

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

KATARINA MAROLT

MAGISTRSKA NALOGA
ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2013

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

KATARINA MAROLT

**PRETVORBA TEKOČEGA SAMO-MIKROEMULGIRAJOČEGA
SISTEMA V TRDNO OBLIKO Z METODO SUŠENJA Z
RAZPRŠEVANJEM**

**TRANSFORMATION OF LIQUID SELF-MICROEMULSIFYING
SYSTEM IN A HARD FORM WITH SPRAY DRYING METHOD**

Ljubljana, 2013

Magistrsko delo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo, Katedri za farmacevtsko tehnologijo pod mentorstvom doc. dr. Alenke Zvonar, mag. farm..

Predsednik komisije: prof. dr. Stanislav Gobec mag. farm.

Član komisije: asist. dr. Martina Gobec mag.farm.

Zahvaljujem se mentorici doc. dr. Alenki Zvonar, mag. farm. za strokovno usmerjanje pri izdelavi magistrske naloge. Hvala tudi družini, predvsem mami in Tadeju, ki sta me spodbujala tekom študija.

Izjava

Izjavljam, da sem magistrsko nalogo izdelala samostojno pod vodstvom mentorice doc. dr. Alenke Zvonar, mag. farm..

Katarina Marolt

VSEBINA

POVZETEK.....	III
ABSTRACT	IV
SEZNAM OKRAJŠAV	VI
1. UVOD.....	1
1.1. NA LIPIDIH OSNOVANI DOSTAVNI SISTEMI	2
1.1.1. Klasifikacijski sistem na lipidih osnovanih dostavnih sistemov	3
1.1.2. Samo-mikroemulgirajoči dostavni sistemi	3
1.2. PRETVORBA LIPIDNIH FORMULACIJ V TRDNO OBLIKO	6
1.2.1. Sušenje z razprševanjem (angl. spray drying)	6
1.2.2. Razprševanje s strjevanjem	12
1.2.3. Adsorpcija na trdne nosilce	13
1.2.4. Granuliranje s talinami	13
1.2.5. Iztiskanje talin	13
1.2.6. Metode s superkritičnimi tekočinami	14
2. NAMEN DELA.....	15
3. MATERIALI IN METODE	16
3.1. MATERIALI.....	16
3.1.1. Sestavine tekočega SMEDS	16
3.1.2. Sestavine za pretvorbo tekočega SMEDS v trdno agregatno stanje.....	17
3.1.3. Uporabljeni pripomočki	19
3.2. METODE	19
3.2.1. Priprava tekočega SMEDS.....	19
3.2.2. Priprava disperzije za razprševanje in vrednotenje njenih lastnosti.....	20
3.2.2.1. Priprava disperzije za razprševanje.....	20
3.2.2.2. Merjenje viskoznosti disperzije za razprševanje	21
3.2.2.3. Merjenje vrednosti pH disperzije za razprševanje	21
3.2.3. Merjenje velikosti kapljic mikroemulzije.....	21
3.2.3.1. Merjenje velikosti kapljic mikroemulzije nastale po dispergiranju tekočega SMEDS v vodni fazi.....	21
3.2.3.2. Merjenje velikosti kapljic mikroemulzije nastale po dispergiranju samo-emulgirajočih prahov v vodni fazi.....	22
3.2.4. Pretvorba tekočih SMEDS v trdno obliko.....	22
3.2.5. Določevanje pretočnih lastnosti trdne oblike z metodo vrtečega bobna	24

3.2.6.	Določevanje vsebnosti modelne zdravilne učinkovine v tekočem SMEDS in v samo-emulgirajočih prahovih	25
3.2.6.1.	<i>Priprava vzorcev in standardov za določevanje vsebnosti modelne zdravilne učinkovine</i>	25
3.2.6.2.	<i>Analiza vsebnosti modelne zdravilne učinkovine s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (angl. high-performance liquid chromatography, HPLC)...</i>	26
3.2.7.	Preskus sproščanja modelne zdravilne učinkovine	27
3.2.7.1.	<i>Priprava vzorcev za preskus sproščanja</i>	27
3.2.7.2.	<i>Preskus sproščanja</i>	28
3.2.8.	Diferenčna dinamična kalorimetrija	30
4.	REZULTATI IN RAZPRAVA	31
4.1.	OPREDELITEV LIPIDNE FORMULACIJE.....	31
4.2.	VPLIV VSEBNOSTI MODELNE ZDRAVILNE UČINKOVUNE V SMEDS IN SESTAVE DISPERZIJE ZA RAZPRŠEVANJE NA UČINKOVITOST KAPSULIRANJA	31
4.2.1.	Vpliv lastnosti disperzije za razprševanje na proces sušenja z razprševanjem	33
4.2.2.	Pretvorba tekočih SMEDS v trdno obliko s sušenjem z razprševanjem	35
4.3.	VREDNOTENJE LASTNOSTI TRDNIH SMEDS	38
4.3.1.	Pretočne lastnosti trdnih SMEDS.....	38
4.3.2.	Vrednotenje velikosti kapljic mikroemulzij nastalih po dispergiranju tekočega oziroma trdnega SMEDS v vodnem mediju.....	40
4.4.	VPLIV PRETVORBE SMEDS V TRDNO OBLIKO NA PROFIL SPROŠČANJA MODELNE ZDRAVILNE UČINKOVINE	44
4.5.	VREDNOSTENJE TRDNIH SMEDS S TERMIČNO ANALIZO	48
5.	SKLEPI.....	53
	LITERATURA	VII

POVZETEK

Za peroralen vnos učinkovin je potrebna dobra vodotopnost, ki omogoča raztapljanje učinkovine v času, ko je ta izpostavljena prebavnemu mediju znotraj gastrointestinalnega trakta. Novo odkrite učinkovine običajno izkazujejo slabo vodotopnost in permeabilnost ter posledično ne dosežejo zadostne absorpcije skozi črevesno sluznico. Sledečo slabšo biološko uporabnost slabo vodotopnih učinkovin je možno izboljšati z njihovo vgraditvijo v dostavne sisteme, ki so osnovani na lipidih. Mednje spadajo tudi samo-mikroemulgirajoči dostavni sistemi (SMEDS), ki so izotropne zmesi lipidov, površinsko aktivnih snovi, hidrofilnih topil in sotopil ter učinkovine. Da bi bili SMEDS bolj prijazni uporabniku, so raziskave usmerjene v pretvorbo tekočih sistemov v trdne farmacevtske oblike. V magistrski nalogi smo se zato posvetili pretvorbi tekočega SMEDS v samoemulgirajoče prahove s pomočjo sušenja z razprševanjem. Pripravili smo tekoči SMEDS, sestavljen iz 40 % emulgatorske faze (Gelucire[®] 44/14 in Solutol[®] HS 15 v razmerju 1:1) in 60 % oljne faze (Peceol[™] in Migliol[®] 812 v razmerju 1:1), v katerega smo vgradili 6, 18 ali 36 % m/m modelne učinkovine (naproksen). Za pripravo disperzije za razprševanje smo uporabili tekoči SMEDS in trdni nosilec v razmerju 1:2. Kot slednja smo uporabili maltodekstrin in hidroksipropilmetil celulozo, iz katerih smo pripravili 10 oz. 5 % vodno raztopino. Da bi izboljšali lastnosti sušenega trdnega produkta, smo v jedrno fazo (SMEDS) dodali 10 g arabskega gumija, 2 % m/m koloidnega silicijevega dioksida (Aerosil 200) ali kombinacijo 1 % m/m Aerosila 200 in 1 % m/m magnezijevega stearata. Ugotovili smo, da spremembe viskoznosti in pH vrednosti disperzije niso vplivale na izkoristek sušenja, ki se je gibal nad 70 %. Učinkovitost vgradnje modelne učinkovine v pore nosilca je bila odvisna tako od tipa nosilca kot tudi od uporabe omenjenih dodatkov. Velikosti kapljic mikroemulzij nastalih po redispergiranju trdnih SMEDS v vodnem mediju so se izkazale za primerljive z velikostjo kapljic mikroemulzij nastalih z dispergiranjem tekočega SMEDS. Velikosti kapljic so se gibale pod 150 nm in so bile odvisne od redčenja nastalih disperzij z vodo. Ugotovili smo primerljivo hitrost in obseg sproščanja učinkovine iz vseh trdnih SMEDS z maltodekstrinom kot nosilcem, medtem ko je bila hitrost sproščanja počasnejša pri SMEDS s hidroksipropilmetil celulozo kot nosilcem. Dokazali smo tudi molekularno porazdeljenost učinkovine znotraj nosilcev in stabilnost nastalih formulacij. Z vsemi rezultati smo dokazali, da so pridobljeni prahovi ohranili bistvene lastnosti tekočih SMEDS.

Ključne besede: lipidne formulacije, trdni samo-mikroemulgirajoči dostavni sistemi (trdni SMEDDS), sušenje z razprševanjem

ABSTRACT

For oral application of an active ingredient, good water solubility is required that enables dissolving the active ingredient during the time it is exposed to the digestive medium within the gastrointestinal tract. Newly discovered active ingredients generally demonstrate poor water solubility and permeability and consequently do not achieve sufficient absorption through the intestinal mucosa. The poorer bioavailability of poorly water-soluble active ingredients can be improved by integrating them into lipid-based delivery systems. Among those are also self-microemulsifying delivery systems (SMEDDS), which are isotropic compounds of lipids, surfactants, hydrophilic solvents and active ingredients. In order to make SMEDDS more user-friendly, the research focuses on transforming liquid systems into solid pharmaceutical forms. This master's thesis thus focuses on transforming liquid SMEDDS into self-microemulsifying powders with the help of spray drying. We have prepared a liquid SMEDDS, composed of 40 % emulsifier phase (Gelucire[®] 44/14 and Solutol[®] HS 15 in a 1:1 ratio) and 60 % oil phase (Peceol[™] and Migliol[®] 812 in a 1:1 ratio) into which we integrated 6, 18 or 36 % m/m of model active ingredient (naproxen). To prepare a dispersion for spraying, we used liquid SMEDDS and a solid carrier in the 1:2 ratio. As the latter, we used maltodextrin and hydroxypropylmethyl cellulose from which we prepared 10 or 5 % water solution. In order to improve the properties of the dried solid product, we added 10 g of gum arabic, 2 % m/m colloidal silicon dioxide (Aerosil 200) or a combination of 1 % m/m Aerosil 200 and 1 % m/m magnesium stearate into the core phase (SMEDDS). We found out that the changes in viscosity and pH value of dispersion did not affect the yield of drying, which was approximately 70 %. The efficiency of integrating the model active ingredient into the pores of the carrier depended on the type of the carrier as well as the use of the above-mentioned additives. The size of droplets of micro-emulsions formed after re-dispersion of solid SMEDDS in an aqueous medium have shown to be comparable to the size of droplets of micro-emulsions formed by dispersing liquid SMEDDS. The droplet sizes were below 150 nm and depended on the dilution of the formed dispersions with water. We found the rate and range of releasing the

active ingredient from all solid SMEDDS with maltodextrin as the carrier is comparable, while the release rate was slower in SMEDDS with hydroxypropylmethyl cellulose as the carrier. We have also demonstrated the molecular distribution of the active ingredient and stability of the formulations. With all the results, we have demonstrated that the produced powders have kept the essential properties of liquid SMEDDS.

Key words: lipid formulations, solid self-microemulsifying delivery system (solid SMEDDS), spray drying

SEZNAM OKRAJŠAV

A	Aerosil 200
AG	arabski gumi
BCS	Biofarmacevtski klasifikacijski sistem (angl. Biopharmaceutics Classification System)
CYP 3A4	encim iz skupine citokromov
DE	dekstrozni ekvivalent
DSC	diferenčna dinamična kalorimetrija (angl. differential scanning calorimetry)
FO	farmacevtska oblika
GIT	gastrointestinalni trakt
HLB	hidrofilno-lipofilno ravnotežje (angl. hydrophilic-lipophilic balance)
HPLC	tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (angl. high-performance liquid chromatography)
HPMC	hidroksipropilmetil celuloza
LD ₅₀	odmerek, pri katerem 50 % izpostavljene populacije ne preživi
LFCS	Klasifikacijski sistem na lipidih osnovanih dostavnih sistemov (angl. Lipid Formulation Classification System)
MD	maltodekstrin
MgST	magnezijev stearat
O/V	olje v vodi
PAS	površinsko aktivna snov
PCS	fotonska korelacijska spektroskopija (angl. photon correlation spectroscopy)
PDI	polidisperzni indeks
PEG	polietilenglikol
P-gp	P-glikoprotein
SEDS	samo-emulgirajoči dostavni sistemi
SMEDS	samo-mikroemulgirajoči dostavni sistemi
SNEDS	samo-nanoemulgirajoči dostavni sistemi
T _g	temperatura steklastega prehoda
T _{izhodna}	izhodna temperatura sušilnega plina
T _{vhodna}	vhodna temperatura sušilnega plina
ZU	zdravilna učinkovina

1. UVOD

Slabe biofarmacevtske lastnosti so vzrok za težavno vgraditev mnogih zdravilnih učinkovin (ZU) v peroralne farmacevtske oblike. Po Biofarmacevtskem klasifikacijskem sistemu (angl. Biopharmaceutics Classification System, BCS) razdelimo ZU glede na topnost in permeabilnost v štiri razrede. Preglednica 1 podaja kriterije razdelitve ZU v BCS razrede in tehnološke možnosti za izboljšanje njihove biološke uporabnosti. Manjša topnost omejuje razvoj farmacevtskih oblik, saj lahko že v predkliničnih študijah toksičnosti omejuje doseganje dovolj visokih koncentracij in s tem uspešnost študije. V kliničnih študijah manjša topnost povzroči počasnejše raztapljanje ZU v gastrointestinalnem traktu (GIT) po peroralni aplikaciji. Tako je na voljo manj ZU za absorpcijo, kar pripelje do manjše biološke uporabnosti ZU. Poznamo več pristopov, s katerimi lahko izboljšamo topnost ZU. Slednjo lahko tako pretvorimo v sol, metastabilni polimorf, amorf, modificiramo njen pH ali zmanjšamo velikost delcev. Poznamo tudi tehnološke metode izboljšanja topnosti ZU, kot je uporaba različnih nosilnih sistemov. ZU lahko tako vgradimo v nanodelce, komplekse s ciklodekstrini, pretvorimo v trdne raztopine, lahko pa tudi uporabimo dostavne sisteme na osnovi lipidov (1).

Preglednica 1: Razdelitev ZU glede na biofarmacevtski klasifikacijski sistem in pristopi izboljšanja biološke uporabnosti (1,2).

BCS razredi	primeri ZU	možne težave	pristopi izboljšanja
RAZRED I dobra topnost, dobra permeabilnost	propranolol, naproksen	encimska prebava, efluks	trdne farmacevtske oblike (FO) s površinsko aktivnimi snovmi (PAS)
RAZRED II slaba topnost, dobra permeabilnost	ciklosporin, grizeofulvin, nifedipin	topnost, nizka biološka uporabnost	kristalna modifikacija (metastabilni polimorf, sol, kokristali), trdne farmacevtske oblike s PAS, zmanjšanje velikosti delcev (mikronizacija, nanokristali), amorfizacija (sušenje z razprševanjem), tekoče FO (samo-emulgirajoči sistemi, kapsule s tekočim jedrom)
RAZRED III dobra topnost, slaba permeabilnost	atenolol, metformin	encimska prebava, efluks, biološka uporabnost	trdne FO s pospeševalci absorpcije
RAZRED IV slaba topnost, slaba permeabilnost	hidroklortiazid, furosemid	topnost, efluks, encimska prebava, biološka uporabnost	kombinacije pristopov izboljšanja za BCS razred II in pospeševalcev absorpcije

1.1. NA LIPIDIH OSNOVANI DOSTAVNI SISTEMI

Okrog 40 % novo odkritih ZU izkazuje slabo vodotopnost, ki se kasneje odraža v visoki intra- in interindividualni variabilnosti, nizki biološki uporabnosti ter posledično nižji učinkovitosti peroralno aplicirane ZU. Za izboljšanje topnosti slabo vodotopnih ZU lahko uporabimo dostavne sisteme na osnovi lipidov, med katere prištevamo npr. oljne raztopine, mikroemulzije, samoemulgirajoče dostavne sisteme (SEDS)... (2,3) Z vgraditvijo ZU v lipidne nosilne sisteme izboljšamo njeno biološko uporabnost. Pri dispergiranju v hidrofilnem okolju prebavnega trakta ostanejo ZU raztopljene znotraj lipidnih kapljic. Tako se izognemo stopnji raztapljanja, ki omejuje absorpcijo slabo topnih ZU (4).

Za lipidne dostavne sisteme se odločamo, ker izboljšajo absorpcijo ZU na 5 načinov:

1. Izboljšajo raztapljanje ZU; lipidni dostavni sistemi vsebujejo veliko PAS, ki povečajo solubilizacijo ZU (5).
2. Podaljšajo zadrževanje oblike v želodcu, ker zmanjšajo hitrost praznjenja želodca; s tem se podaljša zadrževanje ZU v zgornjem delu GIT, kjer običajno poteka absorpcija učinkovin (6).
3. Vplivajo na permeabilnost črevesne stene. Vsebuječe PAS v lipidnih dostavnih sistemih lahko direktno vplivajo na lipidni dvosloj epitelijskih celic (poveča se transcelularna absorpcija ZU) oz. vplivajo na reverzibilno odprtje tesnih stikov med celicami (poveča se paracelularna absorpcija ZU) (4).
4. Zmanjšujejo predsistemski metabolizem v lumnu in steni GIT ter aktivnost sekretornih prenašalcev, ker veliko komponent lipidnih dostavnih sistemov zavira encime iz družine citokromov in P-glikoprotein (5).
5. Stimulirajo absorpcijo ZU v limfni obtok, s čimer se lahko izognemo metabolizmu prvega prehoda v jetrih. Na porazdelitev ZU med krvjo in limfo vpliva dolžina verig maščobnih kislin v lipidu, njihova nasičenost in količina vnesenega lipida (5).

Na usodo lipidnih dostavnih sistemov vpliva tudi prebava trigliceridov znotraj prebavnega trakta. Iz slednjih se v procesu lipolize tvorijo mešani miceli, ki vsebujejo prebavljene lipide, žolčne soli in lecitin (5). Veliko raziskovalcev se ukvarja z razvojem novih *in vitro* modelov lipolize, ki bi omogočili boljše razumevanje in napovedovanje usode lipidnih sistemov v prebavilih.

1.1.1. Klasifikacijski sistem na lipidih osnovanih dostavnih sistemov

Klasifikacijski sistem na lipidih osnovanih sistemov (angl. Lipid Formulation Classification System, LFCS) nam pomaga izbrati najbolj primerno formulacijo za specifično ZU z ozirom na njene fizikalno kemijske lastnosti. LFCS razdeli formulacije na štiri osnovne razrede glede na njihovo sestavo in na osnovi sposobnosti, da preprečijo obarjanje ZU v prebavnem traktu (7). V preglednici II so zbrani podatki različnih raziskovalcev o sestavi in lastnostih dostavnih sistemov osnovanih na lipidih, njihove prednosti in slabosti.

Preglednica II: Klasifikacijski sistem na lipidih osnovanih sistemov (2, 7, 8).

		RAZRED I	RAZRED II	RAZRED III		RAZRED IV
				III A	III B	
sestava delež pomožnih snovi (m/m %)	gliceridi	100	40 – 80	40 – 80	< 20	/
	PAS					
	HLB < 12	/	20 – 60	/	/	0 – 20
	HLB > 12	/	/	20 – 40	20 – 50	20 – 80
	hidrofilna sotopila	/	/	0 – 40	20 – 50	0 – 80
lastnosti		majhna sposobnost dispergiranja v vodnem mediju, proces absorpcije je odvisen od fiziološke prebave v GIT	spontan nastanek emulzije tipa O/V v prisotnosti vodne faze (npr. prebavni sokovi), SEDS	spontan nastanek rahlo motne emulzije v vodnem mediju, SEDS	spontan nastanek bistre emulzije v vodnem mediju, samo-mikroemulgirajoči dostavni sistem (SMEDS)	nastanek koloidne disperzije micelov
prednosti		varni, enostavni, absorbirajo se v celoti, kompatibilnost s trdnimi želatinskimi kapsulami (ne vsebujejo vodne faze)	majhna verjetnost obarjanja ZU v GIT, izboljšanje časa raztapljanja	manjša možnost obarjanja ZU v GIT kot pri podrazredu B, nastanek bistre disperzije, absorpcija ZU tudi brez fiziološke prebave	hitrejše obarjanje ZU kot pri podrazredu A, nastanek bistre disperzije	velika solubilizacijska kapaciteta za mnoge ZU
slabosti		majhna solubilizacijska kapaciteta	nastanek motne emulzije tipa O/V	prebava je težja kot pri podrazredu B	hitra prebava lahko negativno vpliva na formulacijo	zelo verjetno obarjanje ZU v GIT, velika viskoznost, večje draženje sluznic

1.1.2. Samo-mikroemulgirajoči dostavni sistemi

Samo-mikroemulgirajoči dostavni sistemi so izotropne zmesi lipidov, PAS, hidrofilnih topil in sotopil ter ZU. V fizioloških pogojih, kjer vodni medij predstavlja prebavni

sokovi, se pod vplivom peristaltičnega gibanja GIT iz njih spontano oblikuje emulzija tipa O/V (4). Kot sestavine lipidne faze se najpogosteje uporabljajo trigliceridi različnih olj. Vir pridobivanja in dolžina verige trigliceridov vplivata na topnost ZU v formulaciji, stabilnost formulacije, sposobnost samoemulgiranja, obseg prebave formulacije ter na porazdelitev ZU med krvjo in limfo. PAS moramo dodati v čim manjši koncentraciji, zaradi njihove potencialne toksičnosti. Koncentracija mora vsekakor biti dovolj visoka, da omogoča zadostno znižanje medfazne napetosti med oljno in vodno fazo in s tem samoemulgiranje formulacije v prisotnosti vodne faze. V formulacijo dodajamo tudi sotpila, ki povečajo solubilizacijsko kapaciteto sistema za nekatere hidrofobne ZU in izboljšajo mešanje hidrofilnih PAS z lipidno fazo. Vendar, če uporabimo preveliko koncentracijo sotpil, povečamo tveganje za obarjanje ZU po dispergiranju formulacije v vodni fazi (3, 6, 7).

