

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

DAVID ŽGANC

MAGISTRSKA NALOGA

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2017

Univerza v Ljubljani
Fakulteta *za farmacijo*



DAVID ŽGANC

**IZDELAVA TRDNIH SAMO-
MIKROEMULGIRAJOČIH SISTEMOV S
KARVEDILOLOM Z METODO OBLAGANJA PELET**

MAGISTRSKA NALOGA

**MANUFACTURING OF CARVEDILOL-LOADED
SOLID SELF- MICROEMULSIFYING DRUG
DELIVERY SYSTEMS PREPARED BY PELLET
COATING TECHNOLOGY**

MASTER'S THESIS

UNIFORM MASTER'S PHARMACY PROGRAMME

Ljubljana, 2017

Magistrsko nalogo sem opravljal na Fakulteti za farmacijo Univerze v Ljubljani, na Katedri za Farmacevtsko tehnologijo, pod mentorstvom doc. dr. Alenke Zvonar Pobirk, mag. farm. in somentorstvom asist. dr. Matevža Luštrika, dr. dent. med., mag. farm. Kromatografske analize so bile opravljene v podjetju Krka, d. d., Novo mesto.

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem mentorici, doc. dr. Alenki Zvonar Pobirk, mag. farm., za njeno pomoč, strokovne nasvete in usmerjanje pri izdelavi magistrske naloge. Posebna zahvala gre somentorju, asist. dr. Matevžu Luštriku, dr. dent. med., mag. farm. za vse nasvete, strokovno pomoč pri laboratorijskem delu in napotke pri pisanju magistrske naloge.

Zahvaljujem se tudi izr. prof. dr. Petri Kocbek, mag. farm. in asist. dr. Špeli Zupančič, mag. farm. za izvedbo posnetkov izbranih vzorcev na SEM ter Jeleni Mandić, mag. farm. za številne ideje, strokovne nasvete in pomoč pri izvedbi analitike.

Ob tej priložnosti se zahvaljujem tudi ostalim sodelavcem Katedre za farmacevtsko tehnologijo za njihovo pomoč v laboratoriju, nasvete in prijetno vzdušje.

Posebna zahvala gre moji družini in najbližjim, za njihovo nesebično podporo in zaupanje na moji študijski poti ter vsem prijateljem, ki so mi tekom študija stali ob strani in soustvarili nepozabna študijska leta. Hvala!

IZJAVA

Izjavljam, da sem magistrsko nalogo samostojno izdelal pod mentorstvom doc. dr. Alenke Zvonar Pobirk, mag. farm. in somentorstvom asist. dr. Matevža Luštrika, dr. dent. med., mag. farm.

David Žganc

KAZALO VSEBINE

KAZALO VSEBINE	IV
KAZALO SLIK	V
KAZALO PREGLEDNIC	VI
KAZALO PRILOG	VII
POVZETEK	VIII
ABSTRACT	X
SEZNAM OKRAJŠAV	XII
1. UVOD.....	1
1.1. NA LIPIDIH OSNOVANI SISTEMI	1
1.2. SAMO-(MIKRO)EMULGIRAJOČI SISTEMI – S(M)ES	4
1.2.1. SESTAVA SMES	5
1.2.2. VKLJUČITEV UČINKOVINE V SMES	7
1.3. TRDEN SAMO-MIKROEMULGIRAJOČI SISTEM - S-SMES	7
1.3.1. TEHNOLOŠKI POSTOPKI ZA PRETVORBO SMES V TRDNO OBLIKO..	8
1.3.2. OBLAGANJE PELET	10
1.4. KARVEDILOL	14
2. NAMEN DELA	16
3. MATERIALI IN METODE.....	18
3.1. MATERIALI	18
3.1.1. MATERIALI ZA PRIPRAVO SMES	18
3.1.2. MATERIALI ZA PRIPRAVO SUSPENZIJE ZA OBLAGANJE.....	19
3.1.3. OSTALI MATERIALI	21
3.1.4. PRIPOMOČKI IN NAPRAVE ZA IZDELAVO IN VREDNOTENJE OBLOŽENIH PELET	21
3.2. METODE	22
3.2.1. PRIPRAVA SMES	22
3.2.2. PRIPRAVA SMES S KARVEDILOLOM.....	23
3.2.3. PRIPRAVA DISPERZIJ ZA OBLAGANJE.....	23
3.2.4. OBLAGANJE PELET	24

