slika 14: Vzorca mešanja z aksialnim mešalom (a) in radialnim mešalom (b) pri uporabi lomilcev tokovnic se razlikujeta. V primeru aksialnega mešala se mešani material giblje ob pogonski gredi navzdol vse do dna posode, kjer se obrne in dvigne ob obodu

posode. V primeru radialnega mešala se tekočinski tok ob lomilcu tokovnic razdeli in deloma usmeri navzgor in deloma navzdol (20, 21).

Priporočena je uporaba štirih lomilcev tokovnic, katerih posamezna širina znaša $1/12$ premera posode. Vsak posamezni lomilec tokovnic mora biti odmaknjen od stene posode za najmanj $1/72$ premera posode. Za delce, ki ne sedimentirajo, ampak lebdijo oziroma flotirajo, se priporoča uporaba potopljenih polovičnih lomilcev tokovnic. Z njimi dosežemo nadzorovano vrtinčenje tekočine, s katerim flotirajoče suspendirane delce vmešamo v globlje dele tekočine (19). Če lomilcev tokovnic ni možno uporabiti, lahko podoben učinek dosežemo s postavitvijo mešalnega telesa pod kotom in izven centra posode (20).

Za mešanje suspenzij obstajajo posebna priporočila. Dno mešalne posode mora biti ukrivljeno (izobčeno). V primeru ravnega dna je potrebna 10 do 20% večja hitrost vrtenja mešala za dosego enakega učinka mešanja. Izogibati se je potrebno stožčastim oblikam dna posode. Zelo pomembno je razmerje med globino tekočine (h), ki jo mešamo in premerom posode (d). Razmerje h/d naj bi bilo manjše od vrednosti 1,3. Če je razmerje večje, je potrebna uporaba dvojnega mešala, s katerim zagotovimo zadovoljivo mešanje po celotni višini tekočine. Če je razmerje h/d večje od vrednosti 2,5, je potrebna uporaba trojnega mešala. Posode s tako velikim razmerjem med višino in širino kljub uporabi trojnega mešala niso priporočljiva izbira za mešanje suspenzij. Priporočljivejša je uporaba aksialnih mešal (19).

2 NAMEN DELA

Suspenzije so termodinamsko nestabilni sistemi, kar vodi v nehomogeno porazdelitev učinkovine v izdelku. Zato je glavna pomanjkljivost suspenzij njihovo nezanesljivo pravilno odmerjanje.

Stabilnost suspenzij je zaradi kompleksne sestave sistemov le redkokdaj podprta z natančno razlago mehanizmov fizikalne stabilizacije. Pri razvoju formulacije običajno vrednotimo sklop parametrov in razlagamo njihove medsebojne korelacije. Pri tem želimo čim boljše spoznati obnašanje učinkovine v izbranem disperznem mediju in z dodajanjem pomožnih snovi izboljšati lastnosti sistema. V okviru magistrske naloge bomo skušali raziskati vzroke, ki med izdelavo nazalne suspenzije vodijo v nehomogeno porazdelitev učinkovine. Osredotočili se bomo predvsem na vpliv hitrosti mešanja v različnih fazah proizvodnje.

V okviru naloge bomo vrednotili naslednje fizikalno kemijske parametre:

- vsebnost budezonida v naključnih slojih suspenzije, izdelane v industrijskem merilu,
- vsebnost budezonida v znanih slojih suspenzije, izdelane v industrijskem merilu po dveh različnih tehnoloških procesih (visoke in nizke hitrosti mešanja),
- vsebnost budezonida v zgornjem in spodnjem sloju suspenzije premešane na dva različna načina v laboratoriju (visoka in nizka hitrost mešanja)
- viskoznost izdelane nazalne suspenzije,
- velikost delcev budezonida v izdelani suspenziji,
- velikost zračnih mehurčkov v izdelani suspenziji.

Najprej bomo določili vsebnost budezonida v naključnih slojih večjega števila serij suspenzije izdelane v industrijskem merilu in tako določili nihanje vsebnosti učinkovine med posameznimi vzorci in med posameznimi serijami. Nato bomo določili vsebnost budezonida v posameznih navpičnih slojih serij suspenzij izdelanih v industrijskem merilu po dveh različnih tehnoloških procesih. V prvem tehnološkem procesu A bodo hitrosti mešanja v posameznih fazah procesa visoke, v drugem tehnološkem procesu B pa bodo hitrosti mešanja v posameznih fazah procesa nizke. Prav tako bomo vpliv

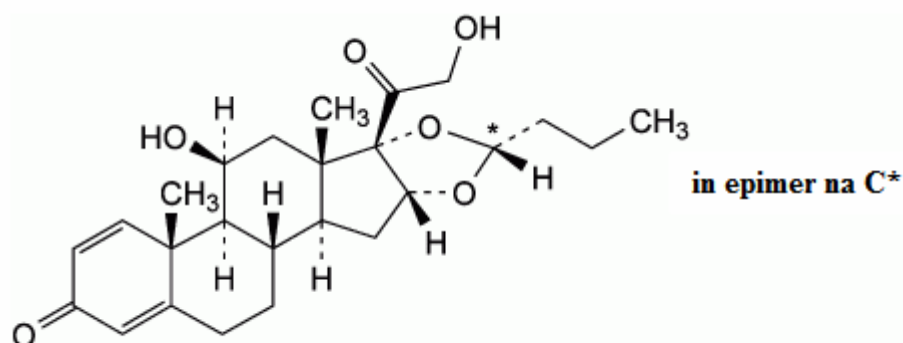
hitrosti mešanja na vsebnost budezonida nazalne suspenzije preverili v laboratoriju ter določili vsebnost učinkovine v zgornjem in spodnjem sloju suspenzije. Nato bomo na podlagi izmerjene viskoznosti suspenzije in velikosti delcev učinkovine izračunali teoretično hitrost sedimentacije delcev v suspenziji. Raziskali bomo prisotnost zraka v suspenziji in interakcije učinkovine z zračnimi mehurčki ter preučili mehanizem nehomogene porazdelitve učinkovine v izdelku. Na podlagi velikosti zračnih mehurčkov in delcev učinkovine bomo v primeru interakcij med učinkovino in zračnimi mehurčki v suspenziji poskušali izračunati teoretično hitrost flotacije učinkovine. S primerjavo hitrosti bomo preverili vpliv vmešanega zraka na vertikalno porazdelitev učinkovine v suspenziji.

Končni rezultat magistrske naloge bo določitev kritičnih procesnih parametrov v proizvodnem procesu nazalne suspenzije, ki bodo zagotavljali ponovljivo kakovost izdelka, ki ustreza predhodno določenim specifikacijam.

3 EKSPERIMENTALNO DELO

3.1. UPORABLJENI MATERIALI

3.1.1. BUDEZONID



Slika 15: Strukturna formula budezonida (22).

Ustreza monografiji: Budesonide (PhEur) (22)

Proizvajalec: Farmabios S.P.A., Gropello Cairoli, Italija

Fizikalno kemijske lastnosti (22, 23):

Empirična formula: $C_{25}H_{34}O_6$.

Molska masa: 430,5 g/mol.

Lastnosti: bel ali skoraj bel kristaliničen prah.

Topnost: skoraj netopen v vodi in heptanu, lahko topen v metilen kloridu in kloroformu, zmerno topen v koncentriranem etanolu. Porazdelitveni koeficient oktanol / voda pri vrednosti pH 5 znaša $1,6 \times 10^3$.

Farmakodinamske lastnosti budezonida (23, 24, 25, 26)

Budezonid je sintetični glukokortikoid, ima močno izraženo glukokortikoidno in šibko izraženo mineralokortikoidno delovanje. Sodi v skupino zdravilnih učinkovin, ki jih uporabljamo za blaženje vnetja, ne glede na njegov vzrok. Vnetje blažijo, ker zavirajo delovanje prostaglandinov, ki sprožajo vnetno dogajanje. Nosne inhalacije budezonida se uporabljajo pri terapiji astme in sicer za preprečevanje napadov astme. Niso pa učinkovite pri lajšanju astmatičnega napada, ki se je že začel. Poleg flutikazona je najpogosteje izbran inhalacijski glukokortikoid. Budezonid je 200 – krat bolj učinkovit kot kortikosteroidni hormon kortizol. Preiskovana nazalna suspenzija budezonida se

uporablja za preprečevanje in zdravljenje sezonskega in celoletnega alergijskega rinitisa, nealergijskega rinitisa ter nosnih polipov. Zmanjšuje resnost vseh nosnih simptomov alergijskega rinitisa, kot so srbenje v nosu, kihanje, nosni izcedek in zamašenost nosu (26).

Farmakokinetične lastnosti (23, 24):

Pri inhalaciji se približno 20% glukokortikoidov zadrži v pljučih in se kasneje praktično v celoti absorbira v centralni krvni obtok. Preostalih 80% se pogoltne in po absorpciji iz prebavnega trakta zapadejo predsystemskega metabolizmu v jetrih. Biološka uporabnost budezonida po peroralni aplikaciji je nizka in znaša okoli 10%.

Porazdelitveni volumen budezonida znaša 2-3 L/kg telesne mase. V jetrih se hitro in v velikem obsegu metabolizira v metabolite s šibko izraženimi kortikosteroidnimi učinki. Glavna metabolita sta 6- β -hidroksibudezonid in 16- α -hidroksiprednizolon, ki imata manj kot 1% glukokortikoidne aktivnosti budezonida. Zanimljivo je, da se metabolizira v koži, pljučih in serumu. Budezonid se izloča iz telesa v obliki metabolitov. Dve tretjini se izločita preko urina, preostala tretjina pa preko blata. Biološka razpolovna doba budezonida je 2 do 3 ure.

Odmerjanje budezonida (26):

Za zdravljenje astme se uporablja v obliki inhalacij s pomočjo inhalatorja. Dnevni odmerek je 400 μ g/dan, pri težkih oblikah astme lahko 1,6 mg/dan. Vzdrževalni odmerek mora biti nižji od 400 μ g/dan, vendar ne nižji od 200 μ g/dan.

Možni neželeni učinki (26):

Neželeni učinki, ki se ne pojavljajo pogosto (pojavijo se pri 1 od 10 do 100 bolnikov):

- suha usta, prebavne motnje,
- draženje nosu in žrela, krvavitev iz nosu, kašelj ter kihanje.

Neželeni učinki, ki se pojavljajo občasno (pojavijo se pri 1 od 100 do 1000 bolnikov):

- slabost,
- vnetje kože po stiku s škodljivim dejavnikom (kontaktni dermatitis), koprivnica (urtikarija), izpuščaji.

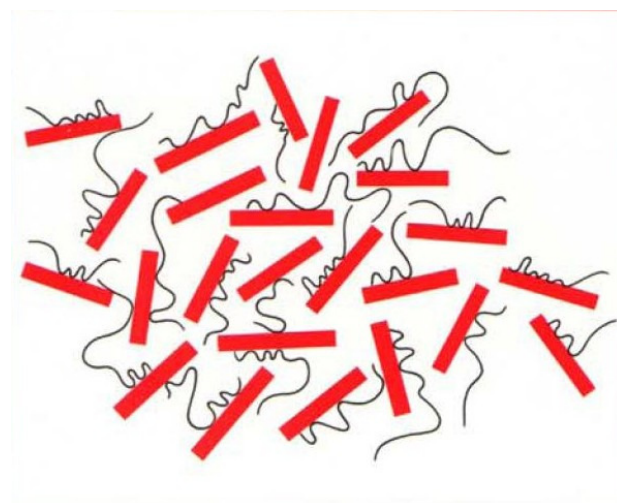
3.1.2. AVICEL[®] RC-591

Ustreza monografiji: Microcrystalline Cellulose and Carmellose sodium (PhEur) (22)

Proizvajalec: FMC Biopolymer, Filadelfija (Philadelphia), ZDA

Opis: Avicel[®] je trgovsko ime za mikrokristalno celulozo. Pridobivajo jo iz surove celuloze s segrevanjem z mineralnimi kisljinami in z dodatnim mehanskim mletjem celuloznih agregatov. Gre za proces omejene hidrolize, s katero dosežejo manjšo polimerizacijsko stopnjo (27). Avicel RC-591 je trgovsko ime za mikrokristale celuloze (MCC – microcrystalline cellulose), ki jih povezujejo verige karboksimetilceluloze (CMC – carboxymethylcellulose) (28).

V prisotnosti vode pod zmernimi strižnimi silami Avicel[®] RC-591 nabrekne in tvori koloidno disperzijo. Mikrokristali MCC so med seboj povezani preko verig vodotopne CMC in skupaj tvorijo mrežasto strukturo. Pri koncentracijah Avicela[®] RC-591, ki so manjše od 1%, nastajajo koloidne disperzije, pri višjih koncentracijah pa nastanejo tiksotropni geli. Gre za sisteme, kjer viskoznost pada s časom in naraščajočo strižno obremenitvijo. Pod vplivom strižnih sil se mrežasta struktura poruši, ker se mikrokristali celuloze uredijo in zmanjšajo trenje med posameznimi plastmi disperzije. Tako dobimo sol stanje. Ko disperzija nekaj časa miruje, se mrežasta struktura ponovno vzpostavi in tvori plastični gel (28).



Slika 16: Shematski prikaz strukture Avicela[®] RC-591. Delce MCC (rdeči kvadrati) povezujejo verige CMC.

Fizikalno kemijske lastnosti Avicela RC-591:

Lastnosti: bel ali skoraj bel, grob ali fin prah (22).

3.1.3. POLISORBAT 80

Ustreza monografiji: Polysorbate 80 (PhEur) (22)

Proizvajalec: Croda Europe Ltd., Snaith, Velika Britanija

Opis:

Polisorbat 80 je ester sorbitola in njegovih anhidridov z maščobnimi kislinami, zlasti oleinske kisline in kondenziranih s približno 20 moli etilen oksida na mol sorbitola in njegovih anhidridov (29).

Fizikalno kemijske lastnosti (22):

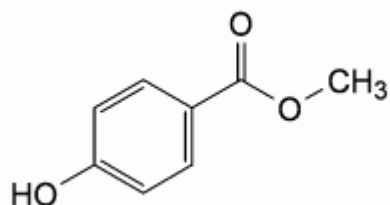
Lastnosti: bistra do rahlo opalescentna, brezbarvna ali rumena do rjavo rumenkasta oljna tekočina.

Topnost: topen v vodi, brezvodnem etanolu, etilacetatu in metanolu. Skoraj netopen v tekočem parafinu in maščobnih oljih.

Relativna gostota: okoli 1,10.

Viskoznost: okoli 400 mPas pri 25 °C.

3.1.4. METILHIDROKSIBENZOAT



Slika 17: Strukturna formula metilhidroksibenzoata (22).

Ustreza monografiji: Methyl Parahydroxybenzoate (PhEur) (22)

Proizvajalec: Chemische Werke Hommel GmbH, Norderstedt, Nemčija

Fizikalno kemijske lastnosti (22):

Empirična formula: C₈H₈O₃.

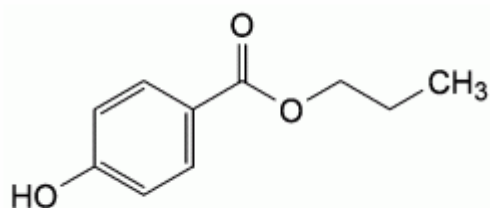
Molska masa: 152,1 g/mol.

Lastnosti: Brezbarvni kristali ali bel kristalen prah.

Topnost: Zelo težko topen v vodi, lahko topen v koncentriranem etanolu in metanolu.

Tališče: 125 – 128 °C.

3.1.5 PROPILHIDROKSIBENZOAT



Slika 18: Strukturna formula propilhidroksibenzoata (22).

Ustreza monografiji: Propyl parahydroxybenzoate (PhEur) (22)

Proizvajalec: Chemische Werke Hommel GmbH, Norderstedt, Nemčija

Fizikalno kemijske lastnosti (22):

Empirična formula: $C_{10}H_{12}O_3$

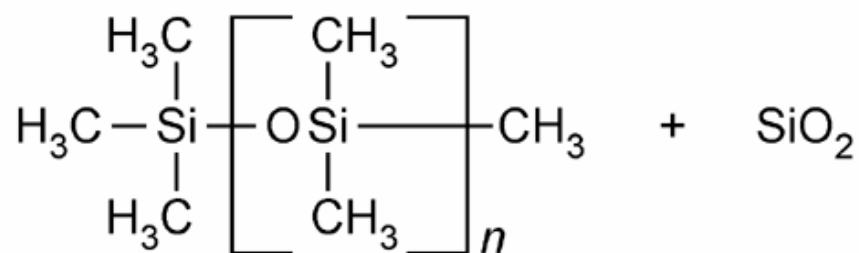
Molska masa: 180,2 g/mol

Lastnosti: majhni, brezbarvni kristali ali bel kristaliničen prah.

Topnost: Zelo težko topen v vodi, lahko topen v koncentriranem etanolu in metanolu.

Tališče: 96 – 99 °C.

3.1.6. SIMETIKON EMULZIJA



Slika 19: Strukturna formula simetikona (30).

Ustreza monografiji: Simethicone Emulsion (USP) (30)

Proizvajalec: Dow Corning, La Hulpe, Belgija

Opis (30):

Simetikon je mešanica polidimetilsiloksana ($[-(\text{CH}_3)_2\text{SiO}-]_n$) in silicijevega dioksida. Vsebuje od 90,5 % do 99,0% polidimetilsiloksana in od 4,0% do 7,0% silicijevega dioksida. Simetikon emulzija je vodna disperzija simetikona, ki poleg simetikona vsebuje še ustrezne emulgatorje, konzervanse in vodo. Lahko vsebuje ustrezne snovi za povečanje viskoznosti. Delež polidimetilsiloksana znaša med 85,0 in 110,0 % od označene vsebnosti simetikona.

Fizikalno kemijske lastnosti (30):

Lastnosti: skoraj bela, mlečna tekočina.

3.1.7. PROPILENGLIKOL

Ustreza monografiji: Propylene Glycol (PhEur) (22)

Proizvajalec: BASF SE, Ludwigshafen, Nemčija

Fizikalno kemijske lastnosti (22):

Empirična formula: $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_2$

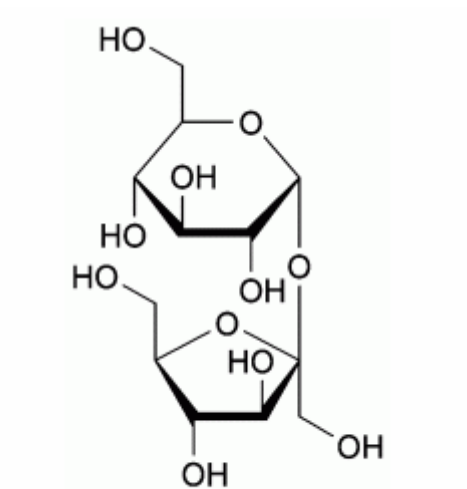
Molska masa: 76,1 g/mol

Lastnosti: bistra, brezbarvna, higroskopna, viskozna tekočina.

Topnost: se meša z vodo in koncentriranim etanolom.

Vrelišče: 184 – 189 °C.

3.1.8. SAHAROZA



Slika 20: Strukturna formula saharoze (22).

Ustreza monografiji: Sucrose (PhEur) (22)

Proizvajalec: Suedzucker AG, Mannheim, Nemčija

Opis: Saharoza je disaharid α – D – glukoze in β – D – fruktoze. Imenuje se tudi trsni sladkor ali pesni sladkor oziroma pogovorno namizni sladkor (31).

Fizikalno kemijske lastnosti (22):

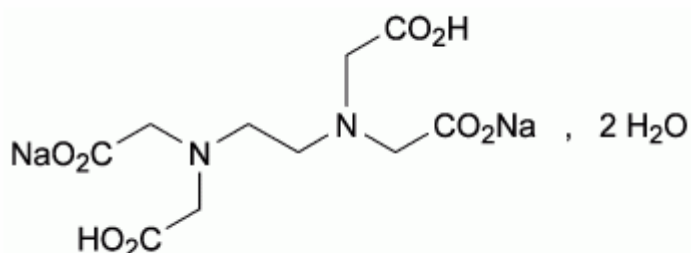
Empirična formula: $C_{12}H_{22}O_{11}$.

Molska masa: 342,3 g/mol.

Lastnosti: bel ali skoraj bel kristalen prah oziroma lesketajoči, brezbarvni ali beli do skoraj beli kristali.

Topnost: zelo lahko topen v vodi, težko topen v koncentriranem etanolu, skoraj netopen v brezvodnem etanolu.