Mehanizem samomikroemulgiranja še ni povsem razložen. Načeloma je sprejeta razlaga, da samoemulgiranje poteče, kadar je sprememba entropije sistema zaradi dispergiranja formulacije večja od energije, ki je potrebna za povečanje površine kapljic notranje faze med dispergiranjem. Prosta Gibbsova energija sistema je posledično negativna oz. zelo nizko pozitivna, zato lahko emulzija oz. mikroemulzija nastane spontano, oz. je potrebno le rahlo mešanje sistema (4, 5). Samoemulgiranje pri fizioloških pogojih v prebavnem traktu lahko izboljša biološko uporabnost vgrajene ZU in omogoča manjše nihanje plazemske koncentracije ZU, s tem pa bolj ponovljivo biološko uporabnost le-te (2).

Pogosto prihaja do napačnega poimenovanja na lipidih osnovanih sistemov. Do zamenjav med samomikro- (SMEDS) in samo-nanoemulgirajočimi (SNEDS) dostavnimi sistemi prihaja zaradi podobnega videza in velikosti kapljic mikro- oz. nanoemulzij, ki nastanejo po dispergiranju formulacij v vodi. Raziskovalca N. Anton in T. F. Vandamme sta v članku povzela glavne razlike med nastalimi emulzijami. SMEDS nastanejo le v določenem koncentracijskem območju oljne faze in PAS. Z dispergiranjem SMEDS v vodnem mediju se tvori termodinamsko stabilna mikroemulzija, pri čemer ni pomemben vrstni red mešanja komponent. Po dispergiranju SMEDS v vodnem mediju je velikost oljnih kapljic nastale mikroemulzije odvisna od temperature in redčenja. Zato je potrebno tudi omeniti, da lahko že redčenje vzorca, pri njegovi predpripravi na analizo, vpliva na porušenje nastale mikroemulzije. Velikost nastalih oljnih kapljic mikroemulzije povzroča največ zmede v literaturi. V splošnem imajo SEDS od 100 do 300 nm velike kapljice. Če velikost kapljic pade pod 100 nm in so upoštevane še druge prej naštetе značilnosti, smo uspeli narediti

SMEDS (4). Tudi SNEDS nastanejo le v določenem koncentracijskem območju oljne faze in PAS. Po dispergiranju SNEDS v vodenem mediju se tvori termodinamsko nestabilna nanoemulzija, pri čemer je pomemben vrstni red mešanja komponent. Kapljice nastale nanoemulzije so velike od 20 do 200 nm in njihova velikost ni odvisna od temperature in redčenja (3, 9).

Pri formuliranju SMEDS moramo izbrati ustrezno oljno fazo in emulgatorje, v katerih moramo zagotoviti ustrezno topnost ZU, v nadaljevanju moramo določiti optimalno kvantitativno sestavo in končno sistem ovrednotiti. Izbor pomožnih snovi temelji na njihovi solubilizacijski kapaciteti, kemični stabilnosti, medsebojni kompatibilnosti, pomembna je samoemulgirajoča sposobnost in prebavljivost sistema ter tudi njihova cena. Za določitev kvantitativne sestave se poslužujemo izdelave trikomponentnih diagramov, ki nam predstavijo razmerje med emulgatorji, oljno in vodno fazo. Razmerje mora biti tako, da omogoči spontan nastanek emulzije (2).

Vrednotenje SMEDS predstavlja kritično stopnjo razvoja. Na podlagi pridobljenih rezultatov se odločamo, ali nastali sistem ustreza kriterijem za SMEDS. Postopek formuliranja in vrednotenja lahko ciklično ponavljamo, dokler nismo zadovoljni s formulacijo. Lastnosti SMEDS ocenjujemo po več kriterijih:

1. Vizualno opazujemo sposobnost samoemulgiranja pri določenih pogojih (7).
2. Vizualno opazujemo obarvanje ZU po določenem času (2).
3. Merimo velikost in porazdelitev velikosti kapljic iz SMEDS nastalih (mikro)emulzij. Za določitev velikosti in polidisperznega indeksa (PDI), ki je merilo za monodisperznost sistema, najpogosteje uporabljamo fotonsko korelacijsko spektroskopijo (angl. photon correlation spectroscopy, PCS) (2).
4. Merimo zeta potencial, ki je merilo za naboj na površini kapljic dispergirane oljne faze. Slednji je pomemben pri vgrajevanju ZU v sistem in pri procesu absorpcije ZU iz GIT (2).
5. Izvedemo teste *in vitro* sproščanja in prebave oz. lipolize. Do sedaj še ni uveljavljene standardne farmakopejske metode za testiranje lipidnih formulacij. Izbira testov je tako prepuščena raziskovalcem (7).
6. Izvedemo termodinamske stabilnostne študije. Opazujemo morebitno ločitev faz po večkratnemu zamrzovanju, kateremu sledi segrevanje (2).

7. Opazujemo morebiten polimorfizem ZU ali pomožnih snovi z diferenčno dinamično kalorimetrijo (angl. differential scanning calorimetry, DSC) (10). Obstoj snovi v različni kristalni ali amorfni obliki se med drugim odraža v njihovi različni topnosti oz. hitrosti raztapljanja. To pa vpliva na spremenjeno biološko uporabnost in terapevtski učinek ZU (11).

1.2. PRETVORBA LIPIDNIH FORMULACIJ V TRDNO OBLIKO

Tekoče SMEDS običajno polnimo v mehke želatinske kapsule. Na tržišču je že več tako pripravljenih zdravil, ki večinoma vsebujejo imunosupresivne oz. protivirusne ZU (2). Pri polnjenju tekočih SMEDS v mehke želatinske kapsule se pojavita dve poglaviti težavi. Zagotoviti moramo kompatibilnost formulacije s kapsulami in stabilnost skozi daljše obdobje shranjevanja, da ne pride do raztapljanja kapsul oz. razplastitve sistema. V svetu zato potekajo intenzivne raziskave o novih možnostih pretvorbe tekočih SMEDS v trdne FO. Tekoče SMEDS lahko vgradimo v trdno obliko, kot so npr. pelete, mikrokapsule in tablete. Tako dobimo sistem, ki združuje dobre lastnosti lipidnih dostavnih sistemov in trdnih FO (4). Pri izdelavi trdnih FO imamo več proizvodnih prednosti, kot sta npr. nizka proizvodna cena in enostavna procesna kontrola. Običajno so trdne FO tudi bolj stabilne (10). Ker je peroralen vnos še vedno najbolj sprejemljiv oz. zaželen, lahko z aplikacijo trdne FO pričakujemo večje bolnikovo sodelovanje v terapiji.

Za pretvorbo tekočega lipidnega sistema v trdno obliko se po literaturnih virih uporabljajo različne metode:

1. sušenje z razprševanjem,
2. razprševanje s strjevanjem,
3. adsorpcija na trdne nosilce,
4. granuliranje s talinami,
5. iztiskanje talin,
6. metode s superkritičnimi tekočinami ipd. (12).

1.2.1. Sušenje z razprševanjem (*angl. spray drying*)

Prvič je bila tehnologija omenjena že v drugi polovici 19. stoletja v živilski industriji. Kasneje se je prenesla v farmacevtsko industrijo in se hitro razvijala zaradi svojih številnih

prednosti (13). Gre za pridobivanje prahov s sušenjem tekoče disperzije, ki jo izpostavimo pretoku ogretega sušilnega plina. Disperzijo za razprševanje, v kateri sta dispergirana nosilec in ZU, uvajamo skozi šobo v sušilno komoro. V slednji vzdržujemo izbrano temperaturo in hitrost pretoka sušilnega plina, kar nam omogoča nadzorovano odstranjevanje topila z njegovim izparevanjem (10). Tekoče kapljice se pri tem pretvorijo v trdne delce z ogrođjem iz dispergirane nosilca, v notranjost delcev pa se vgradi tudi ZU (14). Poleg kapsuliranja ZU je opisana tehnologija primerna tudi za proces sušenja in granuliranja ter za pripravo delcev z načrtovano notranjo strukturo (ti. *Particle engineering*) (14). Proces sušenja z razprševanjem lahko razdelimo v več zaporednih stopenj, ki so podrobneje opisane v nadaljevanju poglavja.

1. Priprava disperzije za razprševanje

Pri pripravi disperzije skorajda ni omejitev glede izbire ZU ali pomožnih snovi, pomembna je le zmožnost razprševanja nastale disperzije. Disperzijo pripravimo z dispergiranjem izbranega tekočega SMEDS v raztopini običajno hidrofilnega nosilca. Nosilec je lahko tudi v suspendiranem stanju – npr. v primeru uporabe nevodotopnih nosilcev. V vsakem primeru nosilec izberemo glede na lastnosti ZU in želene lastnosti končnega produkta, pri čemer upoštevamo medsebojno kompatibilnost vseh sestavin disperzije. Kot disperzni medij za nosilec in ZU lahko uporabljamo vodo ali organska topila. Glede na izbrano topilo kasneje prilagajamo izbiro sušilnega plina in procesne parametre sušenja, kot so npr. vhodna temperatura sušilnega plina, hitrost pretoka in vlažnost slednjega ter hitrost črpanja disperzije za razprševanje skozi šobo.

2. Razprševanje disperzije

Disperzijo razpršujemo v sušilno komoro skozi različne šobe, ki so opisane v nadaljevanju. Pri razprševanju disperzije pride do mešanja slednje s sušilnim plinom, kar omogoči razpršitev disperzije na majhne kapljice pod vplivom centrifugalne sile, pritiska, kinetične energije ali vibracij; sam mehanizem nastanka kapljic je odvisen od vrste uporabljene šobe za razprševanje (14). Pomembno je, da nastale kapljice niso prevelike, ker bi se v tem primeru prepočasi sušile in bi lahko iz njih nastajali aglomerati, ki bi se lepili na stene sušilne komore. Kapljice prav tako ne smejo biti premajhne, saj bi se lahko prehitro sušile, kar ima za posledico razpokanost površine trdnih delcev, ki so končni produkt procesa ipd. (15). Kot že omenjeno, omogočajo različne izvedbe šob različne možnosti razprševanja:

- rotacijska ali centrifugalna šoba

Šoba je sestavljena iz horizontalno postavljenega diska z utori, ki prehajajo od sredine proti robu, kot je prikazano na sliki 1. Na sredino diska dovajamo disperzijo in ob vrtenju diska prihaja do radialnega razprševanja zaradi centrifugalne sile. Pri tem lahko nadziramo hitrost dovajanja disperzije in hitrost vrtenja diska. Z izvedbo utorov nadzorujemo želene lastnosti kapljic/delcev. Na primer, če želimo dobro pretočnost produkta, moramo uporabiti mešanico ravnih in nazobčanih utorov. Pri tej izvedbi šobe je problematično nabiranje delcev na stenah sušilne komore. Slednje imajo zato prilagojeno obliko, saj so širše in krajše od običajnih sušilnih komor, ki se uporabljajo pri sušenju z razprševanjem (13, 16).

- dvokanalna ali koncentrična šoba

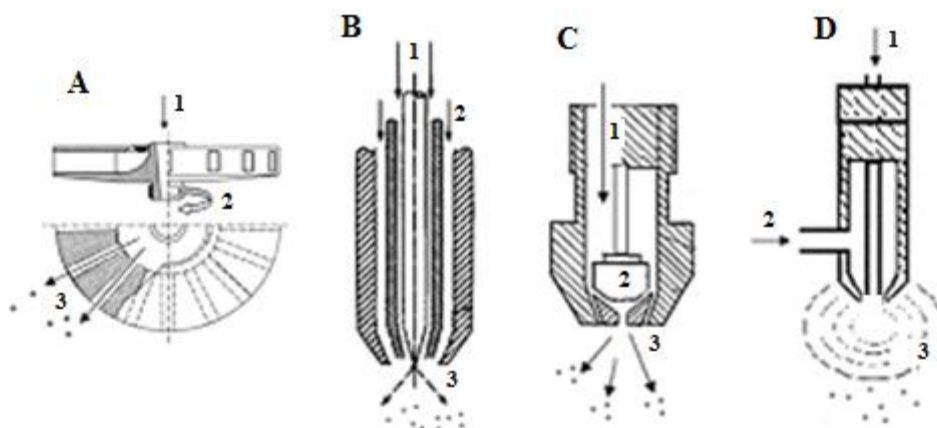
Disperzijo in stisnjen sušilni plin uvajamo ločeno skozi šobo v sušilno komoro. Plin in disperzija prideta v stik tik pred izhodom iz šobe. Temu sledi ekspanzija stisnjenega plina v sušilni komori, ki posledično razprši disperzijo. Proces je odvisen tako od gostote in pretoka plina kot od viskoznosti, gostote in površinske napetosti disperzije. Možne so tudi različne modifikacije šobe. Uvajamo lahko več disperzij in/ali več sušilnih plinov, vsakega skozi svoj kanal, kar je uporabno pri izdelovanju FO z nadzorovanim sproščanjem (13, 16).

- brezračna hidravlična enokanalna šoba

Disperzijo pod tlakom uvajamo skozi ozko odprtino šobe v sušilno komoro. Zaradi majhne velikosti šobe, ta tip šob ni najbolj primeren za razprševanje disperzij z visoko viskoznostjo in suspenzij z veliko velikostjo delcev. Težavno je tudi nadzirati lastnosti nastalih delcev. Nadziramo lahko le tlak, s katerim potiskamo disperzijo (13, 16).

- ultrazvočna šoba

Disperzijo uvajamo na oscilirajočo ploščo, ki vibrira v območju ultrazvočnih frekvenc. Z vibriranjem plošče prekinjamo laminarni tok disperzije in s tem tvorimo kapljice. Velikost nastalih kapljic je odvisna od frekvence vibracij (13, 16).



Slika 1: Šobe za razprševanje disperzije pri sušenju z razprševanjem: A – rotacijska šoba (1 – uvajanje disperzije za razprševanje, 2 – vrtenje diska šobe, 3 – razprševanje disperzije), B – dvokanalna šoba (1 – uvajanje disperzije za razprševanje, 2 – uvajanje stisnjenega sušilnega plina, 3 – razprševanje disperzije), C – brezračna hidravlična enokanalna šoba (1 – uvajanje disperzije za razprševanje, 2 – hidravlični bat, 3 – razprševanje disperzije), D – ultrazvočna šoba (1 – uvajanje disperzije za razprševanje, 2 – uvajanje nosilnega plina, 3 – razprševanje disperzije).

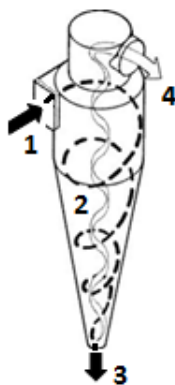
3. Sušenje razpršenih kapljic disperzije

V sušilni komori se dispergirane kapljice mešajo s sušilnim plinom, ki mora biti predhodno filtriran, segret na primerno temperaturo ter ustrezne vlažnosti. Kot sušilni plin se običajno uporabljata zrak ali inertni dušik. Če kot topilo v disperziji za razprševanje uporabljamo vodni medij, lahko kot sušilni plin uporabimo filtriran okoliški zrak, ki ga kasneje preko filtrov tudi vračamo v okolje (13). Poznamo različne tipe sušilnih komor, in sicer glede na smer stika oz. združitve disperzije in sušilnega plina. Slednja lahko uvajamo bodisi v isti smeri gibanja bodisi v nasprotnih smereh, možne so tudi kombinacije (13-15). Po razpršitvi disperzije na posamezne kapljice, se površina močno poveča. Površina kapljic je v stiku z vročim plinom, kar omogoči izparevanje 95 % vsebnosti vode v nekaj sekundah (15). Najprej poteka sušenje nastalih delcev zaradi potovanja tekočine iz notranjosti delcev na površino le-teh. Ko v notranjosti delcev ni več zadostne vlažnosti, se na njihovi površini tvori osušen plašč in nadaljnje sušenje poteka z difuzijo molekul topila skozi slednjega. Pomembno je, da se delci osušijo v toku sušilnega plina preden trčijo ob steno komore, v nasprotnem primeru se vlažni delci nanjo lepijo (15). V procesu sušenja z razprševanjem nastanejo amorfnih delci nosilca z vgrajeno učinkovino, ki je prav tako v amorfnem stanju. Dispergirana ZU v nosilcu ima zmanjšano mobilnost, kar zavira tudi kristalizacijo ZU med staranjem sušenih delcev. ZU ostane tako v večjem deležu v amorfnih obliki in se

posledično hitreje raztaplja v vodnem mediju. To ima za posledico tudi hitrejše sproščanje ZU pri *in vitro* testih in po peroralni aplikaciji končne FO (14, 17).

4. Ločevanje nastalih delcev od sušilnega plina

Največji delci se ločijo od sušilnega plina že v sušilni komori. Ti zaradi svoje teže padajo v zbirno posodo na dnu komore (13). Aerosol, ki nastaja v sušilni komori, pa iz slednje odvajamo skozi ciklon in/ali vrečaste filtre, kjer lovimo manjše delce (14, 15). Ciklon ločuje delce na osnovi razlik gostot dveh faz aerosola. Najpogostejši tip ciklona je ti. »reverze-flow«, pri katerem nastali aerosol uvajamo tangencialno na vrh ciklona, kar prikazuje slika 2.



Slika 2: Prikaz gibanja delcev v ciklonu tipa »reverze-flow« (1 – uvajanje aerosola v ciklon, 2 – značilno vrtincu podobno gibanje sušilnega plina, 3 – zbiranje trdnega produkta, 4 – izstop sušilnega plina iz ciklona).

Sušilni plin ustvari v ciklonu značilno vrtincu podobno gibanje. Trdni delci, ki potujejo v toku sušilnega plina, zaradi velike hitrosti gibanja slednjega udarjajo ob stene ciklona in se pomikajo navzdol do zbirne posode, ki je nameščena pod ciklonom (14). Pri trku delcev ob stene ciklona se lahko pojavi vrsta težav, kot so npr. različne spremembe njihove strukture (13). Najmanjše delce od sušilnega plina ločimo s pomočjo vrečastih filtrov, preden plin zapusti aparaturo. Plin prehaja skozi filter, delci pa se zadržijo na njem, ker so večji od odprtin tkanine filtra (13, 14).

5. Filtriranje in ohladitev sušilnega plina

Če uporabljamo okoliški zrak kot sušilni plin, ga moramo ohladiti in dobro filtrirati, preden ga spustimo nazaj v okolico (15).

Pri sušenju z razprševanjem moramo biti pozorni na kritične parametre procesa sušenja, ki so opisani v nadaljevanju poglavja.

- Vhodna temperatura sušilnega plina (T_{vhodna})

Višja je T_{vhodna} , hitreje je izparevanje topila v sušilni komori. Nastali delci so večji, bolj porozni in imajo gladko površino. Nižji so tudi zaostanki topil. Vendar so delci lahko izpostavljeni prehitremu sušenju, kar vidimo kot razpokano površino ali pa pride do fizikalno kemijskih sprememb posameznih sestavin (14, 15, 17).

- Izhodna temperatura sušilnega plina ($T_{izhodna}$)

Gre za najvišjo T , kateri je izpostavljen produkt v sušilni komori. Odvisna je od T_{vhodna} , izparevanja topila v sušilni komori, pretoka plina in koncentracije disperzije za razprševanje. $T_{izhodna}$ vpliva na velikost delcev in na zaostanke topil oz. na končno vsebnost vlage. $T_{izhodna}$ ne sme biti nižja od T vrelišča topila, ker dobimo v tem primeru delce z visokim zaostankom topil. $T_{izhodna}$ mora biti tudi nižja od temperature steklastega prehoda (T_g) polimernih nosilcev, nad katero se poveša mobilnost polimernih molekul. Z visoko mobilnostjo polimernih molekul se povešajo tudi adhezijske sile in s tem se pojavi močnejše lepljenje na steno sušilne komore, čemur se želimo izogniti (13-15).

- Pretok in vlažnost sušilnega plina

Pretok in vlažnost ne smeta biti previsoka, ob tem pa morata zagotoviti zadostno osušitev delcev, preden slednji trčijo ob steno sušilne komore. Pretok sušilnega plina vpliva na ločbo delcev in na $T_{izhodna}$. Z njim je določen čas zadrževanja delcev v vseh delih aparata (14). S počasnejšim pretokom omogočimo počasnejše gibanje delcev in daljši stik s sušilnim plinom, s tem pa bolj učinkovito sušenje. Vendar s hitrejšim pretokom plina zboljšamo ločbo delcev. Če sušimo z razvlaženim plinom, dobimo delce z boljšo pretočnostjo, ki imajo nižjo vsebnost vlage (13).

- Lastnosti disperzije za razprševanje

Lastnosti sestavin disperzije vplivajo na morfologijo in lastnosti nastalih delcev. Če imamo disperzijo z nizko vsebnostjo topila (visoka koncentracija trdnih snovi v disperziji in visoka viskoznost slednje), bomo potrebovali več energije za tvorbo kapljic. Tvorili se bodo veliki delci s hrapavo površino, boljšo poroznostjo in nižjo gostoto (14, 15). Za

optimalno tvorbo kapljic je priporočljiva 30 % m/m koncentracija trdnih snovi v disperziji (15). V disperzijo lahko dodajamo PAS, ki zmanjšajo površinsko napetost tekočine. S tem omogočimo razprševanje disperzije v sušilno komoro pod širšim kotom, kar omogoča nastanek manjših kapljic in posledično manjšo velikost delcev končnega produkta (15). Pomembna je tudi ustrezna stabilnost disperzije, da v času med pripravo in razprševanjem disperzije ne pride do fizikalno kemijskih sprememb. Pri zagotavljanju ustrezne stabilnosti disperzije si pogosto pomagamo z mešanjem in segrevanjem le-te tudi med procesom razprševanja (14). Če razpršujemo segreto disperzijo, omogočimo hitrejšo in bolj učinkovito sušenje, proces je tudi energetsko manj zahteven (15).

