UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

MATEVŽ BOLHA

VPLIV POGOJEV MLETJA S KROGLIČNIM MLINOM NA FIZIKALNO-KEMIJSKE LASTNOSTI RAZLIČNIH VRST LAKTOZE

INFLUENCE OF BALL-MILLING CONDITIONS ON PHYISCAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF DIFFERENT LACTOSE TYPES

Ljubljana, 2013

Magistrsko nalogo sem opravljal na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom prof. dr. Odona Planinška, mag. farm.

Zahvala

Ob zaključku magistrskega študija se zahvaljujem vsem svojim najbližjim, še posebej svojima staršema, Mateji in Iztoku, ki sta me ves čas podpirala, spodbujala in mi stala ob strani.

Za strokovno vodenje, pomoč pri eksperimentalnem delu in svetovanje pri oblikovanju magistrske naloge se iskreno zahvaljujem prof. dr. Odonu Planinšku, mag. farm.

Med študijem in nastajanju magistrskega dela so mi bili v veliko pomoč in vzpodbudo moji prijatelji in sošolci, katerim bi se prav tako rad zahvalil.

Izjava

Izjavljam, da sem magistrsko delo samostojno izdelal pod vodstvom mentorja prof. dr. Odona Planinška, mag. farm.

Ljubljana, januar 2013 Matevž Bolha

Kazalo

Kazalo....1
Povzetek....3
Abstract....4
Seznam okrajšav....5
1Uvod....6
1.1Laktoza....6
1.2Vrste laktoze v farmaciji....9
1.2.1Laktoza monohidrat....9
1.2.2Brezvodna laktoza....11
1.2.3Laktoza sušena z razprševanjem....12
1.2.4Laktoza za inhaliranje....13
1.3Mletje....14
1.4Fizikalno-kemijske lastnosti mletih delcev....17
1.5Vpliv mletja na lastnosti laktoze....19
1.5.1Vpliv na amorfnost....19
1.5.2Vpliv na dehidratacijo....21
2Namen dela....23
3Materiali in metode....24
3.1Materiali....24
3.2Naprave....24
3.3Metode....25
3.3.1Mletje....25
3.3.2Carrov indeks in Hausnerjevo razmerje....25
3.3.3Plinska piknometrija....27
3.3.4Merjenje velikosti delcev....27
3.3.5Termična analiza....28
3.3.5.1Termogravimetrija (TG)....29
3.3.5.2Diferenčna dinamična kalorimetrija (DSC)....30
3.3.6Vrstična elektronska mikroskopija (SEM)....30
3.3.7ATR – spektroskopija....31
4Rezultati in razprava....32

4.1Carrov indeks in Hausnerjevo razmerje..... 32
4.2Merjenje velikosti delcev.....32
4.3Vrstična elektronska mikroskopija (SEM).....35
4.4Termična analiza 37
4.5Plinska piknometrija.....44
4.6ATR – spektroskopija..... 46
5Sklep.....49
6Literatura..... 51

Povzetek

Laktoza se v farmaciji pogosto uporablja kot polnilo ali vezivo v tabletah, kapsulah, pri praških za inhaliranje, liofiliziranih produktih, intravenoznih injekcijah in drugih farmacevtskih oblikah. Pogosta mehanska operacija v farmacevtski proizvodnji je mletje, pri čemer lahko laktoza zaradi obstoja več kristanih oblik in amorfnega stanja izkazuje različne pretvorbe. V magistrski nalogi smo preučili vpliv pogojev mletja na velikost delcev, amorfizacijo laktoze in eliminacijo vode med segrevanjem.

Določili smo fizikalno-kemijske lastnosti vzorcev Laktoze NF 200 MESH, Tabletoze 70 in Supertaba 30 GR po različnih časih, intenziteti in temperaturi mletja s krogličnim mlinom v laboratorijskem merilu.

Z lasersko difrakcijo in vrstično elektronsko mikroskopijo smo potrdili pričakovani rezultat manjšanja velikosti delcev z daljšanjem časa mletja. Ugotovili smo, da pri dolgih časih mletja obstaja možnost aglomeracije delcev, kot posledica prisotnosti več vode na njihovi površini delcev. Več vode, vezane na površino, bi lahko bilo povezano z rahlim porastom helijeve gostote z daljšanjem časa mletja.

Rezultati termičnih analiz potrjujejo, da se z mletjem tvorijo nove poti eliminacije vode, kar olajša dehidratacijo. Pri dovolj dolgih časih in dovolj visoki intenziteti mletja je možna tudi amorfizacija laktoze. Pri mletju smo opazili tudi znake mutarotacije, pri kateri laktoza prehaja med svojimi anomeri. S tem smo potrdili rezultate, najdene v literaturi.

Z metodo oslabljene popolne odbojnosti nismo uspeli potrditi amorfizacije oziroma drugih strukturnih sprememb laktoze po dolgih časih mletja.

Abstract

In pharmacy, lactose is widely used as filler or binder in tablets, capsules and in inhalation powders, lyophilized products, intravenous injections and other dosage forms. A frequently used unit operation in pharmaceutical production is milling, during which lactose, because of its various crystal forms and amorphous state, expresses various transformations. In this master's dissertation we examined the influence of milling conditions on particle size, amorphization of lactose and water elimination.

Physical and chemical changes in samples of Lactose NF 200 MESH, Tablettose 70 and Supertab 30 GR were determined after various time, intensity and temperature of milling with a ball mill in a laboratory scale.

Laser diffraction and scanning electronic microscopy were used to confirm the expected result of reduction in particle size with increased milling time. At long milling times a possibility of agglomeration of particles as a consequence of more water being present on the surface of particles is present. Increase of Helium density with lengthening of milling time could be linked to more water bound to the surface of particles.

Thermal analyses indicate that with milling new pathways for water elimination are generated, which eases the dehydration. At sufficiently long milling times and sufficiently high milling intensity the amorphization of lactose is possible. Signs of mutarotation, in which lactose transforms between its anomers, were also observed during milling. With this, the results found in literature were confirmed.

Attenuated total reflectance did not give any conclusive results regarding amorphization and other structural changes after long milling times.

Seznam okrajšav

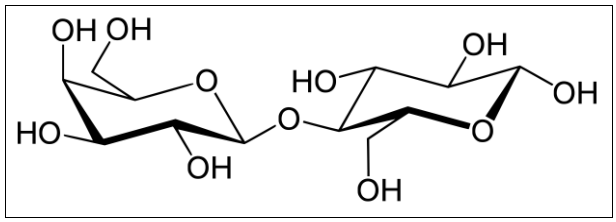
Simbol	Pomen	Enota
ATR	Oslabljena popolna odbojnost	/
DSC	Diferenčna dinamična kalorimetrija	/
IR	Infrardeča	/
SEM	Vrstična elektronska mikroskopija	/
TG	Termogravimetrija	/
T_g	Temperatura steklastega prehoda	ºC
T_t	Temperatura tališča	ºC
$V_{nasipni}$	Nasipni volumen	mL
V_{zbiti}	Zbiti volumen	mL
$\rho_{nasipna}$	Nasipna gostota	g/cm^3
ρ_{zbita}	Zbita gostota	g/cm^3

1 Uvod

Ogljikovi hidrati lahko obstajajo kot monosaharidi ali pa se monosaharidne enote med seboj povežejo z etrsko vezjo v disaharide, oligosaharide in polisaharide. Molekula disaharidov je sestavljena iz dveh monosaharidih enot, ki sta med seboj povezani z glikozidno vezjo. Ključna funkcija disaharidov je vir energije za življenjsko pomembne procese (1). Najbolj pogosta disaharida v naravi sta saharoza (jedilni sladkor) in laktoza (mlečni sladkor). Medtem ko je saharoza rastlinskega izvora in se prideluje in sladkornega trsa in sladkorne pese, laktozo najdemo v živalskem in človeškem mleku (2).

1.1 Laktoza

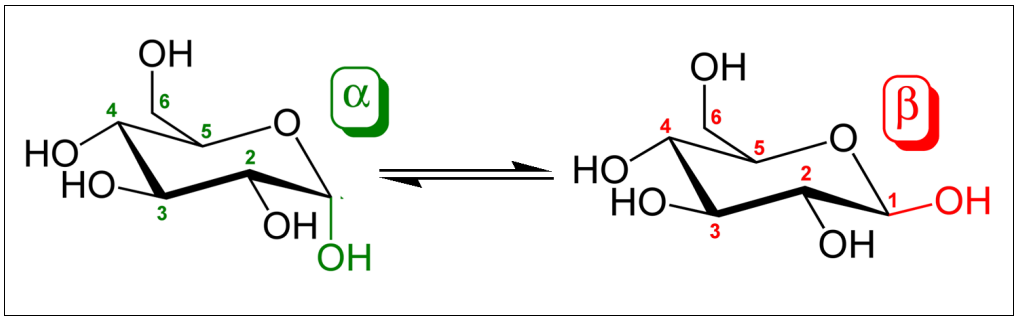
Laktoza je disaharid, sestavljen iz glukoze in galaktoze, ki tvorita β-1,4 glikozidno vez. Kemijsko ime zanjo je 4-O-β-D-galaktopiranozil-D-glukopiranoza (2). Strukturna formula je prikazana na sliki 1. Pri hidrolizi laktoze nastaneta D-glukoza in D-galaktoza. Nahaja se v mleku in je pomembna sestavina sirotke, iz katere jo tudi industrijsko pridobivamo. Človeško mleko vsebuje od 5% do 8% laktoze, kravje pa od 4% do 6%, kar predstavlja največji delež suhe snovi v mleku.



Slika 1: Strukturna formula laktoze

Odvisno od kristalizacijskih pogojev in pogojev sušenja lahko laktoza v trdnem stanju obstaja v različnih anomernih oblikah. Stabilne kristalne oblike laktoze so α-laktoza monohidrat, brezvodna α-laktoza in brezvodna β-laktoza (3),(4). Prav tako laktoza obstaja v amorfnem stanju. α-laktoza je lahko monohidrat ali brezvodna, medtem ko je β-laktoza

vedno brezvodna (3). α-laktoza in β-laktoza se nanašajo le na anomerno obliko obroča glukopiranoze. Monomer glukoza je lahko v obliki α-glukopiranoze ali β-glukopiranoze, medtem ko galaktozo poznamo le v obliki β-galaktopiranoze. Razlika med α-glukopiranozo in β-glukopiranozo je v legi skupine -OH na anomernem ogljikovem atomu, ki je pri α-anomeru aksialna, pri β-anomeru pa ekvatorialna. Izomerizacija, ki poteka preko aciklične oblike, se imenuje mutarotacija in je prikazana na sliki 2:



Slika 2: Mutarotacija glukopiranoze

Ta razlika v legi -OH skupine je tudi razlog za nekoliko večjo stabilnost β-anomera, kar opazimo tudi iz ravnotežja α- in β-anomera glukoze v vodni raztopini, v kateri je 64 % β-glukopiranoze in 36 % α-glukopiranoze.

Čista laktoza je kristalna snov bele do skoraj bele barve, brez vonja in rahlo sladkega okusa (4). Kljub temu, da je samo 30 % tako sladka kot saharoza, se uporablja kot nadomestilo sladkorja ne samo v farmacevtski, temveč tudi v prehrambeni in slaščičarski industriji (2). α-laktoza je približno 20 % tako sladka kot saharoza, medtem ko je β-laktoza 40 % tako sladka (4).

Laktoza se pogosto uporablja v farmaciji, kot polnilo ali vezivo v tabletah, kapsulah drugih farmacevtskih oblikah. Temu je tako, ker dobro ustreza lastnostim polnil kot na primer (4):

- dostopnost,
- hitro raztapljanje v vodi,

- prijeten okus,
- nizka higroskopnost
- relativna inertnost
- biološka kompatibilnost,
- dobra stisljivost.

V farmaciji se lahko uporablja tudi kot polnilo pri praških za inhaliranje, liofiliziranih produktih, intravenoznih injekcijah, v kombinaciji s saharozo pa tudi kot suspenzija za oblaganje s sladkornimi talinami (4). Laktoza izkazuje kompleksne termične prehode zaradi več možnih kristalnih stanj, kot tudi amorfne oblike. Diferenčna dinamična kalorimetrija se je izkazala za metodo, s katero lahko te prehode dobro določimo. α-laktoza monohidrat na primer postane brezvodna pri 120 ºC (4).

Neželeni učinki laktoze se lahko pojavijo pri ljudeh, ki imajo laktozno intoleranco, kar je posledica pomanjkanja encima laktaze. Posledično se laktoza ne prebavi in lahko povzroča krče, diarejo, napihnjenost in vetrove. Pri zdravih ljudeh laktaza hidrolizira laktozo v tankem črevesu do glukoze in galaktoze, ki se nato absorbirata. Simptomi laktozne intolerance se pojavijo zaradi osmoznega tlaka neabsorbirane laktoze, kar poveča količino vode in natrija v lumnu. Neabsorbirano laktozo bakterijska črevesna flora fermentira, pri čemer nastanejo plini in povzročijo simptome (4).

Večina ljudi, ki so intolerantni na laktozo, še vedno lahko jemljejo zdravila, ki vsebujejo laktozo. Da se simptomi pojavijo je namreč pri večini potrebno okrog 12 do 18 g laktoze, kolikor jo je v kozarcu mleka, vendar jo večina farmacevtskih oblik vsebuje precej manj in pri zdravljenju po navadi ne preseže 2 g laktoze na dan (4). Pri posameznikih se simptomi še vedno lahko pojavijo. V kolikor se, se lahko zamenja zdravilo za takšnega, ki ne vsebuje laktoze. V primeru, da tako zdravilo ne obstaja, lahko posameznik jemlje poleg zdravila, ki vsebuje laktozo, tudi laktazo v obliki prehranskega dopolnila, kar pomaga pri prebavi laktoze in posledično zmanjša neželene učinke (5).

1.2 Vrste laktoze v farmaciji

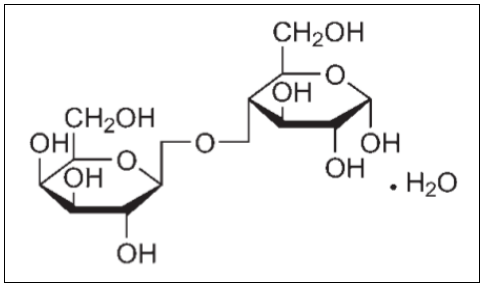
V farmaciji je na voljo več različnih vrst laktoze, ki imajo med seboj različne fizikalno-kemijske lastnosti, kot so porazdelitev velikosti delcev, pretočne lastnosti (6), hitrost raztapljanja, gostota in trdnost (7). Najpogostejše uporabljena oblika laktoze v farmaciji je kristalna oblika α-laktoze monohidrata (6).

V uporabi je tudi modificirana laktoza, ki je ob enem polnilo in vezivo, ter se večinoma uporablja pri metodah direktnega tabletiranja. Najpomembnejši za to uporabo sta laktoza sušena z razprševanjem in brezvodna laktoza. Izrazita lastnost obeh je zelo dobra stisljivost (6).

Laktoza se kot pomožna snov v farmacevtski industriji uporablja tudi v kombinaciji z drugimi spojinami. V kombinaciji s koruznim škrobom v razmerju 82 – 88 % laktoze monohidrata in 12 – 18 % koruznega škroba, se uporablja za izdelavo tablet za izboljšanje stisljivosti, razpadnosti in predvsem pretočnih lastnosti. Delci laktoze in škroba pripravljeni s sušenjem z razprševanjem so namreč okrogle oblike (4). S to metodo se pripravlja tudi zmes laktoze monohidrata in celuloze, ki je lahko mikrokristalna ali v praškasti obliki. V razmerju 73 – 77 % laktoze monohidrata in 23 – 27 % celuloze se uporablja predvsem pri procesih direktnega tabletiranja za izboljšanje stisljivosti in občutka v ustih (4). Prav tako se laktoza monohidrat v kombinaciji s povidonom pripravljena s procesom aglomeracije uporablja pri izdelavi žvečljivih tablet, dražejev, šumečih tablet in tablet z nadzorovanim sproščanjem z metodo direktnega tabletiranja (4).