3.1.9. DINATRIJEV EDETAT



Slika 21: Strukturna formula dinatrijevega edetata (22).

Ustreza monografiji: Disodium Edetate (PhEur) (22)

Proizvajalec: Merck KgaA, Lutterworth, Velika Britanija

Fizikalno kemijske lastnosti (22):

Empirična formula: $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8, 2H_2O$.

Molska masa: 372,2 g/mol.

Lastnosti: bel kristaliničen prah.

Topnost: topen v vodi, skoraj netopen v koncentriranem etanolu.

3.1.10. KLOROVODIKOVA KISLINA

Ustreza monografiji: Hydrochloric Acid, concentrated (PhEur) (22)

Proizvajalec: Merck KgaA, Lutterworth, Velika Britanija

Fizikalno kemijske lastnosti (22):

Empirična formula: HCl.

Vsebnost: 35,0 – 39,0 (% m/m).

Molska masa: 36,46 g/mol.

Lastnosti: bistra, brezbarvna kadeča tekočina.

Topnost: meša se z vodo.

Relativna gostota: okrog 1,18.

3.1.11. DEMINERALIZIRANA VODA

Ustreza monografiji: Purified Water in bulk (PhEur) (22)

Proizvajalec: farmacevtska družba Lek

Fizikalno kemijske lastnosti (22):

Empirična formula: H₂O.

Molska masa: 18,02 g/mol.

Lastnosti: bistra in brezbarvna tekočina.

3.2. NAPRAVE

Proizvodna oprema:

- Duplikator Mavag 130 L: PV 130 DI (Mavag, Nemčija)
- Industrijski homogenizator: Ultra-Turrax 115 KT (IKA, Labortechnik, Nemčija)
- Pnevmatiski ročni mešalec: LBB36 H033 (Atlas Copco, Švedska)
- pH meter: 913 pH (Knick, Nizozemska)
- Posode iz nerjavečega materiala: 5 L, 10 L in 60 L
- 130 L posoda iz nerjavečega materiala (predložka): 130 L (Seitz, Nemčija)
- Polnilni stroj za stekleničke: F 47 (Farmomac, Italija)
- Zapiralni stroj za stekleničke: T 40 (Tre Emme, Italija)

Laboratorijska oprema:

- Merilni valj: 2000 mL
- Pipeta, merilna: 25 mL
- Laboratorijska čaša: 1 L, 2 L
- Laboratorijski homogenizator: Ultra-Turrax T 25 D (IKA, Labortechnik, Nemčija)
- Laboratorijsko mešalo: RW20 (IKA, Labortechnik, Nemčija)

Analizne aparature:

- HPLC: Waters 2695 (Alliance, Združene države Amerike);
- Optični mikroskop: BX51 (Olympus, Japonska);
- Elektronski mikroskop (SEM mikroskop): JEOL JSM 5800 (JEOL, Japonska);
- Rotacijski viskozimeter: RS 75 (Haake Rheo Stress, Združene države Amerike);
- Naprava za določanje velikosti delcev z metodo sipanja laserske svetlobe: Malvern Mastersizer S (Malvern, Velika Britanija);

Za določevanje velikosti delcev in zračnih mehurčkov na fotografijah optičnega mikroskopa smo uporabljali program ImageJ 1.42q (32).

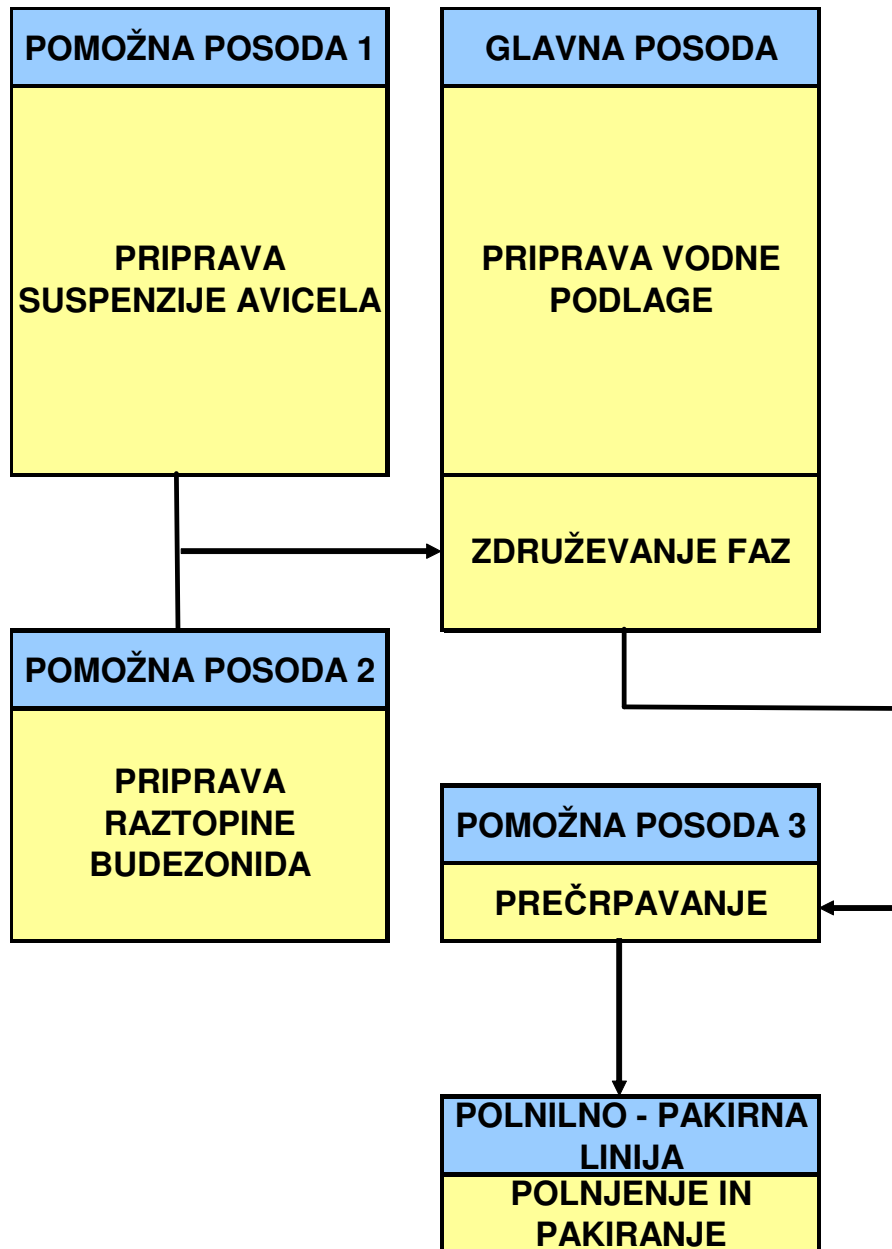
3.3. METODE

Nazalna suspenzija vsebuje 1,00 mg budezonida v 1,00 mL nazalne suspenzije. Gostota suspenzije znaša $1130 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$. Sestava izdelka ter vloga posameznih sestavin je prikazana v preglednici 3.

Preglednica 3: Sestava nazalne suspenzije budezonida.

SESTAVINA	VLOGA
budezonid (1 mg/mL)	zdravilna učinkovina
metilhidroksibenzoat	konzervans
propilhidroksibenzoat	konzervans
Avicel RC – 591	regulator viskoznosti
polisorbat 80	površinsko aktivna snov
simetikon emulzija	protipenilo
propilenglikol	topilo zdravilne učinkovine
saharoza	zgoščevalo
dinatrijev edetat	konzervans
klorovodikova kislina	uravnavanje pH vrednosti
demineralizirana voda	disperzno sredstvo

Suspenzijo smo izdelali po dveh različnih tehnoloških procesih, ki jih bomo v nadaljevanju imenovali postopek A in B. Shematski prikaz izdelave suspenzije je prikazan na sliki 22 in je za oba tehnološka procesa identičen. Pri tehnološkem procesu A smo v določenih fazah procesa uporabljali visoke hitrosti mešanja, tako da je prihajalo do vmešavanja zraka v izdelek. Pri tehnološkem procesu B smo v teh fazah procesa uporabljali nizke hitrosti mešanja, tako da do vmešavanje zraka v izdelek ni prišlo.



Slika 22: Shematski prikaz izdelave suspenzije.

Opis tehnološkega procesa A (visoke hitrosti mešanja in homogeniziranja):

V glavni posodi smo pripravili segreto raztopino saharoze, polisorbata in simetikon emulzije v demineralizirani vodi. Raztopino smo nato ohladili na sobno temperaturo.

V pomožni posodi 1 smo pripravili raztopino dinatrijevega edetata v demineralizirani vodi, v katero smo med homogeniziranjem počasi dodali Avicel® RC-591 in ga pustili nabrekati. Uporabili smo visoko hitrost homogenizacije (2845 obr/min) brez lomilcev tokovnic, tako da je prihajalo do vmešavanja zraka. Vsebino iz pomožne posode 1 smo prenesli v glavno posodo in mešali z visoko hitrostjo (zgornje mešalo 1410 obr/min, spodnje mešalo 555 obr/min), da je prihajalo do vmešavanja zraka v izdelek.

V pomožni posodi 2 smo pripravili raztopino metilhidroksibenzoata in propilhidroksibenzoata v propilenglikolu. Dodali smo budezonid in mešali do raztopitve. Raztopino iz pomožne posode 2 smo počasi prenesli v glavno posodo in mešali z visoko hitrostjo (zgornje mešalo: 1410 obr/min, spodnje mešalo: 740 obr/min), tako da je prihajalo do vmešavanja zraka v izdelek. Ker je učinkovina skoraj netopna v vodi, pride v tej fazi do nadzorovane kristalizacije budezonida v obliki majhnih kristalov.

S pomočjo klorovodikove kisline smo uravnali pH izdelka ter ga dopolnili z demineralizirano vodo do predpisanega volumna.

Suspenzijo smo prenesli v pomožno posodo 3, kjer smo jo premešali z ročnim mešalom z visoko hitrostjo mešanja (okoli 3000 obr/min), tako da je prihajalo do vmešavanja zraka v izdelek. Sledilo je polnjenje v stekleničke. Med procesom polnjenja smo suspenzijo mešali z majhnim mešalom, zato se zadnjih 20 % volumna suspenzije med procesom polnjenja ni mešalo, ker je bil nivo suspenzije pod nivojem mešala.

Opis tehnološkega procesa B (nizke hitrosti mešanja in homogeniziranja):

V glavni posodi smo pripravili segreto raztopino saharoze, polisorbata in simetikon emulzije v demineralizirani vodi. Raztopino smo nato ohladili na sobno temperaturo.

V pomožni posodi 1 smo pripravili raztopino dinatrijevega edetata v demineralizirani vodi, v katero smo med homogeniziranjem počasi dodali Avicel® RC-591 in ga pustili nabrekati. Homogenizirali smo z visokimi hitrostmi (2845 obr/min) ter uporabili lomilce tokovnic, s katerimi smo preprečili vmešavanje zraka. Vsebino iz pomožne posode 1 smo prenesli v glavno posodo in mešali z nizko hitrostjo (spodnje mešalo: 370 obr/min), da smo preprečili vmešavanje zraka v izdelek.

V pomožni posodi 2 smo pripravili raztopino metilhidroksibenzoata in propilhidroksibenzoata v propilenglikolu. Dodali smo budezonid in mešalo do raztopitve.

Raztopino iz pomožne posode 2 smo počasi prenesli v glavno posodo in mešali z nizko hitrostjo (spodnje mešalo: 460 obr/min), tako smo preprečili vmešavanje zraka v izdelek. Ker je učinkovina skoraj netopna v vodi, pride v tej fazi do nadzorovane kristalizacije budezonida v obliki majhnih kristalov.

S pomočjo klorovodikove kisline smo uravnali pH izdelka ter ga dopolnili z demineralizirano vodo do predpisanega volumna.

Suspenzijo smo prenesli v pomožno posodo 3, kjer smo jo premešali z nizko hitrostjo mešanja (okoli 1000 obr/min), s čimer smo preprečili vmešavanje zraka v izdelek. Sledilo je polnjenje v stekleničke. Med procesom polnjenja smo suspenzijo mešali z večjim mešalom, ki je segal skoraj do dna pomožne posode 3. Zadnjih 5 % volumna suspenzije med procesom polnjenja ni mešala, ker je bil nivo suspenzije pod nivojem mešala.

3.3.1. DOLOČITEV VSEBNOSTI BUDEZONIDA V NAKLJUČNIH SLOJIH NAZALNE SUSPENZIJE

Izdelali smo 97 serij po 100 L nazalne suspenzije po tehnološkem procesu A. Celotno količino posamezne serije smo napolnili v 10 mL stekleničke in naključno vzorčili po 5 stekleničk (vzorci A, B, C, D in E) iz vsake izmed 97-ih serij. Vsak posamezni vzorec smo označili z zaporedno številko serije in zaporedno črko vzorca. Primer: oznaka vzorca 45D, ki pomeni 4. vzorec (oznaka D) v 45. seriji (oznaka 45) nazalne suspenzije. S HPLC analizo smo v vseh stekleničkah določili vsebnost budezonida. Za vsako serijo smo iz 5 – ih meritev vsebnosti izračunali povprečno vrednost vsebnosti budezonida ter koeficient variacije.

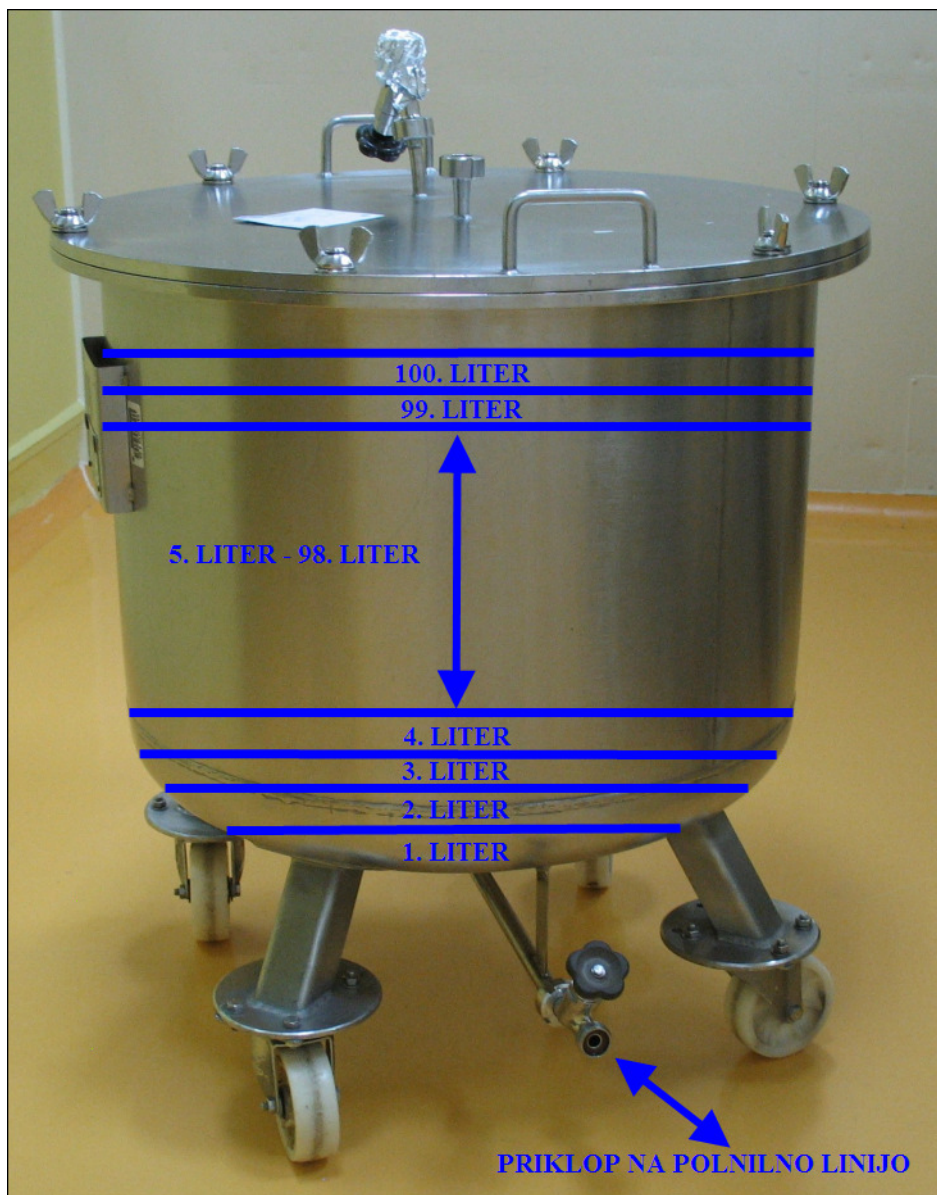
Vsebnost budezonida smo določili s HPLC analizo. Rezultat vsebnosti smo podali v mg budezonida / mL nazalne suspenzije. Vzorce smo pripravil tako, da smo vsebino posamezne stekleničke kvantitativno prenesli v bučko. Na ta način smo določili vsebnost budezonida v celotni steklenički. Kromatografski pogoji:

- mobilna faza: voda / metanol (volumsko razmerje = 350 / 650),
- pretok: 1,0 mL / min,
- kolona: Licrospher 60 RP Select B, 5 μ m, 150 x 4,6 mm,
- temperatura: kontrolirana sobna temperatura,
- valovna dolžina 242 nm,
- volumen injiciranja 10 μ L.

3.3.2. DOLOČITEV VSEBNOSTI BUDEZONIDA V ZNANIH SLOJIH NAZALNE SUSPENZIJE

Izdelali smo 8 serij po 100 L nazalne suspenzije budezonida po tehnološkem procesu A. Suspenzijo smo napolnili v 10 mL stekleničke. Med procesom polnjenja smo ob določenih časih vzorčili po 5 zaporednih stekleničk. Glede na število že napolnjenih stekleničk smo lahko ob času vzorčenja seta 5 – ih stekleničk določili, kateri sloj suspenzije se je v trenutku vzorčenja polnil. Suspenzijo smo navidezno razdelili na 100 slojev, tako da je vsakemu sloju ustrezal 1 L suspenzije. Začetek je pripadal spodnjemu sloju (1. sloj oziroma 1. liter nazalne suspenzije), konec je pripadal zgornjemu sloju (100. sloj oziroma 100. liter nazalne suspenzije) – shematski prikaz je ponazorjen na sliki 23. S HPLC analizo smo v vseh stekleničkah določili vsebnost budezonida. Za posamezni sloj smo iz 5-ih meritev vsebnosti izračunali povprečno vrednost vsebnosti budezonida ter koeficient variacije.

Nato smo izdelali še 7 serij po 100 L nazalne suspenzije budezonida po tehnološkem procesu B (z nizkimi hitrostmi mešanja). Suspenzijo smo napolnili v 10 mL stekleničke. Vzorčenje in analizo vsebnosti budezonida v posameznih slojih smo izdelali na enak način kot v primeru priprave suspenzije po tehnološkem postopku A.



Slika 23: Shematski prikaz slojev za vzorčenje v pomožni posodi 3 (130 L predložka).

3.3.3. VPLIV HITROSTI MEŠANJA NA VSEBNOST BUDEZONIDA V LABORATORIJSKEM MERILU

Pripravili smo 100 L serijo nazalne suspenzije po tehnološkem procesu A. Pred prečrpavanjem suspenzije v pomožno posodo 3 (130 L predložka) smo vzorčili dvakrat po 0,5 L nazalne suspenzije v 1 L stekleno čašo. Vzorca smo poimenovali vzorec X in vzorec Y. Oba vzorca smo pustili mirovati 30 minut. Po preteku tega časa smo vzorec X 10 minut mešali z laboratorijskim mešalom s hitrostjo 1400 obr / min, tako da je prihajalo do vmešavanja zraka. Vzorec Y smo prav tako mešali 10 minut, toda le na rahlo s stekleno palčko, tako da ni prihajalo do vmešavanja zraka. Oba premešana vzorca smo pustili mirovati 20 minut, nato pa smo s pomočjo merilne pipete iz vzorca X in iz vzorca Y vzorčili 3 x 10 mL z dna nazalne suspenzije in 3 x 10 mL z vrha nazalne suspenzije. V vseh odvzetih vzorcih smo določili vsebnost budezonida s HPLC analizo .