1.2.2. Razprševanje s strjevanjem

Pri procesu gre za razprševanje taline polimernih nosilcev z dispergirano ZU v ohlajeno procesno komoro. Razpršene kapljice se v toku ohlajenega plina strdijo v sferične trdne delce zaradi faznega prehoda materiala iz tekočega v trdno agregatno stanje. Zaradi lastne teže delci padajo proti dnu komore, kjer jih zbiramo v zbirni posodi. Proces se od sušenja z razprševanjem razlikuje le v nižji T plina v procesni komori. Za razprševanje taline uporabljamo enake tipe šob kot pri sušenju z razprševanjem. Največkrat se za lipidne formulacije uporablja ultrazvočna šoba (12). Šoba je primerna zaradi dejstva, da se večina energije ne pretvori v kinetično energijo nastalih kapljic oz. delcev, ampak se energija porabi pri razprševanju taline (18). Talina je običajno bolj viskozna od prej omenjene disperzije za razprševanje, zato je vložek energije za razprševanje kapljic bistveno višji.

Ko se želimo izogniti nevarnim organskim topilom ali imamo ZU, ki je občutljiva na vodni medij je razprševanje s strjevanjem primerna izbira. Bistvena prednost procesa je odsotnost topila (19). Kot pomožne snovi moramo uporabiti polimere, ki jih lahko stalimo pri T med 50 in 80 °C (12). Polimere segrejemo na T, ki je za okrog 10 °C višja od T tališča uporabljenih polimerov (20). Vendar pa T naj ne bi presegala že prej omenjenih 80 °C, zato smo pri izbiri pomožnih snovi precej omejeni. Izmed pomožnih snovi s površinsko aktivnimi lastnostmi kot primerna navajajo npr. zlasti Gelucire 55/13 (12) in Gelucire 53/10 (20). V tako pripravljeno FO lahko vgradimo največ 30 % m/m ZU (12). Kritični parametri razprševanja s strjevanjem so viskoznost taline med razprševanjem, T tališča polimerov in T ohlajenega zraka v procesni komori (12).

1.2.3. Adsorpcija na trdne nosilce

Pri procesu gre za združevanje tekoče lipidne formulacije s trdnimi delci nosilca v mešalniku. Kot nosilec lahko uporabimo npr. silicijev dioksid, kalcijev silikat ali magnezijeve oz. aluminijeve silikate. Našteti nosilci imajo veliko specifično površino in veliko sposobnost adsorpcije snovi na svoji površini. Po adsorpciji formulacije na nosilec imajo nastali trdni delci dobre pretočne lastnosti in enakomerno vsebnost ZU. Postopek adsorpcije na trdne nosilce je tudi cenovno dostopen (12).

1.2.4. Granuliranje s talinami

S hitrim mešanjem pretvorimo zmes prahov z vsebujočo ZU v granule. Zmes prahov običajno predstavljajo prahovi s termoplastičnimi lastnostmi, prahovi ZU in suho vezivo, ki se stali zaradi energije mešanja in/ali segrevanja procesne komore. Vezivo lahko na zmes prahov razpršujemo tudi v obliki taline. V obeh primerih se med prašnimi delci tvorijo tekočinski mostovi, ki povzročijo aglomeracijo prahov in nastanek granul (12). Pri granuliranju z razprševanjem taline veziva na prahove nastanejo granule nepravilnih oblik. Če uporabimo vezivo, ki se tali med mešanjem prahov, nastanejo granule sferičnih oblik. Spremembe v obliki granul ne vplivajo na sproščanje ZU, kar so dokazali s sproščanjem ibuprofena iz nastalih formulacij (21). Kritični parametri granuliranja s talinami so čas in hitrost mešanja prahov, velikost delcev veziva ter viskoznost staljenega veziva. Opisan postopek izdelave granul je enostaven in primeren za vgraditev občutljive ZU, saj v postopku nimamo prisotnega topila (12, 21).

1.2.5. Iztiskanje talin

Pomožne snovi s plastičnimi lastnostmi pomešamo z ZU in nastalo zmes uvajamo v napravo za iztiskanje, imenovano ekstrudor. Slednja nam omogoča natančen nadzor T v napravi in hitrost pretoka oz. pomikanja snovi skozi njo. V ekstrudorju se pomožne snovi mešajo s pomočjo vijaka v notranjosti naprave, pri čemer se snovi talijo zaradi višje energije trenja med delci. K taljenju prispeva tudi ogrevanje plašča ekstrudorja. Slednjega vzdržujemo pri T, ki jo izberemo glede na T_g oz. T tališča uporabljenih pomožnih snovi. Nastala homogena zmes taline se nato iztisne skozi matrico v obliki ekstrudata. Slednjega

razrežemo in s pomočjo naprave za krogličenje, imenovane sferonizator, oblikujemo v sferične delce (12). Pri izbiri sestavin formulacije ne smemo pozabiti na plastifikatorje, ki znižajo T_g polimernih pomožnih snovi. Posledično lahko proces izvedemo pri nižji T ogrevanja plašča ekstrudorja, tako imamo z uporabo plastifikatorja natančnejši nadzor T , s katero ogrevamo njegov plač. Ko imamo opravka z ZU, ki je občutljiva na prisotnost običajnih topil, se s procesom iztiskanja talin izognemo tudi uporabi slednjega (22). V preteklosti so kot pomožno snov uporabljali le mikrokristalno celulozo, kateri so dodali lipidne komponente (12). Danes je seznam pomožnih snovi daljši, uporabljali so že Gelucire 44/14 in polivinilpirolidon (22).

1.2.6. Metode s superkritičnimi tekočinami

Superkritične tekočine obstajajo nad kritično T in tlakom. Lastnosti snovi nad kritično mejo T in tlaka so med lastnostmi tekočin in plinov. Tako imajo superkritične tekočine gostoto tekočin ter stisljivost in viskoznost plinov (19). Najpogosteje uporabljamo superkritični ogljikov dioksid, ki je negorljiv, ni toksičen ali eksploziven ter hitro preide kritično mejo T in tlaka ($T_c = 31.1^\circ\text{C}$, $P_c = 73.8$ bar), kar omogoči izvajanje procesa pri milih pogojih (23). Za izdelavo formulacije si pripravimo raztopino ogrodnega materiala v superkritični tekočini pri nadzorovanih pogojih T in tlaka in v tem dispergiramo ZU (12). Pri uvajanju nastale disperzije skozi šobo v procesno komoro, ki vsebuje okoliški zrak, pride do spremembe pogojev procesa. Zaradi ekspanzije superkritične tekočine se zniža tlak, kar povzroči nižjo topnost ogrodnega materiala v superkritični tekočini. Slednji se začne obarjati in v plasteh nalagati na prisotne delce ZU. Formulacijo lahko izdelamo tudi na drugačen način. Pri tem ogrodni material z ZU dispergiramo v primernem organskem topilu in nastalo zmes razpršujemo v superkritično tekočino. Ogrodni material se obori zaradi netopnosti v zmesi organskega topila in superkritične tekočine (16, 19).

2. NAMEN DELA

V magistrski nalogi bomo tekoč SMEDS z vgrajeno modelno ZU s sušenjem z razprševanjem pretvorili v samo-emulgirajoče prahove. Kot modelno ZU bomo uporabili naproksen. Pripravili bomo tekoče SMEDS, ki bodo vsebovali različne koncentracije modelne ZU oz. bomo v tekoče SMEDS poleg modelne ZU dodali tudi različne dodatke (arabski gumi, Aerosil 200 ali magnezijev stearat). Nastale tekoče SMEDS bomo dispergirali v vodni raztopini dveh polimernih nosilcev, maltodekstrina in hidroksipropilmetil celuloze in tako pripravili disperzije za razprševanje. Preverili bomo ali lastnosti nastalih disperzij za razprševanje vplivajo na postopek sušenja in njegov izkoristek. V prahovih izdelanih s sušenjem z razprševanjem bo ZU najverjetneje prisotna v amorfni obliki, ki pa s staranjem vzorcev lahko preide v kristalno stanje. Slednje bomo spremljali z DSC analizo in sicer takoj po izdelavi samo-emulgirajočih prahov ter po enem mesecu shranjevanja vzorcev na sobni temperaturi. Samo-emulgirajoči prahovi morajo obdržati lastnosti tekočih SMEDS, zato bomo s PCS analizo preverili velikost kapljic mikroemulzij nastalih z dispergiranjem tekočih SMEDS v vodnem mediju in jih primerjali z velikostjo kapljic mikroemulzij nastalih z dispergiranjem samo-emulgirajočih prahov. Ob dispergiranju prahov v vodnem mediju bomo vizualno opazovali njihovo sposobnost samoemulgiranja in obarjanje modelne ZU. Izdelanim samo-emulgirajočim prahovom bomo določili pretočne lastnosti, ki pomembno vplivajo na njihovo primernost za polnjenje v trdne kapsule oz. za stiskanje v tablete. Učinkovitost vgrajevanja ZU v pore obeh polimernih nosilcev med procesom sušenja bomo preverili z določitvijo vsebnosti ZU v samo-emulgirajočih prahovih s HPLC analizo. Za vse trdne formulacije bomo izvedli tudi preskus sproščanja ZU, saj pričakujemo, da bomo z vgradnjo ZU v samo-emulgirajoče prahove povečali tako hitrost kot tudi obseg sproščanja ZU.

3. MATERIALI IN METODE

3.1. MATERIALI

3.1.1. Sestavine tekočega SMEDS

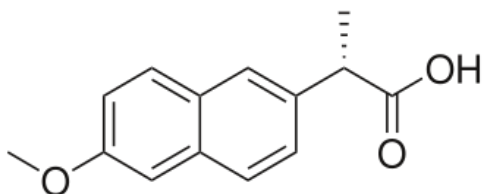
Gelucire[®] 44/14 (Gettefosé, Francija) je zmes mešanih gliceridov, mono- in diestrov s polietilenglikolom (PEG) ter prostega PEG. Kemijsko je makrogolglicerol lavrat, pridobljen iz hidrogeniranega palmovega olja. Je poltrden vosek bele barve, brez vonja in nevtralnega okusa. Števili ob imenu označujeta T tališča (44 °C) in HLB število (14). Gelucire[®] 44/14 je neionski hidrofilni emulgator z zmožnostjo samoemulgiranja ob prisotnosti vode, zato se uporablja pri tvorbi SMEDS. *In vitro* ter *in vivo* omogoča višjo topnost in omočenje ZU. *In vivo* izboljša biološko uporabnost, saj zavira enterocitni efluks (P-gp) in metabolizem (CYP3A4). Zaradi naštetih lastnosti se v farmaciji uporablja kot pomožna snov, solubilizator, emulgator in pospeševalec absorpcije. Primeren je tudi za polnjenje v trdne želatinske kapsule. Gelucire[®] 44/14 je varen pri peroralni uporabi (24, 25).

Solutol[®] HS 15 (BASF, ChemTrade GmbH, Nemčija) je zmes mono- in diestrov 12-hidroksistearinske kisline ter prostega PEG. Kemijsko je makrogol-15-hidroksistearat, pridobljen z reakcijo 12-hidroksistearinske kisline z etilenoksidom. Solutol[®] HS 15 je belo rumene barve in poltrdne konsistence, ki postane tekoča pri T okrog 30 °C. Je neionski hidrofilni emulgator s HLB številom 14 – 16. Njegova topnost v vodi je odvisna od T; višja kot le-ta je, nižja je solubilizacija Solutol[®] HS 15 v vodi. V farmaciji se uporablja kot solubilizator hidrofobnih ZU, najpogosteje za solubilizacijo v maščobah topnih vitaminov. Lahko se aplicira peroralno in tudi parenteralno, saj je netoksičen (26, 27).

Peceol[™] (Molekula Limited, Velika Britanija) je kemijsko gliceril monooleat. Je viskozna tekočina, rumeno rjave barve z rahlim vonjem. Uporablja se kot oljni vehikel, ki ima tudi površinsko aktivne lastnosti (HLB število 3). Ima dobre solubilizacijske lastnosti in se zato uporablja za vgrajevanje lipofilnih ZU v peroralne farmacevtske oblike. Ker Peceol[™] vsebuje dolgoverižne maščobne kisline, ki spodbujajo absorpcijo direktno v limfni obtok, izboljša biološko uporabnost vgrajenih lipofilnih ZU. Primeren je tudi za polnjenje v trde ali mehke želatinske kapsule (28).

Migliol[®] 812 (Sasol GmbH, Nemčija) je zmes nasičenih srednjedolgoverižnih trigliceridov kaprilne in kaprinske maščobne kisline, pridobljenih iz kokosovega in palmovega olja. Je bistra tekočina, rahlo rumene barve, nevtralnega vonja in okusa. Miglyol[®] 812 ni občutljiv na oksidacijo ali na spremembe T. Ker vsebuje zelo nizko količino vode, tudi ni občutljiv na hidrolizo ali mikrobiološko razgradnjo. Ima dobre solubilizacijske lastnosti, emolientni učinek, je biorazgradljiv in se meša z naravnimi olji in PAS. V peroralnih pripravkih se večinoma uporablja kot nosilec in pospeševalec absorpcije. Ne povzroča draženja na koži ali obeh in nima neželenih učinkov (29).

Naproksen (Krka, Slovenija) je nesteroidni antirevmatik s protibolečinskim, protivnetnim in protivročinskim delovanjem. Deluje preko zaviranja encimov ciklooksigenaz in tako zmanjšuje koncentracijo prostaglandinov v telesu. Naproksen je bel, kristaliničen prašek, praktično netopen v vodi, brez vonja, z molsko maso 230,3 g/mol in s talilnim intervalom 154 – 158 °C. Je derivat 2-propionske kisline, šibka organska kislina s pKa vrednostjo 4,2. Iz črevesja se dobro absorbira, v plazmi je v 99 % vezan na plazemske beljakovine, presnovi se v jetih do bolj hidrofilnih produktov (konjugat z glukuronsko kislino in 6-O-dimetilnaproksen), ki se nato izločijo z urinom skozi ledvica. Ne draži oči in kože, ne povzroča preobčutljivosti, akutna toksičnost je bila določena na miših z LD₅₀ 360 mg/kg (30, 31).



Slika 3: Kemijska formula naproksena.

3.1.2. Sestavine za pretvorbo tekočega SMEDS v trdno agregatno stanje

Aerosil 200 (Lek, Slovenija) je brezvodni amorfni koloidni silicijev dioksid z velikostjo delcev okrog 15 nm in specifično površino okrog 200 ± 25m²/g. Je lahek, bel prašek, brez vonja in okusa, praktično netopen v vodi. Uporablja se kot adsorbent, antiadheziv, razgrajevalo, zgoščevalo in stabilizator emulzij. Lahko draži kožo in oči (31, 32).

Magnezijev stearat (Lex, Slovenija) je magnezijeva sol stearinske kisline, ki jo Evropska farmakopeja opisuje kot zmes magnezijevih soli stearinske in palmitinske kisline. Je bel, lahek prašek, z vonjem po stearinski kislini, masten na otip in netopen v vodi. V farmaciji se uporablja kot drsilo v trdnih farmacevtskih oblikah (pravo drsilo, mazivo in antiadheziv). Je netoksičen po peroralni uporabi (31, 33).

Arabski gumi (Lek, Slovenija) je zmes oligosaharida arabinogalaktana, polisaharidov in glikoproteinov. Je bel prašek, brez vonja, topen v vodi. V farmaciji se uporablja kot vezivo v trdnih farmacevtskih oblikah, kot stabilizator v koloidnih raztopinah in suspenzijah ter kot anionski emulgator pri pripravi emulzij tipa O/V (34).

Maltodekstrin (DE: 13,0 - 17,0) (Sigma-Aldrich, ZDA) je oligosaharid, pridobljen z delno hidrolizo škroba s pomočjo kisline ali encimov. Monomerne enote D-glukoze, so povezane z $\alpha(1\rightarrow4)$ glikozidnimi vezmi v osnovno verigo, iz nje pa se z $\alpha(1\rightarrow6)$ vezmi odcepljajo stranske verige. Je higroskopen prašek, bele barve, brez vonja in rahlo sladkega okusa. Maltodekstrini so klasificirani glede na ti. DE število, ki pomeni dekstrozni ekvivalent. DE je merilo za količino prisotnih reducirajočih sladkorjev v primerjavi z glukozo in zavzema vrednosti med 3 in 20. Višje kot je DE število, krajša je veriga maltodekstrina sestavljena iz glukoznih enot, višji sta sladkost in topnost maltodekstrina ter višja je njegova termostabilnost. V farmaciji se maltodekstrin uporablja kot polnilo za izdelovanje prahov, tablet, kapsul ter kot vehikel za pripravo sirupov in raztopin. V literaturi ni podatkov o njegovi akutni toksičnosti, lahko pa draži kožo, oči in dihala (35, 36).

HPMC (5 cP) (Krka, Slovenija) je hidroksipropilmetil celuloza, derivat celuloze, pri katerem so monomerne enote D-glukoze povezane z $\beta(1\rightarrow4)$ glikozidnimi vezmi. Hidroksilne skupine na glukozni enoti so zaetrene s hidroksipropilnimi in metilnimi skupinami. HPMC pridobivajo z obdelavo celulozne pulpe. Topna je v polarnih topilih, v vodi koloidno nabreka in s temperaturo reverzibilno prehaja iz sol v gel stanje. Na tržišču klasificirajo HPMC glede na viskoznost. Pri delu smo uporabili HPMC z viskoznostjo 5 cP, ki se v farmaciji uporablja kot nosilec, vezivo, sredstvo za oblaganje, zgoščevalo v trdnih farmacevtskih oblikah in kot emulgator ter stabilizator (37).

3.1.3. Uporabljeni pripomočki

Preglednica III: Uporabljeni pripomočki pri eksperimentalnem delu.

pripomočki	proizvajalec
precizna tehtnica	Tehtnica Železniki, Slovenija
analitska tehtnica	XS 250 Mettler Toledo, Švica AG 245 Mettler toledo, Švica
magnetno mešalo	Rotamix 550, Tehtnica Železniki, Slovenija Rotamix 560, Tehtnica Železniki, Slovenija
grelnik	Rotamix 550, Tehtnica Železniki, Slovenija
mehanska pipeta	mLINE 5000 Pipettors, Biohit, Finska
viskozimeter	Vibro Viscometer SV-10, A&D Company, Japonska
pH meter	S220 SevenCompact™, Mettler Toledo, Švica
elektroda pH metra	In Lab ^R Expert Pro-ISM pH, Mettler Toledo, Švica
naprava za sušenje z razprševanjem	Mini spray dryer B-290, Büchi, Švica
razvlaževalec zraka pri sušenju z razprševanjem	Büchi B-296, Büchi, Švica
naprava za merjenje velikosti	Zetasizer Nanoseries-ZS, Malvern instruments, Velika Britanija
polistirenska kiveta	Standard Cuvettes, Sarstedt, Nemčija
kapalka	Plastibrand [®] Pasteurpipetten PE-LD, Brand GmbH, Nemčija
naprava za merjenje pretočnosti	Dynamic angle tester, Gravo&PRB10, Slovenija
naprava za test sproščanja	VanKel VK 7000 Series, Agilent, ZDA
košarice pri testu sproščanja	VenKel40 Mesh Standard, Agilent, ZDA
avtomatski vzorčevalnik	VanKel VK 8000 Series, Agilent, ZDA
filtri	Full Flow Filters, 10 Mikron, Agilent, ZDA 0,45µm RC, Sartorius Stedium Biotech, Nemčija
kapsule (velikost 0)	Capsule tipo 0 biaco verde, Farmalabor, Italija
brizge (5 ml)	BD Discardit™ II, Becton Dickinson, ZDA
injekcijske igle	Injekcijska igla 768, TIK, Slovenija
naprava za HPLC analizo	HPLC Value system, 1100 Series, Agilent, ZDA
kromatografska kolona	Zorbax Eclipse XDB-C18 colum (4,6 mm×150 mm, 5µm), Agilent, ZDA
naprava za DSC analizo	DSC1 STARe System, Mettler Toledo, Švica

3.2. METODE

3.2.1. Priprava tekočega SMEDS

Izhajali smo iz lipidne formulacije, ki je bila razvita na Katedri za farmacevtsko tehnologijo, Fakultete za farmacijo (38). Uporabili smo 40 % emulgatorske faze (Gelucire[®] 44/14 in Solutol[®] HS 15 v razmerju 1:1) in 60 % oljne faze (Peceol™ in Migliol[®] 812 v razmerju 1:1). Na analitski tehtnici smo zatehtali ustrezne količine emulgatorske in oljne faze v stekleno čašo ter zmes ob mešanju segreti na ~ 50 °C. Ko so se stalile vse komponente, smo zmes mešali na magnetnem mešalu še 20 – 30 min na isti temperaturi.

V tako pripravljene raztaljene tekoči SMEDS smo vključili modelno ZU in različne dodatke. Za pripravo formulacije, ki je vsebovala le modelno ZU, smo v tekoči SMEDS vključili 6, 18 in 36 % m/m ZU. Natehtali smo ustrezno količino ZU v tekoči SMEDS in mešali ob segrevanju še 1 h, da se je vsa ZU raztopila. Za pripravo formulacij z različnimi dodatki, smo v tekoči SMEDS z ZU dodali še ustrezne količine le-teh. Za pripravo formulacije, ki je vsebovala 2 % m/m Aerosila 200, smo v tekoči SMEDS z ZU dodali ustrezno količino Aerosila 200 in mešali ob segrevanju 2 h. Za pripravo formulacije, ki je vsebovala kombinacijo 1 % m/m Aerosila 200 in 1 % m/m magnezijevega stearata, smo v tekoči SMEDS z ZU najprej dodali ustrezno količino magnezijevega stearata, mešali ob segrevanju 30 min, nato dodali ustrezno količino Aerosila 200 in mešali še 2 h. Tako pripravljene zmesi smo nato uporabili za pripravo disperzij za razprševanje (poglavje 3.2.2.1.).