1.2.1 Laktoza monohidrat

PhEur 6.5 opisuje laktozo monohidrat kot O-β-D-galaktopiranozil-(1,4)-α-D-glukopiranozo, USP pa kot naravni disaharid, pridobljen iz mleka, ki je sestavljen iz galaktoze in glukoze. USP prav tako pravi, da lahko fizikalne lastnosti laktoze monohidrata modificiramo in da lahko vsebuje različne deleže amorfne laktoze (4).



Slika 3: Strukturna formula α-laktoze monohidrata (4)

Strukturno formulo laktoze monohidrata prikazuje slika 3. Uporablja se kot vezivo in polnilo za tablete in kapsule, ter nosilec pri suhih inhalacijskih praških, v manjšem obsegu pa tudi za liofilizirane izdelke (4). Poznamo jo tudi pod zaščitenimi imeni Tabletoza, Farmatoza in Laktokem.

Ker se laktoza nahaja v živalskem mleku jo pridobivamo iz sirotke kravjega mleka. Sirotka je tekočina, ki ostane pri izdelovanju sira. Laktoza predstavlja 38 % vseh suhih snovi v mleku (4). α-laktozo monohidrat pridobimo s kristalizacijo iz nasičene raztopine pri 93,5 ºC. Pri tem lahko nastanejo različne kristalne oblike, ki so odvisne od metode precipitacije in kristalizacije. α-laktozo monohidrat se zato dodatno pripravi z granuliranjem, aglomeracijo in sušenjem z razprševanjem (4).

Komercialno je na voljo več vrst laktoze z različnimi fizikalnimi lastnostmi, kot so porazdelitev velikosti delcev in pretočne lastnosti. To omogoča izbiro laktoze z najbolj ustreznimi lastnostmi za določeno uporabo. Pri uporabi laktoze kot polnila za kapsule, tip kapsulirke velikokrat določa porazdelitev delcev laktoze, ki se izbere za uporabo (4). Majhne delce laktoze dostikrat uporabljamo pri izdelovanju granulata za tabletiranje z metodo vlažnega granuliranja ali pa kadar je v proces vključeno mletje. Majhni delci se lažje pomešajo z drugimi snovmi v formulaciji in tako boljše delujejo kot vezivo (4).

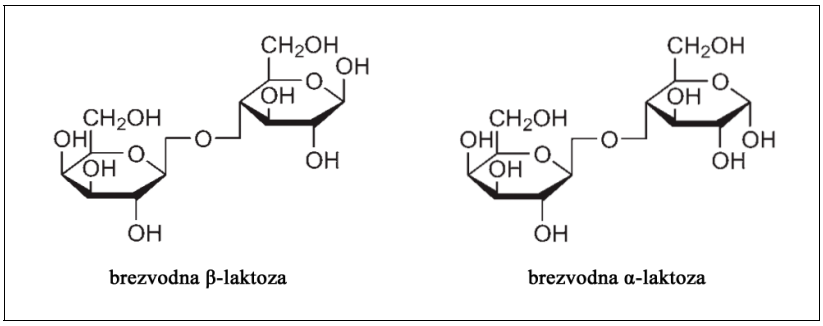
Laktoza monohidrat se uporablja tudi pri liofiliziranih izdelkih. Dodamo jo v raztopino,

katero sušimo z zamrzovanjem, pomaga pa pri povezovanju delcev, ki so posledično večji (4). V kombinaciji s saharozo se laktoza monohidrat v razmerju okrog 3:1 uporablja tudi v suspenzijah za oblaganje s sladkornimi talinami(4).

Laktoza monohidrat namenjena direktnemu tabletiranju je najprej obdelana z metodo granulacije in aglomeracije, lahko pa vsebuje tudi majhen delež brezvodne laktoze. Večkrat je namenjena tabletam z majhnim odmerkom zdravilne učinkovine in dovoljuje tabletiranje brez granuliranja zmesi. V ta namen se prav tako uporablja tudi brezvodno laktoza in laktoza pripravljena s sušenjem z razprševanjem (4).

1.2.2 Brezvodna laktoza

PhEur 6.5 in USP opišeta brezvodno laktozo kot O-β-D-galaktopiranozil-(1,4)--β-D-glukopiranozo ali zmes O-β-D-galaktopiranozil-(1,4)--β-D-glukopiranoze in O-β-D-galaktopiranozil-(1,4)--α-D-glukopiranoze (4). To pomeni da je brezvodna laktoza β-laktoza, ki je vedno brezvodna ali pa zmes brezvodne α-laktoze in β-laktoze. Strukturna formula obeh brezvodnih laktoz je prikazana na sliki 4:



Slika 4: Strukturna formula brezvodne α- in β- laktoze (4)

Brezvodna laktoza se nahaja v obliki belih do skoraj belih kristalnih delcev ali praška. Na voljo je več znamk (Lactopress, SuperTab,...) brezvodne laktoze, ki po navadi vsebujejo 70-80 % brezvodne β-laktoze in 20-30 % brezvodne α-laktoze (4). Temperatura kristalizacije vpliva na razmerje med α- in β-laktozo. S pogoji kristalizacije in mletjem,

lahko določamo tudi velikost delcev laktoze. Industrijsko se pridobiva s sušenjem z valji raztopine laktoze nad temperaturo 93,5 ºC. Tako pridobljeno laktozo se nato še zmelje in seje. Brezvodna laktoza lahko izkazuje higroskopnost pri visoki relativni vlagi (4).

Brezvodna laktoza se največ uporablja za direktno tabletiranje. Uporablja se jo za polnilo in vezivo v tabletah in kapsulah. Primerna je za uporabo skupaj z zdravilnimi učinkovinami občutljivimi na vlago, saj ima majhno vsebnost le-te. Za pomožno snov jo najdemo tudi v intravenoznih injekcijah in kot nosilec v inhalacijskih farmacevtskih oblikah (4).

1.2.3 Laktoza sušena z razprševanjem

Laktoza pripravljena s sušenjem z razprševanjem je namenjena predvsem direktnemu tabletiranju brez uporabe visokega tlaka (3) in je bila ena prvih pomožnih snovi za ta namen (4). Služi predvsem kot vezivo, prav tako pa tudi kot polnilo in sredstvo za izboljšanje pretočnih lastnosti zmesi pri tabletiranju in kapsuliranju (4). Z uporabo laktoze sušene z razprševanjem naj bi bilo mogoče izdelati tablete, ki bi vsebovale do 50 % in več zdravilne učinkovine z direktnim tabletiranjem, brez predhodnega granuliranja (3).

Laktoza pripravljena s sušenjem z razprševanjem je videti kot beli do skoraj beli kristalni delci ali prašek, brez vonja in rahlo sladkega okusa. Večinoma jo sestavlja 80-90 % posebno pripravljene čiste α-laktoze monohidrata in 10-20 % amorfne laktoze (4). Izdelamo jo iz suspenzije α-laktoze monohidrata v nasičeni raztopini laktoze, ki jo atomiziramo in sušimo z razprševanjem. Razmerje med raztopljeno in suspendirano količino laktoze v suspenziji je približno 10-20 % raztopljene, preostalih 80-90 % laktoze pa je suspendiranih v kristalni obliki. Stisljivost in pretočne lastnosti tako proizvedene laktoze sta odvisna predvsem od začetne velikosti delcev α-laktoze monohidrata v suspenziji in deleža amorfne laktoze. Prevladujoča oblika delcev, ki jih dobimo s sušenjem z razprševanjem je okrogla (4).

V laktozi pripravljeni s sušenjem z razprševanjem prisotna amorfna laktoza, ki je najbolj reaktivna oblika (4). Amorfna laktoza je higroskopna in fizikalno nestabilna, kar pomeni, da lahko spontano kristalizira pod ugodnimi pogoji za kristalizacijo. To so visoka relativna vlažnost zraka in povišana temperatura. Laktoza je reducirajoči sladkor. Pod takimi pogoji in ob prisotnosti aminov lahko poteče tudi Maillardova reakcija in laktozo obarva rjavo. Tako pripravljeno laktozo je potrebno shranjevati v dobro zaprtih posodah v hladnem in suhem prostoru (4).

1.2.4 Laktoza za inhaliranje

Ta vrsta laktoze se uporablja predvsem kot nosilec delcev zdravilne učinkovine, ter snov za redčenje in izboljšanje pretočnosti formulacije v farmacevtskih oblikah za inhaliranje. Inhalacijska laktoza primerne velikosti delcev se lahko uporabi tudi pri pripravi mehkih pelet v suhih praških za inhaliranje (4).

Videti je kot beli do skoraj beli prah brez vonja in rahlo sladkega okusa. Proizvaja se jo z eno ali več operacijami kot so mletje, sejanje, ločevanje s pomočjo zraka, mikronizacijo, ter mešanjem delcev laktoze. Proces izdelave največkrat poteka v samo za to določenih prostorih. Čeprav obstajajo v naprej narejene formulacije, se velikokrat to vrsto laktoze naredi po posebej prikrojenem postopku za specifično uporabo. Laktoza je ena izmed maloštevilnih pomožnih snovi, ki se uporablja v suhih praških za inhaliranje (4). Suhi praški za inhaliranje so glavna alternativa odmernim farmacevtskim oblikam pod tlakom, ker ne uporabljajo potisnega plina, imajo pa tudi druge prednosti kot na primer, da se jih da ponovno napolniti, omogočajo štetje odmerkov in so primerni za velike in male odmerke (8). Ker je laktoza že na voljo v tako številnih oblikah in z raznolikimi lastnostmi jo je lahko predelati z mehanskimi operacijami v ustrezno obliko s primernimi lastnostmi za inhaliranje (4).

1.3 Mletje

Najpogosteje so farmacevtske učinkovine in pomožne snovi v trdnem agregatnem stanju. Temu je tako, ker trdne snovi lahko kristalizirajo in jih je tako lažje izolirati, poleg tega pa so bolj stabilne in ravnanje z njimi je lažje (9). Za izdelavo želenih farmacevtskih oblik moramo zagotoviti optimalno velikost in porazdelitev velikosti delcev pri čemer pogosto uporabimo mletje (10). V farmaciji mletje včasih uporabimo tudi za pripravo kokristalov (11). Z mletjem lahko nastanejo mehansko aktivirane snovi, ki imajo spremembe v kristalni strukturi. Prelom materiala je povezan s predhodno deformacijo telesa ali zrna. Po načinu preoblikovanja se snovi delijo v elastične, plastične in viskoelastične. Hitrost širjenja razpoke skozi snov znaša več kot 1000 m/s in je predvsem funkcija elastičnega modula in gostote snovi. Širjenje razpoke je vezano na pretvorbo energije, posledica tega pa je lokalno povišanje temperature za nekaj tisoč Kelvinov (12). Obstajata krhki in žilavi lom (13). Pri krhkem prevladuje elastična deformacija in govorimo o nestabilnem oziroma razvejanem širjenju razpoke. Žilav lom je posledica plastične deformacije in zanj je značilno stabilno širjenje razpoke predvsem v eni smeri. Do preloma snovi pride najprej na najšibkejših mestih velikih zrn in to že ob razmeroma majhnih obremenitvah. Pri majhnih velikostih delcev prihaja do plastične deformacije. Posledica tega je, da se delci več ne lomijo in tako ne nastajajo več nove površine trdne snovi, vendar se samo preoblikujejo. To je spodnja meja mletja. Potrebna energija za izvajanje teh procesov izhaja iz (12):

- dovedene mehanske energije preko naprave za drobljenje ali mletje
- elastičnega napetostnega polja, ki izhaja iz defektne strukture snovi
- toplotne vsebnosti same snovi in
- kemijskega potenciala na vrhu mikrorazpok.

Izmed teh je najpomembnejša dovedena mehanska energija, vendar se energije med procesom med seboj pretvarjajo in porabljajo za nastanek končnega produkta z večjo specifično površino. Energija novo nastalih površin je v območju 0,1-1 J/m2, kar je razmeroma malo v primerjavi s celotno vloženo energijo (12). Samo 1 % vložene energije

se dejansko porabi za večanje površine, oziroma drobljenje delcev. Zaradi pretvarjanja energije med procesom mletja se energija porabi tudi za (12):

- nastajanje površine mikrorazpok v notranjosti snovi,
- sproščanje toplotne energije med procesom,
- energijo za strukturne spremembe,
- izgube zaradi trenja naprave za mletje,
- kinetično energijo zdrobljenih delcev in
- izstopanje elektronov in sproščanje elektromagnetnega valovanja na vrhu razpok.

Seštevek vseh teh energij predstavlja izgube. Mikrorazpoke lahko določimo z elektronsko mikroskopijo. Za opazovanje notranjih razpoke je potrebno material analizirati v prerezu (13). Toplotno energijo izmerimo z meritvami temperature, strukturne spremembe pa lahko opazimo, če določimo strukturo snovi pred in po procesu mletja. Naprave za mletje, oziroma mlini, nekaj energije potrebne za obratovanje porabijo za trenje premikajočih se mehanskih delov, kar moramo prav tako pripisati energijskim izgubam. Kinetična energija potrebna za premikanje delcev se ne porabi za večanje površine, zato je prav tako izguba. Določimo jo lahko iz hitrosti delcev v mlinu. Elektromagnetno valovanje, ki se sprošča pri mletju, se opazimo kot zvočne efekte.

Med mletjem zato lahko prihaja do nenačrtovanih pojavov, kot so spremembe v morfologiji (14), kristalnosti (14), polimorfizmu (15), temperaturi steklastega prehoda (16), kemijski stabilnosti (17) in taljenju (18). V farmaciji mletje uporabljamo za povečanje specifične površine in s tem izboljšanje raztapljanja in biološke uporabnosti zdravilnih učinkovin (19). Pri manjšanju velikosti delcev se lahko spremenijo tudi lastnosti sistema, predvsem fizikalna stabilnost. Velikost delcev je obratno sorazmerna s površino disperznega sistema, zato so spremembe lastnosti, ki nastanejo zaradi večanja površin (10), (12),(20):

- večja reaktivnost,

- boljša topnost,
- višja biološka uporabnost,
- razklop zrn aglomeratov,
- kakovost in ustreznost proizvodov in
- strukturne in kemične spremembe.

Obstaja pa tudi možnost prehoda med kristalno in amorfno obliko med procesom mletja, kar lahko še dodatno izboljša topnost, vendar je težko zagotoviti, da bo snov ostala v amorfni obliki, saj lahko rekristalizira (10). Izkazalo se je, da mletje pri nižji temperaturi, oziroma kriogeno mletje, povzroči hitrejšo amorfizacijo kot mletje pri sobni temperaturi (21). To nasprotuje splošno sprejetemu načinu amorfizacije, kjer gre za lokalno segrevanje snovi, ki mu sledi hitro ohlajanje (22), ampak se opira na teorijo povečevanja temperaturno neodvisnih defektov v snovi (23).