3.3.4. DOLOČITEV VISKOZNOSTI SUSPENZIJE

Viskoznost (η) je karakteristična lastnost, ki predstavlja notranje trenje v tekočinah. Predstavlja sorazmernostni koeficient med strižno napetostjo in strižno hitrostjo, kar prikazuje enačba 8 (3):

$$\frac{F}{S} = \eta \cdot \frac{dv}{dr} \quad \text{Enačba 8}$$

F – strižna sila med dvema plastema tekočine (N)

S – površina ploskve (m^2)

dv – sprememba hitrosti tekočine ($m \cdot s^{-1}$)

dr – razdalja med dvema navideznima ploščama tekočine (m)

dv / dr – strižna hitrost (s^{-1})

η – viskoznostni koeficient ali viskoznost (Pa·s)

Razmerje F/S imenujemo tudi strižna napetost in jo označujemo z oznako τ . Razmerje dv / dr pa imenujemo tudi strižna hitrost in jo označujemo z oznako D. Tako dobimo enačbo 9 (3):

$$\tau = \eta \cdot D$$

Enačba 9

τ – strižna napetost ($\text{N}\cdot\text{m}^{-2}$)

η – viskoznostni koeficient ali viskoznost ($\text{Pa}\cdot\text{s}$)

D – strižna hitrost (s^{-1})

Tekočine glede viskoznostnih lastnosti v grobem razdelimo na idealne ali Newtonske in na realne ali ne-Newtonske sisteme. Newtonski sistemi so idealne tekočine, pri katerih je viskoznost neodvisna od delovanja sile na sistem in njenega trajanja. Viskoznost je odvisna le od temperature in atmosferskega tlaka. Njihovo viskoznost opisuje enačba 9 (33).

Realne kapljevine so bolj kompleksne in jih uvrščamo med ne-Newtonske sisteme. Pri teh sistemih je viskoznost poleg temperature in atmosferskega tlaka odvisna tudi od delovanja sile na sistem in njenega trajanja. Razdelimo jih na več skupin, ki so prikazane v preglednici 4 (33).

Preglednica 4: Reološka razdelitev sistemov (33).

SISTEM	OPIS	PRIMER
NEWTONSKI	Viskoznost je neodvisna od delovanja sile na sistem in njenega trajanja.	Plini, voda, mineralna olja, raztopine topljencev z nizko molekulsko maso.
PSEVDOPLASTIČNI	Viskoznost z naraščajočo strižno obremenitvijo pada zaradi ureditve strukturnih elementov v smeri toka kot posledica delovanja obremenitve.	Polimerne raztopine, nizko koncentrirane suspenzije.
DILATANTNI	Viskoznost z naraščajočo strižno obremenitvijo narašča zaradi premika strukturnih elementov, kjer pride do povečanja medsebojnih interakcij, tako da se delci pri gibanju med seboj ovirajo.	Visoko koncentrirane suspenzije, določene vrste tenzidov.
PLASTIČNI	Potrebna je določena sila (mejna ali plastična napetost), pri kateri snov steče.	Nekatere paste.
TIKSOTROPNI	Viskoznost je poleg strižne obremenitve odvisna tudi od njenega trajanja. Viskoznost z naraščajočo obremenitvijo zaradi porušena strukture sistema pada, v razbremenilni fazi pa se po določenem času struktura ponovno zgradi.	Geli, paste.
REOPEKSNI	Viskoznost je poleg strižne obremenitve odvisna tudi od njenega trajanja. Viskoznost z naraščajočo obremenitvijo naraste, v razbremenilni fazi pa se sistemu zmanjša viskoznost na prvotno vrednost.	Lateks.
VISKOELASTIČNI	Viskoelastični sistemi so sistemi, ki imajo tako elastične kot plastične lastnosti. V to skupino sodi velika večina realnih snovi, tudi številne farmacevtske oblike.	Nekatere emulzije, svečke, suspenzije, mazila in geli.

Preučevani nazalni suspenziji smo izmerili viskoznost tako, da smo pripravili 100 L nazalne suspenzije budezonida po tehnološkem procesu B. Iz pripravljene serije smo odvzeli 3 vzorce po 10 mL iz naključnega sloja nazalne suspenzije (oznaka vzorcev 1A, 1B, in 1C) in vsakemu vzorcu izmerili viskoznost.

Nato smo iz iste pripravljene serije odvzeli v laboratorijsko čašo še 400 mL suspenzije iz naključnega sloja nazalne suspenzije in jo v čaši 2 minuti homogenizirali z laboratorijskim homogenizatorjem Ultra-Turrax T 25 D s hitrostjo homogeniziranja 21400 obr / min, nato pa mešali 3 minute z laboratorijskim mešalom s hitrostjo mešanja 1400 obr / min. Tako pri mešanju z laboratorijskim homogenizatorjem kot pri mešanju z laboratorijskim mešalom je prišlo do vmešavanja zraka v vzorec. Suspenzijo z vmešanim zrakom smo 3 krat vzorčili (oznaka vzorcev 2A, 2B in 2C) in po 10 – ih minutah vsakemu vzorcu izmerili viskoznost.

Viskoznost smo določali z rotacijskim viskozimetrom Haake, Rheo Stress RS 75, opremljenem z merilnim sistemom stožec – plošča pri temperaturi 23 °C in pri strižni hitrosti 40,000 / s.

3.3.5. DOLOČITEV VELIKOSTI DELCEV UČINKOVINE IN VELIKOSTI ZRAČNIH MEHURČKOV Z OPTIČNIM MIKROSKOPOM

Nazalna suspenzija – nizka hitrost mešanja

Pripravili smo 100 L nazalne suspenzije budezonida po tehnološkem procesu B. Vzorčili smo 10 mL vzorca, ki smo ga pregledali z optičnim mikroskopom in ga fotografirali. Velikost delcev učinkovine smo določili s pomočjo programske opreme ImageJ 1.42q (32). Preverili smo tudi prisotnost zračnih mehurčkov. Iz izmerjenih vrednosti velikosti delcev učinkovine smo določili minimalno in maksimalno velikost, njihovo srednjo vrednost ter koeficient variacije.

Nazalna suspenzija – visoka hitrost mešanja

Pripravili smo 100 L nazalne suspenzije budezonida po tehnološkem procesu B. Nato smo pripravili vzorce na enak način kot je opisano v poglavju 3.3.4. (oznaka vzorcev 2A, 2B in 2C) in jim enako kot pri vzorcih pripravljenih z nizko hitrostjo mešanja, z optičnem mikroskopom določili velikost delcev budezonida in velikost zračnih mehurčkov.

3.3.6. DOLOČITEV VELIKOSTI DELCEV BUDEZONIDA Z METODO LASERSKE DIFRAKCIJE

Pripravili smo eno 2 litrsko serijo nazalne suspenzije brez učinkovine (placebo) in določili velikosti delcev z lasersko difrakcijo. Nato smo pripravili eno 2 litrsko serijo nazalne suspenzije z budezonidom in na enak način določili velikost suspendiranih delcev Avicela RC-591 in delcev budezonida. Primerjava rezultatov obeh vzorcev nam je omogočila sklepanje na velikost samih delcev budezonida.

3.3.7. DOLOČITEV VELIKOSTI DELCEV BUDEZONIDA Z METODO VRSTIČNE ELEKTRONSKE MIKROSKOPIJE (SEM)

Vrstična elektronska mikroskopija (SEM, Scanning Electron Microscopy) kot vir valovanja uporablja elektrone, s pomočjo katerih ustvari sliko preiskovanega vzorca. Elektroni zaradi kratke valovne dolžine omogočajo veliko boljšo ločljivost od optičnega mikroskopa, ki kot vir valovanja uporablja vidno svetlobo. Zaradi majhne mase elektronov je njihova pot v zraku omejena. Zato je potrebno v notranjosti elektronskega mikroskopa zagotavljati vakuum, saj bi v nasprotnem primeru molekule plinov razpršile snop elektronov. Elektronski mikroskop tvorijo trije glavni sestavni deli (34):

- elektronska puška predstavlja vir elektronov
- elektro – magnetne leče izsevane elektrone zberejo v ozek snop
- detektor

Posebnost vrstične elektronske mikroskopije je pomikanje snopa elektronov po površini preparata. Zato, za razliko od transmisijske elektronske mikroskopije (TEM, Transmission electron microscopy), debelina preparata pri SEM ni pomembna. Vrstični elektronski mikroskop poleg visoke ločljivosti odlikuje predvsem velika globinska ostrina, zato je namenjen tridimenzionalnemu opazovanju površin in analizi struktur pri velikih povečavah (34).

Pripravili smo 100 L nazalne suspenzije budezonida po tehnološkem procesu B. Vzorčili smo 10 mL pripravljene suspenzije in vzorec pregledali z vrstičnim elektronskim mikroskopom ter s pomočjo fotografij vzorcev določili velikost delcev budezonida.

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1. DOLOČITEV VSEBNOSTI BUDEZONIDA V NAKLJUČNIH SLOJIH NAZALNE SUSPENZIJE

Izdelali smo 97 serij 100 L nazalne suspenzije budezonida po tehnološkem procesu A. Celotno količino posamezne serije nazalne suspenzije smo napolnili v 10 mL stekleničke. Vzorce smo pripravili tako kot je opisano v poglavju 3.3.1. S HPLC analizo smo vsaki steklenički določili vsebnost budezonida, ki so prikazane v preglednici 5. Za vsako serijo (N) smo iz 5 – ih meritev vsebnosti budezonida izračunali aritmetično srednjo vrednost (\bar{X}), standardno deviacijo (STDEV) ter koeficient variacije (KV). Skupaj je bilo analiziranih 97 x 5 stekleničk, to je skupaj 485.

Preglednica 5: Vsebnost budezonida v 97 – ih serijah izdelanih po tehnološkem procesu A (z vmešavanjem zraka). Deklarirana vsebnost budezonida je 1 mg / mL.

N	OZNAKA STEKLENIČKE					\bar{X} (mg / mL)	STDEV	KV (%)
	A	B	C	D	E			
	VSEBNOST (mg / mL)							
1	0,9928	1,0191	0,9972	0,9811	0,9943	0,9969	0,013840	1,39
2	0,9882	0,9747	0,9742	0,9780	0,9689	0,9768	0,007159	0,73
3	0,9820	0,9766	0,9797	0,9796	0,9871	0,9810	0,003912	0,40
4	0,9882	0,9769	0,9955	0,9901	0,9766	0,9855	0,008391	0,85
5	0,9976	1,0087	0,9873	0,9723	0,9818	0,9895	0,014091	1,42
6	0,9615	0,9955	0,9764	0,9731	0,9691	0,9751	0,012677	1,30
7	0,9969	0,9970	0,9925	0,9850	0,9864	0,9916	0,005671	0,57
8	1,0044	1,0019	0,9774	1,0060	0,9967	0,9973	0,011658	1,17
9	0,9881	0,9828	0,9879	0,9878	0,9881	0,9869	0,002318	0,23
10	0,9837	0,9803	0,9789	0,9727	0,9756	0,9782	0,004247	0,43
11	0,4805	0,9663	0,4790	0,9783	0,8483	0,7505	0,252309	33,62
12	0,9747	0,9400	0,9684	0,9504	0,9572	0,9581	0,013869	1,45
13	0,9253	0,9074	0,8515	0,9084	0,9239	0,9033	0,030143	3,34
14	0,9891	1,0038	1,0135	0,9893	0,9536	0,9899	0,022742	2,30
15	0,9631	0,9681	0,9636	0,9841	0,9739	0,9706	0,008727	0,90
16	0,9641	0,9173	0,9463	0,9667	0,9428	0,9474	0,019873	2,10

se nadaljuje

nadaljevanje

N	OZNAKA STEKLENIČKE					\bar{X} (mg / mL)	STDEV	KV (%)
	A	B	C	D	E			
	VSEBNOST (mg / mL)							
17	0,9520	0,9735	0,9752	0,9714	0,9646	0,9673	0,009474	0,98
18	0,9594	0,9608	0,9114	0,9204	0,9541	0,9412	0,023465	2,49
19	0,9764	0,9771	0,9753	0,9877	0,9843	0,9802	0,005503	0,56
20	0,9730	0,9706	0,9777	0,9680	0,9622	0,9703	0,005767	0,59
21	0,9697	0,9562	1,0151	0,9944	0,9722	0,9815	0,023244	2,37
22	0,9643	0,9713	0,9586	0,9642	0,9599	0,9637	0,004970	0,52
23	0,9539	0,9679	0,9547	0,9523	0,9733	0,9604	0,009526	0,99
24	0,9816	0,9847	0,9672	0,9728	0,9809	0,9774	0,007218	0,74
25	0,9689	0,9856	0,9770	0,9555	1,0752	0,9924	0,047574	4,79
26	0,9722	0,9618	0,9554	0,9648	0,9654	0,9639	0,006095	0,63
27	0,9555	0,9786	0,9815	0,9746	0,9977	0,9776	0,015146	1,55
28	0,9390	0,9867	0,9828	0,9614	0,9660	0,9672	0,019065	1,97
29	0,9690	0,9665	0,9745	0,9905	0,9927	0,9786	0,012204	1,25
30	0,9802	0,8833	0,9316	0,8882	1,0040	0,9375	0,053964	5,76
31	0,9753	0,9949	1,0165	0,9931	0,8709	0,9701	0,057369	5,91
32	0,8859	0,9338	0,9631	0,8822	0,9696	0,9269	0,041414	4,47
33	0,9137	0,9735	0,9775	0,9869	0,9799	0,9663	0,029805	3,08
34	0,9009	0,9395	0,9949	0,9729	0,9724	0,9561	0,036660	3,83
35	0,9801	1,0270	0,9337	0,9045	0,9609	0,9612	0,046524	4,84
36	0,9852	0,8489	0,8047	0,9904	1,0215	0,9301	0,096624	10,39
37	0,8031	1,0017	0,8033	0,9889	0,9719	0,9138	0,101497	11,11
38	0,9834	0,9958	0,9824	1,0088	0,9639	0,9869	0,016736	1,70
39	1,1050	0,9598	1,0666	0,8405	0,9075	0,9759	0,109732	11,24
40	0,9573	0,8750	0,9752	0,9581	0,9786	0,9488	0,042397	4,47
41	0,9850	0,9795	0,9986	0,9596	0,9779	0,9801	0,014069	1,44
42	0,9787	0,9487	0,9532	0,9507	0,9727	0,9608	0,013858	1,44
43	0,9785	0,9333	0,9307	0,9895	0,9329	0,9530	0,028600	3,00
44	0,9895	0,9768	0,9913	1,0096	0,9245	0,9783	0,032291	3,30
45	0,9940	0,9933	0,9862	0,9833	0,6128	0,9139	0,168393	18,43
46	0,9751	0,9803	0,9725	0,9764	0,9767	0,9762	0,002828	0,29
47	0,9105	0,9462	0,9494	0,9598	0,9439	0,9420	0,018608	1,98
48	1,4554	0,8462	0,8417	1,4435	0,9495	1,1073	0,315365	28,48
49	0,9727	0,9035	0,9671	0,9568	0,9580	0,9516	0,027691	2,91
50	0,9793	0,9568	0,9628	0,9582	0,9778	0,9670	0,010806	1,12
51	0,9709	0,9684	0,9811	0,9424	0,9698	0,9665	0,014386	1,49
52	1,0157	0,9980	0,9544	0,9880	1,0096	0,9931	0,024139	2,43
53	0,9660	0,9506	0,9482	0,9726	0,9802	0,9635	0,013860	1,44
54	0,9735	0,9723	0,9698	0,9762	0,9492	0,9682	0,010868	1,12
55	0,9707	0,9756	0,9773	0,9712	0,9676	0,9725	0,003924	0,40
56	0,9693	0,9800	0,9755	0,9508	0,9524	0,9656	0,013345	1,38
57	0,9579	0,9544	0,9237	0,9518	0,9521	0,9480	0,013790	1,45

se nadaljuje

nadaljevanje

N	OZNAKA STEKLENIČKE					\bar{X} (mg / mL)	STDEV	KV (%)
	A	B	C	D	E			
	VSEBNOST (mg / mL)							
58	0,9608	0,9170	0,9697	0,9546	0,9428	0,9490	0,020381	2,15
59	0,9800	0,9723	0,9750	0,9722	0,9727	0,9744	0,003311	0,34
60	0,9634	0,9603	1,1299	0,9457	0,9922	0,9983	0,075473	7,56
61	0,9715	0,9755	0,9767	0,9633	0,9692	0,9712	0,005367	0,55
62	0,9160	0,9735	0,9163	0,9777	0,9816	0,9530	0,033779	3,54
63	0,9885	0,9715	1,0075	1,0345	1,0749	1,0154	0,040676	4,01
64	0,9662	0,9665	0,9802	0,8326	1,0007	0,9492	0,066703	7,03
65	0,9522	0,9652	0,9601	0,9726	0,9727	0,9646	0,008717	0,90
66	0,9668	0,9625	0,9666	0,9615	0,9725	0,9660	0,004352	0,45
67	0,9753	0,9564	0,9587	0,9643	0,9692	0,9648	0,007708	0,80
68	0,9513	0,9714	0,9802	0,9719	0,9493	0,9648	0,013726	1,42
69	0,9840	0,9799	0,9816	0,9933	0,9767	0,9831	0,006291	0,64
70	1,0071	1,0179	0,8597	0,9994	0,8802	0,9530	0,076316	8,01
71	0,9411	0,9885	0,9900	0,9687	0,9888	0,9754	0,021129	2,17
72	0,9906	0,9853	0,9905	0,9855	0,9901	0,9884	0,002746	0,28
73	0,9943	0,9916	0,9962	0,9947	0,9939	0,9941	0,001665	0,17
74	0,9818	0,9819	0,9793	0,9817	0,9844	0,9818	0,001805	0,18
75	0,9887	0,9890	0,9870	0,9880	0,9941	0,9894	0,002759	0,28
76	0,9906	0,9772	0,9737	0,9955	0,9805	0,9835	0,009208	0,94
77	0,9748	0,9751	0,9684	0,9788	0,9755	0,9745	0,003780	0,39
78	0,9616	0,9662	0,9642	0,9663	0,9657	0,9648	0,001976	0,20
79	0,9916	0,9917	0,9962	0,9860	0,9933	0,9918	0,003718	0,37
80	0,9866	0,9805	0,9766	1,0090	1,0105	0,9926	0,016029	1,61
81	0,9940	0,9895	0,9884	0,9876	0,9813	0,9882	0,004564	0,46
82	0,9957	0,9996	0,9769	0,9867	0,9794	0,9877	0,009901	1,00
83	0,9666	0,9722	0,9628	0,9489	0,9656	0,9632	0,008703	0,90
84	0,9422	0,9756	0,9689	0,9436	0,9398	0,9540	0,016864	1,77
85	0,9790	0,9342	0,9778	0,9019	0,9786	0,9543	0,035009	3,67
86	0,9413	0,9397	0,9740	0,9516	0,9761	0,9565	0,017519	1,83
87	0,9921	0,9816	0,9936	0,9910	0,9970	0,9911	0,005751	0,58
88	0,9954	0,9615	1,0020	0,9454	0,9579	0,9724	0,024815	2,55
89	0,9031	0,9792	0,9633	0,9920	1,0175	0,9710	0,042837	4,41
90	0,9316	0,9984	0,9748	0,9943	1,0017	0,9802	0,029084	2,97
91	0,9996	1,0150	1,0155	0,9944	1,0074	1,0064	0,009327	0,93
92	1,2512	0,9892	0,9939	1,0003	0,9972	1,0464	0,114583	10,95
93	0,9422	0,8851	0,9443	0,9518	0,9574	0,9362	0,029179	3,12
94	0,9893	0,9568	0,9159	0,9974	0,9608	0,9640	0,032138	3,33
95	0,9447	0,9537	0,9381	0,9410	0,9449	0,9445	0,005875	0,62
96	1,0492	0,9408	0,9422	0,9521	0,9383	0,9645	0,047627	4,94
97	0,9448	0,9561	0,9388	0,9353	0,9358	0,9422	0,008662	0,92

Kot je razvidno iz preglednice 5, znaša minimalna vsebnost budezonida 0,4790 mg/mL (vzorec 11C), maksimalna vsebnost pa 1,4554 mg/mL (vzorec 48A). Rezultati vsebnosti budezonida so najbolj nihali v 11. seriji, kjer koeficient variacije znaša 33,62%. Najbolj

homogena pa je bila 73. serija, kjer koeficient variacije znaša 0,17%. V nadaljevanju so nas zanimali statistični podatki za celotno število, to je za vseh 485 analiziranih vzorcev. Izračuni so podani v preglednici 6. Rezultati kažejo na relativno visoko nihanje vsebnosti budezonida med posameznimi stekleničkami. Takšne razlike v vsebnosti budezonida med posameznimi serijami so nakazovale, da je potrebno razširiti raziskavo ter preučiti nihanje vsebnosti budezonida znotraj posamezne serije nazalne suspenzije ter bolj natančno definirati tehnološki proces, tako da bo omogočal ponovljivo kakovost nazalne suspenzije.