Za pripravo formulacije, ki je kot dodatek vsebovala arabski gumi, smo uporabili suspendirajoči postopek izdelave. Tekoči SMEDS z modelno ZU smo dodali v pateno k natehtanemu arabskemu gumiju in nato počasi dodajali 10 % vodno raztopino maltodekstrina ob stalnem mešanju. Zmes smo pustili mešati čez noč ob segrevanju na ~ 30 °C. Tako smo že pripravili disperzijo za razprševanje.

3.2.2. Priprava disperzije za razprševanje in vrednotenje njenih lastnosti

3.2.2.1. Priprava disperzije za razprševanje

Pripravili smo vzorce z dvema različnima nosilcema, z maltodekstrinom (DE: 13,0 – 17,0) (MD) in hidroksiipilmetil celulozo (5 cP) (HPMC). Tekoči SMEDS in nosilec sta bila v razmerju 1:2, ki se je v predhodnem raziskovalnem delu na Katedri za farmacevtsko tehnologijo, Fakultete za farmacijo, izkazalo kot optimalno.

V prvem sklopu priprave vzorcev smo v erlenmajerico natehtali 10 g MD in ga raztopili v 100 ml destilirane vode. Pripravljeno 10 % raztopino smo mešali na magnetnem mešalu ~ 15 min ob rahlem segrevanju. Nato smo v pripravljeno raztopino MD zatehtali 5 g raztaljenega tekočega SMEDS in disperzijo mešali še 30 min ob segrevanju na ~ 50 °C.

Za drug sklop vzorcev smo uporabili 5 % vodno raztopino HPMC. V erlenmajerico smo natehtali 10 g HPMC in jo postopoma dispergirali v 200 ml destilirane vode. Najprej smo uporabili $\sim \frac{1}{3}$ celotne količine destilirane vode in v njej dispergirali HPMC. To smo mešali na magnetnem mešalu 1 h brez segrevanja, da se je HPMC popolnoma omočila. Nato smo dodali še preostalo destilirano vodo, mešali 10 min, dodali 5 g raztaljenega tekočega SMEDS in mešali še 30 min pri temperaturi ~ 40 °C.

3.2.2.2. Merjenje viskoznosti disperzije za razprševanje

Najprej smo pripravili disperzijo za razprševanje (poglavje 3.2.2.1.). V merilno posodico viskozimetra A&D Vibro Viscometer SV-10 smo odlili 10 ml le-te disperzije in pomerili viskoznost pri temperaturi $24,5 \pm 0,5$ °C. Merilne vilice viskozimetra smo pred meritvijo umerili na zraku, kot standardno raztopino smo uporabili destilirano vodo. Pri meritvi viskoznosti smo pazili, da v merilni posodici ni bilo ostankov vode ali celuloznih niti papirnate brisače, ki bi ostale po čiščenju posodice viskozimetra, saj bi to vplivalo na meritve.

3.2.2.3. Merjenje vrednosti pH disperzije za razprševanje

Najprej smo pripravili disperzijo za razprševanje (poglavje 3.2.5.1.) in le-tej ob stalnem mešanju direktno pomerili pH vrednost s pomočjo pH metra Mettler Toledo S220 SevenCompact™ z elektrodo In Lab^R Expert Pro-ISM. Pazili smo, da z direktnim vstavljanjem pH elektrode v disperzijo, nismo vnašali nečistoč v vzorec.

3.2.3. Merjenje velikosti kapljic mikroemulzije

3.2.3.1. Merjenje velikosti kapljic mikroemulzije nastale po dispergiranju tekočega SMEDS v vodni fazi

Velikost kapljic smo izmerili s pomočjo PCS analize. V čašo smo zatehtali 0,5 g tekočega SMEDS, ga redčili z 10 ml destilirane vode, ki smo jo predhodno segreli na ~ 37 °C in mešali disperzijo na magnetnem mešalu ~ 5 min. S plastično kapalko smo odvzeli ustrezno količino pripravljene mikroemulzije in jo prenesli v polistirensko kiveto. Pazili smo, da v kivetu ni bilo zračnih mehurčkov, da smo kiveto pred vstavljanjem v napravo za merjenje velikosti dobro obrisali s papirnatimi brisačami in da na steni kivetu niso ostale celulozne

ni papirnatih brisač. V meniju računalniškega programa smo izbrali sledeče pogoje: $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, viskoznost = 0,8872 mPas (predpostavili smo, da je disperzni medij voda), refrakcijski indeks = 1,330, medij uporabljen pri meritvi = voda, uporabljena kiveta = »disposable sizin cuvette«, čas ekvilibracije = 30 s, število ponovljenih meritev = 2. Po vstavitvi kivete v napravo smo izvedli meritev pri prej navedenih pogojih. Pridobili smo rezultat velikosti kapljic v nanometrih in PDI, ki je merilo monodisperznosti nastale mikroemulzije.

Proučevali smo tudi vpliv obsega redčenja SMEDS na velikost kapljic nastale mikroemulzije. V ta namen smo po zgornjem postopku pripravljeno mikroemulzijo še dodatno redčili z vodno fazo. S pipeto smo odvzeli 1 ml le-te mikroemulzije in jo v čaši redčili s 5 ml destilirane vode predhodno segrete na $\sim 37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Nastalo mikroemulzijo smo še naprej redčili z vodo, tako da smo vzeli 4 ml nastale mikroemulzije in jo redčili z 10 ml segrete destilirane vode. Obema mikroemulzijama smo pomerili velikost kapljic in PDI po zgoraj opisanem postopku.

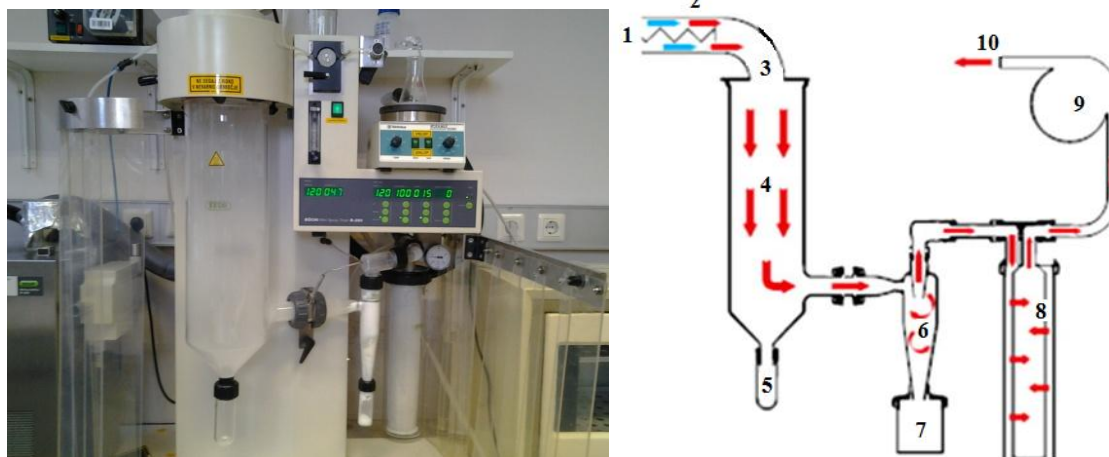
3.2.3.2. Merjenje velikosti kapljic mikroemulzije nastale po dispergiranju samo-emulgirajočih prahov v vodni fazi

V čašo smo zatehtali 0,5 g pripravljenih samo-emulgirajočih prahov (poglavje 3.2.4.) in jih raztopili v 10 ml destilirane vode predhodno segrete na $\sim 37\text{ }^{\circ}\text{C}$. V drugem delu poskusa smo v čašo zatehtali 1 g prahov in jih dispergirali v 250 ml segrete destilirane vode. Meritev velikosti kapljic nastalih mikroemulzij smo izvedli po že opisanem postopku (poglavje 3.2.3.1.).

3.2.4. Pretvorba tekočih SMEDS v trdno obliko

Za pretvorbo tekočih SMEDS v trdno obliko smo uporabili tehnologijo sušenja z razprševanjem. Na sliki 4 sta predstavljena sušilnik Büchi Mini Spray Dryer B-290 in shema sušenja z razprševanjem. Kot sušilni plin smo uporabili stisnjen zrak, ki smo ga pred vstopom v sušilno komoro razvlažili in segreli na $120\text{ }^{\circ}\text{C}$. Stisnjen zrak smo v sušilno komoro uvajali skozi zunanji del dvokanalne šobe pri nastavitvi rotametra na 50 mm, kar ustreza hitrosti pretoka $1,002 \times 10^4$ ml/min. S pomočjo peristaltične črpalke smo v sušilno

komoro uvajali disperzijo za razprševanje skozi notranji del dvokanalne šobe. Hitrost črpanja disperzije smo nastavili na 15 %, kar ustreza 4,5 ml/min.



Slika 4: Levo: sušilnik Büchi Mini Spray Dryer B-290; desno: shema sušenja z razprševanjem (1 – vstop zraka, 2 – grelnik zraka, 3 – vstop zraka v sušilno komoro skozi dvokanalno šobo, 4 – sušilna komora, 5 – zbiralna posoda večjih delcev, 6 – ciklon, 7 – zbirna posoda produkta, 8 – filter, 9 – aspirator, 10 – izstop zraka v digestorij).

Disperzije za razprševanje, ki so vsebovale 6 % m/m modelne ZU, smo med procesom sušenja mešali na magnetnem mešalu ob segrevanju na 40 – 50 °C. Disperzije, ki so vsebovale 18 oz. 36 % m/m modelne ZU, smo mešali z višjo frekvenco, segrevanje pa obdržali na enaki stopnji, saj smo pri začetnih poskusih opazili temperaturno odvisnost sistemov. Aspirator smo nastavili na 100 %, kar ustreza pretoku zraka 35 m³/h. Sušilni zrak smo nato vodili preko filtra v digestorij. Ciklon smo v nekaterih poskusih predhodno obložili s smukcem, ki je izboljšal pretočnost nastalih delcev, da le-ti niso zastajali v ciklonu, ampak so se zbirali v zbirni posodi pod njim. Preglednica IV prikazuje sestavo vseh pripravljenih vzorcev in uporabo smukca pri pretvorbi tekočih SMEDS v trdno obliko.

Po pretvorbi v trdno obliko smo zbrali produkt iz zbirne posode in iz ciklona. Vizualno smo ovrednotili nastale delce in po enačbi 1 izračunali izkoristek sušenja (η [%]), kjer oznaka m_Z označuje maso produkta v zbirni posodi [g], m_C maso produkta v ciklonu [g], m_N maso nosilca [g] in m_{iSMEDS} označuje maso tekočega SMEDS v pripravljene disperziji za razprševanje [g].

$$\eta = \frac{(m_Z + m_C)}{(m_N + m_{tSMES})}$$

Enačba 1

Preglednica IV: Sestava disperzij za razprševanje in uporaba smukca za obložitev sten ciklona pri sušenju z razprševanjem.

tekoči SMEDS	ZU (% , m/m)	dodatki	uporabljeni nosilec	uporaba smukca	
5 g	0	brez dodatkov	10 % maltodekstrin	ne	
	6			ne	
	6			da	
	18			ne	
	18			da	
	36			ne	
	0	arabski gumi 10 g		ne	
	6			ne	
	0	2 % m/m Aerosila 200		da	
	6			da	
	18			da	
	0	1 % m/m Aerosila 200 1 % m/m magnezijevega stearata		da	
	6			da	
	18			da	
	0	brez dodatkov		5 % HPMC	da
	6				da
	18				da

3.2.5. Določevanje pretočnih lastnosti trdne oblike z metodo vrtečega bobna

Pridobljenim samo-emulgirajočim prahovom smo določili pretočne lastnosti z napravo Gravo&PRB10 Dynamic angle tester, ki je bila razvita v sodelovanju s Katedro za farmacevtsko tehnologijo, Fakultete za farmacijo. Vzorcem, ki imajo zelo slabo pretočnost in ne tečejo, ne moremo določiti pretočnega časa skozi poseben lij, ki ga predpisuje Evropska farmakopeja (31). Zato si lahko pomagamo z določitvijo dinamičnega nasipnega kota, kar so uporabili pri načrtovanju naprave za določevanje pretočnosti.

Najprej smo vzorce samo-emulgirajočih prahov homogenizirali v terilnici s pestilom in jih pretresli v stekleni del kovinskega koluta naprave. Napolnili smo polovico steklenega dela, kar je ustrezalo masi ~ 1,5 g samo-emulgirajočih prahov. Hitrost vrtenja koluta smo nastavili na 2, kar pomeni dva obrata koluta (kot 720°) v minuti. S pomočjo kotomera na

zadnji strani kovinskega koluta smo izmerili kot, ko se vzorec zaradi vrtenja koluta prelomi (zgornji dinamični nasipni kot) in kot, ki ga tvori vzorec, ko pade na spodnjo steno koluta (spodnji dinamični nasipni kot). Pretočne lastnosti smo določili tudi naslednjim fizikalnim zmesem: fizikalna zmes modelne ZU in MD v razmerju 1:1, modelne ZU z 2 % m/m Aerosila 200, modelne ZU z 1 % m/m Aerosila 200 in 1 % m/m magnezijevega stearata ter fizikalna zmes modelne ZU in HPMC v razmerju 1:1.

V drugem delu poskusa smo vzorcem dodali drsila za povečanje pretočnosti. Dodali smo 1 % m/m Aerosila 200 in 1 % m/m magnezijevega stearata. V terilnici smo najprej homogeno zmešali prahove po pravilu rastočih mas in znova pomerili zgornji ter spodnji dinamični nasipni kot.

3.2.6. Določevanje vsebnosti modelne zdravilne učinkovine v tekočem SMEDS in v samo-emulgirajočih prahovih

3.2.6.1. Priprava vzorcev in standardov za določevanje vsebnosti modelne zdravilne učinkovine

Za pripravo vzorcev smo uporabili pripravljene samo-emulgirajoče prahove, ki smo jih raztopili v 50 ml pripravljenega 70 % etanola. Glede na koncentracijo modelne ZU v tekočem SMEDS pred pretvorbo v trdno obliko smo zatehtali različne mase samo-emulgirajočih prahov, kot je prikazano v preglednici V. Pripravili smo tudi vzorec za določitev vsebnosti modelne ZU v tekočem SMEDS s 6 % m/m koncentracijo modelne ZU. Ustrezno maso tekočega SMEDS (preglednica V) smo raztopili v 10 ml pripravljenega 70 % etanola. Vse pripravljene vzorce smo prefiltrirali skozi 0,45 µm RC filtre v vialo in jih analizirali (poglavje 3.2.6.2.). Vsak vzorec smo analizirali v treh paralelah.

Preglednica V: Sestava vzorcev za določitev vsebnosti modelne zdravilne učinkovine.

koncentracija modelne ZU v tekočem SMEDS (m/m %)	masa tekočega SMEDS (mg)	masa samo-emulgirajočih prahov (mg) po sušenju tekočega SMEDS	70 % etanol (ml)
6	/	60	50
18		50	
36		20	
6	20	/	10

Umeritveno premico smo izdelali s pomočjo standardnih raztopin naproksena. Osnovno raztopino standarda smo pripravili tako, da smo točno natehtali približno 15 mg naproksena in ga raztopili 100 ml 70 % etanola. Tako pripravljeno osnovno raztopino smo nato nadalje redčili s 70% etanolom v razmerju 5/10, 1/10, 1/100, 1/250. Pripravljene standarde smo skozi 0,45 µm RC filtre prefiltrirali v vialo in jih analizirali s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti. Iz površin pod kromatografskimi signali in znanih koncentracij modelne ZU smo določili umeritveno premico predstavljeno z enačbo 2.

$$A = k \times c + n$$

Enačba 2

V splošni obliki enačbe A predstavlja površino pod kromatografskim signalom, c označuje koncentracijo modelne ZU v vzorcu oz. standardu, k naklon premice in n odsek na ordinatni osi.

3.2.6.2. Analiza vsebnosti modelne zdravilne učinkovine s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (angl. high-performance liquid chromatography, HPLC)

Kromatografski pogoji in priprava mobilne faze

Za HPLC analizo smo uporabili kolono Zorbax Eclipse XDB-C18 colum (4,6 mm×150 mm, 5µm), temperirano na 25 °C. Pretok mobilne faze skozi kolono smo uravnali na 1,5 ml/min, injicirali smo 20µL pripravljenih vzorcev oz. standardov in slednje detektirali pri valovni dolžini 270 nm. Mobilna faza je bila sestavljena iz 20 % metanola (MeOH), 28 % acetonitrila (CH₃CN), 52 % bidestilirane vode in 0,4 ml/L trietilamina (Et₃N). Zmešali smo bidestilirano vodo (pridobljena z dvojno destilacijo na Katedri za biofarmacijo in farmakokinetiko, Fakulteta za farmacijo) in Et₃N (Fluka, ZDA) v ustreznem razmerju glede na količino potrebne mobilne faze, uravnali pH na vrednost 3,2 na 0,05 enote natančno z dodajanjem 85 % ortofosforne kisline (Merck, Nemčija) ter dodali še ustrezni količini MeOH (Merck, Nemčija) in CH₃CN (Merck, Nemčija) (39).

Analiza rezultatov

Iz površin pod kromatografskimi signali smo s pomočjo umeritvene premice določili koncentracijo modelne ZU v vzorcu. Ker smo poznali maso natehtanih samo-emulgirajočih prahov smo lahko izračunali povprečni odstotek vsebnosti modelne ZU v pripravljenih trdnih oblikah.

Uporabljene enačbe so predstavljene v nadaljevanju.

$$c_n = A_n - n/k \quad \text{Enačba 3}$$

c_n predstavlja koncentracijo n-tega vzorca [mg/L], A_n površino pod kromatografskim signalom n-tega vzorca, k naklon premice in n odsek na ordinatni osi.

$$m_{ZU} = c_n \times V \quad \text{Enačba 4}$$

m_{ZU} označuje maso modelne ZU [mg], c_n koncentracijo n-tega vzorca [mg/L] in V volumen uporabljene steklene bučke [L].

$$\% = m_{ZU}/m_n \quad \text{Enačba 5}$$

% predstavlja odstotek modelne ZU, m_{ZU} maso modelne ZU [mg] in m_n maso zatehte n-tega vzorca [mg].

3.2.7. Preskus sproščanja modelne zdravilne učinkovine

3.2.7.1. Priprava vzorcev za preskus sproščanja

Pri pripravi vzorcev smo upoštevali, da koncentracija modelne ZU v mediju za raztapljanje ne sme preseči 30 % nasičene topnosti; slednja je bila za uporabljeno formulacijo predhodno določena na Katedri za farmacevtsko tehnologijo, Fakultete za farmacijo (38). Potrebne zatehte za posamezni vzorec smo izračunali na osnovi vsebnosti modelne ZU v posameznih vzorcih, ki smo jih določili s HPLC analizo (poglavje 3.2.6.). Pri analizi vzorcev, ki so vsebovali 6, 18 in 36 % m/m modelne ZU v tekočem SMEDS pred pretvorbo v trdno obliko, smo tako natehtali 150, 100 oz. 60 mg pripravljenih samo-emulgirajočih prahov v trdne želatinske kapsule. Izvedli smo tudi preskus sproščanja modelne ZU iz tekočega SMEDS; v tem primeru smo v trdne želatinske kapsule natehtali 20 mg vzorca s 6 % m/m vsebnostjo modelne ZU. Vsak vzorec smo pripravili v 3 paralelah.

3.2.7.2. *Preskus sproščanja*

Priprava pufru s pH 1,2

Za pripravo 1 L pufru smo zmešali 250 ml 0,2 M raztopine kalijevega klorida (KCl) in 425 ml 0,2 M raztopine klorovodikove kisline (HCl). Nato smo uravnali pH vrednost na 0,05 enote natančno z dodajanjem standardnih 0,2 M kalijevega hidroksida (KOH) in 0,2 M HCl ter dopolnili s prečiščeno vodo.

0,2 M raztopina KCl: zatehtali smo ustrezno količino soli KCl (Merck, Nemčija) in jo popolnoma raztopili v prečiščeni vodi.

0,2 M raztopina HCl: pripravili smo jo iz 0,1 M raztopine HCl z redčenjem s prečiščeno vodo. 0,1 M raztopino HCl smo pripravili z mešanjem koncentrirane (37 %) HCl (Merck, Nemčija) in prečiščene vode.

Priprava pufru s pH 6,8:

Za pripravo 1 L pufru smo zmešali 250 ml 0,2 M raztopine kalijevega dihidrogenfosfata (KH_2PO_4) in 112 ml 0,2 M raztopine natrijevega hidroksida (NaOH). Uravnali smo pH na 0,05 enote natančno z dodajanje standardnih raztopin 0,2 M HCl in 0,2 M NaOH in dopolnili s prečiščeno vodo.

0,2 M raztopina KH_2PO_4 : zatehtali smo ustrezno količino soli KH_2PO_4 (Merck, Nemčija) in jo popolnoma raztopili v prečiščeni vodi.

0,2 M raztopina NaOH: zatehtali smo ustrezno količino NaOH (Merck, Nemčija) in ga popolnoma raztopili v prečiščeni vodi.