Za določevanje deleža amorfne snovi v vzorcu lahko uporabimo več različnih metod kot so (20):

- rentgenska difrakcija,
- kalorimetrija,
- gravimetrija,
- spektroskopija,
- plinska piknometrija in
- inverzna plinska kriomatografija

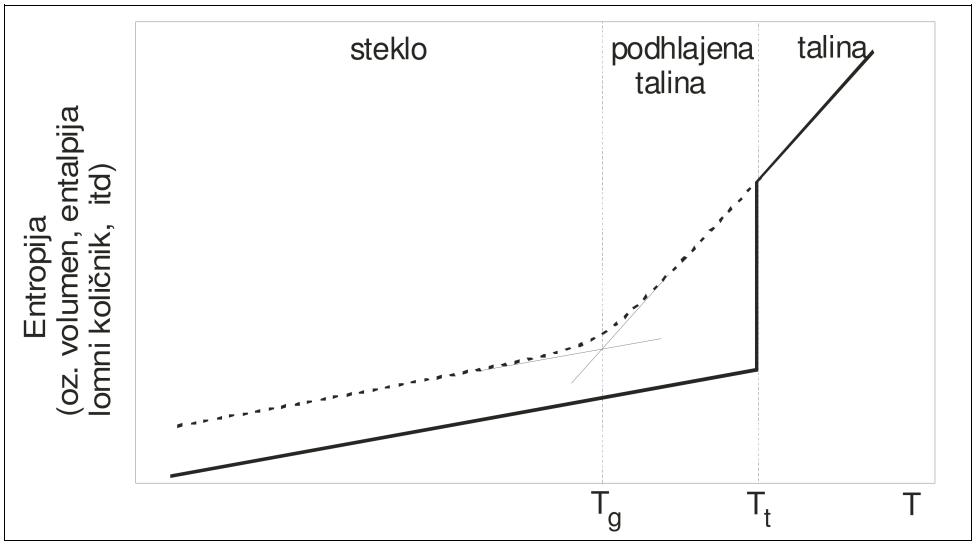
Vse te tehnike za svoje delovanje izrabljajo razliko v lastnostih med kristalno in amorfno strukturo. Pri rentgenski difrakciji ima amorfna snov manjše in manj ostre vrhove krivulje, ker je red v molekulah amorfne snovi manjši. Kalorimetrične tehnike temeljijo na razliki termodinamskih lastnostih, kot so entalpija kristalizacije in raztapljanja, toplotni kapaciteti, itd., med amorfno in kristalno snovjo. Spektroskopske metode izkoriščajo razliko med nihanjem atomov ali molekul pri različnih pogojih, ki so posledica drugačnega razporeda v

amorfni in kristalni snovi. Za katero metodo se odločimo je odvisno od preučevane snovi (24).

1.4 Fizikalno-kemijske lastnosti mletih delcev

Kristalni delci lahko pri mletju postanejo amorfni. Vsa odvečna energija v obliki toplote, ki se sprosti pri mletju stali delce s kristalno strukturo. Če le-ti pri ohlajanju nimajo dovolj časa da ponovno kristalizirajo, ostanejo amorfni (22).

Razlika v strukturi kristalne in amorfne snovi ima za posledico razlike v nekaterih lastnostih obeh vrst materialov. Na sliki 5 je shematsko prikazan potek entropije pri ohlajanju taline. Pri ravnotežnem ohlajanju (polna črta) ima material dovolj časa za tvorbo kali (nukleacijo) in rast kristalov. Entropija pri temperaturi tališča se skokovito zmanjša ker material preide iz precej neurejene strukture taline v zelo urejeno kristalno strukturo.



Slika 5: Temperaturna odvisnost entropije pri ravnotežnem (polna črta) in neravnotežnem (črtkana črta) ohlajanju taline (22)

Naklon krivulje entropije v odvisnosti od temperature je za trdno stanje precej manjši kot za tekoče, ker se red v trdnem stanju z nižanjem temperature le počasi povečuje. Če je

ohlajanje hitrejše od ravnotežnega, se entropija spreminja v skladu s črtkano črto na sliki 5. Naklon črtkane krivulje se ne spremeni do temperature steklastega prehoda (T_g), ki je nižja od temperature tališča (T_t). Naklon se ne spremeni, ker se do T_g ne spreminjajo glavne strukturne značilnosti, ki so še vedno take kot jih ima talina. Snov v območju med T_t in T_g imenujemo tudi podhlajena talina. Pri temperaturi, nižji od T_g, se naklon črtkane krivulje zmanjša in postane podoben naklonu polne krivulje, ki ustreza kristalnemu stanju snovi. Snovi, katerih entropija ima podoben temperaturni potek kot črtkana črta na sliki 5, in se nahajajo pri temperaturi nižji od T_g, imenujemo s splošnim izrazom stekla. Entropija stekla je večja od entropije ustreznega kristalnega stanja snovi, kar je v skladu s sliko 5, ki kaže, da je neurejenost v steklu večja od neurejenosti v kristalu (22). Snov v takem stanju ni termodinamično stabilna in bo sčasoma izgubljala entalpijo, entropijo in prostornino (9).

Za karakterizacijo amorfnih delcev moramo uporabiti drugačne metode kot za karakterizacijo kristalnih delcev. Določitev strukture na molekularnem nivoju kot je za kristalno strukturo mogoče z rentgensko difrakcijo in spektroskopskimi metodami za amorfne delce ni vedno primerna (25). Večji poudarek je na strukturni mobilnosti in spremembah. Po navadi karakteriziramo amorfno snov pod in nad temperaturo steklastega prehoda. V ta namen uporabljamo več različnih tehnik s katerimi določimo (25):

- strukturo,
- termodinamske lastnosti,
- spremembe in
- lastnosti večkomponentnih sistemov.

Struktura amorfnih trdnin ni popolnoma naključna, temveč ima lahko na molekularnem nivoju red na kratkih razdaljah, ostanke kristalnosti, polimorfizem in področja različnih gostot. Ločiti je potrebno tudi med amorfno in mikrokristalno snovjo. Mikrokristalna snov je sestavljena iz tako majhnih kristalov, da jih ne moremo zaznati z rentgensko difrakcijo. V tem primeru uporabimo DSC (angl.: Differential Scanning Calorimery) s katerim lahko določimo ali ima snov steklast prehod. Če ga ima, potem je amorfna, drugače pa je

mikrokristalna. Na podoben način se ugotavlja tudi stopnja kristalnosti .

Termodinamske lastnosti amorfnih snovi določimo z različnimi termičnimi analiznimi metodami. Pri tem se meri entalpijo in entropijo amorfne snovi, ki je višja od tiste, ki bi jo imela kristalna snov pri enaki temperaturi.

Določiti je potrebno tudi pogoje pri katerih se lahko amorfna snov spremeni. V farmacevtski industriji je potrebno paziti na te spremembe, ker bi lahko nastale pri nadaljnji obdelavi delcev ali skladiščenju in jih moramo zato znati preprečiti. V ta namen se amorfnim snovem določi temperaturo steklastega prehoda in pogoje pri katerih bi lahko prišlo do kristalizacije v bolj stabilno stanje. Za določevanje shranjevalnih pogojev v mnogih primerih velja pravilo T_g - 50 ºC. To pomeni, da shranjujemo snov pri temperaturi, ki je za 50 ºC nižja od temperature steklastega prehoda.

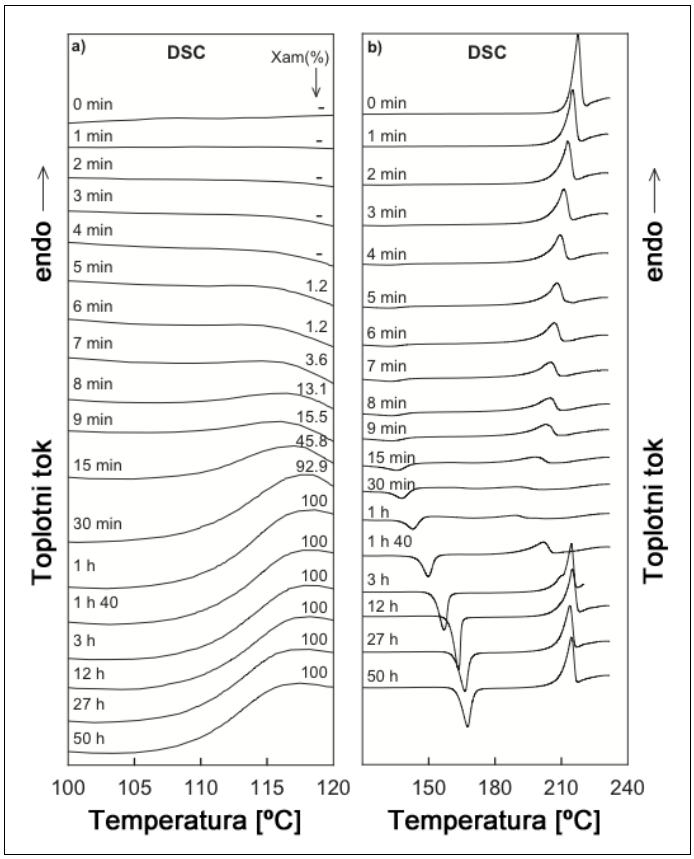
1.5 Vpliv mletja na lastnosti laktoze

1.5.1 Vpliv na amorfnost

Pri mletju lahko kristali ostanejo strukturno nespremenjeni ali pa postanejo amorfni. Empirično je bilo ugotovljeno, da je to različno vedenje kristalov odvisno od relativne vrednosti temperature mletja od temperature steklastega prehoda amorfnega stanja, ki bi nastalo (26). Kadar je temperatura steklastega prehoda pod temperaturo mletja, laktoza težje preide v amorfno stanje. Temperatura steklastega prehoda je nižja pri laktozi monohidratu, kot pri brezvodni laktozi. Temperatura steklastega prehoda laktoze monohidrata je okrog 40 ºC (26), medtem ko za brezvodno laktozo dosega vrednosti 105 ºC (27). Tudi brezvodne oblike ostalih sladkorjev imajo precej višje temperature steklastega prehoda od njihovih hidratiranih oblik. Molekule vode delujejo kot mehčalo in tako preprečijo prehod v amorfno stanje. Iz tega sledi, da je laktoza monohidrat bolj primerna za tehnološke procese, ki vključujejo mletje, kadar amorfizacija ni zaželena (26).

Za prehod med kristalnim in steklastim stanjem z mletjem je največkrat potrebno večurno mletje. Kratki časi mletja večinoma samo zmanjšajo velikost kristalov, pri tem pa ne nastane večja količina amorfne oblike. Delci so lahko sestavljeni z več kristalov. Tako kratek čas mletja spremeni samo mikrostrukturo snovi, ne povzroči pa prehoda med kristalnimi oblikami oziroma amorfizacije (10).

Pomembno je razumeti kdaj in kako kristalni defekti, ki nastanejo pri mletju, pripeljejo do amorfizacije. Caron V. je s sodelavci preučeval transformacijo kristalne α-laktoze brezvodne v amorfno stanje pri različnih časih mletja (10). Rezultate so analizirali z DSC pri hitrosti segrevanja 5 ºC/minuto. Na sliki 6 so prikazani rezultati. Na grafu a) je prikazan steklast prehod (od 100 do 120 ºC) in na grafu b) rekristalizacija in taljenje (od 120 do 240 ºC) vzorca laktoze. Eksotermni vrh pri 120 ºC je viden že po 3 minutah mletja in se s podaljševanjem časa mletja pomika proti višji temperaturi ter postaja vse večji. Po 12 urah mletja rezultati nakazujejo na popolno amorfizacijo, kar se opazi s prenehanjem spreminjanja vrha steklastega prehoda s podaljševanjem časa mletja. Tudi primerjava z vrhovi taljenja kaže na popolno amorfizacijo. Kljub temu se rekristalizacijski vrh še vedno z daljšanjem časa mletja pomika proti višji temperaturi, kar kaže na povečano stabilnost amorfnega stanja z daljšanjem časa mletja. To je lahko posledica izginotja večine kristalizacijskih jeder, ki so bila pri manjših časih mletja še prisotna in so pomagala pri kristalizaciji, ali pa nastanek lokalnega reda v amorfnem materialu, kar lahko spremeni mehanizem nukleacije in rasti pri rekristalizaciji (10).



Slika 6: DSC krivulje za različne čase mletja brezvodne α-laktoze (10)

Vrh taljenja v odvisnosti od časa mletja se lahko razdeli na dva dela. Do ene ure mletja se postopoma manjša, širi in pomika proti nižji temperaturi. Pri 1 uri mletja se ga komaj zazna. Pri časih mletja več od 1 ure se opazi ravno obraten pojav. Vrh zopet raste, se oži in pomika proti višji temperaturi. Vseeno se ne vrne v prvotno stanje nemlete laktoze, vendar ostane nekoliko nižji in pri 3 ºC nižji temperaturi (10). Možen vzroke za to je, da lahko pri segrevanju laktoze pride do mutarotacije v anomer β-laktozo, zaradi česar pri rekristalizaciji nastane kokristal α- in β-laktoze, ki ima nižjo temperaturo taljenja od čiste α-laktoze (10).

1.5.2 Vpliv na dehidratacijo

Pri mletju laktoze monohidrata lahko pride do izhajanja vezane vode, oziroma

dehidratacije. To pomeni, da je delež vode vedno manjši. Dehidratacija je površinski pojav. Izhajanje vode poteka preko neodvisnih strukturnih kanalov vzporednih s kristalografsko c-osjo (28). Pojav dehidratacije α-laktoze ob mletju so preučevali Garnier S. in sodelavci. Vzorce so mleli ročno 20 min, 120 min in 300 min, nato pa jih analizirali z DSC metodo pri hitrosti segrevanja 2 ºC/min od 30 ºC do 200 ºC (29). Rezultati so pokazali, da se hidratacijski vrh z daljšanjem časa mletja pomika proti nižji temperaturi. Pri nemleti laktozi je bil dehidratacijski vrh viden pri 132 ºC, pri dalj časa mleti pa pri 105 ºC. Pri vzorcu mletem 12 min sta bila dobro vidna dva vrhova dehidratacije, kar nakazuje na potek dehidratacije v dveh stopnjah. Sklepamo lahko, da pri mletju nastanejo nove dehidratacijske poti za evakuacijo vode (29).

Nove dehidratacijske poti nastanejo pri daljših časih mletja zaradi strukturnih in makrokristalnih posledic mletja, vendar to ne vodi do nastanka druge kristalne oblike (29). Mletje lahko povzroči tudi prekinitev vodikovih vezi med molekulami laktoze ali molekulami laktoze in molekulami vode, kar prav tako pripomore k lažji eliminaciji vode (29).

Pri mletju se poveča površina delcev, kar olajša dehidratacijo. Več vode je tako prisotne na površini, poleg tega pa se lahko odprejo prej zaprte pore delcev. Amorfizacija ima prav tako za posledico povečanje površine delcev in tako pripomore k lažji dehidrataciji.

Garnier S. s sodelavci so ugotovili, da se pri mletju nekaj α-laktoze preoblikuje v ß-laktozo (29), ki lahko obstaja samo v brezvodni obliki, prav tako pa pripomore k nastanku kristalnih defektov v vzorcu (29). Tudi to lahko pripomore k lažji dehidrataciji.

2 Namen dela

V magistrski nalogi bomo različnim vzorcem laktoze določili fizikalno-kemijske lastnosti po različnih časih, intenziteti in temperaturi mletja. Vstopnim vzorcem bomo določili tudi pretočne lastnosti.

Proučevali bomo vpliv teh pogojev mletja na velikost delcev, amorfizacijo laktoze in eliminacijo vode. Eksperimente bomo izvedli z različnimi vrstami laktoze: Supertab 30 GR in Tabletozi 70, ki sta namenjeni direktnemu tabletiranju in Laktozi NF 200 MESH, ki je laktoza monohidrat, namenjena granuliranju, oziroma se uporablja kot polnilo. Supertab 30 GR je brezvodna laktoza, medtem ko je Tabletoza 70 α-laktoza monohidrat. Pričakujemo, da se bodo rezultati skladali z obstoječo literaturo, ki nakazuje da se z daljšim časom mletja laktoze olajša deihidratacija, ter poveča amorfizacija. Slednjo bomo proučevali s termično analizo in IR spektroskopijo. Obliko in porazdelitve velikosti delcev bomo spremljali z lasersko difrakcijo in elektronsko mikroskopijo. Pričakujemo, da se bodo z daljšanjem časa mletja delci manjšali do dosega spodnje meje mletja, ter da bodo nastale nove poti za olajšano dehidratacijo.