Preglednica 6: Aritmetična srednja vrednost (\bar{X}), standardna deviacija (STDEV) ter koeficient variacije (KV) vsebnosti budezonida za vseh 485 vzorcev stekleničk po 10 mL. Deklarirana vsebnost budezonida je 1 mg / mL.

PARAMETER	VREDNOST
\bar{X} (mg / mL)	0,9685
STDEV	0,05975
KV (%)	6,17

4.2. DOLOČITEV VSEBNOSTI BUDEZONIDA V ZNANIH SLOJIH NAZALNE SUSPENZIJE

Podatki iz preglednice 6 kažejo na relativno visoko nihanje vsebnosti budezonida v posamezni seriji nazalne suspenzije. Ti podatki ne dajejo jasne slike o porazdelitvi budezonida znotraj posamezne serije nazalne suspenzije. Zato smo preučili, kako niha vsebnost budezonida med procesom polnjenja v stekleničke. Suspenzijo smo izdelali po tehnološkem procesu A in jo navidezno razdelili na 100 slojev, tako da je vsakemu sloju ustrezal 1 liter suspenzije kot je prikazano na sliki 23. Med procesom polnjenja smo ob določenih časih vzorčili po 5 zaporednih stekleničk. Glede na število že napolnjenih stekleničk smo lahko ob času vzorčenja določili, kateri sloj suspenzije se je v trenutku vzorčenja polnil. Tako smo lahko za posamezni sloj izračunali aritmetično srednjo vrednost vsebnosti budezonida iz 5-ih stekleničk (Preglednica 7) in koeficient variacije vsebnosti budezonida (Preglednica 8).

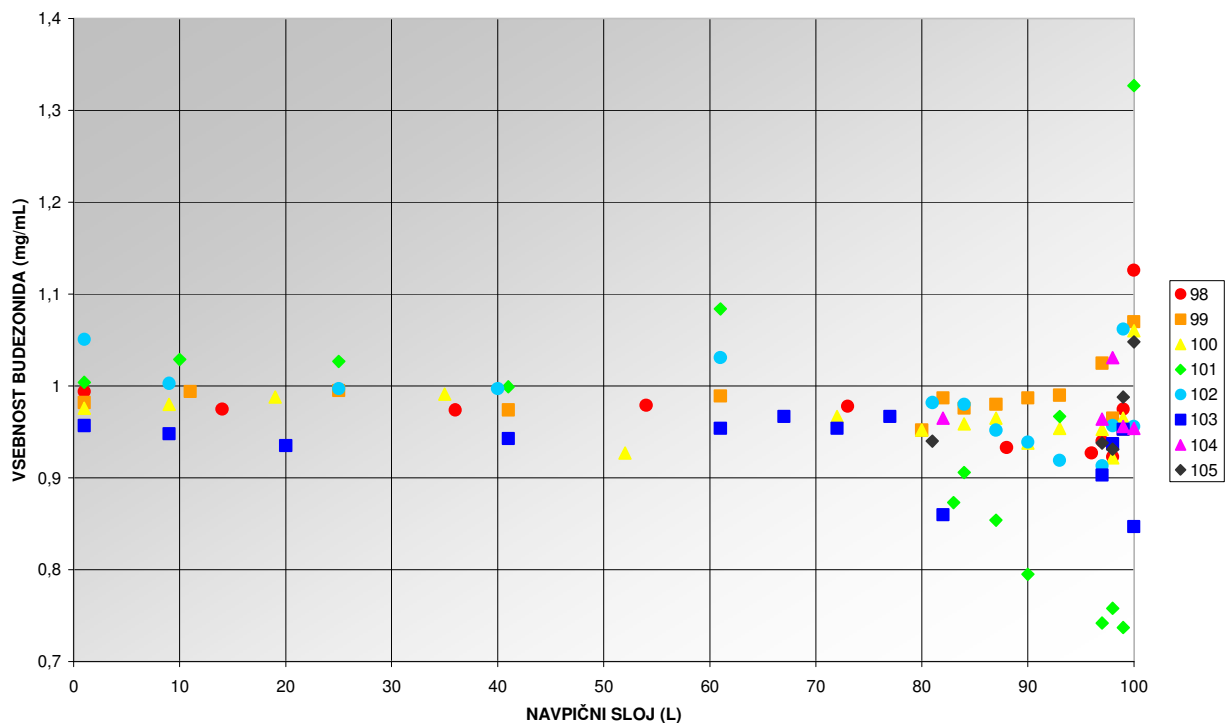
Preglednica 7: Aritmetična srednja vrednost (\bar{X}) vsebnosti budezonida (mg/mL) v posameznih slojih nazalne suspenzije izdelane po tehnološkem procesu A. Deklarirana vsebnost budezonida je 1 mg / mL.

SERIJA / SLOJ (L)	VSEBNOST BUDEZONIDA (mg/mL) TEHNOLOŠKI PROCES A							
	98	99	100	101	102	103	104	105
1	0,994	0,982	0,976	1,004	1,051	0,957		
9			0,980		1,003	0,948		
10				1,029				
11		0,994						
14	0,975							
19			0,988					
20						0,935		
25		0,995		1,027	0,997			
35			0,991					
36	0,974							
40					0,997			
41		0,974		0,999		0,943		
52			0,927					
54	0,979							
61		0,989		1,084	1,031	0,954		
67						0,967		
72			0,967			0,954		
73	0,978							
77						0,967		
80		0,952	0,952					
81					0,982			0,940
82		0,987				0,860	0,965	
83				0,873				
84		0,976	0,959	0,906	0,980			
87		0,980	0,965	0,854	0,952			
88	0,933							
90		0,987	0,938	0,795	0,939			
93		0,990	0,954	0,967	0,919			
96	0,927							
97	0,940	1,025	0,953	0,742	0,913	0,903	0,964	0,938
98	0,923	0,965	0,922	0,758	0,957	0,937	1,031	0,931
99	0,975	0,953	0,965	0,737	1,062	0,953	0,956	0,988
100	1,126	1,070	1,060	1,327	0,956	0,847	0,954	1,048

Preglednica 8: Koeficient variacije v posameznih slojih nazalne suspenzije izdelane po tehnološkem procesu A.

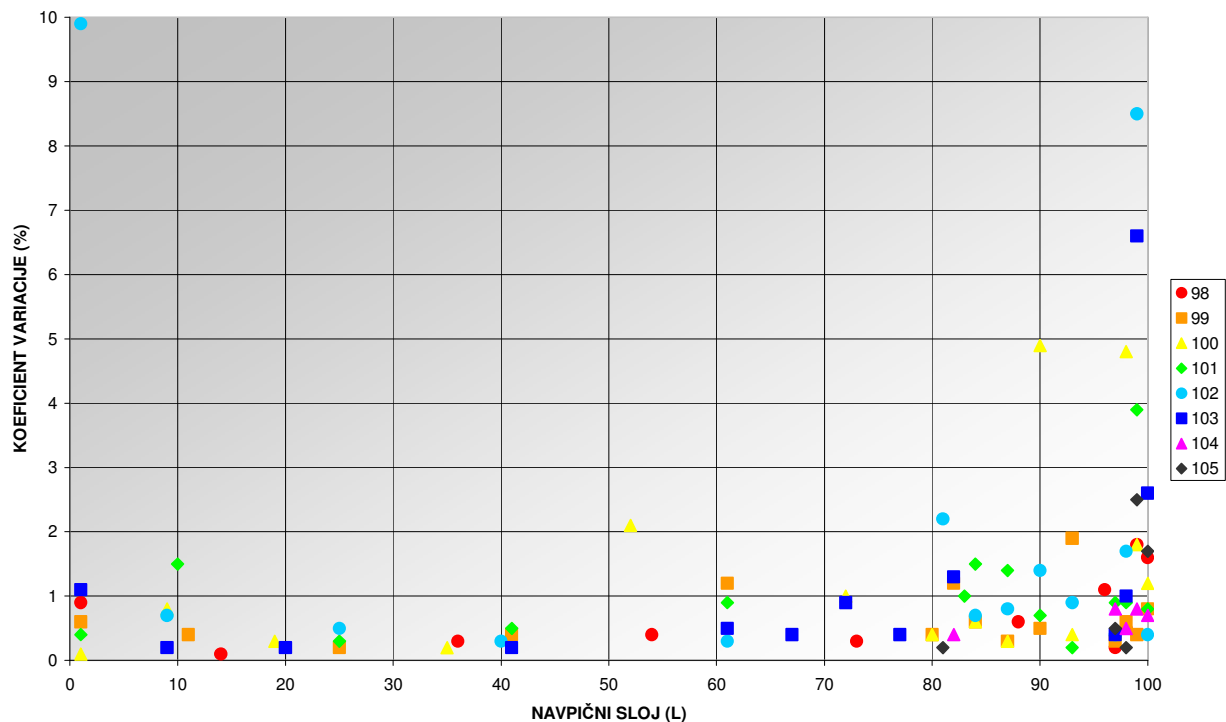
SERIJA / SLOJ (L)	KOEFIČIENT VARIACIJE (%)							
	TEHNOLOŠKI PROCES A							
	98	99	100	101	102	103	104	105
1	0,9	0,6	0,1	0,4	9,9	1,1		
9			0,8		0,7	0,2		
10				1,5				
11		0,4						
14	0,1							
19			0,3					
20						0,2		
25		0,2		0,3	0,5			
35			0,2					
36	0,3							
40					0,3			
41		0,4		0,5		0,2		
52			2,1					
54	0,4							
61		1,2		0,9	0,3	0,5		
67						0,4		
72			1,0			0,9		
73	0,3							
77						0,4		
80		0,4	0,4					
81					2,2			0,2
82		1,2				1,3	0,4	
83				1,0				
84		0,6	0,6	1,5	0,7			
87		0,3	0,3	1,4	0,8			
88	0,6							
90		0,5	4,9	0,7	1,4			
93		1,9	0,4	0,2	0,9			
96	1,1							
97	0,2	0,3	0,4	0,9	0,4	0,4	0,8	0,5
98	0,5	0,6	4,8	0,9	1,7	1,0	0,5	0,2
99	1,8	0,4	1,8	3,9	8,5	6,6	0,8	2,5
100	1,6	0,8	1,2	0,8	0,4	2,6	0,7	1,7

Zaradi boljše ponazoritve nihanja vsebnosti budezonida, smo rezultate vsebnosti in koeficient variacije v posameznih slojih nazalne suspenzije prikazali v obliki dveh grafov na slikah 24 in 25. Iz slike 24 je razvidno, da se vsebnosti v posameznih navpičnih slojih razlikujejo med posameznimi serijami skozi celoten presek suspenzije, še posebno pa so te razlike očitne v zgornjih slojih nazalne suspenzije od 80. litra naprej. Do 80. litra vsebnosti nihajo med 90% in 110% ciljne vrednosti, po 80. litru pa začnejo vrednosti v večini primerov padati. V zadnjih 3 litrih, torej v zgornjih 3 litrih nazalne suspenzije, se vsebnosti med posameznimi serijami zelo razlikujejo. Najbolj nihajo rezultati v seriji 99, kjer se nahaja tako minimalna vrednost (0,737 mg/mL) kot tudi maksimalna vrednost (1,327 mg/mL) izmed vseh določenih vsebnosti budezonida po slojih.



Slika 24: Aritmetična srednja vrednost vsebnosti budezonida (mg/mL) glede na navpični sloj (L) v nazalni suspenziji izdelani po tehnološkem procesu A.

Na sliki 25 smo grafično prikazali vrednost koeficienta variacije v posameznem sloju nazalne suspenzije za posamezno serijo. Tudi iz te slike je razvidno, da je nihanje vsebnosti budezonida prisotno v vseh slojih nazalne suspenzije, torej skozi celoten proces polnjenja. Posebnost je serija 102, kjer je vsebnost močno nihala v najbolj spodnjem sloju, kjer koeficient variacije znaša 9,9%.



Slika 25: Koeficient variacije (%) vsebnosti budezonida glede na navpični sloj (L) v nazalni suspenziji izdelani po tehnološkem procesu A.

Nihanje vsebnosti je še posebej izrazito v zgornjih 20 litrih nazalne suspenzije. Možen vzrok je previsoka lega mešala v pomožni posodi 3, ki smo ga uporabljali med polnjenjem nazalne suspenzije. To mešalo ne sega do dna posode in zato se zadnjih (zgornjih) 20 litrov nazalne suspenzije ni mešalo med procesom polnjenja. Vzrok za nehomogenost budezonida smo sprva pripisali nemešanju zgornjih 20 litrov nazalne suspenzije. V tem primeru bi zaradi procesa sedimentacije pričakovali v spodnjih slojih nazalne suspenzije višjo koncentracijo, v povsem zgornjih slojih pa nižjo koncentracijo budezonida. Toda iz slike 24 je razviden ravno obraten potek dogajanja: koncentracija budezonida v večini serij po 80. litru začne padati, v zadnjem litru pa je povečana. Zato smo sklepali, da poglobitni vzrok nehomogenosti budezonida ni sedimentacija temveč flotacija učinkovine. Sklepali smo, da do procesa flotacije prihaja zaradi vmešavanja zraka v nekaterih fazah proizvodnega procesa. Zato smo se odločili, da se izognemo

vmešavanju zraka skozi celoten proces izdelave nazalne suspenzije. Poglobili smo tudi mešalo v pomožni posodi 3, s čimer smo zagotovili mešanje suspenzije skoraj skozi celoten proces polnjenja. Mešanje ni potekalo le za zadnjih 5 % volumna suspenzije, ker je bil nivo suspenzije pod nivojem mešala. Tako smo izdelali 7 serij nazalne suspenzije po tehnološkem procesu B, kjer smo uporabljali nizke hitrosti mešanja, zaradi česar ni prihajalo do vmešavanja zraka v izdelek. Tudi v tem primeru smo suspenzijo navidezno razdelili na 100 slojev in izvedli vzorčenje po 5 zaporednih stekleničk, ki smo jim določili vsebnost budezonida. Za posamezni sloj smo izračunali aritmetično srednjo vrednost vsebnosti budezonida iz 5-ih stekleničk (Preglednica 9) in koeficient variacije vsebnosti budezonida (Preglednica 10).

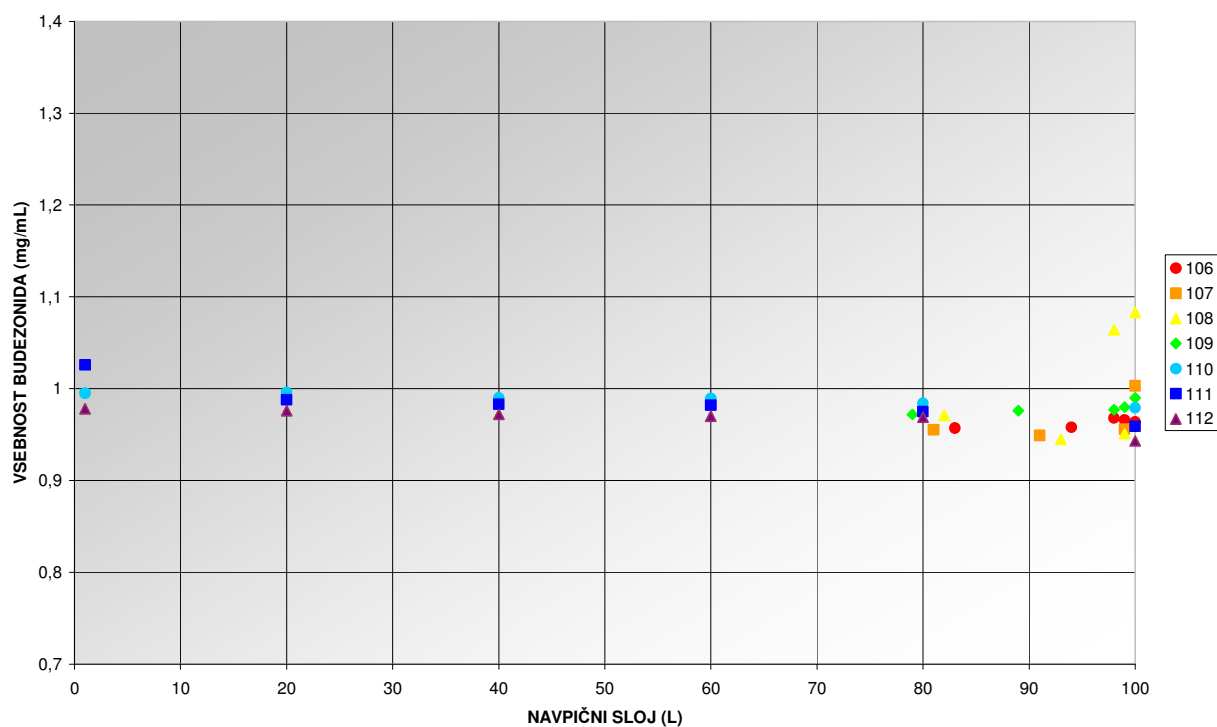
Preglednica 9: Aritmetična srednja vrednost (\bar{X}) vsebnosti budezonida (mg/mL) v posameznih slojih nazalne suspenzije izdelane po tehnološkem procesu B. Deklarirana vsebnost budezonida je 1 mg / mL.

SERIJA / SLOJ (L)	VSEBNOST BUDEZONIDA (mg/mL) TEHNOLOŠKI PROCES B						
	106	107	108	109	110	111	112
1					0,995	1,026	0,978
20					0,996	0,988	0,976
40					0,990	0,983	0,972
60					0,989	0,982	0,970
79				0,972			
80					0,984	0,975	0,969
81		0,955					
82			0,971				
83	0,957						
89				0,976			
91		0,949					
93			0,945				
94	0,958						
98	0,968		1,064	0,977			
99	0,966	0,956	0,951	0,980			
100	0,964	1,003	1,083	0,990	0,979	0,959	0,943

Preglednica 10: Koeficient variacije v posameznih slojih nazalne suspenzije izdelane po tehnološkem procesu B.

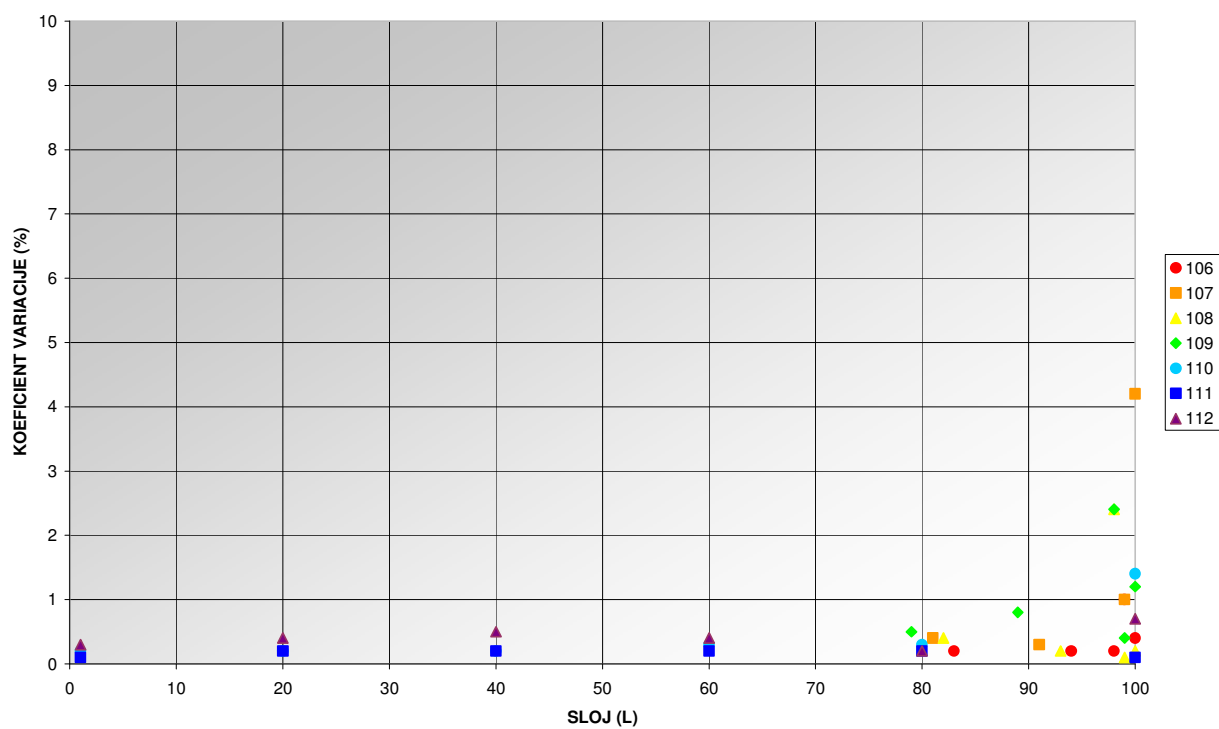
SERIJA / SLOJ (L)	KOEFIČIENT VARIACIJE (%)						
	TEHNOLOŠKI PROCES B						
	106	107	108	109	110	111	112
1					0,2	0,1	0,3
20					0,2	0,2	0,4
40					0,2	0,2	0,5
60					0,3	0,2	0,4
79				0,5			
80					0,3	0,2	0,2
81		0,4					
82			0,4				
83	0,2						
89				0,8			
91		0,3					
93			0,2				
94	0,2						
98	0,2		2,4	2,4			
99	1,0	1,0	0,1	0,4			
100	0,4	4,2	0,2	1,2	1,4	0,1	0,7

Zbrani rezultati so zaradi boljšega pregleda nihanja vsebnosti budezonida prikazani na sliki 26. Poprečne vrednosti vsebnosti budezonida (mg/mL) glede na navpični sloj za 7 preučevanih serij se manj razlikujejo med posameznimi serijami kot v primeru serij izdelanih po tehnološkem procesu A. Tudi v tem primeru prihaja do večjega nihanja vsebnosti budezonida v zgornjih slojih nazalne suspenzije, toda v manjši meri. Vse vrednosti se namreč gibljejo znotraj $\pm 10\%$ meje.