Izvedba preskusa sproščanja

Preskus smo izvedli v napravi za sproščanje s košaricami (aparatura 1 po Evropski farmakopeji (31)) v vodnih medijih s pH vrednostjo 1,2 in 6,8. V 6 procesnih posod smo odmerili po 900 ml medija in nastavili T vodne kopeli na 37,5 °C. V vsako izmed šestih košaric smo vstavili z vzorcem napolnjeno kapsulo in jih potopili v procesne posode z medijem. Ko so bile košarice v najnižji legi smo vključili avtomatski vzorčevalnik z nastavljenimi časi vzorčenja in volumnom odvzetega vzorca. Nastavljeni časi vzorčenja so

bili 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180 in 240 min za preskuse z medijem s pH 1,2; sproščanje v pufru s pH 6,8 pa smo izvajali 75 min. Nastavljen volumen odvzetega vzorca je bil 5 ml. Istočasno z vključitvijo vzorčevalnika so se začele vrteti košarice v procesnih posodah, hitrost vrtenja smo predhodno nastavili na 100 obratov/min. Avtomatski vzorčevalnik je po opisanem programu odvezal vzorce iz procesnih posod preko igel za vzorčenje, na katere smo namestili filtre velikosti 10 μm . Odvzete vzorce smo nato še skozi 0,45 μm RC filtre prefiltrirali v steklene viala in jim določili koncentracijo ZU s pomočjo HPLC analize (poglavje 3.2.6.2.).

Analiza rezultatov

Iz površin pod kromatografskimi signali smo s pomočjo umeritvene premice in znanih zateht samo-emulgirajočih prahov v kapsule določili odstotek sproščene modelne ZU. Uporabljene enačbe za določitev profila sproščanja so predstavljene v nadaljevanju.

Iz enačbe umeritvene krivulje (enačba 2) smo določili koncentracijo [mg/L] sproščene modelne ZU v določeni časovni točki. Nato smo z enačbo 6 določili maso sproščene modelne ZU v posameznih časovnih točkah z upoštevanjem, da z vsakim odvzetim volumnom vzorca, ki ga nismo nadomestili z novim medijem, odvezamo tudi določeno maso že sproščene modelne ZU.

$$m_n = c_n \times V_n + V_{vz} \times (c_1 + c_2 + c_3 + \dots + c_{n-1}) \quad \text{Enačba 6}$$

V enačbi 6 označuje m_n maso sproščene modelne ZU [mg] n-tega zaporednega vzorca, c_n predstavlja koncentracijo n-tega vzorca [mg/L] pridobljeno iz umeritvene premice, V_{vz} volumen vzorčenja (0,005 L), $c_{[1 \rightarrow (n-1)]}$ predstavlja koncentracije že sproščene modelne ZU do določene časovne točke t_n in V_n volumen v posodi ob odvzemu n-tega vzorca ob času t_n . Volumen V_n smo izračunali po enačbi 7, kjer V_z označuje začetni volumen (900ml), V_{vz} volumen odvzetega vzorca (5 ml), n pa zaporedno število vzorčenja.

$$V_n = V_z - V_{vz} \times (n - 1) \quad \text{Enačba 7}$$

Nato smo odstotek sproščene modelne ZU izračunali po enačbi 8, kjer m_n označuje maso sproščene modelne ZU [mg] n-tega zaporednega vzorca in D označuje celokupni odmerek ZU v vzorcu [mg], ki smo ga izračunali iz znane zatehte trdnega produkta v kapsuli in odstotka vsebnosti modelne ZU.

$$\% = m_n/D \times 100$$

Enačba 8

3.2.8. Diferenčna dinamična kalorimetrija

Za analizo formulacij z DSC smo natehtali 3 do 5 mg trdnih SMEDS v DSC lončke iz aluminija, velikosti 40 μ L. Pazili smo, da so bili prahovi v lončku enakomerno porazdeljeni po celotni površini dna. V DSC lončke smo natehtali vse pripravljene trdne samo-emulgirajoče prahove in naslednje fizikalne zmesi: fizikalno zmes modelne ZU in MD v razmerju 1:1, modelne ZU z 2 % m/m Aerosila 200, modelne ZU z 1 % m/m Aerosila 200 in 1 % m/m magnezijevim stearatom ter fizikalno zmes modelne ZU in HPMC v razmerju 1:1. Meritve termične analize smo izvedli v inertni dušikovi atmosferi s pretokom plina 50 m/min. Posamezen poskus smo razdelili na tri segmente. V prvem smo segrevali vzorce od 0 do 180 °C, v drugem smo vzorce ohladili iz 180 °C na 0 °C, v tretjem segmentu smo vzorce zopet segreli do 180 °C. V vseh treh segmentih smo segrevali s hitrostjo 10 K/min. Vse vzorce smo pomerili ob času 0 in po enem mesecu hranjenja pri sobni temperaturi.

4. REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1. OPREDELITEV LIPIDNE FORMULACIJE

Kot smo že omenili v uvodu magistrske naloge, lahko lipidne formulacije ocenjujemo po več kriterijih. Vizualno smo opazovali sposobnost samoemulgiranja tekočih SMEDS v destilirani vodi, ki je poteklo v nekaj sekundah. Ob dispergiranju tekočih SMEDS v vodi smo opazovali tudi morebitno obarvanje modelne ZU. Slednja se ni oborila v 1 uri po dispergiranju tekočega SMEDS, ki je vseboval 6 % m/m modelne ZU. Za opredelitev lipidne formulacije smo preverili tudi velikost oljnih kapljic mikroemulzij nastalih z dispergiranjem tekočih SMEDS v vodni fazi. Velikost kapljic mikroemulzije, ki je nastala po dispergiranju tekočega SMEDS s 6 % m/m vsebnostjo ZU je bila večja od 100 nm, kar je mejna vrednost za SMEDS (4). Na tem mestu moramo omeniti, da smo pri izdelavi tekočega SMEDS uporabili sestavine, za katere so predhodno na Katedri za farmacevtsko tehnologijo ugotovili, da vplivajo na povečanje velikosti oljnih kapljic dispergiranega tekočega SMEDS v vodnem mediju. Velikost kapljic ob razvoju formulacije je bila namreč pod 100 nm. Kasneje, ko so zamenjali dobavitelja ene od sestavin, se je velikost oljnih kapljic povečala (38). Za opredelitev lipidne formulacije smo preverjali tudi vpliv redčenja tekočih SMEDS na velikost oljnih kapljic mikroemulzij in ugotovili, da se je velikost kapljic z redčenjem spreminjala. Med pretvorbo tekočega SMEDS v trdno obliko smo ugotovili temperaturno odvisnost formulacije. Z vsemi navedenimi lastnostmi smo dokazali, da lahko nastale tekoče sisteme uvrstimo med tekoče samo-mikroemulgirajoče dostavne sisteme.

4.2. VPLIV VSEBNOSTI MODELNE ZDRAVILNE UČINKOVINE V SMEDS IN SESTAVE DISPERZIJE ZA RAZPRŠEVANJE NA UČINKOVITOST KAPSULIRANJA

V tekoči SMEDS smo vgradili različne deleže modelne ZU (6, 18 in 36 m/m %) z namenom, da bi dosegli čim višjo vsebnost ZU v končnem produktu, ob tem pa ohranili prednosti tekočih SMEDS. Pri najnižji koncentraciji ZU je bila slednja raztopljena v tekočem SMEDS, v primeru vgradnje več kot 6 % ZU pa je bila slednja v sistemu deloma

raztopljen in deloma suspendirana. V nadaljevanju smo pripravili disperzije za razprševanje z dispergiranjem tekočega SMEDS v vodnih raztopinah dveh različnih nosilcev, MD oz. HPMC. Najprej smo tekoči SMEDS dispergirali v 10 % vodni raztopini MD, s čimer so nastale bele, motne disperzije za razprševanje. Hidrofilni polimerni nosilci, med katere spada tudi MD, stabilizirajo nastale trdne prahove po sušenju disperzije za razprševanje. Ker nosilci zmanjšajo mobilnost molekul dispergirane ZU v njih, s tem preprečujejo rekristalizacijo ZU tekom staranja vzorcev. Tako omogočajo izboljšanje topnosti, ker ostane ZU v amorfni stanju znotraj nosilca (14). V primeru, da topnost ZU v tekočem SMEDS ni presežena, ostane ZU v raztopljenem stanju tudi po pretvorbi SMEDS v trdno obliko.

Da bi izboljšali lastnosti trdnih SMEDS z MD kot nosilcem, smo vanje vgradili Aerosil 200, kombinacijo Aerosila 200 in magnezijevega stearata ter arabski gumi. V literaturi omenjajo dodatke gelirnih sredstev (med katere spada Aerosil 200), ki nastale mikroemulzije po dispergiranju tekočega SMEDS stabilizirajo s tvorbo koloidnega gela. Dodatek Aerosila 200 oz. kombinacije Aerosila 200 in magnezijevega stearata so že uporabljali pri pretvorbi lipidnih formulacij v trdno obliko. Aerosil 200 je vplival na zadržano sproščanje učinkovine (14) in je znižal količino nosilcev potrebnih za pretvorbo lipidne formulacije v trdno obliko (40). Kombinacija Aerosila 200 in magnezijevega stearata pa je izboljšala sproščanje in biološko uporabnost flurbiprofena (14). V jedrno fazo tekočega SMEDS smo dodali 2 % m/m Aerosila 200 oz. kombinacijo 1 % m/m Aerosila 200 in 1 % m/m magnezijevega stearata. Tekoči SMEDS z navedenimi dodatki smo dispergirali v 10 % vodni raztopini MD in pripravili disperzije za razprševanje, ki se vizualno niso razlikovale od prej opisanih disperzij za razprševanje brez dodatkov z MD kot nosilcem. Disperzije za razprševanje, ki so vsebovale 10 g arabskega gumija in MD kot nosilec so bile rahlo rumene, bistre in viskozne.

V nadaljevanju smo MD nadomestili z drugim nosilcem. Izbrali smo HPMC, ki je najpogosteje uporabljeni celulozni derivat. Samostojno se lahko uporablja kot stabilizator samo-emulgirajočih dostavnih sistemov. Omogoči tudi boljše močenje trdne formulacije med procesom raztapljanja in s tem poveča biološko uporabnost ZU (10, 14).

Po pripravi disperzij za razprševanje smo proučevali vpliv koncentracije ZU oz. sestave disperzije (vpliv vrste nosilca oz. dodatkov Aerosila 200, magnezijevega stearata ali arabskega gumija) na učinkovitost procesa sušenja z razprševanjem in na vsebnost ZU v

pripravljenih samo-emulgirajočih prahovih. Rezultati so predstavljeni v nadaljevanju poglavja.

4.2.1. Vpliv lastnosti disperzije za razprševanje na proces sušenja z razprševanjem

Preden smo tekoče SMEDS pretvorili v trdne oblike, smo pomerili viskoznost in pH vrednost nastalim disperzijam za razprševanje. Viskoznost disperzije za razprševanje lahko vpliva na postopek pretvorbe tekočega SMEDS v trdno obliko. Že izbira šobe za razprševanje je odvisna od viskoznosti disperzije, ki jo želimo posušiti (14, 15). Pred procesom sušenja z razprševanjem smo zato vsem disperzijam pomerili relativno viskoznost; rezultati so predstavljeni v preglednici VI. V primeru disperzije SMEDS s 6 % ZU in z MD kot nosilcem je bila viskoznost slednje nekoliko nižja kot viskoznost primerljive disperzije, ki ni vsebovala ZU. Predvidevali smo, da bodo disperzije SMEDS z višjo koncentracijo ZU izkazovale višjo viskoznost, saj je ZU v tem primeru v tekoči fazi deloma raztopljena in deloma suspendirana. Iz preglednice VI je razvidno, da z naraščanjem koncentracije ZU v sistemu viskoznost slednjega res nekoliko naraste, vendar sprememba ni bistvena. Pri $T 24,5 \pm 0,5 \text{ } ^\circ\text{C}$ se je viskoznost disperzij za razprševanje tako gibala med vrednostima 1,47 in 1,59 mPas.

Izmerjene viskoznosti disperzij za razprševanje z dodanim Aerosilom 200 so bile pričakovano višje kot viskoznosti disperzij brez dodatkov, kar je tudi razvidno iz preglednice VI. Kot že omenjeno, se Aerosil 200 uporablja kot gelirno sredstvo in zato poveča viskoznost disperzij. V nasprotju s tem so bile viskoznosti disperzij z dodano kombinacijo Aerosila 200 in magnezijevega stearata nižje kot viskoznosti disperzij brez dodatkov. Predvidevamo, da je slednje posledica zamenjave dela mase Aerosila 200 z magnezijevim stearatom, ki se ne uporablja kot zgoščevalo. Viskoznosti disperzij z dodanim arabskim gumijem so bile pričakovano višje v primerjavi z viskoznostjo disperzij brez dodatkov, kar je prikazano v preglednici VI. Arabski gumi je namreč makromolekula, ki se uporablja kot sterični stabilizator (kolooidnih) disperzij; v nastali disperziji zmanjša mobilnost molekul in s tem poveča viskoznost sistema.

Ob zamenjavi nosilca MD s HPMC so bile nastale disperzije že vizualno bolj viskozne od disperzij z MD kot nosilcem. Viskoznosti disperzij za razprševanje s HPMC kot nosilcem (preglednica VI) so se močno povišane v primerjavi z disperzijami z MD kot nosilcem. Z naraščanjem viskoznosti disperzij se je podaljševal čas razprševanja slednjih v sušilno

komoro, kar je bilo najbolj izrazito pri sušenju disperzij s HPMC kot nosilcem. K podaljšanju časa razprševanja disperzij s HPMC kot nosilcem je pripomogel tudi večji volumen slednjih; za pripravo disperzij smo namreč potrebovali 200 ml destilirane vode, da smo lahko pripravili 5 % vodno raztopino HPMC in pri tem ohranili razmerje med nosilcem in tekočim SMEDS, medtem ko je bil volumen disperzij z MD 100 ml. V skladu z literaturnimi podatki se je čas sušenja podaljševal tudi s povišanjem koncentracije ZU v pripravljenih disperzijah za razprševanje (14).

Preglednica VI: Viskoznost in pH vrednost pripravljenih disperzij za razprševanje (ZU – modelna zdravilna učinkovina, AG – arabski gumi, A – Aerosil 200, MgST – magnezijev stearat, MD – maltodekstrin, HPMC – hidroksipropilmetil celuloza).

sestava disperzije za razprševanje		viskoznost disperzije za razprševanje		pH vrednost disperzije za razprševanje	
koncentracija ZU v tekočem SMEDS in koncentracija dodatkov	nosilec	viskoznost (mPas)	T (°C)		
0% ZU	MD	1,50	25,0	4,23	
6% ZU		1,47	24,9	4,07	
18% ZU		1,51	24,1	4,07	
36% ZU		1,59	24,0	4,08	
0% ZU + 10g AG		38,00	24,6	4,43	
6% ZU + 10g AG		36,20	24,2	4,41	
0% ZU + 2% m/m A		1,61	24,1	4,21	
6% ZU + 2% m/m A		1,56	24,6	3,99	
18% ZU+ 2% m/m A		1,66	24,6	3,96	
0% ZU + 1% m/m A + 1% m/m MgST		1,44	25,0	7,23	
6% ZU + 1% m/m A + 1% m/m MgST		1,38	24,4	5,31	
18% ZU+ 1% m/m A + 1% m/m MgST		1,33	24,6	5,18	
0% ZU		HPMC	57,90	24,6	6,30
6% ZU			53,70	24,7	4,88
18% ZU	51,50		24,1	4,92	

Z naraščanjem viskoznosti disperzij in vsebnosti ZU v le-teh je naraščala tudi $T_{izhodna}$ v sušilni komori med procesom sušenjem z razprševanjem. To je bilo v skladu z našimi pričakovanji, saj se z višanjem koncentracije trdne snovi v disperziji povečuje tudi maksimalna T, kateri je izpostavljen produkt (41). Z višanjem koncentracije trdnih snovi v

disperziji se v slednji znižuje količina topila (vode), ki izpareva med sušenjem. Le-to topilo sproti ohlaja sušilno komoro ter preprečuje pregretje komponent sistema. Med procesom sušenja smo morali torej paziti, da SMEDS oz. ZU nismo preveč toplotno obremenili.

Vrednost pH disperzije za razprševanje vpliva na delež ZU, ki je v raztopljenem stanju. Modelna ZU naproksen ima pKa vrednost 4,2. V medijih s pH vrednostjo nižjo od pKa se torej nahaja v neionizirani obliki, kar ima za posledico nižjo topnost ZU in večjo verjetnost obarjanja le-te. Vrednost pH disperzije za razprševanje s SMEDS s 6 % ZU in MD kot nosilcem je bila nižja od pH vrednosti primerljive disperzije brez ZU z MD kot nosilcem. Z naraščanjem vsebnosti modelne ZU v disperziji se pH vrednost ni bistveno spreminjala in je ostala pod pKa vrednostjo modelne ZU, kar je nekoliko v nasprotju z literaturnimi podatki (42). Z vključitvijo dodatkov v disperzijo oz. z zamenjavo nosilca v disperziji za razprševanje se je pH vrednost slednje spreminjala. Ker pH vrednost vpliva na delež raztopljenih ZU, nas je zanimalo, kako se s spremembo pH vrednosti disperzije spreminja vsebnost ZU v trdnem SMEDS po sušenju z razprševanjem. Rezultate smo predstavili v posebnem poglavju (4.2.2.).

4.2.2. Pretvorba tekočih SMEDS v trdno obliko s sušenjem z razprševanjem

Med procesom razprševanja disperzij za razprševanje v sušilno komoro smo opazili obarjanje modelne ZU, čeprav smo disperzije ves čas mešali na magnetnem mešalu in vzdrževali T disperzije na ~ 50°C. V primeru disperzij SMEDS z 18 oz. 36 % ZU smo hitrost mešanja še povečali, saj je bilo sicer obarjanje ZU še bolj izrazito (v disperziji so se namreč pojavili kosmiči pri ohladitvi na sobno T ali pri segrevanju nad 50 °C). Kljub vidnemu obarjanju ZU med procesom sušenja, slednje ni bistveno vplivalo na izkoristek sušenja, ki je bil v primeru sušenja disperzij z ZU in MD v vseh primerih med 71 in 78%. Izkoristek sušenja je nekoliko padal z naraščanjem vsebnosti ZU v tekočem SMEDS in posledično v disperziji za razprševanje (preglednica VII). V literaturi nasprotno trdijo, da se z višanjem koncentracije trdnih delcev v disperziji tvorijo večji prahovi, ki se v ciklonu lažje ločijo od sušilnega plina, zato je izkoristek višji (13). V začetnih poskusih sušenja z razprševanjem smo pričakovano opazili lepljenje prahov na stene ciklona (14). Da bi slednje čim bolj omejili, smo v kasnejših poskusih ciklon obložili s smukcem, kar pa ni vplivalo na izkoristek sušenja z razprševanjem.

Iz preglednice VII je razvidno, da je bil izkoristek sušenja disperzij SMEDS s 6 oz. 18 % ZU z dodatkom Aerosila 200 višji kot izkoristek sušenja primerljivih disperzij brez dodanega Aerosila 200, kar smo pripisali manjšim izgubam med postopkom sušenja. Aerosil 200 namreč zmanjša elektrostatske interakcije med nastalimi prahovi pri sušenju, zato se v sušilni komori niso tvorili večji aglomerati, ki bi se izgubljali v zbirni posodi pod njo (14). Pri sušenju disperzij SMEDS z dodatkom kombinacije Aerosila 200 in magnezijevega stearata smo opazili višji izkoristek kot pri sušenju disperzij brez dodatkov oz. z dodatkom Aerosila 200, kar prikazuje preglednica VII. Med sušenjem teh disperzij smo namreč zasledili manjše izgube nastalih prahov, saj se le-ti niso lepili na stene sušilne komore oz. se izgubljali v zbirni posodi pod njo. Sklepamo, da kombinacija Aerosila 200 in magnezijevega stearata v disperziji učinkovitejše prepreči tvorbo aglomeratov med procesom sušenja kot sam Aerosil 200, kar ugodno vpliva na izkoristek sušenja. Magnezijev stearat se sicer v tehnologiji uporablja kot antiadheziv (npr. pri procesu tabletiranja). V skladu s tem je možno, da magnezijev stearat med procesom sušenja z razprševanjem zniža lepljenje nastalih prahov na stene sušilne komore in tako poveča izkoristek sušenja.

Preglednica VII: Primerjava izkoristka sušenja z razprševanjem pripravljenih disperzij (ZU – modelna zdravilna učinkovina, AG – arabski gumi, A – Aerosil 200, MgST – magnezijev stearat, MD – maltodekstrin, HPMC – hidroksipropilmetil celuloza).

sestava disperzije za razprševanje		sušenje z razprševanjem			
koncentracija ZU v tekočem SMEDS in koncentracija dodatkov	nosilec	zbirna posoda (g)	ciklon (g)	skupaj (g)	izkoristek (%)
0% ZU	MD	3,37	8,36	11,73	78,20
6% ZU		4,18	6,71	10,88	72,39
18% ZU		3,38	7,68	11,06	73,58
36% ZU		1,51	9,14	10,65	71,00
0% ZU + 10g AG		10,89	2,47	13,36	53,40
0% ZU + 2 % m/m A		3,04	8,15	11,19	74,60
6% ZU + 2 % m/m A		5,17	6,64	11,81	78,73
18% ZU+ 2 % m/m A		4,19	7,06	11,25	75,00
0% ZU + 1% m/m A + 1% m/m MgST		3,97	8,12	12,09	80,60
6% ZU + 1% m/m A + 1% m/m MgST		5,04	7,15	12,19	81,27
18% ZU+ 1% m/m A + 1% m/m MgST		4,10	7,38	11,48	76,53
0% ZU		HPMC	1,59	9,81	11,40
6% ZU	1,36		9,79	11,15	74,33
18% ZU	0,95		9,82	10,77	71,80

Pri sušenju disperzij z dodatkom arabskega gumija in z MD kot nosilcem ter pri sušenju disperzij s HPMC kot nosilcem smo opazili močno lepljenje nastalih prahov na steno sušilne komore. V primeru disperzij z dodatkom arabskega gumija in z MD kot nosilcem je to močno vplivalo na padec izkoristka sušenja, medtem kot pri sušenju disperzij s HPMC kot nosilcem tega nismo zaznali (preglednica VII).