3 Materiali in metode

3.1 Materiali

Vzorci, ki smo jih analizirali so bili:

- Tabletoza 70, Meggle excipients and technology, Nemčija,
- Laktoza NF 200 MESH, FrieslandCampina DMV BV, Nizozemska in
- Supertab 30 GR, DMV-Fonterra Excipients GmbH Co KG, Nemčija

Pri tem smo uporabili tudi topila:

- demineralizirana voda
- izopopanol, Merck, Nemčija
- etanol, Merck, Nemčija

in laboratorijski pribor:

- merilni valji,
- čaše in
- erlenmajerice

3.2 Naprave

- Ultrazvočna kadička: Sonis 4, Iskra, Slovenija
- vrstični elektronski mikroskop (SEM): FE-SEM SUPRA 35 VP, Carl Zeiss, Nemčija
- diferenčni dinamični kalorimeter Mettler Toledo Differential Scanning Calorimeter

DSC1, opremljen s programsko opremo STAR Software v9.30, Švica

- He- piknometer: AccuPyc 1330, Micromeritics, ZDA
- Analizna tehtnica Mettler Toledo AG 245, Švica
- Vibracijski mlin Pulverisette 0, Fritsch, Nemčija
- Stresalnik Vankel, ZDA
- Termogravimeter TGA/DSC1 Mettler Toledo, Švica
- Naprava za določanje velikosti delcev – Mastersizer S Malvern instruments, Velika Britanija
- IR spektroskop Thermo Nicolet SMART DuraSampl IR, Nexus FT-IR, ZDA

3.3 Metode

3.3.1 Mletje

Vsako vrsto laktoze smo mleli v krogličnem mlinu po 5, 30, 100 minut in 24 ur. Supertab 30 GR smo 100 min mleli tudi bolj intenzivno in pri znižani temperaturi (5 ºC). Vsakič smo v posodo mlina zatehtali okrog 2 g vzorca.

3.3.2 Carrov indeks in Hausnerjevo razmerje

Carrov indeks in Hausnerjevo razmerje sta indirektno merilo za pretočne lastnosti. Nasipna gostota, velikost in oblika delcev, specifična površina, delež vlage in kohezivnost praška so povezane pretočne lastnosti praška. Oba indeksa izračunamo s pomočjo merjenja nasipnega in zbitega volumna praška. Standardizirana metoda je natančneje opisana v Evropski farmakopeji v poglavjih 2.9.15. „Navidezni volumen“ in 2.9.34. „Nasipna gostota in zbita gostota prahov (30).“ Najprej izmerimo nasipni volumen v valju, ki ga nato s stresalnikom stresamo toliko časa, da je valj podvržen 1250 udarcem. Postopek ponavljamo, dokler nista zadnji dve meritvi zbitega volumna enaki (31). S stresanjem se delci uredijo tako, da zavzamejo manjšo prostornino, ki pa je še vedno odvisna od oblike,

porazdelitve velikosti in gostote delcev. Carrov indeks in Hausnerjevo razmerje nato izračunamo po enačbah:

$$Carrov\ indeks = 100\ x\ \frac{V_{nasipni} - V_{zbiti}}{V_{nasipni}} = 100\ x\ \frac{\rho_{zbita} - \rho_{nasipna}}{\rho_{zbita}} \quad [1]$$

$$Hausnerjevo\ razmerje = \frac{V_{nasipni}}{V_{zbiti}} = \frac{\rho_{zbita}}{\rho_{nasipna}} \quad [2]$$

V enačbah $V_{nasipni}$ in V_{zbiti} predstavljata nasipni in zbiti volumen, $\rho_{nasipna}$ in ρ_{zbita} pa nasipno in zbito gostoto prahu. Visoka vrednost enega ali drugega parametra izražata močne adhezijske sile in sile trenja. Tako večje spremembe volumna oziroma gostote pred in po stresanju nakazujejo slabe pretočne lastnosti prahov, ki pa imajo v farmacevtski proizvodnji velik pomen, saj definirajo uspešnost volumetričnih operacij kot sta tabletiranje in kapsuliranje. Farmakopeja opredeli sedem različnih razredov pretočnih lastnosti glede na vrednosti Carrovega indeksa in Hausnerjevega razmerja:

Tabela 1: Pretočne lastosti v odvisnosti od Carrovega indeksa in Hausnerjevega razmerja (31)

Pretočne lastnosti	Carrov indeks [%]	Hausnerjevo razmerje
Odlične	1 – 10	1,00 – 1,11
Dobre	11 – 15	1,12 – 1,18
Zmerne	16 – 20	1,19 – 1,25
Sprejemljive	21 – 25	1,26 – 1,34
Slabe	26 – 31	1,35 1,45
Zelo slabe	32 – 37	1,46 – 1,59
Zelo, zelo slabe	> 38	> 1,60

Merjenje nasipnega in zbitega volumna smo izvajali z 50 mL valjem, katerega smo napolnili z laktozo. Stresali smo ga s 1250 udarci, dokler se nista zadnji dve meritvi ujemali. Odčitali smo volumen pred in po stresanju. Meritve smo izvedli samo za vstopne oziroma nemlete vzorce laktoze zaradi potrebe po veliki količini vzorca za izvedbo meritve (50 g) in omejitve metode mletja na 2 do 3 g na mletje. Namen je bil okvirno določiti

pretočne lastnosti posamezne vrste laktoze.

3.3.3 Plinska piknometrija

Plinska piknometrija je metoda določanja pravega volumna in preko znane mase vzorca tudi prave gostote vzorca, s tehniko izpodrivanja zraka s plinom, ki lahko prodre v odprte pore vzorca. Največkrat se za plinsko piknometrijo uporablja helij, ker ima za ta namen dovolj majhen atom, prav tako pa je tudi inerten in zato ne pride do adsorpcije na površino vzorca. Piknometer je sestavljen iz dveh celic znanega volumna, ki sta povezani z ventilom. Ena je namenjena vzorcu, druga pa je referenčna. Najprej se s helijem pod tlakom napolni ena celica, nato se odpre ventil in helij izpodrine zrak v drugi celici. Na podlagi Boylovega zakona se izračuna pravi volumen vzorca. Natančnost je odvisna od velikosti molekule plina in velikosti odprtih por na vzorcu, saj morajo biti molekule plina dovolj majhne, da vanje prodrejo. Zaprte pore s to metodo ne moremo izmeriti.

Helijevo gostoto smo merili v treh paralelkah za vsak vzorec laktoze in izračunali povprečje. Cilj je bil ugotoviti ali se gostota spreminja v odvisnosti od časa mletja laktoze in s tem posredno ugotoviti strukturne spremembe.

3.3.4 Merjenje velikosti delcev

Za merjenje velikosti delcev smo uporabili lasersko difrakcijo. Laserska difrakcija v ta namen izkorišča metodo sipanja svetlobe in sicer meri uklon laserskega žarka. Delci, ki jih laserski žarek osvetli sipajo svetlobo pod kotom, ki je v direktni povezavi z velikostjo delcev. Kadar so delci majhni je kot sipanja velik in obratno. Meri se sipanje svetlobe na oblaku delcev, zato je rezultat povprečje velikosti delcev. Aparatura sestoji iz laserja, ki je vir koherentne svetlobe določene valovne dolžine, sistema za vzorec in serije detektorjev, ki merijo sipanje svetlobe pri različnih kotih. S fokusiranim laserskim žarkom se osvetli disperzijo delcev, nato pa se sipano svetlobo s pomočjo leče fokusira na detektor, kjer nastane značilen simetričen interferenčni vzorec, preko katerega se pridobijo podatki o

porazdelitvi velikosti delcev. Pri pripravi disperzije za merjenje je potrebno paziti na ustrezen izbor medija, saj vzorec v njem ne sme biti topen, saj bi se drugače delci zmanjšali ali pa celo popolnoma raztopili.

Merjenje velikosti delcev laktoze smo izvajali v treh paralelkah. Vzorce smo pripravili tako, da smo jih dispergirali v izoprapanolu s pomočjo ultrazvočne kopeli, pri čemer so se tudi razbili aglomerati. Mešalo odmerne celice je bilo nastavljeno na 1200 obratov na minuto, med meritvami pa smo dozirno celico izprali z etanolom in demineralizirano vodo.

3.3.5 Termična analiza

Termična analiza je skupina tehnik pri katerih merimo fizikalne lastnosti vzorcev kot funkcijo temperature ali časa, medtem ko je vzorec podvržen kontroliranemu temperaturnemu programu. Velik vpliv ima tudi atmosfera okrog vzorca, ki se jo po navadi meri ločeno, včasih pa tudi skupaj z vzorcem. Najbolj pomembne merjene karakteristike pri teh metodah so temperatura, masa in dimenzije vzorca ter sprememba entalpije in optične spremembe. Termična analiza se uporablja za določevanje:

- termičnih lastnosti snovi (specifična toplota),
- faznih sprememb (temperatura tališča, vrelišča, steklastega prehoda),
- strukturnih sprememb (rekristalizacija),
- termične stabilnosti,
- termičnih razpadov,
- kemične reaktivnosti,
- karakterizacije materiala in
- analizo kvalitete ter
- kontrolo kakovosti.

Rezultati merjenja, oziroma pridobljene krivulje niso absolutne, vendar so odvisne od

segrevalne hitrosti, mase vzorca, porazdelitve vzorca, morfološke sestave vzorca in atmosfere.

Pri eksperimentalnem delu smo uporabili termo-analitske metode termogravimetrije in diferenčne dinamične kalorimetrije.

3.3.5.1 Termogravimetrija (TG)

Pri termogravimetriji (TG) merimo maso vzorca v odvisnosti od temperature pri kontroliranem temperaturnem programu. Merjene spremembe mase zahteva, da je omogočen prenos snovi med vzorcem in okolico. Temu sledi, da so za dobljene rezultate pomembni dejavniki, kot so predhodna obdelava vzorca, atmosfera v merilni napravi in izbira posodice.

TG krivuljo lahko odvajamo po času in tako dobimo DTG krivuljo, iz katere lažje določimo v koliko stopnjah poteka razpad. Ker sta sprememba mase in sprememba temperature proporcionalna ena drugi, DTG in DSC krivulji večinoma sovpadata. Predpogoj za to pa je, da merjenja potekata z enako hitrostjo segrevanja, ker se pri višji hitrosti segrevanja vrhovi kemijskih reakcij pomaknejo k višjim temperaturam.

Termogravimetrija se večinoma uporablja za določevanje vsebnosti, prav tako pa tudi za določitev temperature in poteka razpada. Izbira atmosfere v aparaturi ima velik pomen in omogoča razlikovanje med snovmi. Tako lahko na primer izberemo dušik za pirolizo in zrak za oksidacijo.

V naših eksperimentih smo TG uporabili z namenom določitve vlage v laktozi in pa temperature razpada. Vzorce smo zatehtali v lončke iz aluminijevega oksida in posneli TG krivuljo pri hitrosti segrevanja 20 ºC/min v atmosferi dušika na temperaturnem območju od 30 ºC – 240 ºC.

3.3.5.2 Diferenčna dinamična kalorimetrija (DSC)

Pri diferenčni dinamični kalorimetriji (DSC) merimo toplotni tok, ki je potreben za segrevanje vzorca in referenčnega standarda za določeno hitrost segrevanja, tako da med njima v danem času ni razlike v temperaturi. Referenčni standard je inertna substanca, katere termične lastnosti poznamo, in ki v danem temperaturnem območju ni podvržena nobenim spremembam in katere termične karakteristike poznamo. Sprememba toplotnega toka med vzorcem in standardom, se porabi za temperaturne spremembe.

DSC se uporablja za določanje specifične toplote, termičnih učinkov, čistote, polimorfizma, steklastega prehoda, oksidacijske stabilnosti, endotermnosti ali eksotermnosti kemijskih reakcij, kinetike reakcij, taljenja in kristalizacije.

DSC smo uporabili z namenom določitve morebitnega steklastega prehoda, rekristalizacije, dehidratacije in taljenja v vzorcih mlete laktoze. Vzorce smo zatehtali v aluminijaste lončke in posneli DSC krivuljo pri hitrosti segrevanja 10 ºC/min v atmosferi dušika na temperaturnem območju od -10 ºC do 240 ºC

3.3.6 Vrstična elektronska mikroskopija (SEM)

Elektronska mikroskopija je metoda karakterizacije površine, ki nam poda podatke o obliki vzorca na mikrometrskem ali podmikrometrskim nivoju. Temu pravimo karakterizacija mikrostrukture vzorca, kar pomeni opredelitev več lastnosti snovi, kot so kemijska in strukturna sestava zrn, porazdelitev velikosti zrn, njihova oblika ter tudi usmerjenost. Vrstični elektronski mikroskop (angl.: scanning electron microscope ali SEM) je primeren za opazovanje površin trdnih, nehlapnih vzorcev, ponuja zadovoljivo visoko ločljivost, manj kot 0,1 nm, in relativno enostavno pripravo vzorcev, saj debelina vzorca ni pomembna, kot pri presevnem ali transmisijskem elektronskem mikroskopu. Elektronski mikroskop za opazovanje strukture in sestave vzorca uporablja fokusiran snop elektronov, ki se iz vira elektronov zaradi velike razlike električnega potenciala med virom elektronov,

katodo, in anodo pospešijo proti vzorcu. Med vpadnim elektronskim snopom in atomi vzorca pride do številnih fizikalnih pojavov, ki jih s pomočjo detektorjev sekundarnih in odbitih elektronov zaznamo in oblikujemo sliko.

Vzorce laktoze smo pripravili za mikroskopiranje z vrstičnim elektronskim mikroskopom tako, da smo na kovinske nosilce nalepili dvostranski lepilni trak, nanj pa nanesli vzorec. Vzorce smo mikroskopirali pri napetosti 1 kV.

3.3.7 ATR – spektroskopija

Oslabljena popolna odbojnost (angl.: attenuated total reflection ali ATR) temelji na merjenju interne reflektivnosti. Primerna je za analizo tudi tistih snovi, ki so predebele ali premočno absorbirajo, da bi jih lahko analizirali s transmisijsko tehniko. Vzorce lahko analiziramo v trdnem ali tekočem stanju brez predhodne priprave. Za karakterizacijo vzorca metoda izkorišča lastnosti infrardeče (IR) svetlobe. Molekule vzorca absorbirajo določene frekvence IR svetlobe, ki ustrezajo resonančnim frekvencam vezi, ki nihajo. Pri ATR se vzorci nanesejo direktno na kristal skozi katerega potuje IR svetloba tako, da se odbije vsaj enkrat. Na stiku kristala, ki je po navadi diamant, se del IR svetlobe od vzorca odbije, del pa se je absorbira. Žarek IR svetlobe prodre nekje od 0,5 do 2 μm v notranjost vzorca. Odbiti žarek se nato zazna z detektorjem, ko izstopi iz kristala. Tako pridobljen IR spekter je karakterističen za kristalno obliko vzorca (32).

Vzorce laktoze smo v praškasti obliki nanesli na kristal ATR aparature in jih rahlo stisnili. Meritve smo izvedli pri sobni temperaturi, brez dodatne predpriprave vzorcev.