Slika 26: Aritmetična srednja vrednost vsebnosti budezonida (mg/mL) glede na navpični sloj (L) v nazalni suspenziji izdelani po tehnološkem procesu B.

Na sliki 27 smo grafično prikazali vrednost koeficienta variacije v posameznem sloju nazalne suspenzije za posamezno serijo. Tudi iz te slike je razvidno, da je nihanje vsebnosti budezonida manjše kot v primeru nazalne suspenzije izdelane po tehnološkem procesu A ter da so večji koeficienti variacije v zgornjih slojih suspenzije. Maksimalni koeficient variacije znaša 4,2% (107. serija, zgornji sloj).



Slika 27: Koeficient variacije (%) vsebnosti budesonida glede na navpični sloj (L) v nazalni suspenziji izdelani po tehnološkem procesu B.

4.3. VPLIV HITROSTI MEŠANJA NA VSEBNOST BUDEZONIDA V LABORATORIJSKEM MERILU

Vpliv intezitete mešanja smo proučevali tudi v laboratorijskem merilu. Preverili smo, ali različne hitrosti mešanja povzročajo različno porazdelitev budezonida glede na navpični sloj nazalne suspenzije. Pripravili smo 100 L serijo nazalne suspenzije po tehnološkem procesu A in pripravili vzorce tako, kot je opisano v poglavju 3.3.3.

Rezultati vsebnosti budezonida v vzorcih mešanih na dva različna načina, so prikazani v preglednici 11 in so potrdili rezultate iz proizvodnih serij. Vzorec X, ki smo ga močno mešali, je imel v zgornjem sloju višjo vsebnost budezonida kot v spodnjem. Poleg tega so rezultati vsebnosti v zgornjem sloju suspenzije, ki smo jo močno mešali, bolj nihali kot ostali rezultati. Koeficient variacije v tem primeru znaša 2,1%. Pri vzorcu Y, ki smo ga le ročno mešali s stekleno palčko, do razlik v vsebnosti budezonida v zgornjem in spodnjem sloju ni prišlo, prav tako so med vsebnostmi budezonida manjše razlike. Koeficient variacije v tem primeru znaša 0,6%. Rezultati torej potrjujejo domnevo, da močno mešanje nazalne suspenzije, pri katerem pride do vmešavanja zraka v izdelek, povečuje nehomogenost budezonida. Sklepali smo, da je poglavitni vzrok nehomogenosti flotacija učinkovine, do katere prihaja zaradi vmešavanja zraka v nazalno suspenzijo. Sklepali smo, da prihaja do interakcij zračnih mehurčkov z delci budezonida in posledičnega dviganja delcev učinkovine proti gladini nazalne suspenzije.

Preglednica 11: Vsebnost budezonida v odvisnosti od navpične lokacije v dveh vzorcih nazalne suspenzije. Podano je povprečje (\bar{X}), standardna deviacija (STDEV) ter koeficient variacije (KV) vsebnosti budezonida na posamezni lokaciji.

VZOREC	LOKACIJA	VSEBNOST BUDEZONIDA (mg/mL)	\bar{X} (mg/mL)	STDEV	KV (%)
X močno mešanje z laboratorijskim mešalom	VRH	0,99	1,00	0,0208	2,1
		0,98			
		1,02			
	DNO	0,93	0,92	0,0058	0,6
		0,92			
		0,92			
Y rahlo mešanje s stekleno palčko	VRH	0,97	0,98	0,0058	0,6
		0,98			
		0,98			
	DNO	0,98	0,98	0,0058	0,6
		0,98			
		0,97			

4.4. VISKOZNOST NAZALNE SUSPENZIJE

Preučevani nazalni suspenziji smo izmerili viskoznost tako, da smo pripravili 100 L nazalne suspenzije budezonida po tehnološkem procesu B. Najprej smo odvzeli 3 vzorce po 10 mL iz naključnega sloja nazalne suspenzije (oznaka vzorcev 1A, 1B, in 1C) in vsakemu vzorcu izmerili viskoznost z rotacijskim viskozimetrom Haake, Rheo Stress RS 75, opremljenem z merilnim sistemom stožec – plošča pri temperaturi 23 °C in pri strižni hitrosti 40,000 / s. Rezultati meritev viskoznosti teh vzorcev so prikazani v preglednici 12.

Preglednica 12: Viskoznost nazalne suspenzije budezonida izdelane po tehnološkem procesu B.

VZOREC	VISKOZNOST (Pa s)	\bar{X} (Pa s)	STDEV	KV (%)
1A	0,047243	0,046154	0,002380	5,16%
1B	0,043425			
1C	0,047795			

Nato smo v laboratorijsko čašo odvzeli še 400 mL suspenzije iz naključnega sloja nazalne suspenzije in jo 2 minuti homogenizirali z laboratorijskim homogenizatorjem Ultra-Turrax T 25 D s hitrostjo homogeniziranja 21400 obr / min ter potem vzorec mešali 3 minute z laboratorijskim mešalom s hitrostjo mešanja 1400 obr / min. Tako pri mešanju z laboratorijskim homogenizatorjem kot z laboratorijskim mešalom je prišlo do vmešavanja zraka v vzorec. Suspenzijo z vmešanim zrakom smo 3 krat vzorčili (oznaka vzorcev 2A, 2B in 2C) in po 10 – ih minutah vsakemu vzorcu izmerili viskoznost pri enaki temperaturi. Rezultate prikazuje preglednica 13.

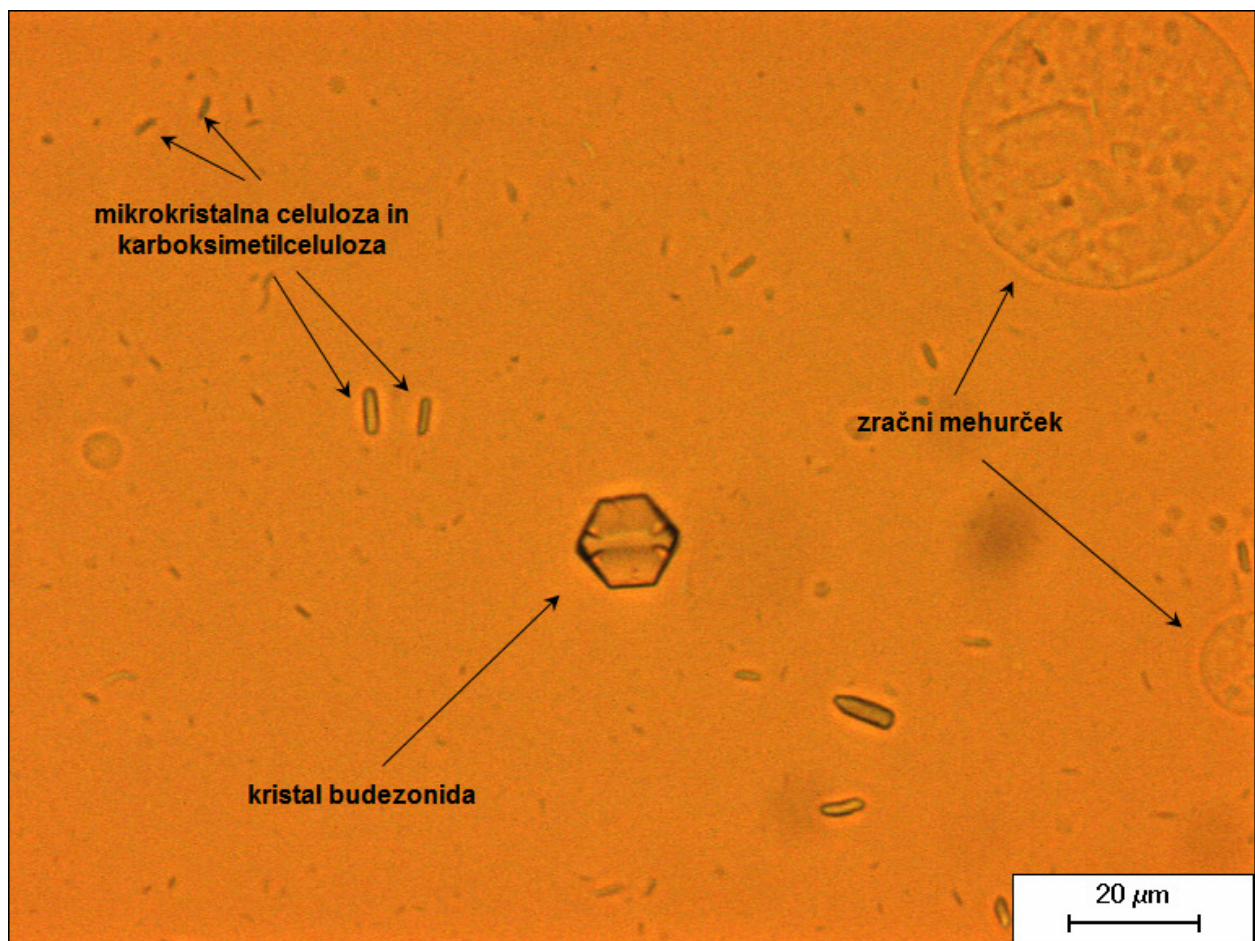
Preglednica 13: Viskoznost nazalne suspenzije budezonida izdelane po tehnološkem procesu B in naknadno premešane z visoko hitrostjo mešanja.

VZOREC	VISKOZNOST (Pa s)	\bar{X} (Pa s)	STDEV	KV (%)
2A	0,026843	0,027441	0,000524	1,91%
2B	0,027666			
2C	0,027815			

Rezultati kažejo na to, da viskoznost med vzorci nazalne suspenzije, ki smo jo mešali z visoko hitrostjo mešanja (Preglednica 13), manj nihajo kot viskoznosti vzorcev suspenzije, ki je nismo izpostavljali visokim hitrostim mešanja (Preglednica 12). Poleg tega je viskoznost nazalne suspenzija, ki smo jo naknadno premešali z visoko hitrostjo mešanja, manjša, saj pade skoraj na polovico prvotne vrednosti. Za zmanjšanje viskoznosti obstajata vsaj dva razloga. Prvi je tiksotropni značaj disperzij Avicela RC-591 (28), kjer viskoznost disperzije s povečano obremenitvijo zaradi porušanja strukture sistema pade, tako da se prvotno stanje vzpostavi šele čez določen čas (33). Ker je od konca procesa mešanja in do izvajanja meritve minilo samo 10 minut, je možno, da se struktura sistema v razbremenilni fazi ni uspela ponovno zgraditi, kar je vplivalo na zmanjšanje viskoznosti sistema. Drugi razlog za zmanjšanje viskoznosti je vmešavanje zraka v sistem. Viskoznost zraka je namreč veliko manjša od viskoznosti nazalne suspenzije, kar pomeni, da njegovo vmešavanje pripomore k zmanjševanju viskoznosti nazalne suspenzije.

4.5. DOLOČITEV VELIKOSTI DELCEV BUDEZONIDA IN VELIKOSTI ZRAČNIH MEHURČKOV Z OPTIČNIM MIKROSKOPOM V NAZALNI SUSPENZIJI

Z optičnim mikroskopom smo pregledali vzorec suspenzije, ki smo jo pripravili po tehnološkem procesu B. Na sliki 28 je prikazana fotografija vzorca, kjer je viden delec budezonida z velikostjo $14,8\ \mu\text{m}$ in delci Avicela RC-591. V suspenziji, ki smo jo pripravili s tehnološkim procesom B, so prisotni tudi mehurčki zraka. Teh mehurčkov pa ni bilo veliko in smo jih med mikroskopskim opazovanjem opazili le naključno. Na sliki sta vidna mehurčka zraka z velikostjo $46,4\ \mu\text{m}$ ter $15,1\ \mu\text{m}$. Oba imata v svoji notranjosti ujete delce, za katere domnevamo, da gre v glavnem za delce Avicela RC-591, lahko pa so v takšni strukturi ujeti tudi delci budezonida.



Slika 28: Delci budezonida in delci Avicela RC-591 ter zračni mehurčki v nazalni suspenziji fotografirani pod optičnim mikroskopom.

Pregledali smo 164 delcev budezonida, katerih velikosti so prikazane v preglednici 14. Rezultate smo statistično ovrednotili in jih prikazali v preglednici 15. Najmanjši delec budezonida, ki smo ga z optičnim mikroskopom uspeli določiti, je meril 2,8 μm . Največji delec budezonida, ki smo ga identificirali, je meril 26,9 μm . Povprečna velikost vseh izmerjenih delcev budezonida znaša 11,8 μm .

Preglednica 14: Velikost delcev budezonida (d) v nazalni suspenziji budezonida.

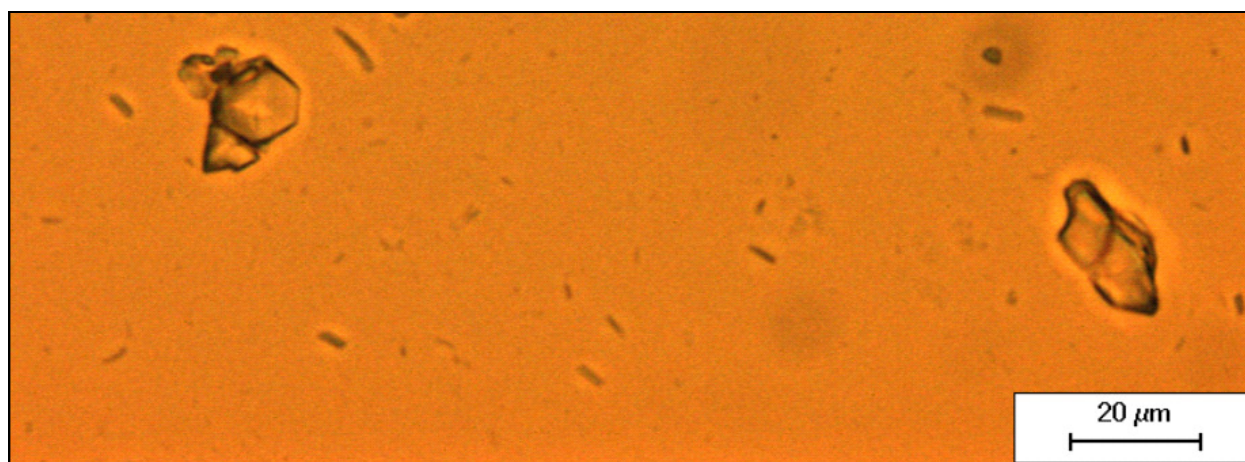
DELEC	d (μm)	DELEC	d (μm)	DELEC	d (μm)	DELEC	d (μm)	DELEC	d (μm)
1	16,6	34	16,3	67	16,5	100	18,3	133	3,8
2	13,5	35	14,4	68	12,4	101	18,8	134	2,8
3	8,3	36	10,6	69	12,7	102	8,7	135	3,7
4	13,5	37	5,2	70	12,5	103	15,9	136	4,0
5	17,1	38	8,7	71	13,4	104	12,8	137	6,8
6	10,1	39	12,6	72	7,9	105	13,4	138	4,3
7	5,4	40	10,4	73	6,7	106	12,2	139	12,0
8	7,2	41	10,1	74	9,6	107	12,4	140	6,8
9	8,6	42	16,0	75	11,9	108	10,3	141	14,9
10	7,1	43	12,4	76	15,6	109	8,3	142	19,3
11	8,6	44	9,9	77	14,5	110	11,9	143	18,4
12	9,9	45	10,6	78	11,5	111	11,6	144	17,5
13	7,1	46	10,6	79	12,5	112	12,8	145	10,9
14	12,1	47	5,5	80	11,9	113	13,6	146	19,6
15	12,8	48	6,6	81	8,3	114	7,4	147	21,9
16	13,7	49	19,4	82	7,9	115	7,9	148	7,2
17	10,2	50	22,0	83	7,7	116	11,6	149	9,9
18	8,1	51	17,3	84	18,9	117	11,3	150	15,9
19	6,8	52	13,8	85	17,6	118	7,9	151	20,0
20	7,2	53	13,9	86	13,8	119	12,1	152	10,7
21	6,2	54	14,9	87	17,1	120	11,0	153	17,3
22	6,9	55	14,1	88	11,3	121	8,7	154	22,0
23	6,7	56	14,5	89	10,4	122	8,8	155	15,7
24	7,5	57	11,2	90	14,9	123	16,2	156	13,3
25	15,4	58	8,5	91	10,2	124	8,6	157	21,4
26	14,9	59	6,1	92	18,7	125	11,2	158	25,0
27	14,6	60	7,1	93	13,2	126	11,9	159	17,8
28	12,7	61	7,9	94	18,9	127	10,3	160	26,9
29	9,6	62	3,5	95	11,0	128	8,5	161	20,4
30	15,0	63	5,7	96	13,6	129	11,1	162	14,6
31	9,0	64	11,4	97	7,0	130	8,7	163	16,7
32	11,9	65	7,6	98	4,5	131	14,5	164	6,7
33	6,1	66	14,8	99	6,9	132	8,9		

Preglednica 15: Statistična obdelava velikosti delcev budezonida ter velikost najmanjšega (MIN) in največjega (MAX) delca budezonida.

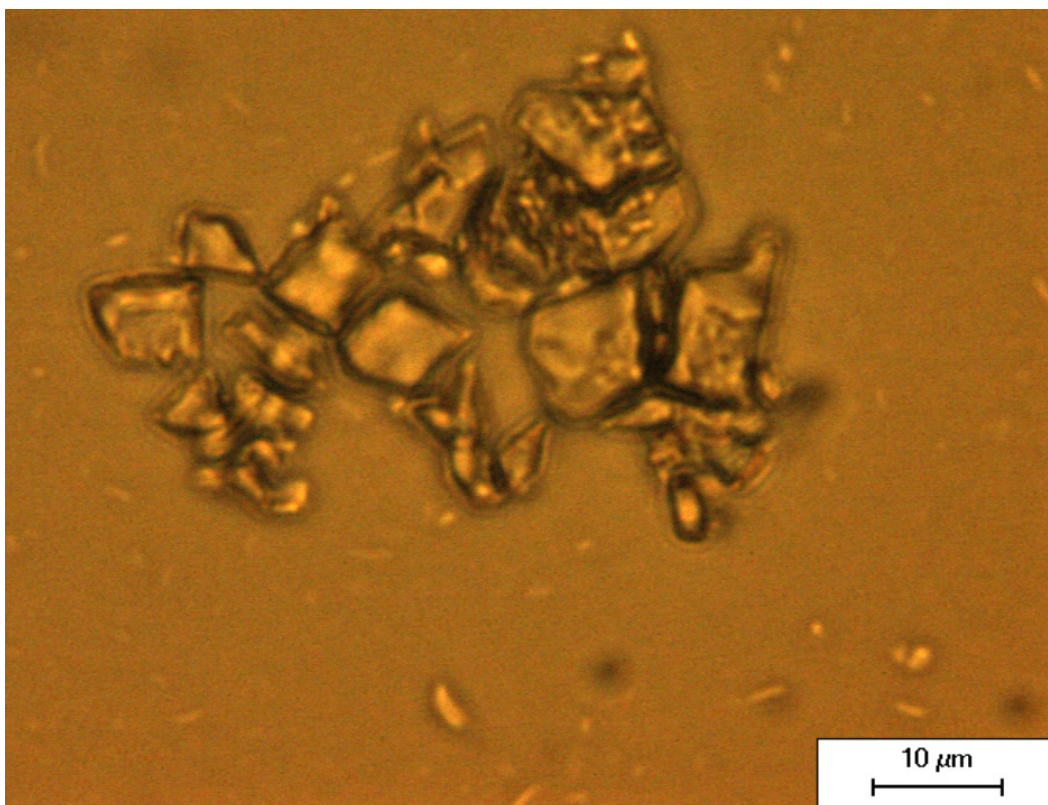
\bar{X} (μm)	11,8
STDEV	4,588
KV (%)	38,8%
MIN (μm)	2,8
MAX (μm)	26,9

Preučevali smo tudi možnost določevanja velikost delcev budezonida v suspenziji brez prisotnega Avicela RC-591, tako da bi bili v suspenziji prisotni samo delci budezonida. Toda glede na literature podatke (18), prisoten polimer lahko vpliva na proces kristalizacije budezonida, s čimer ne bi dobili primerljivih rezultatov. Zato smo velikost delcev budezonida določevali samo v suspenziji, kjer smo uporabili tudi Avicel RC-591.