Učinkovitost vgrajevanja modelne ZU v trdni SMEDS med procesom sušenja smo preverili s HPLC analizo vsebnosti ZU v trdnih SMEDS. Prahove pripravljene s sušenjem z razprševanjem smo raztopili v 50 ml 70 % etanola, v katerem se raztapljajo tako komponente SMEDS kot tudi modelna ZU in jih analizirali. Na osnovi izračuna smo predvidevali, da bodo trdni SMEDS, ki smo jih pripravili iz tekočih SMEDS s 6, 18 oz. 36 % ZU, teoretično vsebovali maksimalno 2, 6 in 12 % ZU v trdnih SMEDS (ti. teoretična vsebnost). Realna vsebnost ZU v trdnih SMEDS je seveda nižja, saj se zaradi različnih izgub med procesom sušenja ZU ni mogla v celoti vgraditi v nosilec, kar je razvidno iz preglednice VIII. Vsebnosti ZU v trdnih SMEDS so se tako gibale v območju med 1,5 in 3,1 %.

Preglednica VIII: Primerjava teoretične in realne vsebnosti v trdnih SMEDS (ZU – modelna zdravilna učinkovina, AG – arabski gumi, A – Aerosil 200, MgST – magnezijev stearat, MD – maltodekstrin, HPMC – hidroksipropilmetil celuloza).

sestava disperzij za razprševanje		teoretična vsebnost ZU v trdnem SMEDS (%)	realna vsebnost ZU v trdnem SMEDS					
koncentracija ZU v tekočem SMEDS in koncentracija dodatkov	nosilec		ciklon		zbirna posoda		skupaj	
			vsebnost ZU (%)	SD	vsebnost ZU (%)	SD	vsebnost ZU (%)	SD
6% ZU	MD	1,99	1,86	0,01	1,81	0,01	1,82	0,01
18% ZU		5,80	2,18	0,05	1,76	0,12	1,64	0,03
36% ZU		12,00	4,02	0,29	2,05	0,02	3,11	0,13
6% ZU + 2 %m/m A		1,99	1,82	0,04	1,85	0,01	1,76	0,02
18% ZU+ 2 %m/m A		5,80	2,39	0,10	2,23	0,02	2,15	0,04
6% ZU + 1%m/m A + 1%m/m MgST		1,99	1,93	0,02	1,86	0,01	1,87	0,01
18% ZU+ 1%m/m A + 1%m/m MgST		5,80	2,75	0,42	2,21	0,02	2,36	0,03
6% ZU	HPMC	1,99	1,46	0,02	1,59	0,04	1,48	0,01
18% ZU		5,80	2,15	0,31	2,85	0,04	2,46	0,03

Proučevali smo tudi morebiten vpliv vrednosti pH disperzije za razprševanje (predstavljena v poglavju 4.2.1. v preglednici VI) na učinkovitost vgradnje ZU v trdni SMEDS. Izkazalo se je, da pH vrednost disperzije vpliva le na obarjanje ZU v disperziji, še preden slednjo razpršimo v sušilno komoro, medtem ko na vsebnost ZU v trdnem SMEDS ne vpliva. Slednje je najbolj razvidno iz rezultatov vsebnosti ZU v trdnih SMEDS po sušenju disperzij z dodanim Aerosilom 200 (preglednica VIII). Vrednost pH opisanih disperzij je padla pod pKa vrednost modelne ZU (pH v območju pod 4; v tem primeru je ZU v disperziji v neionizirani obliki in možnost obarjanja ZU je večja), vendar se vsebnost ZU v trdnih SMEDS po sušenju disperzij z dodatkom Aerosila 200 ni bistveno spremenila v primerjavi z vsebnostjo ZU v trdnih SMEDS, ki smo jih pripravili iz disperzij brez dodatkov. Iz disperzije SMEDS z 18 % ZU in dodatkom Aerosila 200, ki smo ji izmerili najnižjo vrednost pH (preglednica VI) smo celo pridobili trden SMEDS z eno izmed višjih vsebnosti ZU (preglednica VIII). Možna razlaga je, da je slednje posledica velike specifične površine Aerosila 200, ki tako vpliva na večjo vgradnjo ZU v trdni SMEDS. V disperzijah za razprševanje s $\text{pH} > \text{pKa}$ (preglednica VI) je prevladovala ionizirana oblika ZU, zato smo pri sušenju teh disperzij pričakovali večjo vgradnjo ZU v trdne SMEDS. S HPLC analizo vsebnosti ZU v trdnih SMEDS, ki je prikazana v preglednici VIII, smo potrdili to domnevo. Vsebnost ZU v trdnih SMEDS pripravljenih iz disperzij, ki so vsebovale kombinacijo Aerosila 200 in magnezijevega stearat z MD kot nosilcem, je bila višja v primerjavi z vsebnostjo ZU v trdnih SMEDS brez dodatkov z MD kot nosilcem. Enako je bila vsebnost ZU v trdnih SMEDS s HPMC kot nosilcem višja glede na vsebnost ZU v trdnih SMEDS z MD kot nosilcem. Opisani primerjavi sta najbolj izraziti za trdne SMEDS, ki smo jih pripravili s sušenjem disperzij SMEDS z 18 % ZU.

4.3. VREDNOTENJE LASTNOSTI TRDNIH SMEDS

4.3.1. Pretočne lastnosti trdnih SMEDS

Pretočne lastnosti prahov smo določali z metodo vrtečega bobna, pridobljeni rezultati so predstavljeni v preglednici IX. Ugotovili smo, da so bile pretočne lastnosti trdnih SMEDS z različno vsebnostjo ZU in z MD kot nosilcem bistveno slabše v primerjavi z ustrežno fizikalno zmesjo (ZU:MD = 1:1). Pretočnost trdnega SMEDS, ki smo ga pripravili iz tekočega SMEDS s 6 % ZU, je bila boljša v primerjavi s pretočnostjo trdnega SMEDS brez ZU. Nadaljnje višanje vsebnosti ZU v trdnem SMEDS je rezultiralo v poslabšanju

pretočnih lastnosti prahov. Možno je, da prisotnost oborjene ZU v disperziji za razprševanje vpliva na tvorbo prahov z bolj hrapavo površino. Kohezivne sile med takšnimi prahovi so večje, kar lahko ima za posledico slabšo pretočnost slednjih (42). Pretočnost trdnih SMEDS smo kasneje nekoliko izboljšali z dodatkom drsil. V pripravljene samo-emulgirajoče prahove smo dodali 1 % m/m Aerosila 200 in 1 % m/m magnezijevega stearata. Izboljšanje pretočnosti trdnih SMEDS je bilo v območju 2 do 21 %, kar smo pripisali manjšemu trenju med prahovi.

Preglednica IX: Primerjava pretočnosti trdnih SMEDS oz. fizikalnih zmesi pred in po dodatku drsil. Kot drsili smo v zmesi prahov dodajali kombinacijo 1 % m/m Aerosila 200 in 1 % m/m magnezijevega stearata (ZU – modelna zdravilna učinkovina, AG – arabski gumi, A – Aerosil 200, MgST – magnezijev stearat, MD – maltodekstrin, HPMC – hidroksipropilmetil celuloza).

			pretočnost		pretočnost po dodatku drsil		
trdni SMEDS pridobljen s sušenjem disperzije za razprševanje	sestava disperzije za razprševanje		zgornji dinamični nasipni kot (°)	spodnji dinamični nasipni kot (°)	zgornji dinamični nasipni kot (°)	spodnji dinamični nasipni kot (°)	
	koncentracija ZU v tekočem SMEDS in koncentracija dodatkov	nosilec					
trdni SMEDS pridobljen s sušenjem disperzije za razprševanje	0% ZU	MD	84	30	67	40	
	6% ZU		67	29	60	36	
	18% ZU		76	35	67	43	
	36% ZU		81	42	79	39	
	0% ZU + 10g AG		79	37	82	30	
	0% ZU + 2 % m/m A		72	34	65	44	
	6% ZU + 2 % m/m A		79	31	77	40	
	18% ZU + 2 % m/m A		80	30	79	39	
	0% ZU + 1% m/m A + 1% m/m MgST		71	38	62	41	
	6% ZU + 1% m/m A + 1% m/m MgST		72	37	69	39	
	18% ZU + 1% m/m A + 1% m/m MgST		75	39	74	46	
	0% ZU		HPMC	89	32	85	29
	6% ZU			87	28	86	28
18% ZU	87	28		86	28		
fizikalne zmesi	ZU:MD = 1:1		55	55	51	51	
	ZU + 2% m/m A		47	47	43	43	
	ZU + 1% m/m A + 1% m/m MgST		75	21	72	23	
	ZU:HPMC = 1:1		∞	∞	67	40	

Pretočnosti trdnih SMEDS z dodatkom Aerosila 200 oz. z dodatkom kombinacije Aerosila 200 in magnezijevega stearata ter z MD kot nosilcem so bile prav tako slabše od pretočnosti ustreznih fizikalnih zmesi (ZU + 2 % m/m Aerosila 200 oz. ZU + 1 % m/m Aerosila 200 + 1 % m/m magnezijevega stearata). Tudi v tem primeru je višja vsebnost ZU v trdnem SMEDS imela za posledico dodatno poslabšanje pretočnih lastnosti. Ob dodatku drsil k pripravljenim prahovom se je pretočnost slednjih izboljšala za največ 9,7 % pri trdnih SMEDS z dodanim Aerosilom 200 in za največ 12,7 % pri trdnih SMEDS z dodano kombinacijo Aerosila 200 in magnezijevega stearata. V obeh opisanih primerih je bilo to izboljšanje pretočnosti pri trdnih SMEDS brez ZU. Izboljšanje pretočnosti z dodatkom drsil k trdnim SMEDS z ZU ni bilo tako izrazito, saj se je pretočnost prahov izboljšala za največ 2,5 % v primeru trdnih SMEDS z ZU in dodanim Aerosilom 200 oz. za največ 4,2 % v primeru trdnega SMEDS z ZU in dodano kombinacijo Aerosila 200 ter magnezijevega stearata.

S primerjavo pretočnosti vseh trdnih SMEDS z MD kot nosilcem smo ugotovili, da so imeli najslabšo pretočnost trdni SMEDS z dodanim Aerosilom 200. Zgornji dinamični nasipni kot slednjih se je gibal med 72 in 80° in spodnji dinamični nasipni kot med 30 in 34°, kar je prikazano v preglednici IX. Z zamenjavo nosilca MD s HPMC v disperzijah za razprševanje so se še poslabšale pretočne lastnosti prahov nastalih iz le-teh disperzij. Zgornji dinamični nasipni kot se je v primeru trdnih SMEDS s HPMC kot nosilcem gibal med 87 in 89° in spodnji dinamični nasipni kot med 28 in 32°. Naraščanje vsebnosti ZU v trdnih SMEDS s HPMC kot nosilcem ni vplivalo na poslabšanje pretočnih lastnosti prahov. Z dodatkom drsil k trdnim SMEDS s HPMC kot nosilcem se pretočne lastnosti nastalih prahov niso bistveno izboljšale.

4.3.2. Vrednotenje velikosti kapljic mikroemulzij nastalih po dispergiranju tekočega oziroma trdnega SMEDS v vodnem mediju

Eno izmed meril, na osnovi katerih lahko pretvorbo tekočega SMEDS v trdno obliko (npr. v prahove) označimo kot uspešno, je ohranjena sposobnost samoemulgiranja oz. sposobnost redispergiranja trdnih SMEDS. Pri tem je pomembno, da se velikost kapljic emulzije, ki nastane po redispergiranju trdnih SMEDS v vodni fazi, ne razlikuje bistveno od velikosti kapljic mikroemulzije, ki nastane po redčenju tekočega SMEDS. Z ustrežno

velikostjo kapljic nastale emulzije je namreč povezana učinkovitost procesa absorpcije ZU v tankem črevesju (43).

Običajno velikosti kapljic mikroemulzij, ki nastanejo z dispergiranjem tekočega oz. trdnega SMEDS v vodni fazi, primerjamo pri koncentracijah 1g SMEDS/250 ml vodne faze. Rezultati analize velikosti kapljic nastalih mikroemulzij so prikazani na sliki 5. Velikost kapljic mikroemulzij, ki so nastale po dispergiranju tekočih SMEDS brez dodatkov, je z naraščanjem vsebnosti ZU v SMEDS padala. Možna razlaga je, da modelna ZU vpliva na emulgatorski film v lipidni formulaciji. Vgraditev ZU v emulgatorski film lahko namreč poveča njegovo ukrivljenost, kar omogoči nastanek manjših kapljic (38). Izjema so bili tekoči SMEDS z dodatkom kombinacije Aerosila 200 in magnezijevega stearata. Pri slednjih je velikost kapljic mikroemulzij naraščala z naraščanjem vsebnosti ZU v tekočem SMEDS. Vse mikroemulzije, ki so nastale med dispergiranjem tekočih SMEDS v vodni fazi, so bile homogene in monodisperzne, saj je bila vrednost PDI, ki je merilo za monodisperznost sistema, pod 0,36.

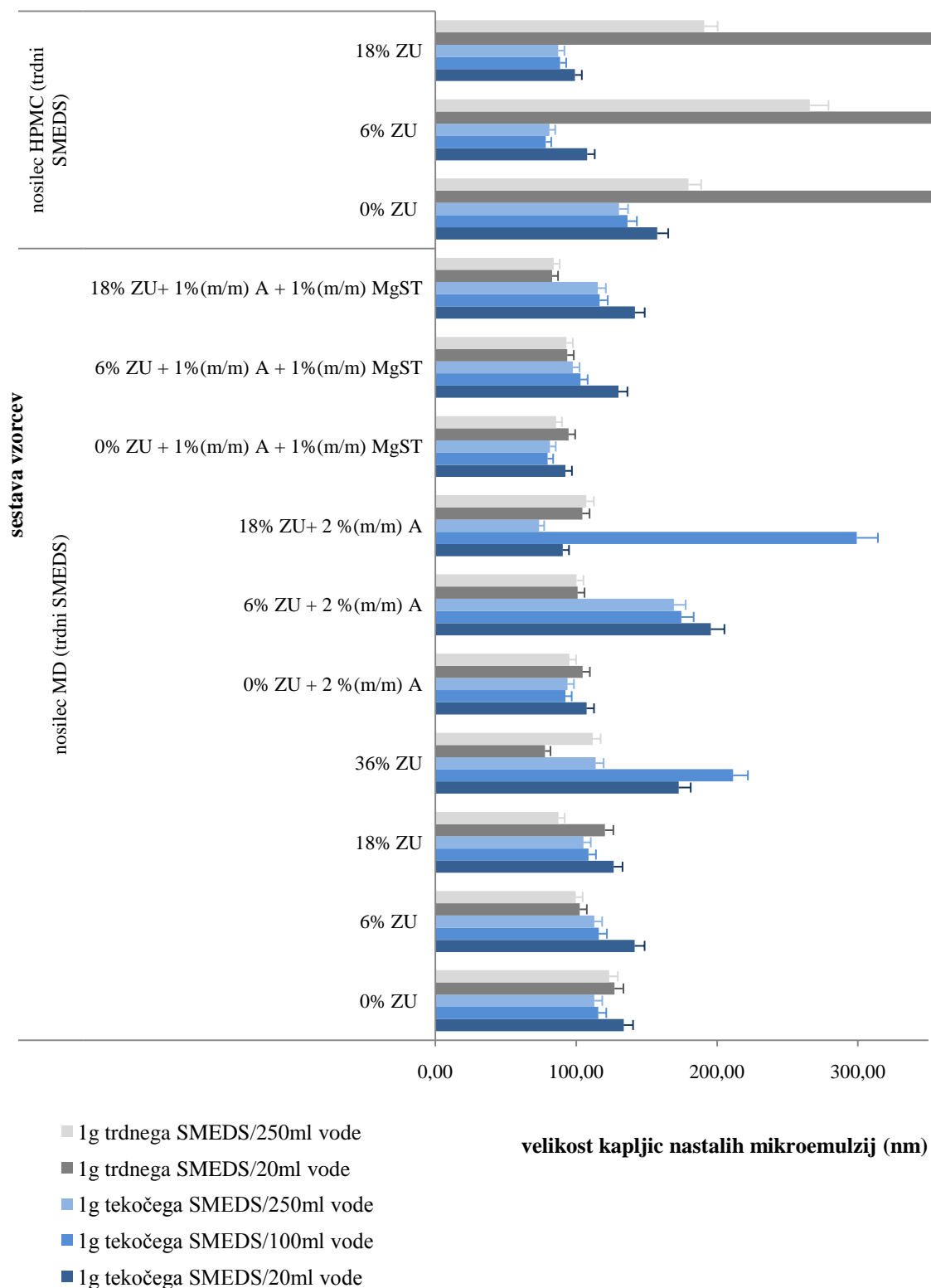
Na sliki 5 lahko spremljamo tudi spremembe velikosti kapljic nastalih emulzij v odvisnosti od stopnje redčenja tekočih SMEDS. V kolikor se z naraščajočim redčenjem velikost dispergiranih kapljic spreminja, je to znak, da imamo opravka z mikroemulzijami, medtem ko so nanoemulzije neodvisne od stopnje redčenja. V našem primeru je redčitev vplivala na velikost kapljic emulzij, ki so nastale iz tekočih SMEDS, kar potrjuje, da gre v našem primeru res za samo-mikroemulgirajoče sisteme. Pri redčenju tekočega SMEDS brez dodatkov so se največje razlike v velikosti kapljic pojavile med redčitvama 1g tekočega SMEDS/20 ml vode in 1 g tekočega SMEDS/100 ml vode, in sicer se je velikost zmanjšala do ~ 25 nm.

Kot smo že omenili, je za uspešno pretvorbo tekočega SMEDS v trdno obliko pomembna ohranitev velikosti kapljic po redispergiranju nastalega trdnega SMEDS v vodni fazi. Primerjava velikosti kapljic emulzije, ki nastanejo med dispergiranjem tekočega SMEDS oz. med redispergiranjem trdnega SMEDS v vodi, je prikazana na sliki 5. Pretvorba tekočih SMEDS z MD kot nosilcem v trdno obliko ni imela za posledico večjih sprememb v velikosti kapljic mikroemulzije, ki nastane v prisotnosti vodne faze. Izjema je bila pretvorba tekočega SMEDS s 6 % ZU z dodatkom Aerosila 200 v trdno obliko, saj so se velikosti kapljic mikroemulzij po redispergiranju nastalih prahov močno znižale v primerjavi z ustreznim tekočim SMEDS. Razlika v velikosti opisanih kapljic je bila ~ 70

nm. Nastale vodne emulzije vseh SMEDS z MD kot nosilcem so bile homogene in monodisperzne ($PDI < 0,35$). Pretvorba tekočih SMEDS v trdno obliko s HPMC kot nosilcem se je izkazala za neuspešno, saj so velikosti kapljic po redispergiranju trdnih SMEDS močno narasle v primerjavi z velikostjo kapljic emulzij, ki so se tvorile med dispergiranjem primerljivih tekočih SMEDS. Pri vseh trdnih SMEDS s HPMC kot nosilcem je velikost kapljic po dispergiranju slednjih narasla na mikrometrski nivo. Tudi v tem primeru so nastale homogene in mododisperzne emulzije ($PDI < 0,50$).

Pri redispergiranju vseh trdnih SMEDS smo spremljali tudi čas, ki je bil potreben za samoemulgiranje le-teh v vodnem mediju. Trdni SMEDS z MD kot nosilcem so se hitro emulgirali ob minimalnem mešanju na magnetnem mešalu. Za tvorbo mikroemulzije so omenjeni sistemi potrebovali manj kot 1 minuto. Trdni SMEDS s HPMC kot nosilcem so za redispergiranje potrebovali več časa, saj se je emulzija v vodi tvorila v času 2 – 4 minut.

Pri redispergiranju trdnih SMEDS z MD kot nosilcem redčenje ni imelo tolikšnega vpliva na velikost kapljic nastalih disperzij kot v primeru redčenja ustrežajočih tekočih SMEDS. Slednje je verjetno posledica dejstva, da je bila vsebnost tekočega SMEDS v teh sistemih že v izhodišču nižja kot v primeru tekočih SMEDS; nad določeno stopnjo redčenja slednje namreč ne vpliva več na velikost kapljic. Redčenje emulzij, ki so nastale z redispergiranjem trdnih SMEDS s HPMC kot nosilcem, je nasprotno imelo večji vpliv na velikost nastalih kapljic. Pri redispergiranju 1 g trdnega SMEDS s HPMC kot nosilcem v 250 ml vodne faze se je velikost kapljic nastale emulzije zelo močno znižala v primerjavi z velikostjo kapljic emulzije nastale z redispergiranjem 1 g trdnega SMEDS s HPMC kot nosilcem v 20 ml vodne faze.



Slika 5: Primerjava velikosti kapljic mikroemulzij, ki nastanejo z dispergiranjem tekočega SMEDS oz. z redispergiranjem trdnega SMEDS v vodnem mediju (ZU – vgrajena modelna zdravilna učinkovina v tekoči SMEDS, AG – arabski gumi, A – Aerosil 200, MgST – magnezijev stearat, MD – maltodekstrin, HPMC – hidroksipropilmetil celuloza).