4 Rezultati in razprava

4.1 Carrov indeks in Hausnerjevo razmerje

Za izračun Carrovega indeksa in Hausnerjevega razmerja smo določili nasipni in zbiti volumen vstopnim oziroma nemletim vzorcem laktoze. Vzeli smo 50 mL valj, katerega smo napolnili z laktozo in stresali s 1250 udarci, dokler se nista zadnji dve meritvi volumna ujemali, Odčitali smo volumen pred in po stresanju. Carrov indeks in Hausnerjevo razmerje smo izračunali iz podatkov za nasipno in zbito gostoto in so predstavljeni v tabeli 2:

Tabela 2: Pretočne lastnosti nemletih vzorcev laktoze

Laktoza	nasipna gostota [g/mL]	zbita gostota [g/mL]	Carrov indeks [%]	Hausnerjevo razmerje
Supertab	0,581	0,761	23,65	1,31
Laktoza NF	0,613	0,948	35,34	1,55
Tabletoza	0,535	0,683	21,67	1,28

Nemleta Supertab in Tabletoza imata zelo podobne pretočne lastnosti in sicer so sprejemljive. Nemleta Laktoza NF ima slabše pretočne lastnosti, katere farmakopeja uvrsti med zelo slabe. Rezultati se ujemajo s pričakovanimi, saj sta Supertab in Tabletoza namenjena direktnemu tabletiranju in sta zato pripravljena v obliki okroglih delcev, zaradi česar imata boljše pretočne lastnosti od Laktoze NF v obliki prahu namenjeni granulaciji.

4.2 Merjenje velikosti delcev

V tabeli 3 so prikazane povprečne vrednosti treh paralelnih meritev premera delcev izhodnih in različno dolgo mletih delcev z metodo laserske difrakcije. V skladu s pričakovanji se z daljšanjem časa mletja zmanjšuje povprečna velikost delcev. Meritve se s

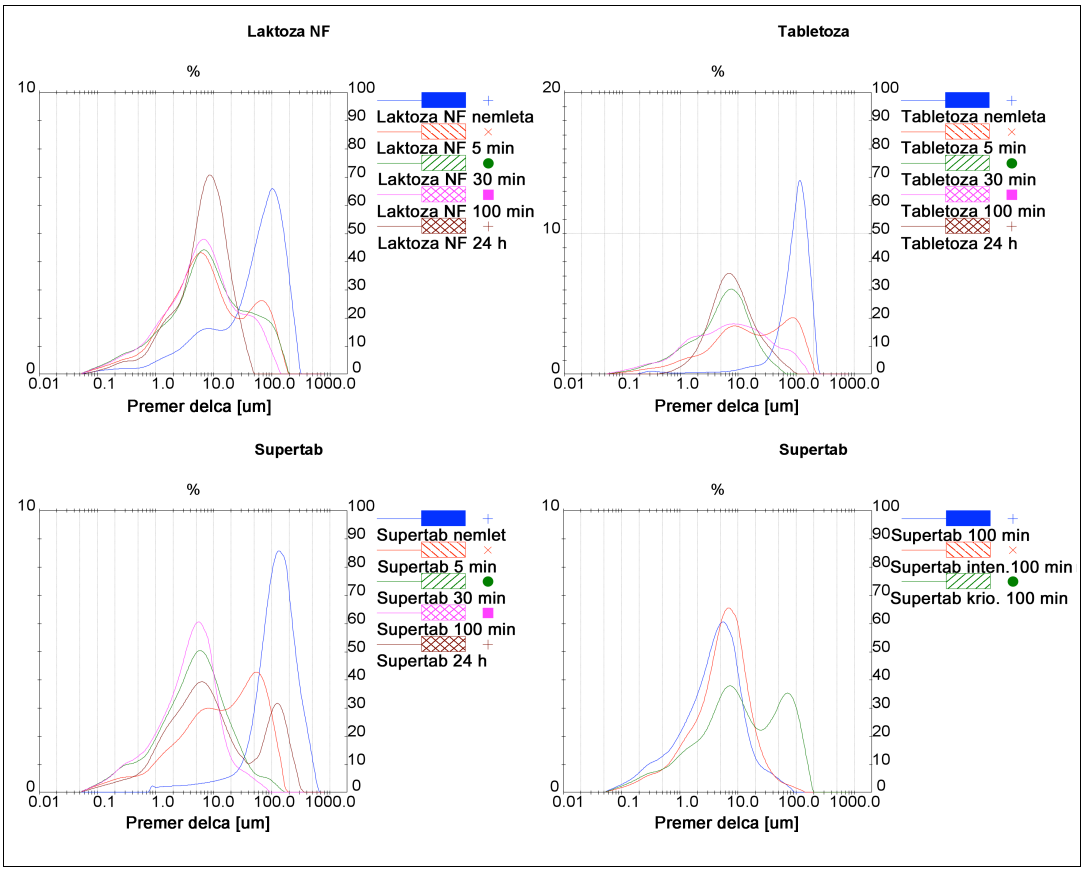
to predpostavko ne skladajo samo pri Tabletozi, in sicer pri času mletja 100 min in 24 ur se velikost delcev začne povečevati. Možna razlaga je, da aglomerate delcev nismo uspeli razbiti v ultrazvočni kopeli. Prav tako pa je lahko prišlo zaradi povečane temperature pri mletju do sintranja delcev, ki so se tako povečali. Rezultati kažejo tudi na to, da z bolj intenzivnim mletjem dobimo delce manjše velikosti, kar se sklada s pričakovanji. Pri kriogenem mletju je bilo zmanjšanje velikosti delcev manjše, kot pri sobni temperaturi.

Tabela 3: Povprečna velikost delcev v odvisnosti od časa mletja

Laktoza	čas mletja [min]	D(v0.5) povp. [µm]
Supertab	0	125,07
	5	16,53
	30	9,19
	100	8,57
	24h	7,64
	100 (intenzivno)	5,59
	100 (krio)	11,86
Laktoza NF	0	54,96
	5	11,87
	30	11,71
	100	6,68
	24h	8,13
Tabletoza	0	99,14
	5	12,89
	30	5,72
	100	7,49
	24h	12,26

Izmerjene porazdelitve velikosti delcev so grafično prikazane na sliki 7. Pri mletju Laktoze NF opazimo, da se vrh krivulje po krajših časih mletja razcepi na dva vrhova, tako da nastane še en vrh pri manjši velikosti delcev na račun zmanjšanja vrha pri večji velikosti. Z daljšanjem časa mletja se vrh pri 100 µm zmanjšuje in vrh pri 6 µm povečuje, dokler nima krivulja za čas mletja 24 ur spet samo en vrh pri 6 µm. Pri mletju Tabletoze se porazdelitev velikosti delcev s časom mletja spreminja podobno. Zopet najprej nastaneta dva vrhova po 5 min mletja, nato pa spet samo eden pri 7 µm. Pri času mletja 100 min opazimo sploščitev krivulje in zopet nastanek delcev večje velikosti, kar nakazuje na možnost sintranja delcev

ali pa napake pri meritvi.



Slika 7: Grafi porazdelitve velikosti delcev laktoze pri različnih časih in načinih mletja

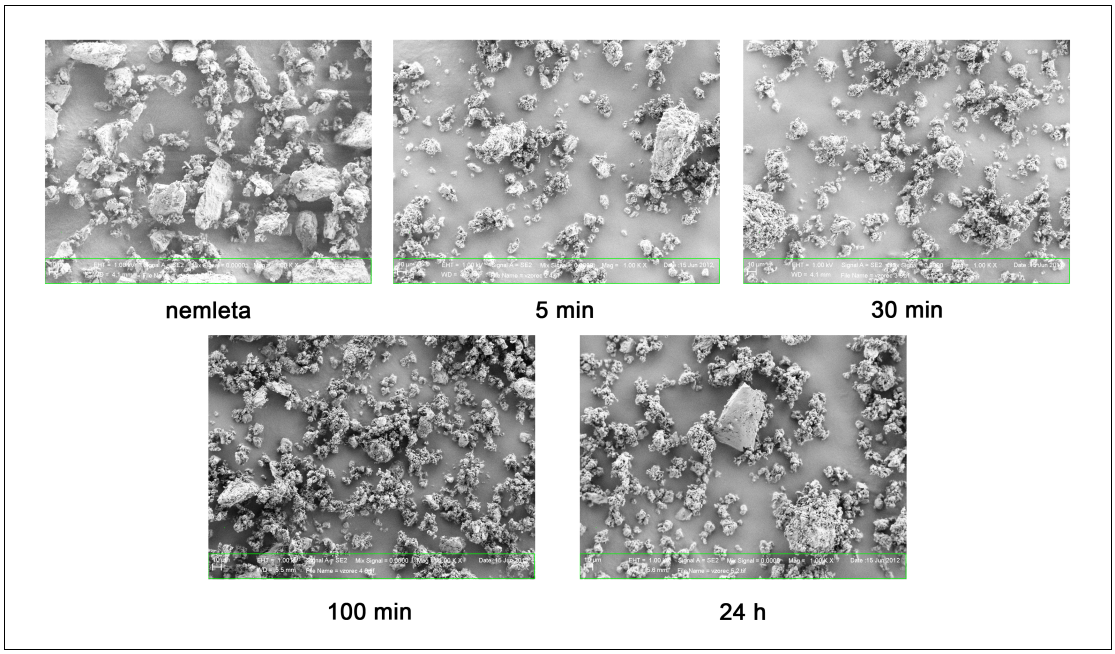
Pomikanje porazdelitve velikosti delcev proti manjši vrednosti z daljšanjem časa mletja pri Supertabu poteka tako, da se po 5 minutah mletja krivulja razcepi na dva vrhova potem pa nastane nov vrh pri 6 µm. Razlika je, da se pri času mletja 24 ur krivulja porazdelitve velikosti delcev zopet razcepi na dva vrhova, in sicer enega pri 6 µm in enega pri 120 µm. Lahko sklepamo, da se po dolgem času mletja zaradi povišane temperature pride do sintranja in tako nastane določen delež delcev večje velikosti.

V desnem spodnjem kotu slike 7 vidimo primerjavo 100 minutnega mletja Supertaba pri različnih pogoji, in sicer kriogenem mletju pri temperaturi 5 ºC, intenzivnem mletju, kjer smo opazno povečali frekvenco stresalnika krogličnega mlina in mletju kot smo ga

uporabili za pripravo vseh ostalih vzorcev. Med navadnim in bolj intenzivnem mletjem ni bilo opaziti znatne razlike, delci nastali s kriogenim mletjem pa imajo drugačno porazdelitev velikosti. Rezultati kažejo, da je bilo kriogeno mletje manj učinkovito, saj je še vedno prisotna znatna frakcija delcev velikosti okrog 75 µm.

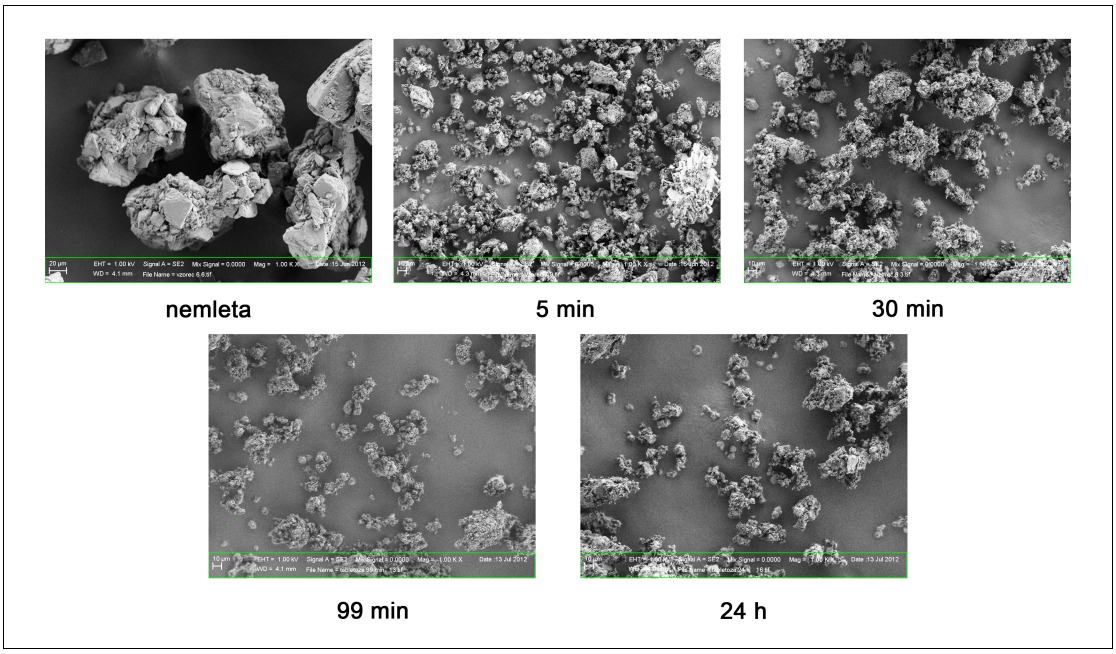
4.3 Vrstična elektronska mikroskopija (SEM)

Z vrstičnim elektronskim mikroskopom smo posneli slike vzorcev preučevanih laktoz. Slike vzorcev laktoz so posnete pri 1000-kratni povečavi in nam kvalitativno prikazujejo kako se spreminja velikost in oblika delcev z daljšanjem časa mletja.



Slika 8: SEM slike Laktoze NF po različnih časih mletja

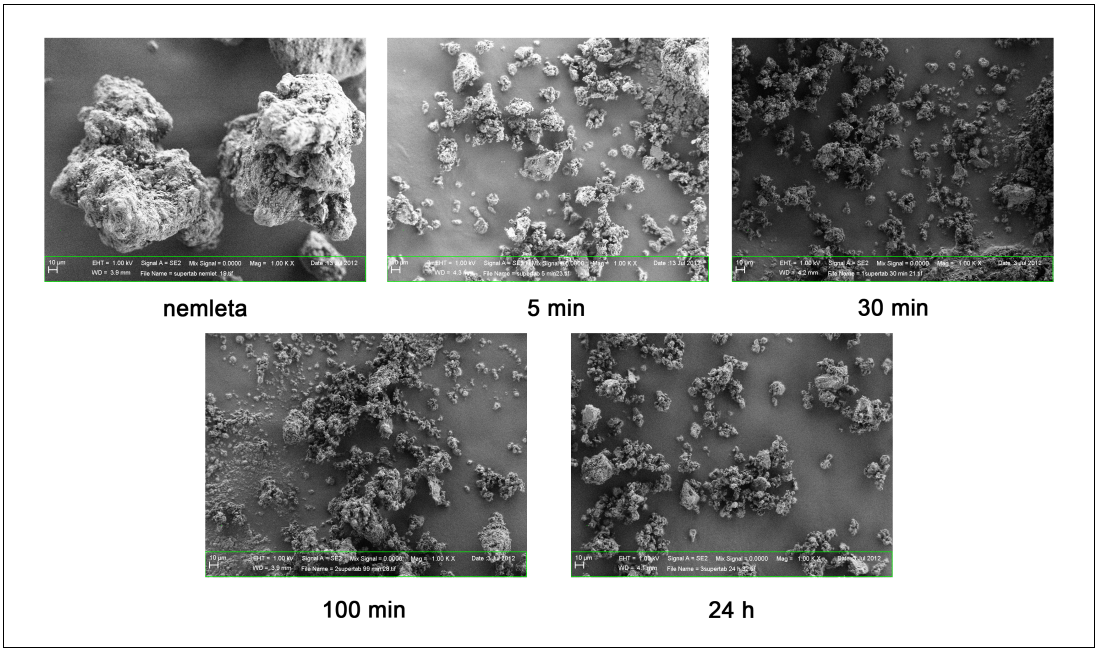
Laktoza NF 200 MESH je laktoza monohidrat, namenjena granulaciji. Sestavljajo jo delci nepravilnih oblih, kar se vidi na sliki 8. To je tudi razlog za ugotovljene slabše pretočne lastnosti. Sorazmerno z daljšanjem časa mletja na mikroskopskih slikah po pričakovanjih opazimo manjšanje velikosti delcev.