Kot je razvidno s slike 29 in slike 30, delci budezonida ne nastopajo vedno kot posamezni kristali, temveč smo jih pogostokrat opazili tudi v skupkih, v katerih je bilo več delcev budezonida. Na sliki 30 je prikazan skupek, ki je sestavljen iz okoli 20 delcev budezonida.



Slika 29: Skupki budezonida v nazalni suspenziji. Na sliki, posneti pod optičnim mikroskopom se vidijo tudi delci Avicela RC-591.

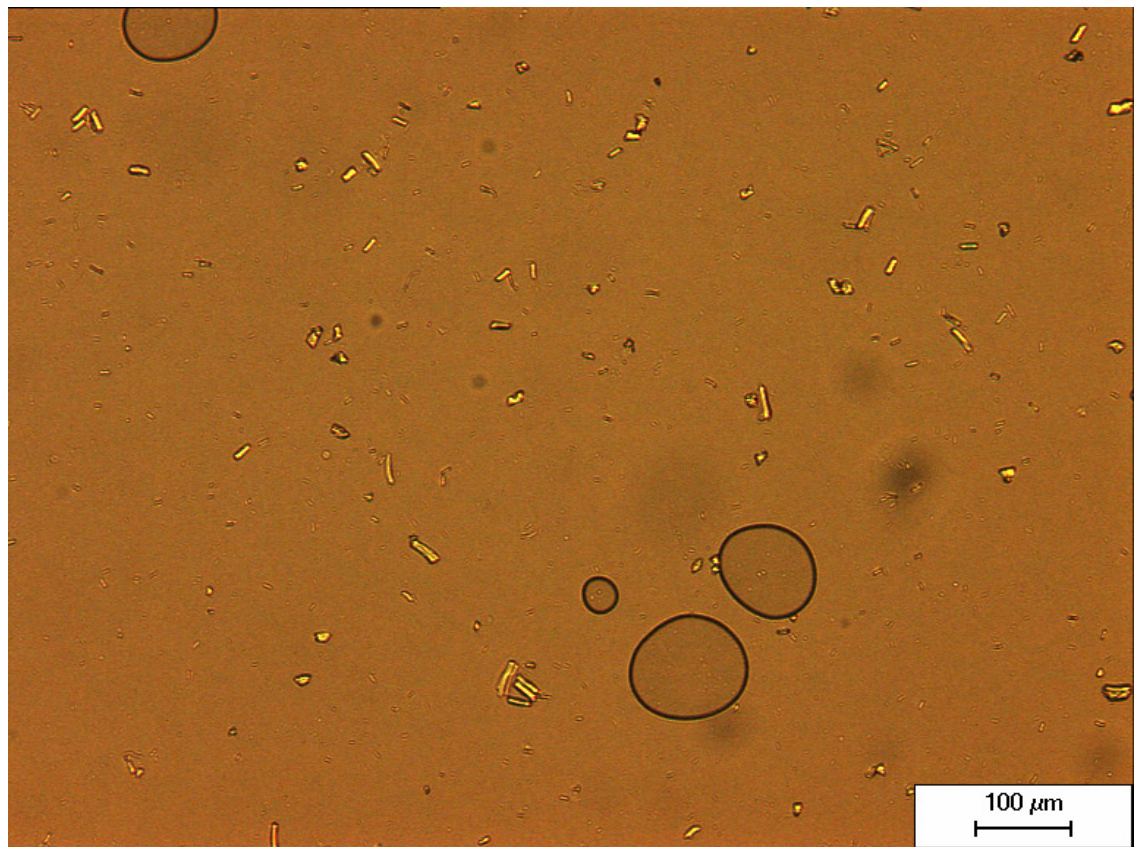
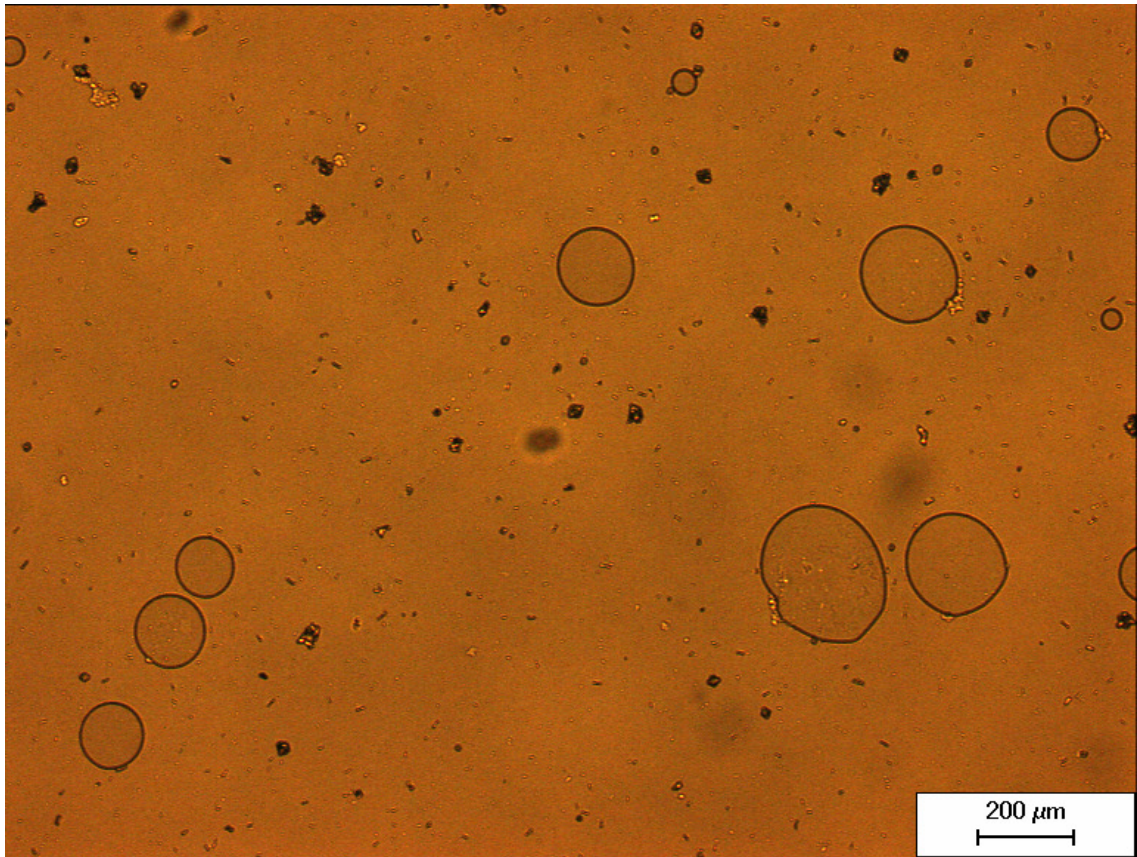


Slika 30: Slika skupka približno 20 delcev budezonida, posneta z optičnim mikroskopom. Na fotografiji se vidni tudi delci Avicela RC-591.

Sklepamo, da se hitrost sedimentacije oziroma flotacije delcev budezonida spremeni, če se ti delci združujejo v skupke tako kot je prikazano na sliki 29 in 30. Če skupek obravnavamo kot en večji delec, bo hitrost sedimentacije glede na Stokesovo enačbo večja. Poleg tega pa bo hitrost flotacije najverjetneje upočasnjena, ker se bo zračni mehurček z adheriranim skupkom (večja masa) počasneje dvigoval kot zračni mehurček z enim samim delcem budezonida (manjša masa).

Fotografirali smo tudi vzorce nazalne suspenzije, ki smo jo po izdelavi po tehnološkem procesu B dodatno mešali, kot je opisano v točki 3.3.5., tako da je prihajalo do vmešavanja zraka v vzorec. Ko smo kapljico takšnega vzorca kanili na objektno stekelce, smo lahko že s prostim očesom opazili prisotnost zračnih mehurčkov. Vzorec smo fotografirali (slika 31) in izmerili velikost zračnih mehurčkov. Velikost smo določili 31 zračnim mehurčkom, podatke in statistično obdelavo prikazuje preglednica 16. Najmanjši opažen zračni mehurček je v premeru meril 13,6 μm , največji pa 291,9 μm . Povprečje vseh izmerjenih zračnih mehurčkov znaša 103,9 μm . Koeficient variacije je

visok – 67,2 % in kaže na veliko nihanje velikosti zračnih mehurčkov. Največji delež zračnih mehurčkov (10 od 31 ali 32,3%) ima premer med 100 μm in 150 μm . Nekoliko manjši del zračnih mehurčkov (9 od 31 ali 29,0%) ima premer do 50 μm . Le trije zračni mehurčki (ali 9,7%) so bili večji od 200 μm .

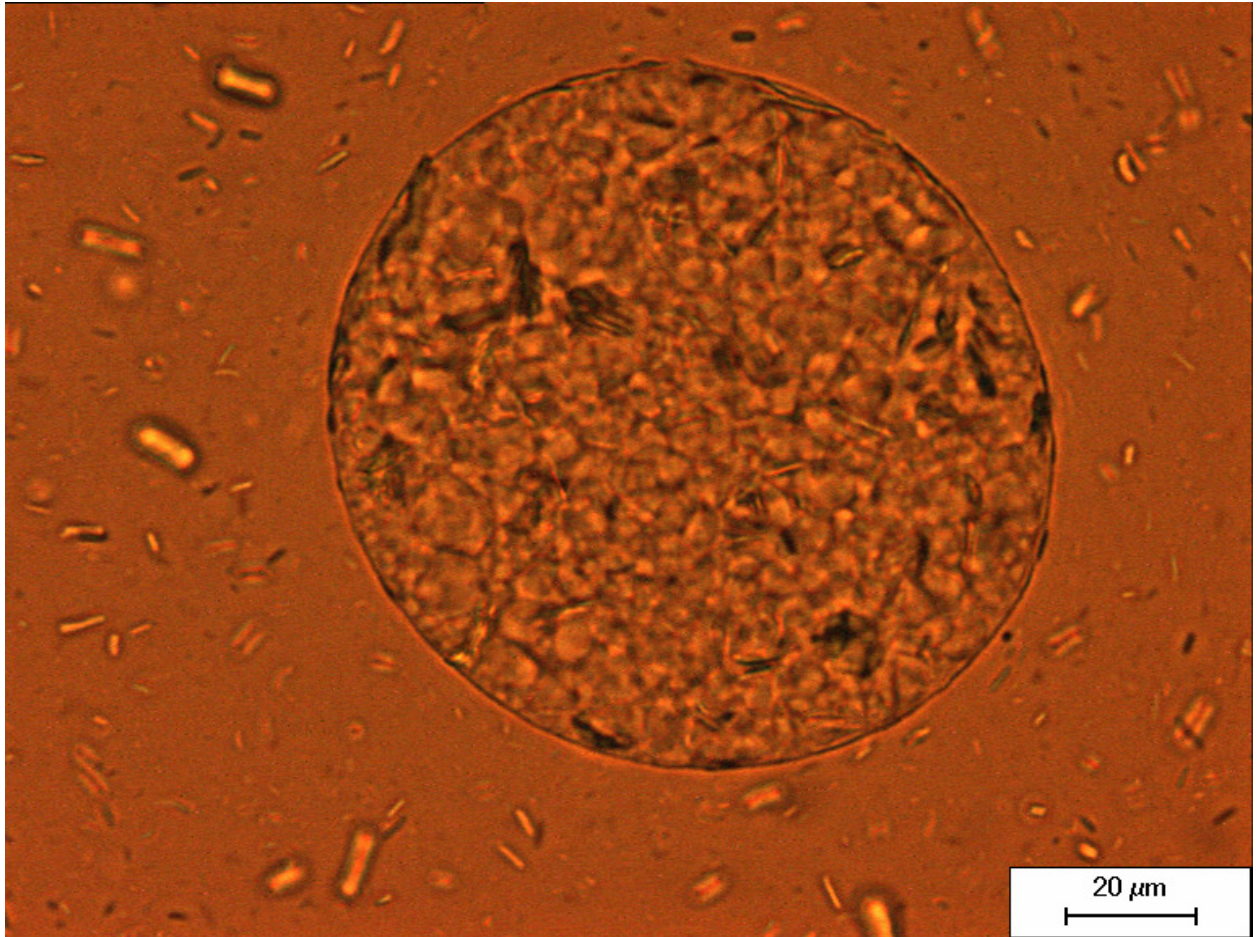


Slika 31: Zračni mehurčki v nazalni suspenziji budezonida z vmešanim zrakom, fotografirani pod optičnim mikroskopom pri dveh različnih povečavah.

Preglednica 16: Velikost zračnih mehurčkov v nazalni suspenziji budezonida z vmešanim zrakom.

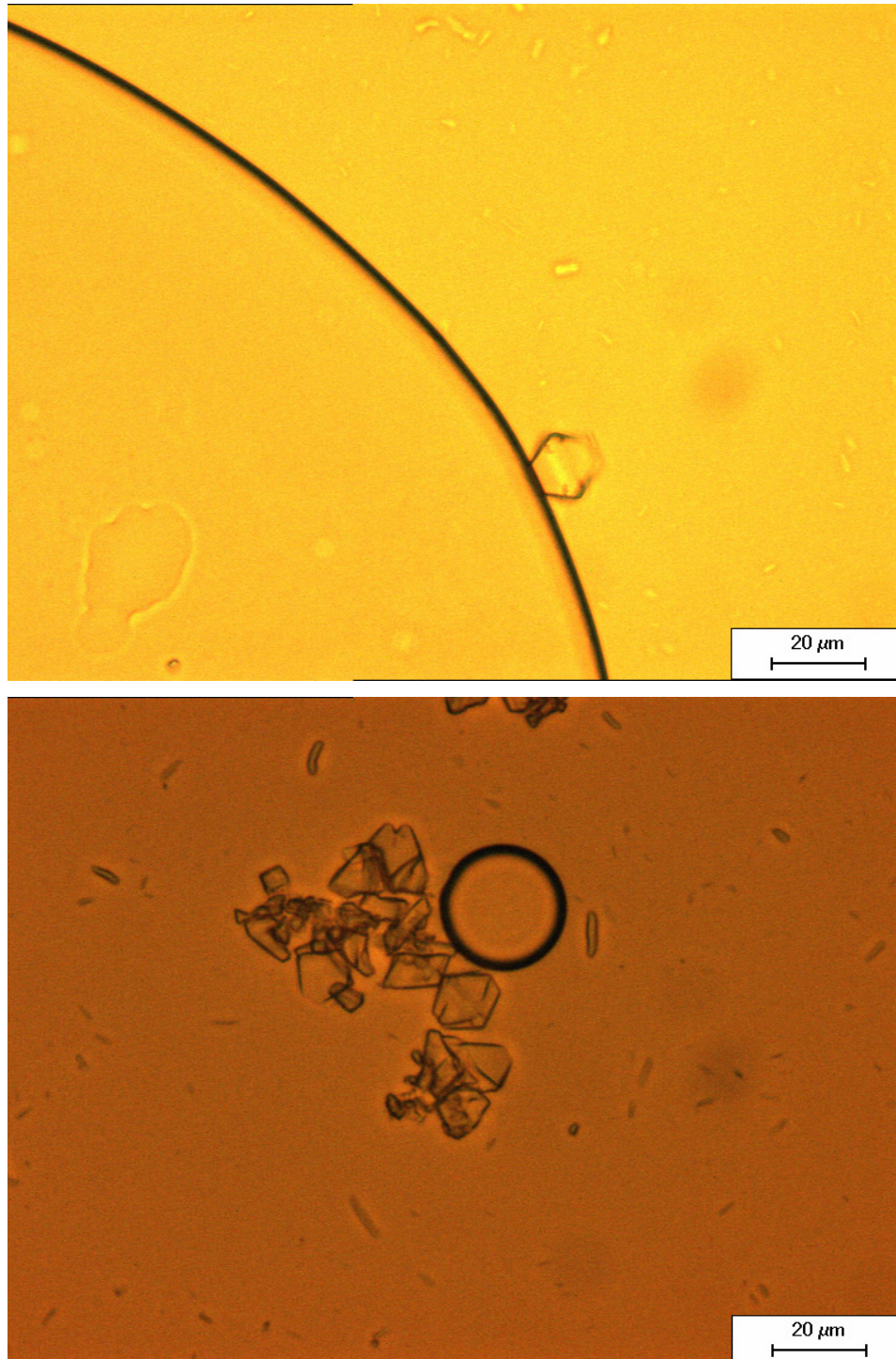
MEHURČEK	d (μm)
1	129,7
2	151,4
3	118,9
4	151,4
5	54,1
6	54,1
7	194,6
8	291,9
9	205,4
10	108,1
11	43,2
12	264,9
13	135,1
14	48,6
15	13,6
16	106,3
17	115,8
18	108,1
19	102,7
20	37,8
21	97,3
22	27,0
23	37,8
24	32,4
25	24,3
26	141,1
27	50,5
28	77,9
29	26,3
30	111,8
31	159,4
\bar{X} (μm)	103,9
STDEV	69,86
KV (%)	67,2 %
MIN (μm)	13,6
MAX (μm)	291,9

Med opazovanjem zračnih mehurčkov smo opazili tudi takšne, ki so imeli v svoji notranjosti ujete delce budezonida in Avicela RC-591. Takšen primer je prikazan na sliki 32, kjer je mehurček zraka v celoti napolnjen z delci budezonida in delci Avicela RC-591.



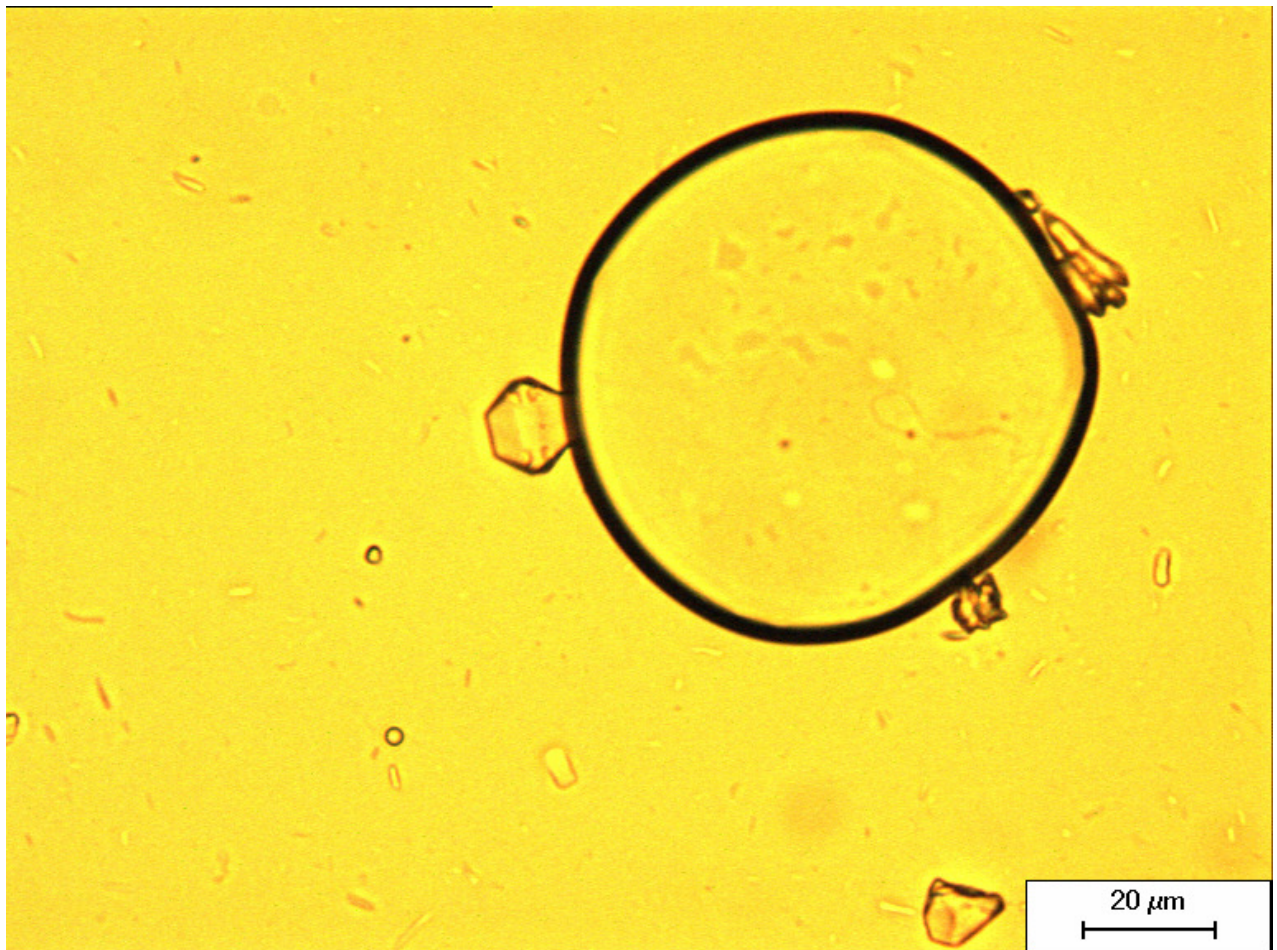
Slika 32: Zračni mehurček v nazalni suspenziji z vgrajenimi delci budezonida in Avicela RC-591 fotografiran pod optičnim mikroskopom.