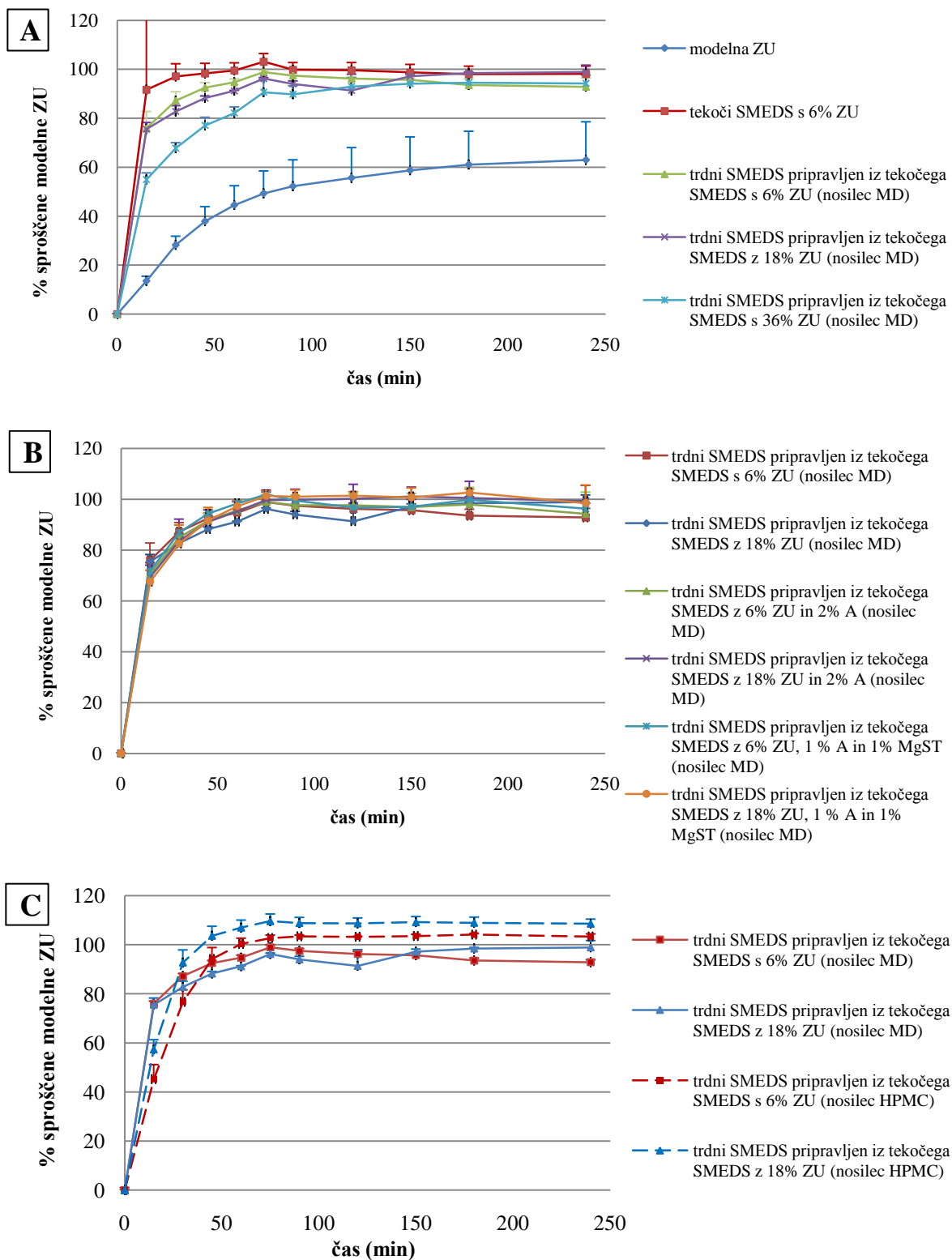
4.4. VPLIV PRETVORBE SMEDS V TRDNO OBLIKO NA PROFIL SPROŠČANJA MODELNE ZDRAVILNE UČINKOVINE

Z analizo sproščanja smo preverili ali se izboljšane lastnosti raztapljanja modelne ZU ohranijo tudi po pretvorbi tekočega SMEDS v trdno obliko. Zanimalo nas je tudi, ali sprememba sestave disperzije za razprševanje vpliva na hitrost in obseg sproščanja modelne ZU iz trdnih SMEDS pridobljenih iz le-teh disperzij. Za ponazoritev pogojev v prebavilih smo kot medij za sproščanje uporabili pufer s pH vrednostjo 1,2 oz. 6,8. Opisana medija ponazarjata pogoje v želodcu oz. v tankem črevesju. Modelna ZU naproksen je šibka kislina, ki je dobro topna v pufru s pH vrednostjo 6,8 ($\text{pH} > \text{pKa}$, ionizirana oblika) in slabo topna v pufru s pH vrednostjo 1,2 ($\text{pH} < \text{pKa}$, neionizirana oblika). Pri tem moramo omeniti, da poleg topnosti modelne ZU v mediju vpliva na sproščanje v *in vivo* pogojih tudi proces prebave formulacije, ki ga nismo upoštevali (5).

V okviru načrtovanja preskusa sproščanja smo na podlagi rezultatov vsebnosti ZU izračunali najvišjo zatehto trdnega SMEDS, ki smo jo nato polnili v trdne želatinske kapsule. Pri preskusu sproščanja je namreč potrebno zagotoviti ti. sink pogoje; na ta način ne presežemo določene nasičenosti pufra z raztopljeno ZU (v našem primeru 30 % nasičene topnosti), ki bi vplivala na sproščanje ZU iz trdnih SMEDS.

Rezultati sproščanja iz pripravljenih vzorcev v pufru s pH vrednostjo 1,2 so predstavljeni na sliki 6. Vgradnja ZU v tekoči SMEDS je močno pospešila tako hitrost kot tudi obseg sproščanje ZU v primerjavi s profilom raztapljanja praškaste modelne ZU.

S pretvorbo tekočega SMEDS v trdno obliko smo ohranili visok obseg sproščene ZU, vendar je bila hitrost sproščanja ZU iz trdnih SMEDS nekoliko počasnejša kot v primeru tekočega SMEDS. Vsebnost ZU v trdnih SMEDS z MD kot nosilcem (in brez dodatkov pomožnih snovi) ni bistveno vplivala na obseg sproščanja ZU, se je pa ZU iz formulacije z najvišjo vsebnostjo ZU sproščala nekoliko počasneje. Prisotnost oborjene ZU v disperziji za razprševanje med procesom sušenja kljub temu ni bistveno vplivala na lastnosti pridobljenih trdnih SMEDS. Opisani rezultati so prikazani na sliki 6A.

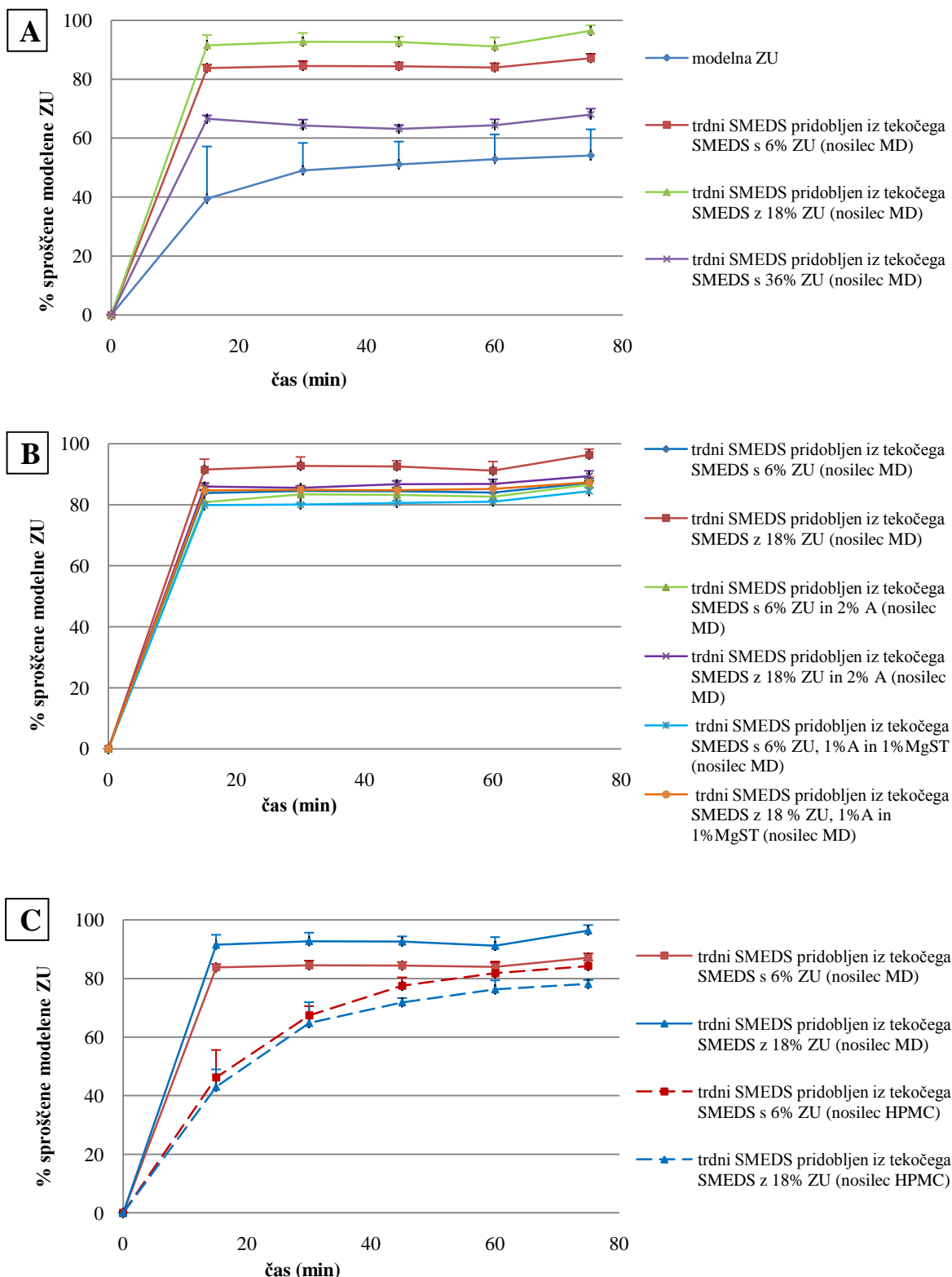


Slika 6: Primerjava sproščanja modelne ZU iz pripravljenih vzorcev v pufru s pH vrednostjo 1,2 (slika 6A – primerjava sproščanja modelne ZU iz tekočih SMEDS oz. trdnih SMEDS z različnim deležem ZU in maltodekstrinom (MD) kot nosilcem; slika 6 B – primerjava sproščanja ZU iz pripravljenih trdnih SMEDS z različnimi dodatki (Aerosil 200 (A), magnezijev stearat (MgST)) in z MD kot nosilcem; slika 6C – primerjava sproščanja ZU iz trdnih SMEDS z različnima nosilcema, MD oz. hidropsipilmetil celulozo (HPMC)).

Tudi različni dodatki v disperziji za razprševanje (Aerosil 200, kombinacija Aerosila 200 in magnezijevega stearata) niso bistveno vplivali na lastnosti pridobljenih prahov, kar je prikazano na sliki 6B. Vsi trdni SMEDS z MD kot nosilcem so namreč izkazovali primerljiv profil sproščanja modelne ZU.

Da se ZU sprostijo iz trdnih SMEDS, se mora najprej omočiti nosilec, ki se v naslednji stopnji bodisi raztopi bodisi nabreka oz. erodira. Sproščanje je tako največkrat odvisno od narave nosilca (14), kar se je izkazalo tudi v našem primeru. Na sliki 6C je prikazano hitrejše sproščanje ZU iz trdnih SMEDS z MD kot nosilcem v primerjavi s sproščanjem ZU iz trdnih SMEDS s HPMC kot nosilcem. Slednje je verjetno posledica nabrekanja HPMC, ki okoli delcev tvori čvrst hidrogel, ki otežuje difuzijo ZU skozi pore nosilca. V prvih 30 min izpostavitve trdnega SMEDS z MD kot nosilcem mediju se je iz slednjega sprostil ~ 85 % ZU. Pri enakih pogojih pa se je iz trdnega SMEDS s HPMC kot nosilcem v prvih 30 min sprostil ~ 70 % ZU.

Pridobljeni rezultati preskusa sproščanja ZU iz pripravljenih vzorcev v pufru s pH vrednostjo 6,8 so predstavljeni na sliki 7. Vgradnja ZU v trdni SMEDS je izboljšala tako hitrost in obseg sproščanja ZU v primerjavi s profilom raztapljanja praškaste modelne ZU, kar prikazuje slika 7A. V pufru s pH vrednostjo 6,8 je ZU dobro topna in zato opisano izboljšanje sproščanja ni bilo tako izrazito, kot v primeru sproščanja ZU v pufru s pH vrednostjo 1,2. Vsi pripravljene trdni SMEDS z MD kot nosilcem so izkazovali primerljiv profil sproščanja ZU, kar je prikazano na sliki 7B. Tudi v pufru s pH vrednostjo 6,8 se je hitreje sprostila ZU iz trdnih SMEDS z MD kot nosilcem v primerjavi s sproščanjem ZU iz trdnim SMEDS s HPMC kot nosilcem (slika 7C). V prvih 30 min izpostavitve trdnega SMEDS z MD kot nosilcem mediju se je iz slednjega sprostil ~ 88 % ZU, medtem ko se je iz trdnega SMEDS s HPMC kot nosilcem v prvih 30 min sprostil ~ 66 % ZU.

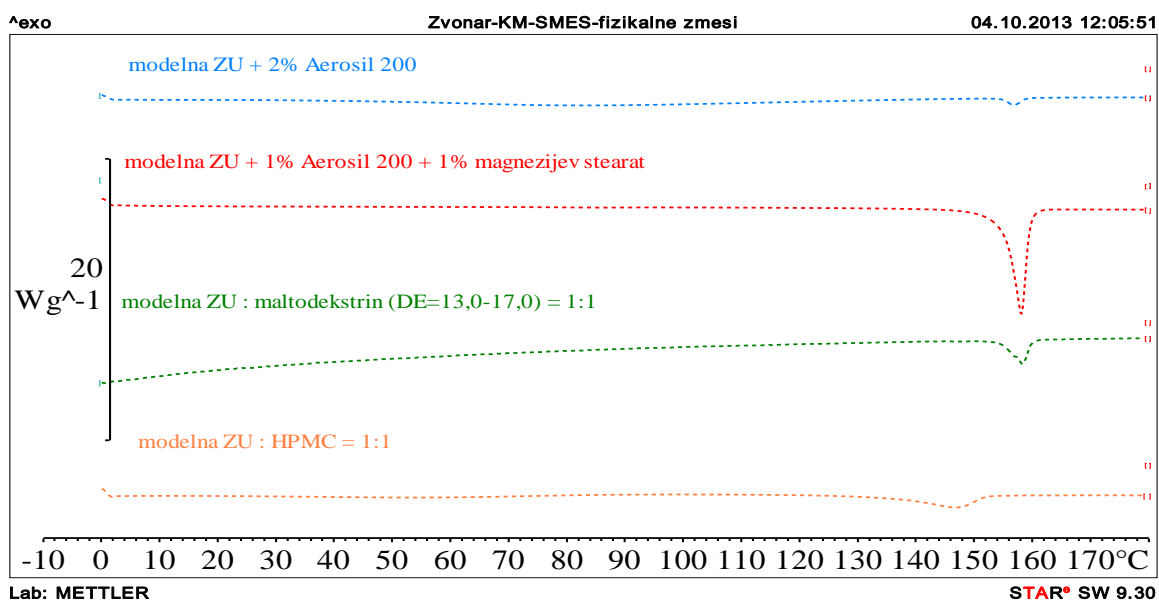


Slika 7: Primerjava sproščanja modelne ZU iz pripravljenih vzorcev v pufru s pH vrednostjo 6,8 (slika 7A – primerjava sproščanja modelne ZU iz tekočih SMEDS oz. trdnih SMEDS z različnim deležem ZU in maltodekstrinom (MD) kot nosilecem; slika 7B – primerjava sproščanja ZU iz pripravljenih trdnih SMEDS z različnimi dodatki (Aerosil 200 (A), magnezijev stearat (MgST)) in z MD kot nosilecem; slika 7C – primerjava sproščanja ZU iz trdnih SMEDS z različnima nosilcema, MD oz. hidrosipropilmetil celulozo (HPMC)).

4.5. VREDNOSTENJE TRDNIH SMEDS S TERMIČNO ANALIZO

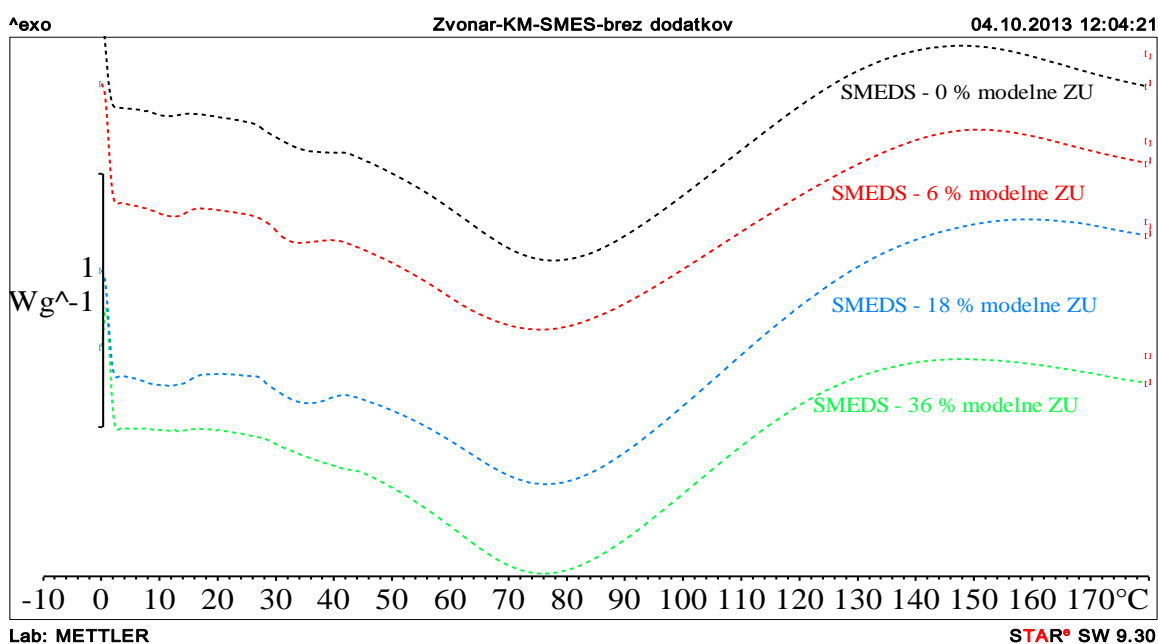
Z DSC analizo smo želeli preveriti stanje ZU v nastalih prahovih takoj po sušenju z razprševanjem ter po enem mesecu staranja vzorcev pri sobni temperaturi. Zanimalo nas je, ali ZU tudi po pretvorbi v trdni SMEDS ostane v raztopljenem stanju oz. v kakšnem stanju se nahaja ZU, ki je bila v disperziji za razprševanje suspendirana. Predvidevali smo, da bo slednja v trdnih SMEDS prisotna v amorfnem stanju, saj je sušenje z razprševanjem znana metoda za tvorbo amorfnih trdnih disperzij. Pri sušenju z razprševanjem smo uporabili relativno nizko T_{vhodna} sušilnega plina, kar lahko rezultira v nepopolni amorfizaciji ZU in nosilca med sušenjem; posledično prihaja do hitrejšje kristalizacije ZU med shranjevanjem (14). Na slednjo lahko vpliva tudi velika površina prahov sušenih z razprševanjem, saj prahovi lažje dosežejo energetsko bolj ugodno stanje s kristalizacijo ZU (42). Prisotnost oz. odsotnost kristalinične oblike ZU v trdnem SMEDS smo spremljali s spremljanjem talilnega vrha ZU na DSC termogramih.

Modelna ZU ima talilni interval v območju med 154 in 158 °C (31). Na DSC termogramih fizikalnih zmesi, ki vsebujejo kristalinično ZU, smo taljenje slednje videli kot endotermni vrh pri ~ 154 °C (slika 8). T tališča modelne ZU se je v primeru DSC analize fizikalne zmesi ZU:HPMC = 1:1 pomaknila k nižjim vrednostim, poleg tega je talilni vrh manj izrazit, kar kaže na interakcije med ZU in HPMC (11).



Slika 8: DSC termogrami fizikalnih zmesi; polna črta označuje analizo ob času 0 in prekinjena črta analizo po 1 mesecu staranja vzorcev pri sobni temperaturi.