Slika 9: SEM slike Tabletoze po različnih časih mletja

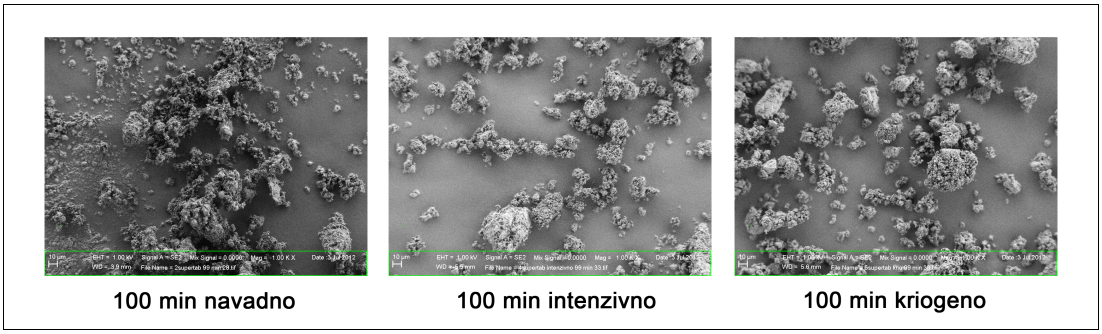
Tabletoza je aglomerirana α-laktoza monohidrat in je namenjena direktnemu tabletiranju. Sferične oblike delcev zagotovijo dobre pretočne lastnosti, kakršne smo tudi določili. Na sliki 9 so prikazane mikroskopske slike Tabletoze po različnih časih mletja. Z daljšanjem časa mletja se zmanjšuje velikost delcev. Po 100 minutah mletja ni opaziti večjih aglomeratov, kateri bi lahko razložili meritev porazdelitve velikosti delcev za ta vzorec.

Na sliki 10 so prikazane mikroskopske slike za vzorce Supertaba. Supertab je brezvodna laktoza prav tako namenjena direktnemu tabletiranju. Zaradi sferične oblike delcev ima tudi Supertab dobre pretočne lastnosti, kar smo potrdili z meritvami Carrovega indeksa in Hausnerjevega razmerja. Velikost delcev se z daljšanjem časa mletja najprej manjša, vendar opazimo, da po 24 urah mletja ni več prisotno toliko drobnih delcev kot na mikroskopski sliki po 100 min mletja. Lahko sklepamo, da je prišlo do sintranja in so ti drobni delci vidni na sliki po 100 min tvorili večje delce.



Slika 10: SEM slike Supertaba po različnih časih mletja

Na sliki 11 je predstavljena primerjava med različnimi načini 100 minutnega mletja vzorcev Supertaba. Bistvenih razlik med vzorci iz mikroskopskih slik ni opaziti.

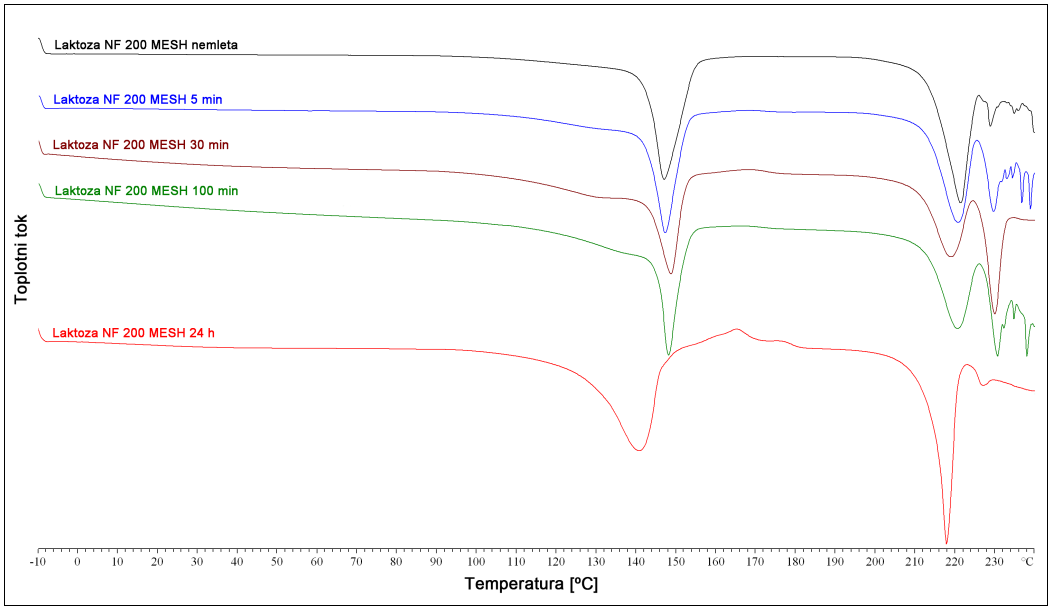


Slika 11: SEM slike Supertaba mletega na različne načine

4.4 Termična analiza

V eksperimentih smo uporabili dve metodi termične analize. S termogravimetrijo smo proučevali predvsem padec mase pri dehidrataciji vzorcev laktoze. Meritve smo pri vseh vzorcih izvajali s segrevalno hitrostjo 20 ºC/min v atmosferi dušika. Druga uporabljena

tehnika je bila diferenčna dinamična kalorimetrija s katero smo poskušali zaznati morebitne prehode v amorfno obliko, ki bi se posredno odražala v pojavu steklastega prehoda in pa rekristalizacije. DSC meritve smo izvajali pri hitrosti segrevanja 10 ºC/min v atmosferi dušika. Vse predstavljene DSC krivulje so normalizirane na maso vzorca za boljšo medsebojno primerjavo.

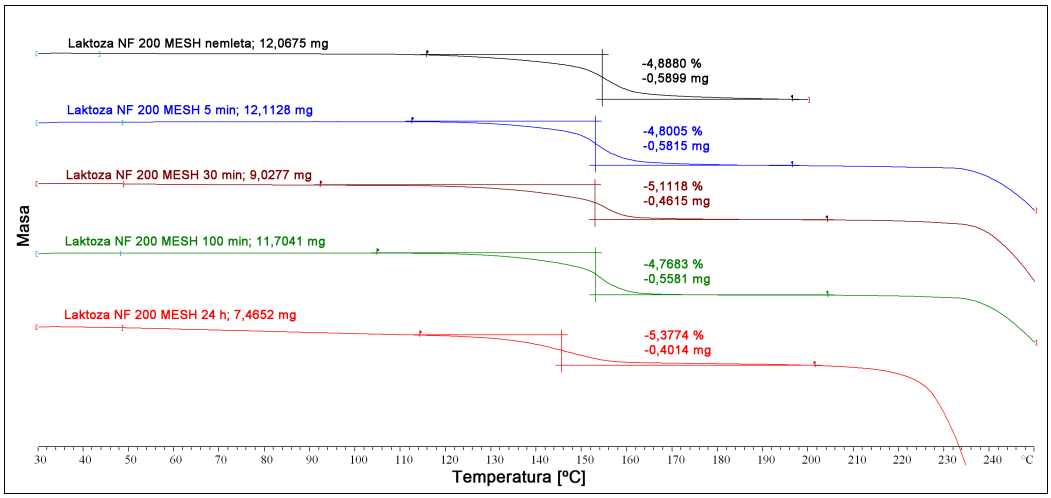


Slika 12: DSC krivulje Laktoze NF po različnih časih mletja

Iz DSC krivulj za Laktozo NF na sliki 12 vidimo dehidratacijski vrh pri 150 ºC. Z daljšanjem časa mletja počasi narašča drugi vrh pri 140 ºC, ki je zelo izrazit pri času mletja 24 h, kateremu sledi rekristalizacija med 155 ºC in 180 ºC. Vrh dehidratacije se pomakne proti nižji temperaturi zaradi tvorbe novih poti eliminacije vode, ki so nastale zaradi mletja, vendar pa zaradi pojava rekristalizacijskega vrha lahko sklepamo, da je po dolgem času mletja prišlo do delne amorfizacije laktoze. Amorfna laktoza ima zaradi nepravilnih oblik večjo površino, ki prav tako lahko olajša dehidratacijo. Možno je tudi, da zaradi strukturnih sprememb, dehidratacija poteka po drugačnem mehanizmu. Rezultati termične analize omogočajo razlago rezultatov merjenja velikosti delcev, ko se s podaljševanjem časa mletja velikost več bistveno ne zmanjšuje ampak se energija porablja za tvorbo por v delcih, kar omogoča lažjo dehidratacijo in amorfizacijo delcev. Oba pojava verjetno

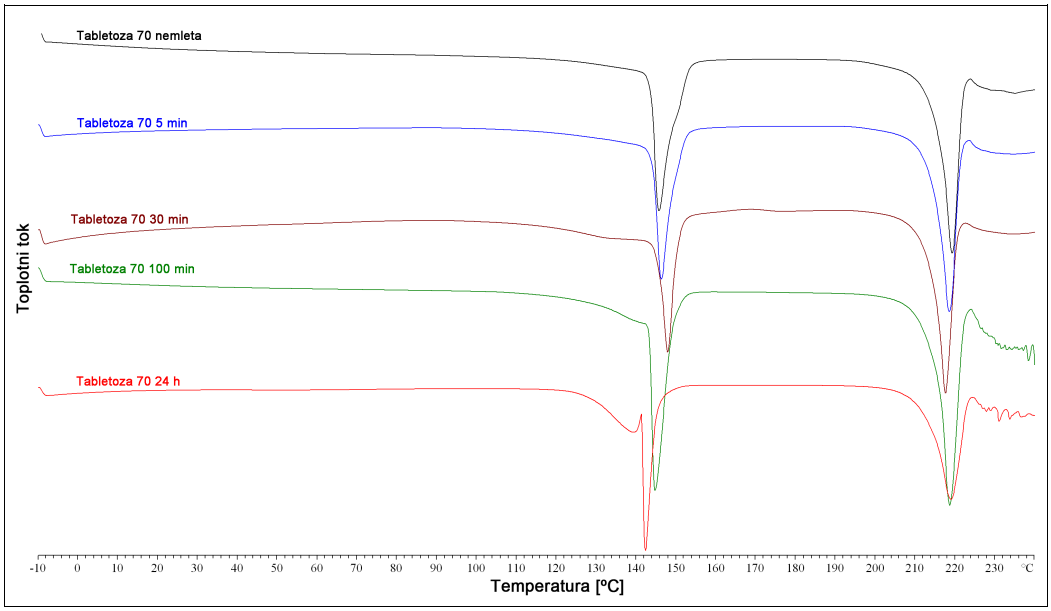
vplivata na povečan pojav aglomeracije.

Pri času mletja 24 h opazimo tudi, da je vrh tališča samo eden in pri nižji temperaturi, kot pri krajših časih mletja. Rezultat kaže, da so osnovni delci v najdlje mletem vzorcu najmanjši, saj je znano, da temperatura tališča z zmanjševanjem delcev pada. Druga možnost je, da je po rekristalizaciji laktoze prišlo do mutarotacije iz α- v β-laktozo, zaradi česar nastane kokristal obeh anomerov, ki ima nižjo temperaturo tališča, kot so pri svoji raziskavi ugotovili Caron V. s sodelavci (10).



Slika 13: TG krivulje Laktoze NF po različnih časih mletja

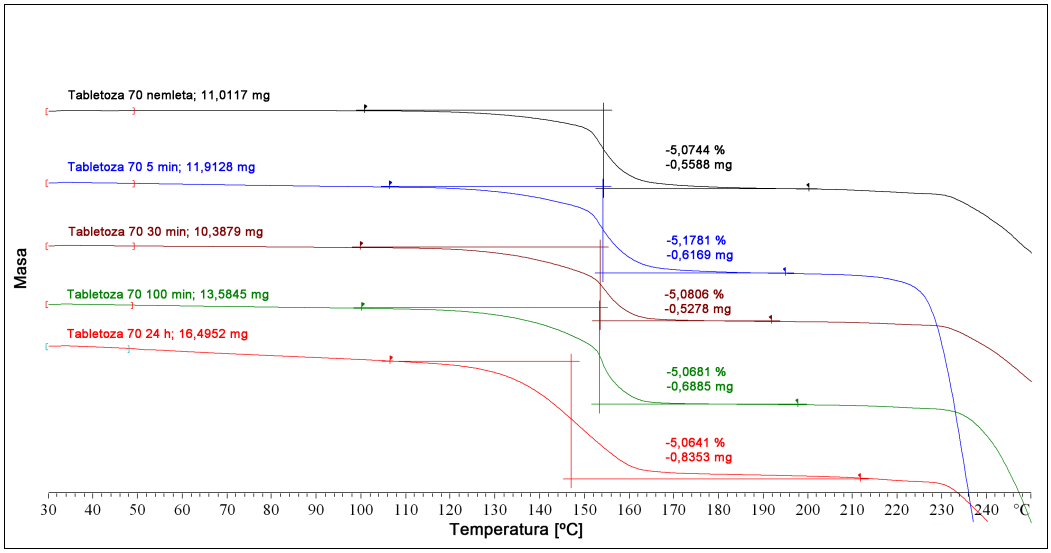
Tudi iz TG krivulj na sliki 13 je razvidno, da se dehidratacija pomakne k nižji temperaturi šele po najdaljšem času mletja, t.j. 24 h. Opazimo tudi, da je po dolgem času mletja tališče pri nižji temperaturi, kot pri krajših časih mletja, kar je skladno z rezultati DSC-ja in nakazuje na spremembo kristalne strukture oziroma mutarotacijo. Padec mase ni bistveno različen za različne čase mletja, kar pomeni, da med mletjem ne prihaja do dehidratacije. Lahko, da se po daljšem času mletja vlaga celo veže na delce laktoze.