Poleg zračnih mehurčkov, ki so imeli v svoji notranjosti ujete delce Avicela RC-591 in budezonida, smo v večjem številu odkrili zračne mehurčke, ki so imeli na svoji površini adherirane posamezne delce budezonida ali pa njegove skupke (slika 33).



Slika 33: Fotografiji posneti pod optičnim mikroskopom prikazujeta zračni mehurček v nazalni suspenziji z adheriranim delcem budezonida (zgoraj) in z adheriranim skupkom delcev budezonida (spodaj).

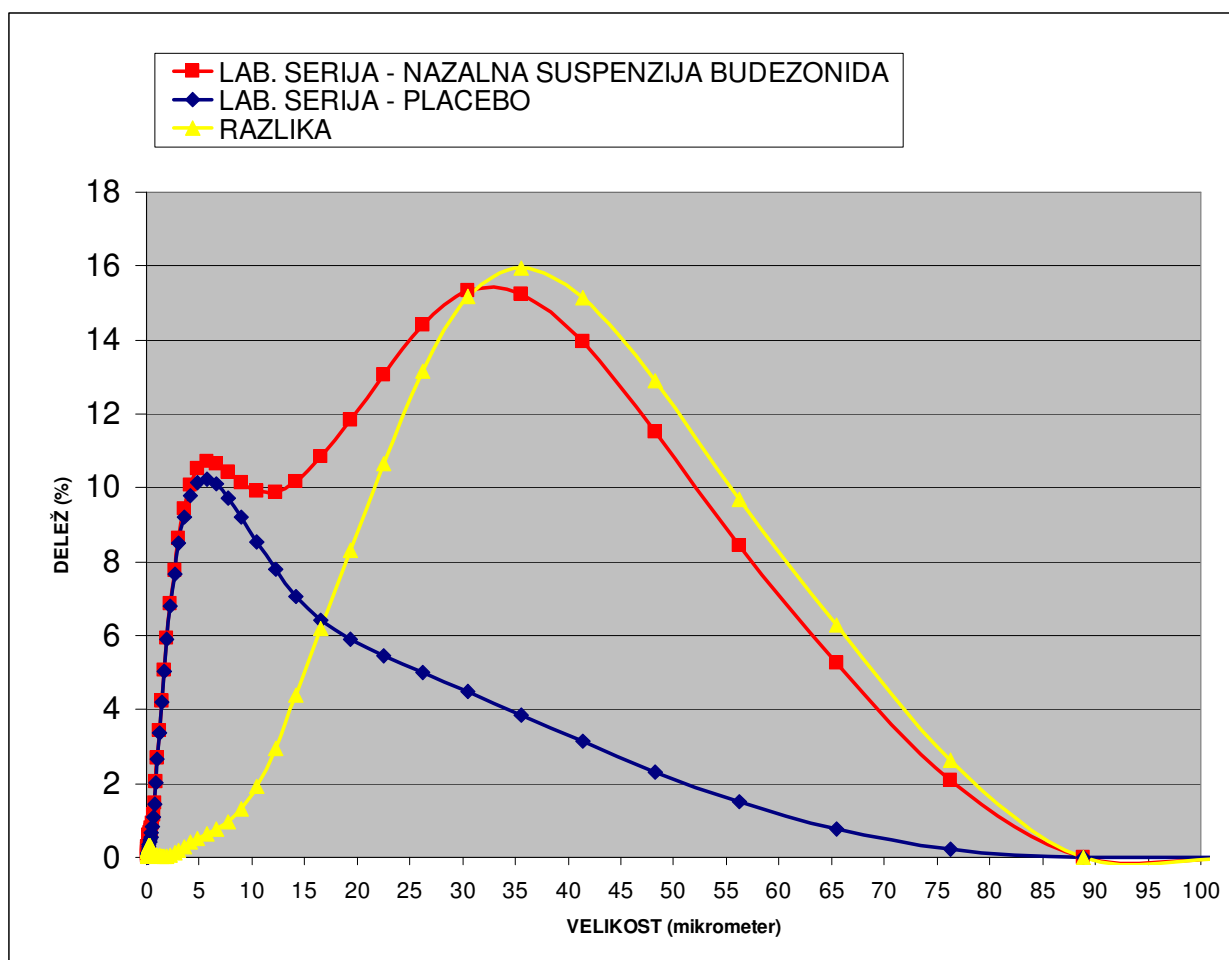
Sklepamo, da do tega pojava prihaja zaradi lipofilnih lastnosti budezonida, zaradi česar jih vodni disperzni medij slabo moči in imajo tako izraženo večjo afiniteto do molekul zraka. V izdelku je sicer prisotna amfifilna snov polisorbat 80, ki pa glede na dobljene rezultate ne more v celoti preprečiti adhezije aerofilnih delcev budezonida na zračne mehurčke. S tem pojavom lahko razložimo povečano koncentracijo budezonida v povsem zgornjih slojih nazalne suspenzije. V nekaterih primerih (slika 34) so bili poleg delcev budezonida na zračne mehurčke adherirani tudi delci Avicela RC-591.



Slika 34: Zračni mehurček v nazalni suspenziji z adheriranimi delci budezonida in Avicela RC-591, fotografiran pod optičnim mikroskopom.

4.6. DOLOČITEV VELIKOSTI DELCEV BUDEZONIDA Z METODO LASERSKE DIFRAKCIJE

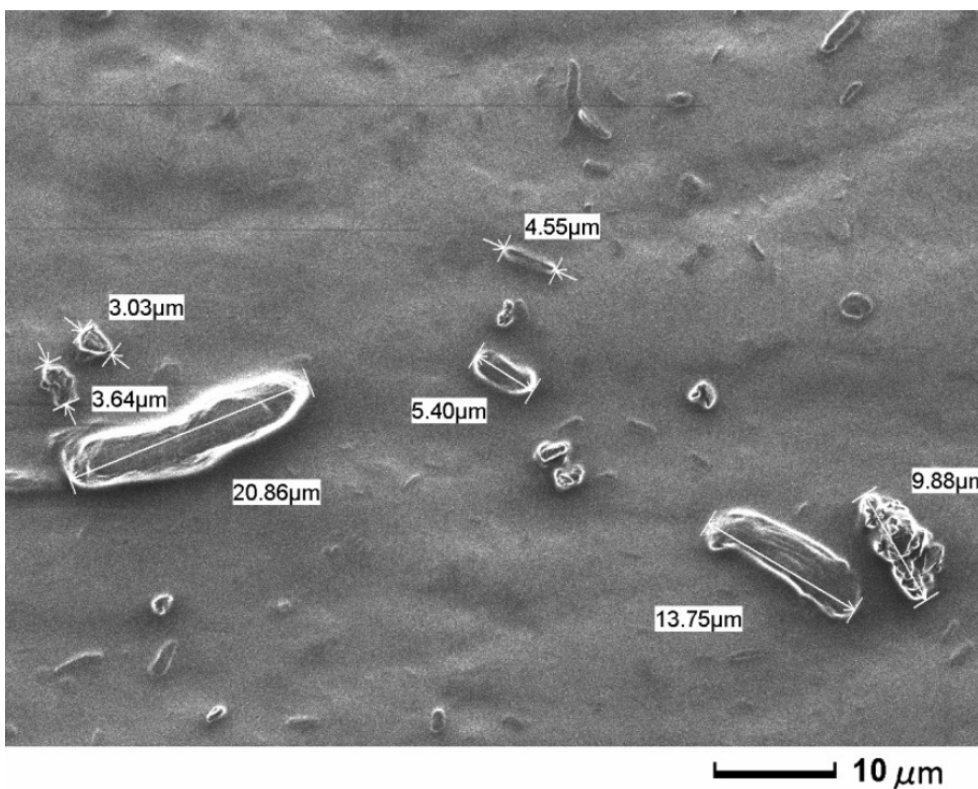
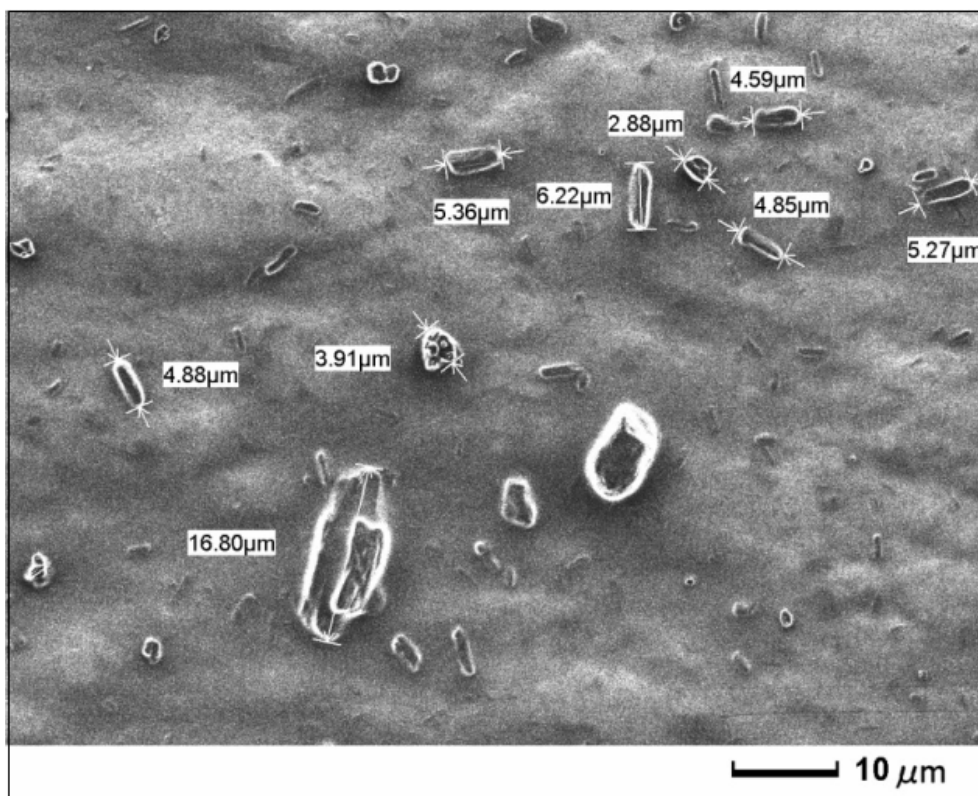
Velikost delcev budezonida smo določili tudi z metodo laserske difrakcije. Ker so v nazalni suspenziji poleg delcev učinkovine prisotni tudi delci Avicela RC-591, velikosti delcev budezonida nismo mogli neposredno določiti. Zato smo poleg suspenzije z budezonidom analizirali tudi placebo sistem, ki je vseboval samo delce Avicela RC-591. Obe seriji smo izdelali v laboratorijskem merilu. Velikost serije je znašala 2 litra. Rezultati meritev velikosti so prikazani na sliki 35. Z rdečo krivuljo je prikazan delež velikosti delcev v nazalni suspenziji, ki vsebuje tako delce budezonida kot tudi delce Avicela RC-591. Iz slike je razvidno, da ima krivulja dva vrhova. Prvega pri velikosti okoli 5 μm in drugega pri velikosti okoli 30 μm . Modra krivulja prikazuje delce Avicela RC-591 v placebo laboratorijski seriji, izmerjene z isto metodo. Iz nje je razvidno, da so delci Avicela RC-591 v povprečju veliki okoli 5 μm . Iz razlike obeh krivulj smo izračunali velikost delcev budezonida in jo prikazali z rumeno krivuljo. Opazimo lahko, da ima največji delež delcev budezonida velikosti okrog 35 μm . Primerjava rezultatov velikosti delcev učinkovine z obema metodama, je jasno pokazala, da smo z metodo laserske difrakcije dobili višje vrednosti kot z optično mikroskopijo, kjer izračunana poprečna vrednost znaša 11,8 μm . Eden izmed razlogov za razlike je v sami analizi metodi. Iz literaturnih podatkov je znano, da še posebno v primeru delcev, ki niso sferični, različne analize metode dajejo različne rezultate (35). Naprava za določanje velikosti delcev z metodo sipanja laserske svetlobe izračuna premer delcev in njihov delež na podlagi njihovega izmerjenega volumna (36). Pri določanju velikosti delcev z optično mikroskopijo pa gre za številčno porazdelitev velikosti delcev. Poleg tega smo pri slednji metodi merili posamezne delce budezonida, čeprav so bili le-ti tudi v skupkih, medtem ko laserska difrakcija takšne skupke lahko zazna kot posamezni večji delec.



Slika 35: Porazdelitev velikosti delcev v nazalni suspenziji budezonida, določena z metodo laserske difrakcije.

4.7. DOLOČITEV VELIKOSTI DELCEV BUDEZONIDA Z METODO VRSTIČNE ELEKTRONSKE MIKROSKOPIJE (SEM)

Z metodo SEM smo fotografirali nazalno suspenzijo budezonida izdelano po tehnološkem procesu B. Ker tovrstno mikroskopiranje poteka vakuumu, je potrebno vzorce predhodno posušiti. Zaradi tega so na slikah poleg delcev budezonida in Avicela RC-591 prisotne tudi ostale trdne sestavine nazalne suspenzije (saharoza, konzervansi..), kot je prikazano na sliki 36. Dodatno težavo je predstavljal tudi prisoten propilenglikol, ki se pri sušenju ni v celoti posušil in je motil celoten potek mikroskopiranja. Na posnetkih smo večinoma identificirali delce Avicela RC-591, ki so podolgovate oblike. Zaradi vseh zgoraj navedenih dejstev slike z vrstično elektronsko mikroskopijo niso bile primerne za ustrezno določevanje velikosti delcev budezonida.



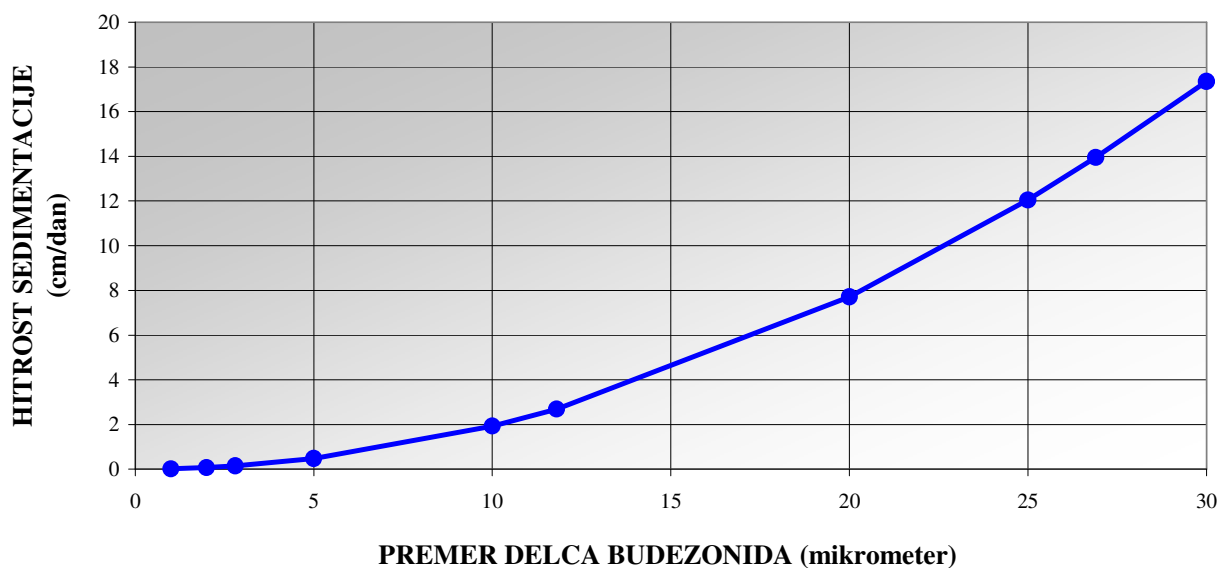
Slika 36: Slika delcev v nazalni suspenziji budezonida, posneta s SEM mikroskopijo.

4.8. TEORETIČNE HITROSTI SEDIMENTACIJE DELCEV BUDEZONIDA

Hitrost sedimentacije delcev učinkovine lahko ocenimo s pomočjo Stokesove enačbe. Za izhodne podatke za izračun smo uporabili premer delcev učinkovine, ki smo jih opazovali pod optičnim mikroskopom (od 2,8 do 26,9 μm). Za viskoznost smo izbrali najmanjšo vrednost, ki smo jo izmerili po mešanju vzorca nazalne suspenzije budezonida (0,026843 Pas) in nam je omogočala izračun največje hitrosti sedimentacije za različne velikosti delcev učinkovine. Za izračun hitrosti sedimentacije je ključnega pomena razlika v gostoti med delci budezonida, ki predstavljajo dispergirane faze, in gostoto disperznega medija. Gostota disperznega medija znaša $1130 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$. Pri gostoti budezonida je potrebno upoštevati pravo gostoto (angleško crystal density ali true density), ki izključuje vse intrapartikularne in interpartikularne prostore (37). Po literaturnih podatkih (38) znaša prava gostota budezonida $1240 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$. Izračuni so prikazani v preglednici 17. Za boljši prikaz so rezultati prikazani še v grafični obliki na sliki 37.

Preglednica 17: Odvisnost izračunane hitrosti sedimentacije delcev učinkovine v nazalni suspenziji budezonida od njihovih velikosti.

VELIKOST DELCA BUDEZONIDA (μm)	HITROST SEDIMENTACIJE (cm / dan)	OPOMBA
1,0	0,02	/
2,0	0,08	/
2,8	0,15	najmanjša velikost delca budezonida v nazalni suspenziji
5,0	0,48	/
10,0	1,93	/
11,8	2,68	/
20,0	7,71	povprečje velikosti delcev budezonida v nazalni suspenziji
25,0	12,05	/
26,9	13,95	največja velikost delca budezonida v nazalni suspenziji
30	17,35	/



Slika 37: Teoretične hitrosti sedimentacije delcev učinkovine v nazalni suspenziji budezonida v odvisnosti od njihovih velikosti ($\eta = 0,026843$ Pas, gostota disperznega medija = $1130 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$, prava gostota budezonida = $1240 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$, $T = 23 \text{ }^\circ\text{C}$).

Na osnovi izračunanih hitrosti sedimentacije ugotavljamo, da povprečno velik delec budezonida sedimentira s hitrostjo okoli 8 cm v enem dnevu. Skrajni primer predstavlja največji delec, ki glede na izračun sedimentira s hitrostjo okoli 14 cm v enem dnevu, najmanjši delec pa le 0,15 cm v enem dnevu. To pomeni, da je proces sedimentacije relativno hiter proces, saj povprečno velik delec v enem dnevu doseže dno 10 mL stekleničke, katere višina znaša okoli 6 cm. To pomeni, da suspenzija ni več homogena in jo je potrebno pred uporabo pretresti. Te rezultate je potrebno upoštevati tudi pri izdelavi suspenzije, ki jo je potrebno pred začetkom in med samim procesom polnjenja mešati, da dosežemo homogeno porazdelitev učinkovine v izdelku.