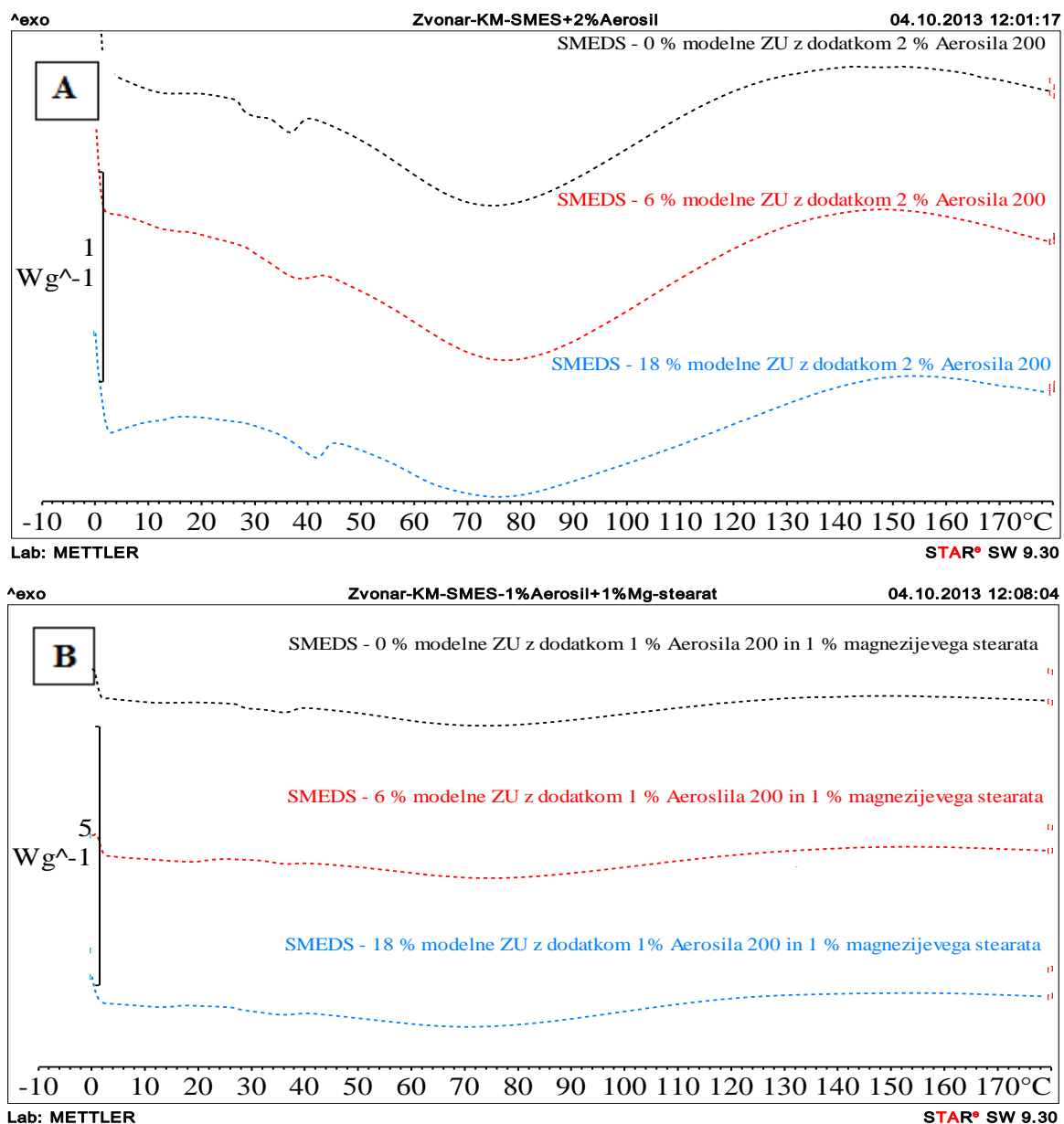
Pri DSC analizi trdnih SMEDS z MD kot nosilcem, prikazani na sliki 9, smo pri prvem segrevanju vzorcev opazili širok endotermni vrh med 20 in 120 oz. 130°C, ki prikazuje izparevanje vode. Ta signal je najverjetneje prekril vrh steklastega prehoda MD, ki naj bi bil viden pri ~ 86 °C. Iz slike 9 je tudi razvidno, da se trdni SMEDS brez ZU ne razlikujejo bistveno od trdnih SMEDS z vgrajeno ZU. Ker na DSC termogramih slednjih tudi ni razviden talilni vrh ZU lahko sklepamo, da je le-ta ostala bodisi raztopljena v tekočem SMEDS znotraj nosilca bodisi molekularno porazdeljena v nosilcu oz. je v slednjem prisotna v amorfni stanju. Vsebnost ZU v trdnih SMEDS ni vplivala na kristalizacijo ZU, je pa slednja v SMEDS z najvišjo vsebnostjo ZU najverjetneje v večji meri prisotna v amorfni stanju. Po enem mesecu smo ponovili DSC analizo. Ker nismo opazili talilnega vrha ZU, lahko trdimo, da ZU ni kristalizirala med shranjevanjem.



Slika 9: DSC termogrami trdnih SMEDS z različno vsebnostjo modelne zdravilne učinkovine (ZU) in maltodekstrinom kot nosilcem; 0, 6, 18, 36% modelne ZU pomeni koncentracijo (% m/m) učinkovine vgrajene v tekoči SMEDS, iz katerega je pridobljen trdni SMEDS podvržen DSC analizi. Polna črta označuje analizo ob času 0 in prekinjena črta analizo po 1 mesecu staranja vzorcev pri sobni temperaturi.

Kristalizacije ZU med procesom sušenja nismo sprožili z različnimi dodatki (Aerosil 200, magnezijev stearat) v disperzijah za razprševanje z MD kot nosilcem, kar je prikazano na

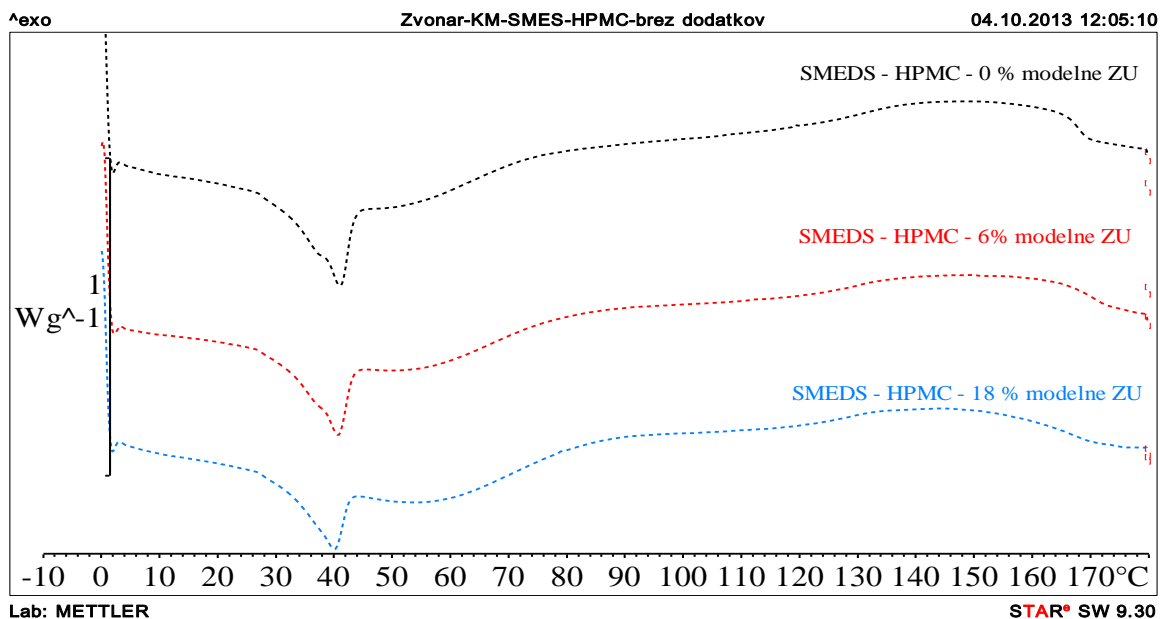
sliki 10. Med shranjevanjem trdnih SMEDS pridobljenih iz opisanih disperzij tudi nismo opazili kristalizacije ZU.



Slika 10: Termogrami DSC analize pripravljenih trdnih SMEDS z maltodekstrinom kot nosilcem; 0, 6, 18 % modelne ZU pomeni koncentracijo (% m/m) učinkovine vgrajene v tekoči SMEDS, iz katerega je pridobljen trdni SMEDS podvržen DSC analizi. Polna črta označuje analizo ob času 0 in prekinjena črta analizo po 1 mesecu staranja vzorcev pri sobni temperaturi (slika 10A – DSC termogrami trdnih SMEDS z dodanim Aerosilom 200; slika 10B – DSC termogrami trdnih SMEDS z dodano kombinacijo Aerosila 200 in magnezijevega stearata).

Zaostanek topila (vode) v sušenem produktu se znižuje z višanjem $T_{izhodna}$ sušilnega plina v sušilni komori. V primeru sušenja disperzij z dodano kombinacijo Aerosila 200 in magnezijevega stearata je $T_{izhodna}$ dosegla najvišjo vrednost ($T_{izhodna} \leq 42 \text{ }^\circ\text{C}$) glede na sušenje ostalih pripravljenih disperzij za razprševanje z vsebujočim MD kot nosilcem. Slednje je razvidno tudi iz primerjave slik 10A in 10B. Endotermni vrh izhlapevanja vode je namreč manj izrazit pri trdnih SMEDS z dodatkom kombinacije Aerosila 200 in magnezijevega stearata (slika 10B) kot v primeru SMEDS z dodatkom Aerosila 200 (slika 10A).

Pri zamenjavi nosilca MD s HPMC v trdnih SMEDS nismo opazili širokega endotermnega vrha izparevanja vode pri DSC analizi, kar je razvidno iz slike 11. Kot že omenjeno se namreč zaostanek topila (vode) v sušenem produktu znižuje z višanjem $T_{izhodna}$ v sušilni komori. V primeru sušenja disperzij, ki so vsebovale HPMC, je $T_{izhodna}$ sušilnega plina dosegla najvišjo vrednost ($T_{izhodna} \leq 56 \text{ }^\circ\text{C}$) glede na sušenje vseh pripravljenih disperzij za razprševanje. Posledično je bil zaostanek topila v sušenih prahovih nizek. Po literaturnih podatkih bi morali na DSC termogramih vzorcev s HPMC opaziti steklast prehod polimera pri $\sim 154 \text{ }^\circ\text{C}$ (44), ki pa v našem primeru ni bil jasno viden. HPMC se je izkazal kot primeren nosilec za pretvorbo tekočih SMEDS v trdno obliko, saj je preprečil kristalizacijo ZU. Sistemi so ostali stabilni tudi po enem mesecu staranja pri sobni temperaturi.



Slika 11: Termogrami DSC analize pripravljenih trdnih SMEDS z nosilcem HPMC; 0, 6, 18 % modelne ZU pomeni koncentracijo (% m/m) učinkovine vgrajene v tekoči SMEDS, iz katerega je pridobljen trdni SMEDS podvržen DSC analizi. Polna črta označuje analizo ob času 0 in prekinjena črta analizo po 1 mesecu staranja vzorcev pri sobni temperaturi.

5. SKLEPI

V magistrski nalogi smo se ukvarjali s spremembo sestave disperzij za razprševanje, iz katerih smo s procesom sušenja z razprševanjem pridobili trdne SMEDS. Uporabili smo različne koncentracije modelne ZU (6, 18, 36 % m/m), dodali različne dodatke v disperzije za razprševanje (Aerosil 200, magnezijev stearat, arabski gumi) oz. uporabili dva različna nosilca (MD, HPMC). Preverili smo, kako spremenjena sestava disperzije za razprševanje vpliva na pretvorbo tekoče oblike v trdno s procesom sušenja in ovrednotili nastale trdne SMEDS. Z rezultati eksperimentalnega dela smo dokazali:

- da viskoznost in pH vrednost disperzije za razprševanje nista vplivala na pretvorbo tekočega SMEDS v trdno obliko,
- da so lastnosti disperzije za razprševanje temperaturno odvisne, saj so smo trdne SMEDS z najboljšimi lastnostmi dobili iz disperzij za razprševanje, ki smo jih vzdrževali v temperaturnem območju med 30 in 50 °C,
- da se je izkoristek sušenja z razprševanjem poveševal z dodajanjem dodatkov (Aerosil 200, magnezijev stearat) v disperzije za razprševanje z MD kot nosilcem,
- da se je učinkovitost vgradnje ZU v trdnih SMEDS poveševala z višanjem koncentracije ZU v disperzijah za razprševanje, iz katerih smo trdne SMEDS pridobili. Enako se je učinkovitost vgradnje ZU poveševala z dodajanjem dodatkov (Aerosil 200, magnezijev stearat) oz. z zamenjavo nosilca MD s HPMC v disperzijah za razprševanje,
- da so imeli trdni SMEDS slabe pretočne lastnosti, saj so se vrednosti zgornjih dinamičnih nasipnih kotov gibale nad 65° in da so se pretočne lastnosti še poslabšale z višanjem vsebnosti ZU v trdnem SMEDS,
- da so se z dispergiranjem tekočega oz. trdnega SMEDS v vodnem mediju ob minimalnem mešanju tvorile emulzije z velikostjo oljnih kapljic pod 150 nm in je bila velikost slednjih odvisna tudi od stopnje redčenja,

- da se je po dispergiranju trdnih SMEDS v mediju za sproščanje s pH vrednostjo 1,2 v prvi uri eksperimenta sprostila vsa količina vgrajene ZU,
- da se je ZU hitreje sproščala iz trdnih SMEDS, ki so kot nosilec vsebovali MD kot HPMC,
- da je bila ZU v pripravljenih trdnih SMEDS znotraj amorfnega nosilca bodisi raztopljena bodisi amorfna oz. molekularno porazdeljena, saj jo z DSC analizo nismo zaznali in da so bili nastali trdni SMEDS stabilni znotraj enega meseca,
- da se je za najbolj obetajočega izkazal trdni SMEDS pridobljen iz tekočega SMEDS z 18 % ZU, z dodano kombinacijo Aerosila 200 in magnezijevega stearata ter z MD kot nosilcem.

Za nadaljni razvoj formulacije bi lahko uporabili različne mešanice polimernih nosilcev, ki bi izboljšale fizikalno stabilnost disperzije za razprševanje tekom sušenja z razprševanjem in povečale vgradnjo ZU v polimerno ogrodje trdnih SMEDS. V nadaljevanju bi bilo smiselno preveriti tudi vpliv različnih spremenljivk procesa na poroznost nastalih prahov. Slednja bi bila namreč pomemben faktor pri potencialnemu stiskanju prahov v tablete. Pri procesu stiskanja prahov v tablete bi bilo potrebno tudi izboljšati dokazano slabe pretočne lastnosti nastalih trdnih samo-emulgirajočih prahov.

LITERATURA

- (1) Kawabata Y, Wada K, Nakatani M, Yamada S, Onoue S. Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications. *Int. J. Pharm.* 2011; 420: 1-10.
- (2) Prachi S, Prajapati SK, Shipra S, Ali A. A review of self micro emulsifying drug delivery system: An approach to enhance the oral bioavailability of poorly water soluble drugs. *IRJP* 2012; 3 (9): 1-6.
- (3) Gursoy RN, Benita S. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs. *Biomed. Pharmacother.* 2004; 58: 173-182.
- (4) Zvonar A, Gašperlin M, Kristl J. Samo(mikro)emulgirajoči sistemi – alternativen pristop za izboljšanje biološke uporabnosti lipofilnih učinkovin. *Farm. vestn.* 2008; 59 (5): 263-268.
- (5) Porter CJH, Trevaskis NL, Charman WN. Lipids and lipi-based formulations: optimizing the oral delivery of lipophilic drugs. *Nat Rev Drug Discov* 2007; 6: 231-246.
- (6) Gershanik T, Benita S. self-dispersing lipid formulations for improving oral absorption of lipophilic drugs. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2000; 50: 179-188.
- (7) Pouton CW, Porter CJH. Formulation of lipid-based delivery systems for oral administration: Materials, methods and strategies. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2008; 60: 625-637.
- (8) Pouton CW. Lipid formulations for oral administration of drugs: non-emulsifying, self-emulsifying and “self-microemulsifying” drug delivery systems. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2000; 11 (2): S93-S98.
- (9) Anton N, Vandamme TF. Nano-emulsions and Micro-emulsions: Clarifications of the Critical Differences. *Pharm Res* 2011; 28: 978-985.
- (10) Tang B, Cheng G, Gu J-C, Xu C-H. Development of solid self-emulsifying drug delivery systems: preparation techniques and dosage forms. *Drug discov.* 2008; 13 (13/14): 606-612.
- (11) Planinšek O, Zajc N, Srčič S. Uporaba diferenčne dinamične kalorimetrije v farmaciji. *Farm Vestn* 2001; 52: 173-185.
- (12) Jannin V, Musakhanian J, Marchaud D. Approaches for the development of solid and semi-solid lipid-based formulations. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2008; 60: 734-46.

- (13) Cal K, Sollohub K. Spray Drying Technique I: Hardware and Process Parameters. *J Pharm Sci* 2010; 99 (2): 575-586.
- (14) Paudel A, Worku ZA, Meeus J, Guns S, Van den Mooter G. Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations. *Int. J. Pharm.* 2012.
- (15) Patel RP, Patel MP, Suthar AM. Spray drying technology: an overview. *Indian J. Sci. Technol.* 2009; 2 (10): 44-47.
- (16) Hanželič M. Vpliv procesnih spremenljivk na velikost mikrodelcev in izkoristek procesa s tehnologijo razprševanja s strjevanjem. *Diplomska naloga, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana* 2010.
- (17) Liu W, Wu WD, Selomulya C, Chen XD. Spray drying of monodispersed microencapsulates: implications of formulation and process parameters on microstructural properties and controlled release functionality. *J. Microencapsul.* 2012; 1-8.
- (18) Rodriguez L, Passerini N, Cavallari C, Cini M, SancinP, Fini A. Description and preliminary evaluation of a new ultrasonic atomizer for spray-congealing processes. *Int. J. Pharm.* 1999; 183: 133-143.
- (19) Zvonar A, Gašperlin M. Pregled metod izdelave mikrokapsul za farmacevtsko uporabo. *Farm. vestn.* 2011; 62: 131-148.
- (20) Albertini B, Passerini N, Di Sabatino M, Vitali B. Polymer-lipid based mucoadhesive microspheres prepared by spray-congealing for the vaginal delivery of econazole nitrate. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2009; 36: 591-601.
- (21) Passerini N, Calogera G, Albertini B, Rodriguez L. Melt granulation of pharmaceutical powders: A comparison of high-shear mixer and fluidised bed processes. *Int. J. Pharm.* 2010; 391: 177-186.
- (22) Planinšek O. Sodobni pristopi k izdelavi trdnih disperzij z izboljšano biološko uporabnostjo učinkovin. *Farm Vestn* 2009; 60: 169-176.
- (23) Sethia S, Squillante E. Physicochemical Characterization of Solid Dispersions of Carbamazepine Formulated by Supercritical Carbon Dioxide and Conventional Solvent Evaporation Method. *J Pharm Sci* 2002; 91 (9): 1948-1957.
- (24) Informacije o produktu (Gelucire 44/14):
<http://www.gattefosse.com/node.php?articleid=8>. Dostop 3.2.2013.
- (25) Fizikalno kemijske lastnosti (Gelucire 44/14):
<http://www.pharmainfo.net/reviews/gelucires-pharmaceutical-applications>. Dostopno 20.1.2013.

- (26) Informacije o produktu (Solutol HS 15): http://www.pharma-ingredients.basf.com/Statements/Technical%20Informations/EN/Pharma%20Solutions/03_111149e_Kolliphor%20HS%2015.pdf. Dostopno 3.2.2013.
- (27) Informacije o produktu (Solutol HS 15): <http://www.pharmtech.com/pharmtech/Ingredients/Solutol-HS15-as-a-Novel-Excipient/ArticleStandard/Article/detail/694692>. Dostopno 20.1.2013.
- (28) Informacije o produktu (Peceol™): <http://www.gattefosse.com/node.php?articleid=170?>. Dostopno 3.2.2013.
- (29) Informacije o produktu (Miglyol 812): <http://www.warnergraham.com/images/MiglyolProdInfo.pdf>. Dostopno 4.2.2013.
- (30) Varnostni list (naproksen): http://lex.si/varnostni_listi/NAPROXENUM-r_0436%20GHS.pdf. Dostopno 4.2.2013.
- (31) European Pharmacopoeia 7.0. Strasbourg: Council of Europe; 2011: 2554-2556; 2901-2902; 2418-2421; 256-263; 272-273.
- (32) Informacije o produktu (Aerosil 200): <http://www.aerosil.com/lpa-productfinder/page/productsbytext/detail.html?pid=1855&lang=en>. Dostopno 7.2.2013.
- (33) Varnostni list (magnezijev stearat): <http://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=SI&language=sl&productNumber=415057&brand=ALDRICH&PageToGoToURL=http%3A%2F%2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%2Fproduct%2Faldrich%2F415057%3Flang%3Den>. Dostopno 10.2.2013.
- (34) Varnostni list (arabski gumi): [http://lex.si/varnostni_listi/Acaciae%20gummi%20\(Arabicum\)-r_0006.pdf](http://lex.si/varnostni_listi/Acaciae%20gummi%20(Arabicum)-r_0006.pdf). Dostopno 10.2.2013.
- (35) Varnostni list (maltodekstrin): <http://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=SI&language=sl&productNumber=419680&brand=ALDRICH&PageToGoToURL=http%3A%2F%2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%2Fproduct%2Faldrich%2F419680%3Flang%3Den>. Dostopno 13.2.2013.
- (36) <http://en.wikipedia.org/wiki/Maltodextrin>. Dostopno 13.2.2013.
- (37) Informacije o produktu (HPMC): <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/56340?lang=en®ion=SI>. Dostopno 10.2.2013.

- (38) Lemovec A. Razvoj samo-mikroemulgirajočega sistema na osnovi Gelucire® 44/14 in njegova pretvorba v trdno farmacevtsko obliko. Diplomaska naloga, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana 2013.
- (39) Zakeri-Milani P, Barzegar-Jalali M; Tajerzadeh H, Azarmi Y, Valizadeh H. Simultaneous determination of naproxen, ketoprofen and phenol red in samples from rat intestinal permeability studies: HPLC method development and validation. *J Pharmaceut Biomed* 2005; 39: 624-630.
- (40) Patil P, Joshi P, Paradkar A. Effect of Formulation Variables on Preparation and Evaluation of Gelled Self-emulsifying Drug Delivery System (SEDDS) of Ketoprofen. *AAPS Pharm Sci Tech* 2004; 5 (3): 1-8.
- (41) Informacije o napravi: http://www.buchi.com/Mini_Spray_Dryer_B-290.179.0.html. Dostopno 15.2.2013
- (42) Vehring R. Pharmaceutical Particle Engineering via Spray Drying. *Pharm Res* 2008; 25 (5): 999-1022.
- (43) Dollo G, Le Corre P, Guerin A, Chevanne F, Burgot JL, Leverge R. Spray-dried redispersible oil-in-water emulsion to improve oral bioavailability of poorly soluble drugs. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2003; 19: 273-280.
- (44) Siepmann J, Peppas NA. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). *Adv Drug Deliver Rev* 2012; 64: 163-174.