Slika 14: DSC krivulje Tabletoze po različnih časih mletja

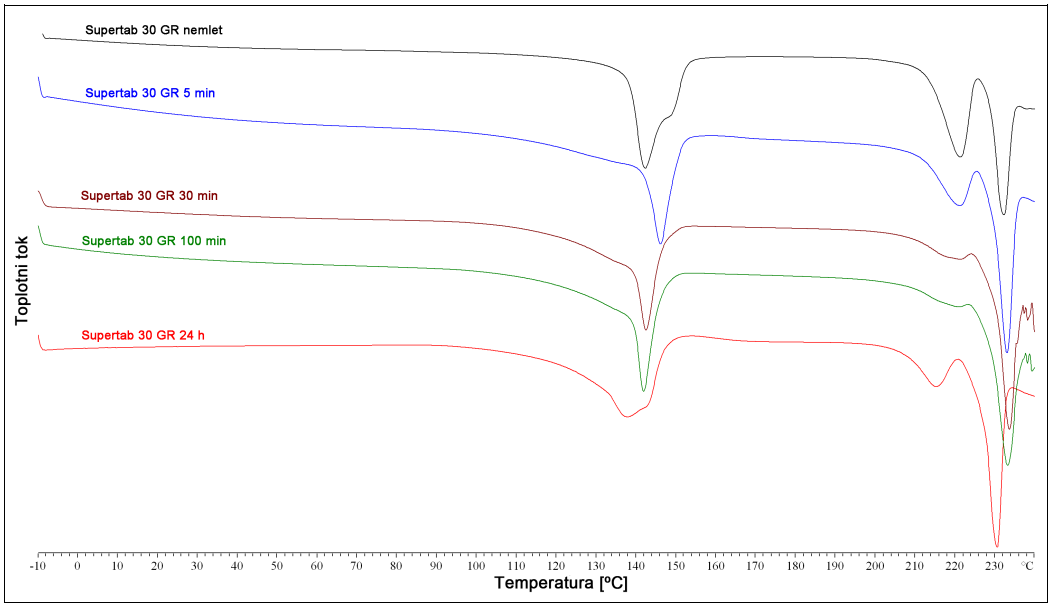
Pri Tabletozi strukturnih sprememb iz DSC krivulj na sliki 14 ni zaznati. Opazen pa je vpliv daljšega časa mletja na dehidratacijo. Ozek vrh pri 145 °C se z daljšanjem časa mletja ne samo pomika proti nižji temperaturi, ampak tudi spreminja obliko. Na DSC krivulji po času mletja 24 h je razvidno, da dehidratacija poteka v dveh stopnjah, saj razločimo dva vrhova, prvega okrog 138 °C in drugega pri 142 °C. Ker po dehidrataciji krivulja ne pokaže rekristalizacije, lahko sklepamo, da je mletje vplivalo samo na velikost delcev in na nastanek novih dehidratacijskih poti kot posledica spremembe oblike delcev in odprtja prej zaprtih por, ne pa na spremembo kristalne oblike. To še dodatno potrjuje tudi temperatura tališča, ki je po vseh časih mletja enaka. Mletje je lahko povzročilo tudi prekinitev vodikovi vezi med molekulami laktoze ali molekulami laktoze in vode in s tem še dodatno olajšalo eliminacijo vode. Dva izrazita vrhova dehidratacije nakazujeta na spremembo samega mehanizma dehidratacije. Dehidratacija tako poteka v dveh stopnjah namesto v eni. Večja prisotnost vode na površini in odprtje prej zaprtih por, olajša dehidratacijo tega deleža vode, kar se opazi v nastanku bolj izrazitega prvega vrha dehidratacije. Drugi vrh najverjetneje predstavlja dehidratacijo vode prisotne v notranjosti delcev. Podoben pojav smo zasledili tudi v literaturi, in sicer Garnier s sodelavci je prav tako opazil spremembo mehanizma dehidratacije α-laktoze monohidrata, ki se je pokazala s pojavom drugega vrha

(29). Pri njih se je sprememba pokazal že po 2 h mletja, kar pomeni, da je bilo mletje v naših eksperimentih manj učinkovito, zato opazimo pojav šele po 24 h mletja. Rezultati razlagajo tudi meritev velikosti delcev, ko se krivulja porazdelitve velikosti po 24 h mletja pomakne k večji velikosti delcev. Mletje ni več vplivalo na manjšanje velikosti delcev, temveč na tvorbo novih poti dehidratacije v taki meri, da se je spremenil sam mehanizem dehidratacije, kar je očitno vplivalo tudi na porazdelitev velikosti delcev, oziroma povečano aglomeracijo.



Slika 15: TG krivulje Tabletoze po različnih časih mletja

Iz TG krivulj za Tabletozo na sliki 15 vidimo, da je najbolj vidna sprememba dehidratacije šele po času mletja 24 h. Krivulja začne počasi padati že pri nizki temperaturi, ter nato pri 140 ºC pade bolj strmo kot pri krajših časih mletja, kar se ujema s podatki pridobljenimi z DSC-jem, ki kažejo na olajšano dehidratacijo. Sam padec mase je enak za vse čase mletja, vendar pri 24 h mletjem dehidratacija poteka lažje.

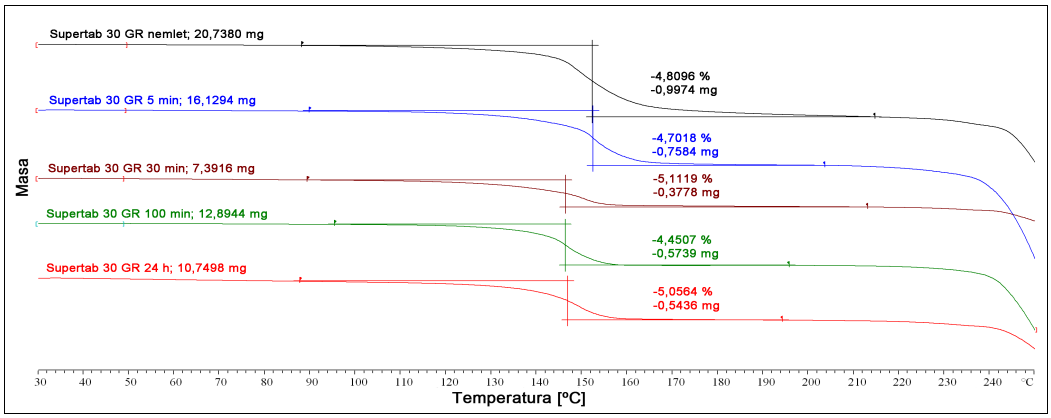


Slika 16: DSC krivulje Supertaba po različnih časih mletja

Iz DSC krivulj za Supertab na sliki 16 lahko prav tako kot za ostali dve laktozi vidimo, da se vrh dehidratacije pomika proti nižji temperaturi z daljšanjem časa mletja (malo nad 100 ºC). To smo potrjujejo tudi TG krivulje na sliki 17. Vzroki za to so najverjetneje prav tako tvorjenje novih poti za eliminacijo vode, kar razlaga tudi meritev porazdelitve velikosti delcev in razcep krivulje porazdelitve delcev na dva vrhova po 24 h mletju. Povečan pojav aglomeracije je najverjetneje posledica povišanja specifične površine in večjega deleža vode na površini. Drugi možni mehanizem je sintranje kar pomeni, da se delci pri višji temperaturi, ki nastane zaradi mletja na površini stalijo in tako tvorijo večje delcev pri ohlajanju.

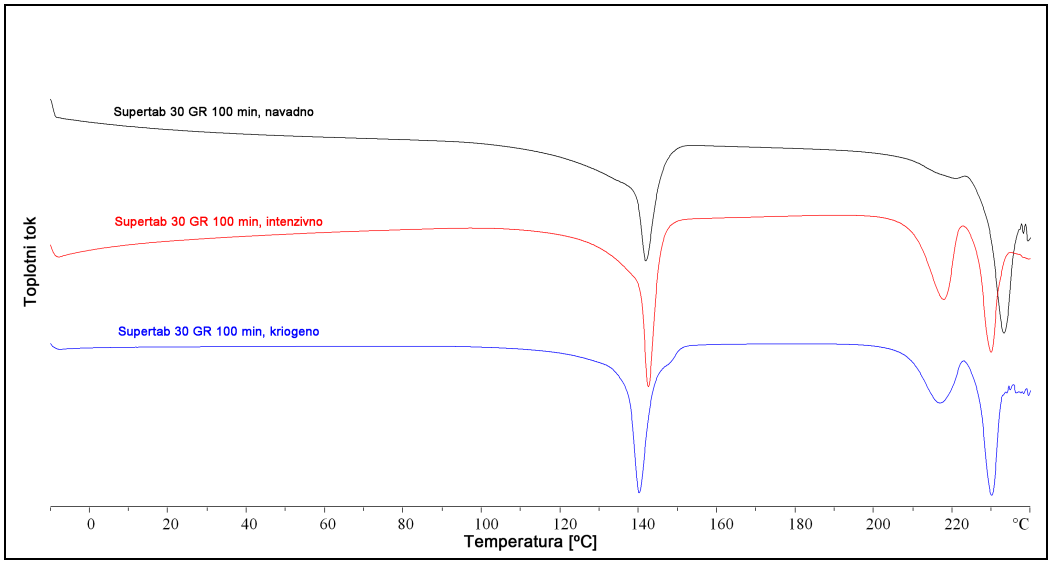
Rekristalizacije ali steklastega prehoda ni opaziti niti po dolgem času mletja tako, da do sprememb strukture najverjetneje ni prišlo. Opazimo pa spremembe na vrhovih taljenja in sicer, pri kratkih časih mletja sta prisotna dva, potem tisti pri nižji temperaturi izginja, dokler se po dolgem času mletja, t.j. 24 h zopet pojavi. To lahko pripišemo mutarotaciji laktoze. Pri mletju laktoza očitno prehaja iz α- v β- obliko, oziroma tvori kokristale. Oblike imajo med seboj različno temperaturo tališča. Podoben pojav so zasledili tudi Caron V. s sodelavci, pri mletju α-laktoze (10). Vrh taljenja je s časom mletja izginil in se

potem po dolgem času mletja zopet pojavil pri nižji temperaturi (10).



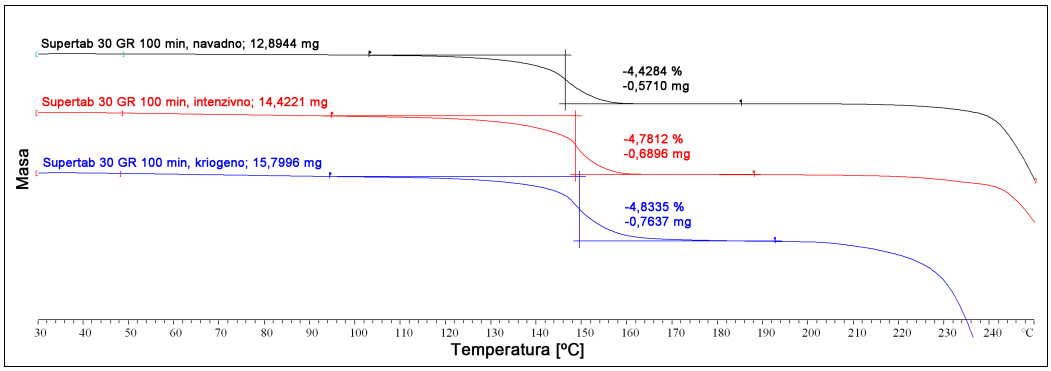
Slika 17: TG krivulje Supertaba po različnih časih mletja

Na sliki 18 vidimo primerjavo DSC krivulj Supertaba pri različnih načinih mletja. Opazimo lahko, da sta pri bolj intenzivnem in kriogenem mletju prisotna dva izrazita vrhova taljenja, medtem ko pri navadnem mletju je izrazit vrh samo eden. Sklepamo lahko, da sta pri intenzivnem in kriogenem mletju prisotne vsaj dve obliki laktoze z različno temperaturo tališča. Iz tega lahko sklepamo, da na mutarotacijo in tvorjenje kokristalov, poleg časa, vplivata tudi intenziteta in temperatura mletja.



Slika 18: DSC krivulje Supertaba pri različnih načinih mletja

Iz TG krivulj primerjave različnih načinov mletja za Supertab na sliki 19 vidimo, da način mletja ne vpliva na tvorjenje novih poti eliminacije vode, saj dehidratacija poteka vedno pri enaki temperaturi, kar se sklada z DSC krivuljami za te vzorce.



Slika 19: TG krivulje Supertaba pri različnih načinih mletja

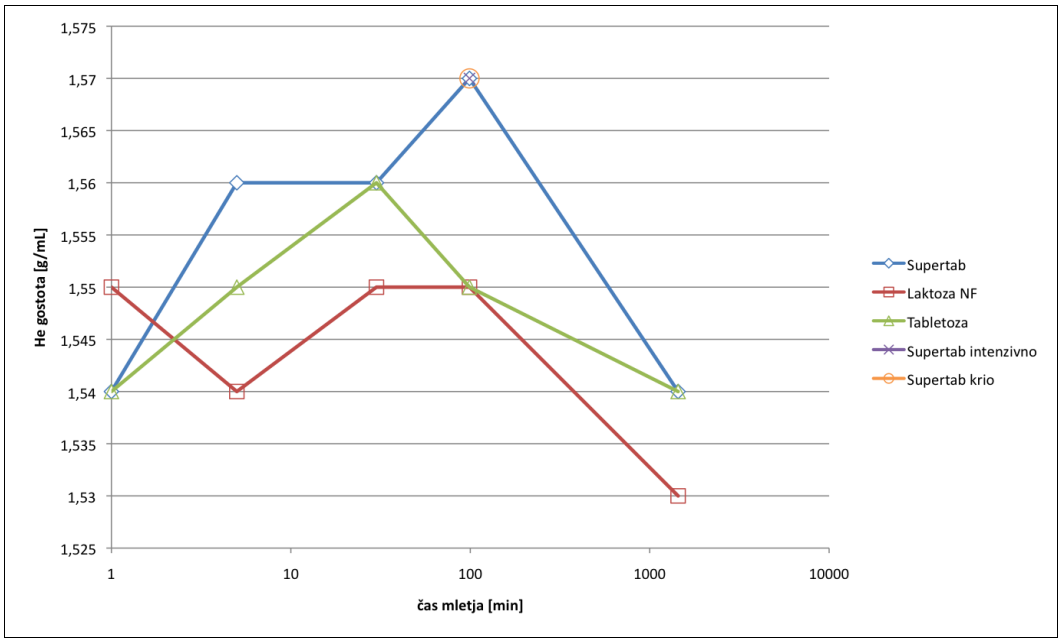
4.5 Plinska piknometrija

S helijevo piknometrijo smo spremljali kako se gostota spreminja v odvisnosti od časa mletja laktoze in s tem poskušali posredno ugotoviti strukturne spremembe. Vsako meritev smo izvedli v treh paralelkah. V tabeli 4 so predstavljene povprečne vrednosti treh meritev za vsak vzorec laktoze.

Tabela 4: Povprečna helijeva gostota v odvisnosti od časa mletja laktoze

laktoza	čas mletja [min]	He gostota povp. [g/mL]
Supertab	0	1,54
	5	1,56
	30	1,56
	100	1,57
	24h	1,54
	100 (intenzivno)	1,57
	100 (krio)	1,57
Laktoza NF	0	1,55
	5	1,54
	30	1,55
	100	1,55
	24h	1,53
Tabletoza	0	1,54
	5	1,55
	30	1,56
	100	1,55
	24h	1,54

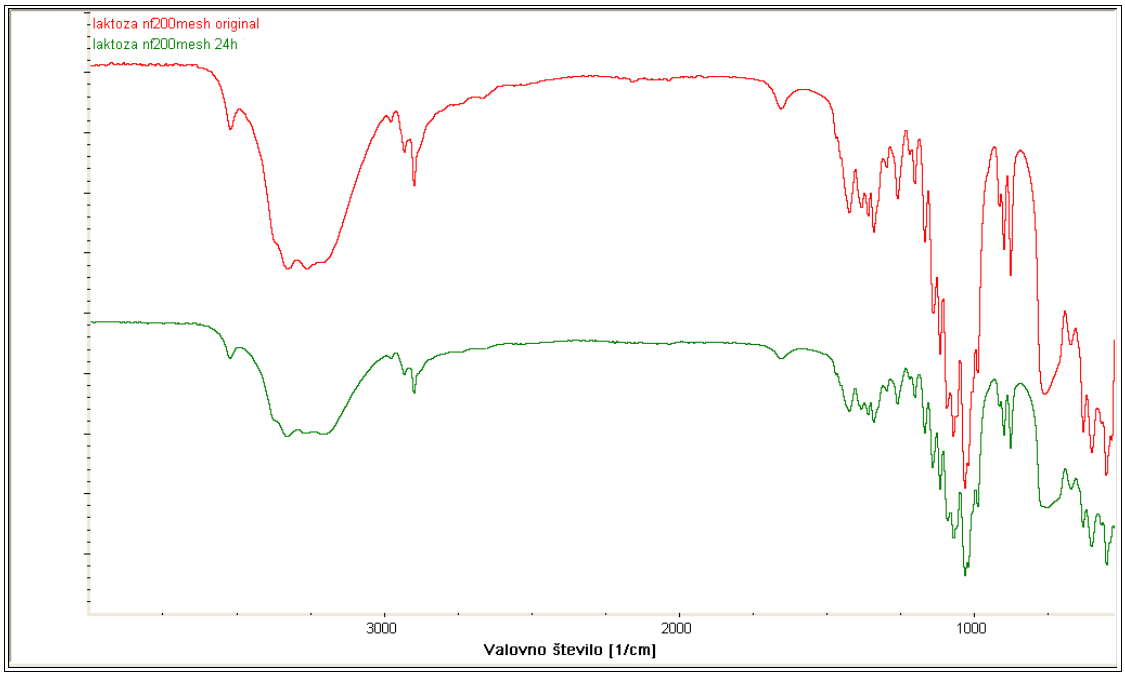
Bolj intenzivno in kriogeno mletje nimata vpliva na gostoto, saj je le-ta enaka, kot pri mletju pri sobnih pogojih in normalni intenziteti. Nobeni vrsti laktoze se z daljšanjem časa mletja gostota ni bistveno spremenila, iz česar lahko sklepamo, da ni prišlo do bistvenih strukturnih sprememb, oziroma znatnega povečanja površine. Gostota sicer najprej rahlo narašča (slika 20), kar je lahko posledica povečanja števila razpok, zaradi česar je več vode vezane na površini. Na končno gostoto pri 24 urnem mletju lahko vplivata večja amorfizacija ali vezava vlage na površino.