3.2.5. VREDNOTENJE OBLOŽENIH PELET	25
4. REZULTATI IN RAZPRAVA	33
4.1. PRETVORBA SMES V TRDNO OBLIKO	33
4.1.1. OBLAGANJE PELET	33
4.2. VREDNOTENJE OBLOŽENIH PELET	43
4.2.1. VSEBNOST KARVEDILOLA V OBLOŽENIH PELETAH	43
4.2.2. MERITVE VELIKOSTI PELET S SLIKOVNO ANALIZO	45
4.2.3. VRSTIČNA ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA IN PREREZ PELET	47
4.2.4. SAMO-MIKROEMULGIRAJOČE LASTNOSTI S-SMES	48
4.2.5. DIFERENČNA DINAMIČNA KALORIMETRIJA (DSC)	51
4.2.6. <i>IN VITRO</i> PREIZKUS SPROŠČANJA KARVEDILOLA	53
5. SKLEPI	57
6. LITERATURA	60
7. PRILOGE	67

KAZALO SLIK

Slika 1: Shematski prikaz konvencionalnega Wurster oblagalnika (A) in Wurster komore, opremljene z generatorjem vrtnčastega toka (B).....	13
Slika 2: Kemijska struktura karvedilola.....	14
Slika 3: Večji skupki pelet (A) in izgled slednjih po ločevanju skupkov z mehansko silo (B).....	35
Slika 4: Oborjena ZU in Kollicoat IR v DZO 7 (5 % SMES z ZU in 12,5 % Kollicoat IR).	43
Slika 5: Povečevanje vsebnosti ZU na gram pelet v posameznih fazah oblaganja.	45
Slika 6: Prikaz porazdelitve velikosti in sferičnost obloženih pelet iz poskusov P25, P26 in P27 s slikovno analizo.	46
Slika 7: Površina in oblika pelet iz poskusa P16 pod vrstičnim elektronskim mikroskopom pri 100-, 1000- in 5000-kratni povečavi.	47
Slika 8: Površina in oblika pelet iz poskusa P27 pod vrstičnim elektronskim mikroskopom pri 100-, 1000- in 5000-kratni povečavi.	47
Slika 9: Prerez pelet poskusov P16 (A) in P27 (B) pri 150-kratni povečavi.	48
Slika 10: Porazdelitev velikosti delcev oz. kapljic za vzorec P16, SMES z ZU, DZO 6 in Cellets® 200	50
Slika 11: Porazdelitev velikosti delcev oz. kapljic za vzorec P22, SMES z ZU, DZO 9 in Cellets® 200	50

Slika 12: Porazdelitev velikosti delcev oz. kapljic za vzorec P27, SMES z ZU, DZO 9 in Cellets® 200	51
Slika 13: Porazdelitev velikosti delcev oz. kapljic za SMES z ZU in vzorce P16, P22 ter P27.....	51
Slika 14: DSC krivulje segrevanja kristaliničnega karvedilola in FZ karvedilola z vezivi v razmerju 1 : 1.....	52
Slika 15: DSC krivulje segrevanja kristaliničnega karvedilola ter pomožnih snovi, ki so vključene v obložene pelete.....	53
Slika 16: DSC krivulje segrevanja kristaliničnega karvedilola in vzorcev P16, P22 in P27.	53
Slika 17: Profil sproščanja karvedilola iz izbranih vzorcev pelet (P16 in P27), pelet P24, ki vsebujejo le veziva in karvedilol (brez SMES) ter raztapljanje kristalinične oblike karvedilola v kislem mediju s pH 1,2.	54
Slika 18: Profil sproščanja karvedilola iz izbranih vzorcev pelet (P16 in P27), pelet P24, ki vsebujejo le veziva in karvedilol (brez SMES) ter raztapljanje kristalinične oblike karvedilola v mediju s pH 6,8.....	55