4.9. IZRAČUN REYNOLDSOVEGA ŠTEVILA ZA DELCE BUDEZONIDA, KI SEDIMENTIRAJO

Ker pri večjih hitrostih gibanja sedimentirajočih delcev namesto linearnega zakona stopi v veljavo kvadratni zakon upora, je potrebno preveriti Reynoldsovo število na podlagi enačbe 4. Za izračun smo uporabili tiste eksperimentalno določene parametre, ki dajejo najvišjo možno vrednost Reynoldsovega števila. To je najslabši primer, ki ga je potrebno preveriti. Polmer največjega opaženega delca budezonida znaša $13,5 \times 10^{-6}$ m, gostota disperznega medija znaša $1130 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$. Za hitrost sedimentacije smo uporabili izračunano hitrost sedimentacije največjega opaženega delca budezonida glede na Stokesovo enačbo in znaša $1,61 \times 10^{-6} \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$. Za viskoznost smo izbrali najmanjša izmerjena viskoznost disperznega medija, ki znaša $0,026843 \text{ Pas}$ in daje najvišjo možno vrednost Reynoldsovega števila.

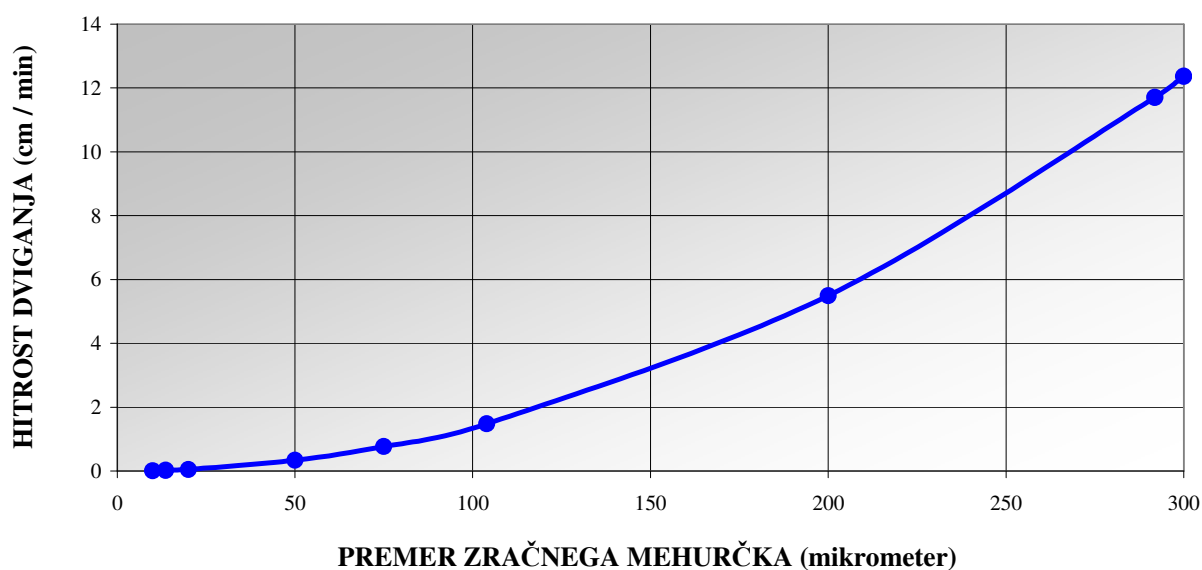
Izračunana vrednost Reynoldsovega števila je $1,830 \times 10^{-6}$ in je veliko manjša od vrednosti 0,5. To pomeni, da za gibanje delcev budezonida v opazovani suspenziji velja linearni zakon upora. V tem primeru lahko za izračune hitrosti sedimentacije delcev budezonida uporabimo Stokesovo enačbo, kot je prikazano v predhodnem poglavju (4.8.). Z izračunom Reynoldsovega števila smo potrdili, da so izračunane hitrosti sedimentacije s pomočjo Stokesove enačbe pravilne.

4.10. TEORETIČNE HITROSTI DVIGANJA ZRAČNIH MEHURČKOV

Ker je gostota zraka manjša od gostote disperznega medija, se zračni mehurčki v suspenziji dvigajo. Hitrost dviganja zračnih mehurčkov, ki so prisotni v nazalni suspenziji budezonida, lahko ravno tako ocenimo s pomočjo Stokesove enačbe. Za izračun smo uporabili premer zračnih mehurčkov na opazovanih vzorcih (od $13,6$ do $219,9 \mu\text{m}$). Viskoznost nazalne suspenzije budezonida predstavlja najmanjšo vrednost, ki smo jo izmerili po mešanju vzorca suspenzije z visoko hitrostjo mešanja ($0,026843 \text{ Pas}$). Zračni mehurčki so bili namreč prisotni v vzorcih suspenzije, ki smo jo mešali z visokimi hitrostmi mešanja. Gostota zraka je znana in znaša $1,3 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$, prav tako tudi gostota disperznega medija ($1130 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$). Izračuni hitrosti dviganja zračnih mehurčkov različnih velikosti so prikazani v preglednici 18, grafični prikaz pa na sliki 38.

Preglednica 18: Izračunane hitrosti dviganja zračnih mehurčkov v nazalni suspenziji budezonida v odvisnosti od njihovih velikosti.

VELIKOST ZRAČNEGA MEHURČKA (μm)	HITROST DVIGANJA ($\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$)	OPOMBA
10	0,014	/
13,6	0,025	najmanjša velikost zračnega mehurčka v nazalni suspenziji
20	0,055	/
50	0,343	/
75	0,773	/
103,9	1,483	aritmetična srednja vrednost velikosti zračnih mehurčkov
200	5,494	/
291,9	11,704	največja velikost zračnega mehurčka v nazalni suspenziji
300	12,362	/



Slika 38: Teoretične hitrosti dviganja zračnih mehurčkov v nazalni suspenziji budezonida v odvisnosti od njihove velikosti.

Izračunane vrednosti hitrosti dviganja zračnih mehurčkov kažejo, da se povprečno velik zračni mehurček v nazalni suspenziji budezonida dviga s hitrostjo okoli 1 cm v minuti. Skrajni primer predstavlja največji zračni mehurček, ki se v obravnavani nazalni suspenziji budezonida dviga s hitrostjo okoli 12 cm v minuti. Iz tega lahko sklepamo, da je proces flotacije zračnih mehurčkov za faktor 10^2 hitrejši od procesa sedimentacije delcev budezonida.

4.11. IZRAČUN REYNOLDSOVEGA ŠTEVILA ZA DVIGAJOČE SE ZRAČNE MEHURČKE

Tudi v primeru dviganja zračnih mehurčkov smo preverili Reynoldsovo število na podlagi enačbe 4. Izračun je pomemben zato, ker so hitrosti dviganja zračnih mehurčkov večje od hitrosti sedimentacije delcev budezonida. Eksperimentalno določeni parametri za izračun Reynoldsovega števila tisti, ki dajejo najvišjo možno vrednost Reynoldsovega števila. To je najslabši primer, ki ga je potrebno preveriti. Polmer največjega opaženega zračnega mehurčka znaša 146×10^{-6} m, gostota disperznega medija znaša $1130 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$. Za hitrost flotacije smo uporabili izračunano hitrost dviganja največjega opaženega zračnega mehurčka glede na Stokesovo enačbo in znaša $1,91 \times 10^{-3} \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$. Za viskoznost smo izbrali najmanjša izmerjena viskoznost disperznega medija, ki znaša $0,026843 \text{ Pas}$ in daje najvišjo možno vrednost Reynoldsovega števila.

Izračunana vrednost Reynoldsovega števila znaša $0,0234$ in je sicer precej večja kot za delce budezonida, vendar še vedno približno za faktor 20 manjša od vrednosti $0,5$. To pomeni, da tudi za gibanje zračnih mehurčkov v raziskovani suspenziji velja linearni zakon upora in potrjuje veljavnost izračunanih hitrosti gibanja zračnih mehurčkov s pomočjo Stokesovo enačbo.

4.12. IZRAČUN HITROST DVIGANJA ZRAČNIH MEHURČKOV SKUPAJ Z DELCI UČINKOVINE

S pomočjo predhodnih izračunov iz poglavja 4.8. in 4.10. lahko ocenimo, v katerem hitrostnem območju se gibljejo delci budezonida in zračni mehurčki. Izračuni kažejo, da je največja hitrost sedimentacije budezonida 13,95 cm/dan, največja izračunana hitrost flotacije zračnega mehurčka brez adheriranih delcev učinkovine pa 11,45 cm/min.

V nadaljevanju nas je zanimalo ali delci budezonida, ki so adherirani ali ujeti v zračni mehurček, sedimentirajo ali flotirajo in kakšna je hitrost njihovega gibanja.

Najprej smo izračunali, kako hitro se dviga povprečno velik zračni mehurček, ki ima adherirane 3 povprečno velike delce budezonida. Za izračun na osnovi Stokesove enačbe smo upoštevali naslednje poenostavitve:

- adherirani delci so okrogli,
- skupek adheriranih delcev in zračnega mehurčka je okrogel.

Gostoto dispergirane faze smo izračunali tako, da smo masi povprečno velikega zračnega mehurčka ($7,631 \times 10^{-13}$ kg) prišteli maso treh povprečno velikih delcev budezonida ($2,91 \times 10^{-12}$ kg) in izračunali gostoto skupka, ki znaša $6,75 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$. Tudi tu smo upoštevali najnižjo izmerjeno viskoznost disperznega medija ($0,026843 \text{ Pas}$).

Izračunana vrednost gibanja skupka znaša $-0,000246 \text{ m/s}$.

Ker je gostota skupka zračnega mehurčka z adheriranimi delci budezonida manjša od gostote disperznega medija, se le-ta dviga s hitrostjo $0,000246 \text{ m/s}$ ali $1,476 \text{ cm/min}$. Hitrost je primerljiva s hitrostjo dviganja povprečno velikega zračnega mehurčka ($1,483 \text{ cm/s}$). To pomeni, da delci budezonida, ki so adherirani na zračne mehurčke, potujejo proti gladini nazalne suspenzije s primerljivo hitrostjo kot prosti zračni mehurčki.

Naslednje vprašanje, ki smo si ga zastavili, je bilo, kako pa vpliva vključitev kristalov učinkovine v notranjost zračnega mehurčka na njegovo gibanje. Ali še vedno flotira? Pri izračunu smo predpostavili, da kristali učinkovine predstavljajo polovico volumna zračnega mehurčka. Gostoto dispergirane faze smo izračunali tako, da smo masi povprečno velikega zračnega mehurčka ($103,9 \mu\text{m}$) prišteli maso učinkovine z volumnom polovice povprečno velikega zračnega mehurčka in izračunali gostoto

skupka, ki znaša $621 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$. Ostali izhodni podatki so enaki kot v predhodnem izračunu v tem poglavju.

Izračunana vrednost gibanja skupka znaša $-0,000111 \text{ m/s}$.

Tudi v tem primeru je gostota skupka manjša od gostote disperznega medija in zato se skupek dviga s hitrostjo $0,000111 \text{ m/s}$ ali $0,669 \text{ cm/min}$. To pomeni, da tudi delci budezonida, ki so ujeti v notranjosti zračnih mehurčkov, potujejo proti gladini nazalne suspenzije. Njihova hitrost dviganja je približno polovica hitrosti gibanja prostega zračnega mehurčka.

5 SKLEP

V okviru magistrske naloge smo preučevali vpliv hitrosti mešanja na homogeno porazdelitev budezonida v nazalni suspenziji ter vzroke, ki povzročajo nehomogeno porazdelitev budezonida. Ugotovitve so sledeče:

- 1) Visoke hitrosti mešanja povzročajo vmešavanje zraka med procesom izdelave suspenzije, na katerega se, kot smo dokazali, veže določen delež suspendirane učinkovine.
- 2) Učinkovina, ki je adherirana ali ujeta v notranjost zračnega mehurčka, se dviga na površino nazalne suspenzije, kar vodi v njeno nehomogeno porazdelitev v nazalni suspenziji.
- 3) Za proces sedimentacije delcev budezonida, dviganja zračnih mehurčkov in dviganja zračnih mehurčkov z adheriranimi ali ujetimi delci budezonida in Avicela RC-591 v raziskovani suspenziji velja linearni zakon upora, zato za izračun hitrosti sedimentacije oziroma flotacije lahko uporabljamo Stokesovo enačbo (enačba 1).
- 4) Hitrost procesa flotacije je za faktor 10^2 višja od procesa sedimentacije.
- 5) Vmešan zrak med proizvodnjo vpliva na viskoznost preiskovane nazalne suspenzije, le ta pa na hitrost flotacije. V primeru vmešanega zraka, ki je posledica tehnološkega postopka z večjimi hitrostmi mešanja, je viskoznost približno dvakrat manjša kot pa v primeru nazalne suspenzije, ki nima vmešanega zraka.
- 6) Viskoznost nazalne suspenzije je pri majhnih strižnih napetostih velika, kar preprečuje sedimentacijo in tudi flotacijo učinkovine, ki je v interakciji z zračnimi mehurčki. Ker pa med procesom izdelave suspenzijo mešamo in je izpostavljena večjim strižnim silam, se njena viskoznost zmanjša in proces flotacije poteka najintenzivneje takoj po izdelavi suspenzije.
- 7) Kritičen procesni parameter izdelave nazalne suspenzije budezonida je hitrost mešanja. Ta mora zagotavljati ustrezno mešanje, hkrati pa ne sme prihajati do vmešavanja zraka v izdelek.

6 LITERATURA

- 1) Lazarini F, Brenčič J: Splošna in anorganska kemija. Visokošolski učbenik. Državna založba Slovenije, Ljubljana 1992: 172 – 174.
- 2) Nash RA: Suspensions. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology 2007, Third Edition, Volume 6. New York 2007: 3597 – 3610.
- 3) Kristl J, Šmid-Korbar J, Srčič S: Farmaceutvska tehnologija (1. del in praktikum), Univerza v Ljubljani, Fakulteta za naravoslovje in tehnologijo, Oddelek za farmacijo, Ljubljana, 1992: 172 – 176, 248 – 254.
- 4) Skoog AD, West DM, Holler FJ: Fundamentals of Analytical Chemistry, sixth edition. Saunders College Publishing, 1992: 511.
- 5) Banker GS, Rhodes CT: Modern Pharmaceutics. Marcel Dekker, New York, 1995: 310 – 319.
- 6) Saje V, Kristl J: Nanosuspenzije kot obetaven pristop za oblikovanje težko topnih zdravilnih učinkovin. Farmaceutvski vestnik 2001; 52: 145 – 152.
- 7) Pucelj B: Prenos tehnologije izdelave suspenzije. Prenos tehnologije iz laboratorija v proizvodnjo (scale up). Slovensko farmacevtsko društvo, Sekcija farmacevtskih tehnologov, 7. posvetovanje. Ljubljana 1995: 69 – 77.
- 8) Breuer H, Breuer R: Atlas klasične in moderne fizike. Državna založba Slovenija, Ljubljana 1993: 46, 47, 68, 69.
- 9) Sucker H, Fuchs P, Speiser P: Pharmazeutische Technologie. Georg Thieme Verlag Stuttgart 1978: 121 – 124.
- 10) Sorenson T: Flotation. Solid – Solid Operations and Equipment. Perry's Chemical Engineers' Handbook. Seventh Edition. New York 1997: Section 19: 56 – 65.
- 11) Trojak A, Planinšek O, Srčič S: Uporabnost parametra proste površinske energije v farmacevtsko tehnoloških procesih. Farmaceutvski vestnik 2000; 51: 277 – 288.
- 12) Srčič S: Cilj vgrajevanja amfifilnih spojin v zdravila. Amfifilne spojine v farmacevtskih pripravkih. 5. posvetovanje Tehnološke sekcije z mednarodno udeležbo. Ljubljana 1992: 8 – 33.
- 13) Girgin EH, Do S., Gomez CO, Finch JA: Bubble size as a function of impeller speed in a self-aeration laboratory flotation cell. Minerals Engineering 2006; 19: 201-203.

- 14) Moss N, Dymond B. Flocculation: Theory & Application. Ciba Specialty Chemicals. United Kingdom. Internetna stran: http://cibasc.com/fi/flocculation-theory_application.pdf. December 2009.
- 15) Pihlar B: Osnove analizne kemije. Univerza v Ljubljani, 1993: 51 – 54.
- 16) Internetna stran: <http://www-mathphys.iam.uni-bonn.de/~rump/web/main-en.htm>. Marec 2010.
- 17) Kočevar K: Interno poročilo o optični analizi delcev v suspenzijah loratadina. Lek, Ljubljana 2008.
- 18) Raghavan SL, Trividic A, Davis AF, Hadgraft J: Crystallization of hydrocortisone acetate: influence of polymers. International journal of pharmaceutics 2001; 212: 213 – 221.
- 19) Paul LE, Atiemo-Obeng AV, Kresta MS: Handbook of industrial mixing: science and practice. Hoboken : Wiley – Interscience, cop. 2004: 543 – 584.
- 20) Oldshue JY: Mixing of Solid – Liquid Suspensions. Journal of Pharmaceutical Sciences 1960; 50: 523 – 530.
- 21) Ignatowitz E: Kemijska tehnika. Prevedel Čelik L. Založništvo Jutro. Ljubljana 1996: 128, 213 – 221.
- 22) European Pharmacopoeia. 6th ed. On line. 2010
- 23) AstraZeneca. Navodilo za uporabo, Rhinocort Aqua[®], pršilo za nos 32 mcg, 2004.
- 24) Lüllman H, Mohr K, Ziegler A, Bieger D: Color Atlas of Pharmacology. New York, 1993:14, 15, 234 - 237, 298.
- 25) Goodman and Gilman's: The Pharmacological basis of therapeutics. J.G. Hardman, L.E. Limbird, A.G. Gilman (Eds.). Enajsta izdaja. 2006: 717-736.
- 26) Navodilo za uporabo, Tafen[®] nasal, 50 mikrogramov / odmerek pršilo za nos, suspenzija. Lek, Ljubljana 2008.
- 27) Dreu R, Ilić I: Seminar iz vaj Farmacevtska tehnologija, magistrski program Industrijska farmacija. Internetna stran: http://www.ffa.uni-lj.si/fileadmin/datoteke/FT/Farmacevtska_tehnolgija_1_INDFARM/teden-1.pdf. Marec 2010
- 28) Avicel RC-591: internetna stran: http://www.fmcbiopolymer.com/LinkClick.aspx?fileticket=ix1n29zD0T0%3d&tabid=2958&mid=6151&bcsi_scan_9FE6141AC4288782=DddqsyFcBAUpOcXti+pK02KzyqQNAAAAU2ujLQ==&bcsi_scan_filename=LinkClick.aspx, januar 2010.
- 29) Polisorbat 80: internetna stran proizvajalca: <http://www.croda.co.uk/>, december 2009

- 30) The United States Pharmacopeia USP 32 – NF 27.
- 31) Schröter W, Lautenschläger KH, Bibrack H, Schnabel A: Kemija, splošni priročnik. Tehniška založba Slovenija, Ljubljana 1993: 561.
- 32) Internetna stran: <http://rsb.info.nih.gov/ij>, december 2009.
- 33) Planinšek O, Srčič S: Navodila za vaje pri predmetu fizikalna farmacija. 4. vaja: določanje viskoznosti Newtonskih (idealnih) in ne – Newtonskih (neidealnih) sistemov. Fakulteta za farmacijo, Ljubljana 2008: 43 – 59.
- 34) Julian P. Heath: Dictionary of Microscopy. John Wiley & Sons, Ltd, England, 2005: 114, 278.
- 35) Internetna stran: <http://www.chemie.de/articles/e/61205/>, april 2010.
- 36) Internetna stran: http://www.malvern.com/ProcessEng/systems/laser_diffraction/technology/technology.htm, april 2010.
- 37) Planinšek O, Srčič S: Navodila za vaje pri predmetu fizikalna farmacija. Fakulteta za farmacijo, Ljubljana 2008: 1 – 18, 43 – 59.
- 38) Boer AH, Dickhoff BHJ, Hagedoorn P, Gjaltema D, Goede J, Lambregts D, Frijlink HW: A critical evaluation of the relevant parameters for drug redispersion from adhesive mixtures during inhalation. International journal of pharmaceutics 2005: 173 – 184.