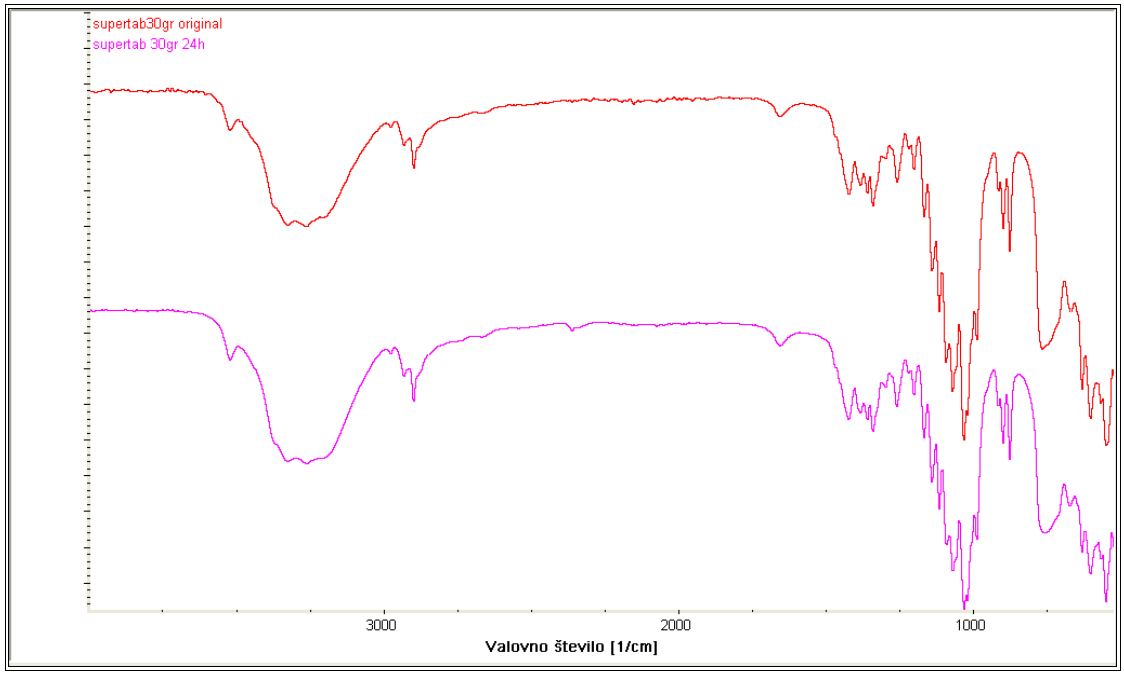
Slika 20: He gostota v odvisnosti od časa in načina mletja

4.6 ATR – spektroskopija

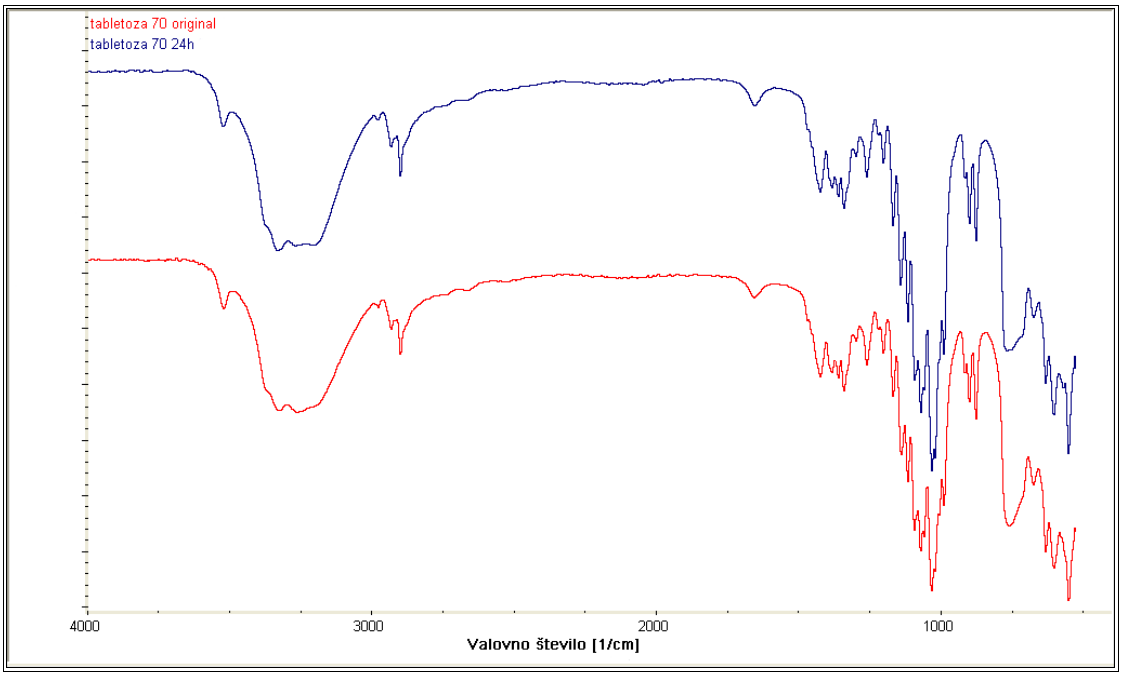
Morebitne strukturne spremembe po mletju smo želeli določiti tudi z metodo oslabljene popolne odbojnosti. Na slikah 21, 22 in 23 so predstavljeni ATR spektri za vse tri laktoze. Za vsako vrsto laktoze smo primerjali ATR spektra nemletega vzorca in vzorca mletega 24 h.



Slika 21: Primerjava ATR spektra nemlete in 24 h mlete Laktoze NF



Slika 22: Primerjava ATR spektra nemletega in 24 h mletega Supertaba



Slika 23: Primerjava ATR spektra nemlete in 24 h mlete Tabletoze

Spektri se za posamezno vrsto laktozo med seboj popolnoma ujemajo, kar pomeni da se vrhovi in doline pojavijo pri istih valovnih številih. Iz tega sledi, da strukturne spremembe zaradi mletja niso nastale in so vzorci kljub mletju obdržali svojo prvotno kristalno obliko, oziroma jih z ATR ne moremo zaznati.

5 Sklep

V magistrski nalogi smo določali fizikalno-kemijske lastnosti vzorcev laktoze po različnih časih, intenziteti in temperaturi mletja. Uporabljene laktoze so bile naslednje:

- Supertab 30 GR (brezvodna laktoza namenjena direktnemu tabletiranju),
- Tabletoza 70 (α-laktoza monohidrat, namenjena direktnemu tabletiranju) in
- Laktoza NF 200 MESH (laktoza monohidrat, namenjena granulaciji).

Za karakterizacijo smo uporabili metode laserske difrakcije, vrstične elektronske mikroskopije, termogravimetrije, diferenčne dinamične kalorimetrije, helijeve piknometrije in IR spektroskopije.

Z lasersko difrakcijo in vrstično elektronsko mikroskopijo smo ugotovili, da se delci po pričakovanju praviloma z daljšanjem časa mletja manjšajo. Rezultati kažejo, da je mletje pri nižji temperaturi manj učinkovito, saj so se delci zmanjšali v manjši meri, kot pri sobni temperaturi.

Iz TG in DSC meritev sklepamo, da je pri Laktozi NF prišlo pri daljšem času mletja do amorfizacije, saj je iz DSC krivulje razvidna rekristalizacija. To potrjuje hipotezo, da se laktoza pri dolgih časih mletja lahko iz kristalne oblike spremeni v amorfno. Pri Tabletozi in Supertabu, strukturnih sprememb po mletju ni bilo opaziti. Rezultati TG in DSC analiz so pokazali, da se z daljšim mletjem olajša dehidratacija. Pojav smo opazili pri vseh obravnavanih vrstah laktoze, najbolj izrazito pa pri Tabletozi, kjer se je vrh dehidratacije razcepil na dva dela. Manjšanje velikosti delcev pomeni večanje površine in pojav por, kar omogoča lažjo eliminacijo vode. Tretji opažen pojav, ki ga povzroči mletje, je mutarotacija laktoze iz α- v β-laktozo oziroma tvorjenje kokristalov. Ti obliki imata med seboj različno temperaturo tališča, kar opazimo na DSC krivuljah za Laktozo NF in še bolj izrazito pri Supertabu, kjer sta pri kratkih časih mletja prisotna dva vrhova taljenja, nato tisti pri nižji temperaturi izgine in se pri dolgem času mletja zopet pojavi.

Helijeva piknometrija nam ni pokazala signifikantnih razlik iz katerih bi lahko sklepali na spremembe fizikalno-kemijskih lastnosti pri mletju. Helijeva gostota vseh obravnavanih vrst laktoz se z mletjem ni bistveno spreminjala.

ATR spektre smo primerjali med nemletim vzorcem in vzorcem mletih 24 h. Dobljeni spektri niso pokazali razlike pri nobeni vrsti laktoze, kar nakazuje, da strukturnih sprememb ni bilo, oziroma jih s to metodo nismo zaznali.

6 Literatura

(1) Vrtačnik M., Zupančič Brouwner N., (2002), *Organska kemija*, Tehniška založba Slovenije

(2) Sarker S. D., Nahar L., (2007), *Chemistry For Pharmacy Students - General, Organic and Natural Product Chemistry*, John Wiley & Sons Ltd

(3) Hoepfner E., Reng A., Schmidt P. C., (2002), E*ncyclopedia of excipients : for pharmaceuticals, cosmetics and related areas*, Aulendorf

(4) Rowe R. C., Sheskey P. J., Quinn M. E., (2009), *Handbook of Pharmaceutical Excipients, Sixth Edition*, Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association

(5) Lactrase – Lactrase® Dostop: http://www.laktoznaintoleranca.si/lactrase/ (11.2.2012)

(6) Guo J., *Lactose in Pharmaceutical Applications*, Drug Delivery Technology 2004; Vol. 4 No. 5

(7) Planinšek O., Zadnik J., Kunaver M., Bele M., Srčič S., *Določanje površinskih lastnosti vzorcev laktoze, pripravljene s sušenjem z razprševanjem, z liofilizacijo in z obarjanjem*, Farmacevtski vestnik 2005; 56: 188-193

(8) Steckel H., Markefka P., teWierik H., Kammelar R., *Effect of milling and sieving on functionality of dry powder inhalation products*, International Journal of Pharmaceutics 2006; 309: 51–59

(9) Qui, Y., Chen, Y., Zhang, G. G. Z., (2009), *Developing Solid Oral Dosage Forms: Pharmaceutical Theory & Practice*, Elsevier Inc.

(10) Caron V., Willart J. F., Lefort R., Derollez P., Danede F., Descamps M., *Solid state amorphization kinetic of alpha lactose upon mechanical milling*, Carbohydrate Research 2011; 346: 2622–2628

(11) K. Chadwick, R. Davey, W. Cross, *How does grinding produce co-crystals? Insights from the case of benzophenone and diphenylamine*, Crystengcomm 2007; 9: 732–734

(12) Stražišar J., (1996), *Mehanska priocesna tehnika I, Karakteriziranje disperznih sistemov in procesi večanja površin*, NTF

(13) Callister W.D., (2001), *Fundamentals of Materials Science and Engineering*, John Wiley & Sons, Inc

(14) R. Price, P. M. Young, *On the physical transformations of processed pharmaceutical solids*, Micron 2005; 36: 519–524

(15) G. Zhang, C. Gu, M. Zell, R. Burkhardt, E. Munson, D. Grant, *Crystallization and transitions of sulfamerazine polymorphs*, J. Pharm. Sci. 2002; 91: 1089–1100

(16) P. Thanatuksorn, K. Kawai, K. Kajiwara, T. Suzuki, *Effects of ball-milling on the glass transition of wheat flour constituents*, J. Sci. Food Agric 2009; 89: 430–435

(17) J. F. Willart, M. Descamps, *Solid State Amorphization of Pharmaceuticals*, Mol. Pharmaceutics 2008; 5: 905–920

(18) A. Revesz, *Melting behavior and origin of strain in ball-milled nanocrystalline Al powders*, J Mater Sci 2005; 40: 1643–1646

(19) B. C. Hancock, G. Zografi, *Characteristics and significance of the amorphous state in pharmaceutical systems*, J. Pharm. Sci. 1997; 86: 1–12

(20) Einfalt T., Planinšek O., Hrovat K., *Methods of amorphization and investigation of the amorhopus state*, Univerza v Ljubljani, FFA

(21) M. Descamps, J. F. Willart, E. Dudognon, V. Caron, *Transformation of pharmaceutical compounds upon milling and comilling: the role of T(g)*, J. Pharm. Sci. 2007; 96: 1398–1407

(22) Pejovnik S., Gaberšček, G. (2004), *Uvod v znanost o materialih za inženirje*, FKKT

(23) H. J. Fecht, *Defect-Induced Melting and Solid-State Amorphization*, Nature 1992; 356: 133–135

(24) Planinšek O., Zadnik J., Kunaver M., Srčič S., Godec A., *Structural Evolution of Indomethacin Particles upon Milling: Time-Resolved Quantification and Localization of Disordered Structure Studied by IGC and DSC*, Journal of Pharmaceutical Sciences 2010; 99 (4)

(25) Yu, L., *Amorphous pharmaceutical solids: preparation, characterization and stabilization*, Advanced Drug Delivery Reviews 2001; 48: 27-42

(26) Willart J.F., Dujardin N., Dudognon E., Danède F., Descamps M., *Amorphization of sugar hydrates upod milling*, Carbohydrate Research 2010; 345: 1613-1616

(27) Naritchaya P., Yrjö H. R., *Crystallization in amorphous lactose-maltodextrin mixtures*, ICEF11

(28) Garnier, S., Petit, S., Coquerel, G., *Dehydration mechanism and crystallisation*

behaviour of lactose, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry; 2002; 68, 489–502.

(29) Garnier S., Petit S., Mallet F., Petiti M.-N., Lemarchand D., Coste S., Lefebvre J., Coquerel G., *Influence of ageing, grinding and preheating on the thermal behaviour of α-lactose monohydrate,* International Journal of Pharmaceutics 2008; 361: 131–140

(30) *Formularim Slovenicum 3.0.* JAZMP, Ljubljana 2011

(31) *European Pharmacopoeia 7th Edition*. EDQM, Strasbourg, 2011.

(32) *FT-IR Spectroscopy Attenuated Total Reflectance*, PerkinElmer Life and Analytical Sciences Dostop: http://shop.perkinelmer.com/content/TechnicalInfo/TCH_FTIRATR.pdf (20.9.2012)