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica I: Razredi Biofarmacevtskega klasifikacijskega sistema (4).	1
Preglednica II: Klasifikacijski sistem na lipidih osnovanih sistemov- LFCS (9, 10, 11)...	3
Preglednica III: Spremenljivke, ki vplivajo na kakovost oblaganja pri procesu oblaganja s tehnologijo z vrtinčenjem (33, 36).	14
Preglednica IV: Sestava SMES, vloga in delež posameznih sestavin.	22
Preglednica V: Sestava posameznih DZO.	24
Preglednica VI: Velikosti sit za sejanje produkta.	25
Preglednica VII: Kromatografski pogoji HPLC analize.....	28
Preglednica VIII: Pogoji sproščanja karvedilola.....	32
Preglednica IX: Sestava DZO 1 in procesni parametri oblaganja.	34
Preglednica X: Sestava DZO 5 in 6 ter procesni parametri oblaganja.....	36
Preglednica XI: Sestava DZO 9 in procesni parametri oblaganja.	39
Preglednica XII: Izračunani izkoristki procesa oblaganja, celokupni izkoristek pri poskusih s tremi stopnjami oblaganj, deleži aglomeratov in velikost pelet uporabne frakcije.	41
Preglednica XIII: Sestava DZO 2, 3 in 4 ter procesni parametri oblaganja.....	41
Preglednica XIV: Masna koncentracija ZU v SMES, teoretična in eksperimentalno določena vsebnost ZU v obloženih peletah, povprečna masa nanešene obloge na peletu, izračunana povprečna vsebnost ZU v sloju nanešene obloge na peletu ter povprečen premer pelet.	44
Preglednica XV: Porazdelitev velikosti pelet, povprečni premer in faktor sferičnosti.....	45

Preglednica XVI: Prikaz velikosti kapljic (povprečne in posamezni vrhovi) po (re)dispergiranju tekočega SMES in izbranih obloženih pelet v vodnem mediju ter PDI. . 49

KAZALO PRILOG

Priloga I: Poskusi vrtninoslojnega oblaganja	67
Priloga II: DSC krivulje segrevanja kristaliničnega karvedilola in vzorcev P16, P22, P24 in P27.....	74
Priloga III: Mase 1000 stehtanih peletnih jeder in obloženih pelet poskusov P14- 16, P20 – 22 in P25 – 27.....	74

POVZETEK

Rezultati modernih pristopov na področju farmacevtske kemije se odražajo z naraščanjem števila slabo vodotopnih zdravilnih učinkovin (ZU). Zaradi številnih prednosti, predstavlja peroralni vnos zdravila, še posebej trdnih oblik, najbolj zaželeno pot vnosa zdravil. Pri tem je vodotopnost ZU in njena biološka uporabnost (BU) ključnega pomena za doseganje želene koncentracije ZU v sistemske krvnem obtoku in za doseg terapevtskega učinka. Eden izmed pristopov izboljšanja BU je uporaba samo-(mikro)emulgirajočih sistemov (S(M)ES) z raztopljeno ZU. SMES so izotropne zmesi lipidov, površinsko aktivnih snovi (PAS), koemulgatorjev, sotopil in ZU, običajno v tekočem agregatnem stanju, ki v stiku z vodnim medijem, že ob rahlem stresanju tvorijo fine emulzije tipa olje v vodi (O/V). Zaradi številnih prednosti uporabe trdnih farmacevtskih oblik pred tekočimi, se v zadnjem času namenja veliko pozornosti razvoju metod za pretvorbo tekočih SMES v trdno obliko.

V sklopu magistrske naloge smo v predhodno razvito formulacijo tekočega SMES vgradili slabo vodotopno, modelno ZU karvedilol in ga s tehnologijo Wurster vrtničnoslojnega oblaganja pelet pretvorili v trdno obliko. Peletna jedra iz mikrokristalne celuloze (Cellets® 200) smo podvrgli procesu vrtničnoslojnega oblaganja v komori z vgrajenim generatorjem vrtničastega toka zraka. Disperzija za oblaganje (DZO) je bila sestavljena iz tekočega SMES z raztopljeno ZU in pomožnih snovi (vezivo PVP K30 in laktoza mesh 200 kot polnilo), ki so zagotovile vgradnjo tekočega SMES v plast obloge. Kot dodatni zaščitni sloj obloge smo nanесли raztopino HPMC (Pharmacoat 606) in PEG 6000, s katero smo preprečili zlepljanje pelet med posameznimi fazami oblaganja. Za doseg čim višje vsebnosti ZU v obloženih peletah, smo postopek oblaganja izvedli v treh stopnjah. Kot najprimernejši sta se izkazali formulaciji iz poskusa P16 (5 % SMES z ZU, 12,5 % PVP K30) in P27 (P22) (5 % SMES z ZU, 5 % PVP K30, 5 % laktoza mesh 200), ki sta omogočala izdelavo obloženih pelet z visokim procesnim izkoristkom ter visoko vsebnostjo karvedilola.

Obloženim peletam smo s pomočjo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (HPLC) določili vsebnost vgrajene ZU in teoretično izračunali izkoristke oblaganj. Velikost pelet, širino porazdelitve velikosti in njihovo sferičnost smo določali s slikovno analizo na optičnem čitalniku Epson V700, opremljenim s programsko opremo za obdelavo slik. S pomočjo vrstičnega elektronskega mikroskopa (SEM) smo izvedli morfološko analizo delcev in si tako prikazali obliko, površino in prerez izdelanih pelet. Sposobnost ohranjanja samo-(mikro)emulgirajočih lastnosti SMES po pretvorbi v trdno obliko smo preverjali z

metodo fotonske korelacijske spektroskopije, s katero smo potrdili spontan nastanek (mikro)emulzij po redispergiranju obloženih pelet. Ob tem smo tudi potrdili, da je velikost kapljic mikroemulzije, ki nastane po redispergiranju obloženih pelet, primerljiva z velikostjo kapljic mikroemulzije tekočega SMES. S preizkusom sproščanja karvedilola iz pelet smo dokazali, da njegova vgradnja v samo-mikroemulgirajoče obložene pelete oz. SME-oblogo bistveno izboljša hitrost in obseg raztapljanju karvedilola v primerjavi z njegovo kristalinično obliko.

Rezultati oblaganja in vrednotenja izdelanih samo-mikroemulgirajočih pelet nakazujejo, da predstavlja tehnologija vrtninoslojnega oblaganja pelet obetavno metodo za pretvorbo SMES v trdno obliko in je primerna za nadaljnje raziskave in razvoj. Tako izdelane pelete bi lahko bile primerne za nadaljnje polnjenje v kapsule ali stiskanje v tablete. S to metodo pretvorbe SMES v trdno obliko in lastnostmi sestavin SMES, ki inhibirajo metabolne encime ter sekretorne prenašalce v prebavnem traktu, bi se biološka uporabnost karvedilola v primerjavi s kristalinično obliko lahko povečala.

Ključne besede: • samo-mikroemulgirajoči sistem (SMES) • vrtninoslojno oblaganje pelet
• generator vrtninčastega toka • obložene pelete • karvedilol.

ABSTRACT

The results of modern approaches in the field of pharmaceutical chemistry can be observed in the increase of the number of poorly water soluble active substances (AS). Due to numerous advantages, the oral administration of the medicine, especially in solid forms, is the most desirable way of administering medicine. In this respect, the water solubility of the AS and its bioavailability are of outmost importance for achieving the desired concentration of AS in the systemic blood circulation and for achieving a therapeutic effect. One of the approaches for improvement of bioavailability is the use of self-(micro)emulsifying systems (S(M)ES) containing the dissolved AS. SMES are isotropic mixtures of lipids, surfactants, co-emulsifiers, co-solvents and AS, usually in the liquid aggregate state, which when comes in contact with aqueous medium, even with only slight shaking, form fine, oil-in-water-type emulsions. Due to numerous advantages of using solid pharmaceutical forms instead of liquid ones, a lot of attention has been devoted lately towards the development of methods for converting liquid SMES into solid form.

As a part of my master's thesis, we have embedded the pre-developed formulation of liquid SMES with a poorly water soluble model AS carvedilol and, by using the Wurster fluid-bed pellet coating technology, we converted it to solid form. We subjected the pellet cores from micro-crystal cellulose (Cellets[®] 200) to the process of fluid-bed pellet coating in a chamber fitted with a swirl airflow generator. The coating dispersion was composed of liquid SMES with dissolved AS and excipients (binder PVP K30 and lactose mesh 200 as filling), which catalysed the absorption of the liquid SMES into a layer of coating. As additional protective layer of coating, we applied the HPMC (Pharmacoat 606) and PEG 6000 solutions, with which we prevented the gluing of individual pellets together during individual phases of coating. To achieve the highest possible content of AS in the coated pellets, we carried out the procedure of coating in three stages. The experiments P16 (5 % SMES with AS, 12,5 % PVP K30) and P27 (P22) (5 % SMES with AS, 5 % PVP K30, 5 % lactose mesh 200) proved to be the most suitable formulations, which enabled the production of coated pellets with high process efficiency and high carvedilol content.

By using high-performance liquid chromatography (HPLC), we determined the content of absorbed AS in the coated pellets and theoretically calculated the efficiency of coating. Size of the pellets, width of the size distribution and their sphericity was determined through image analysis on the Epson V700 optical scanner, fitted with image-processing software.

With the help of a scanning electron microscope (SEM), we performed a morphological analysis of the particles and therefrom derived the shape, surface and cross-section of the pellets. We checked the ability to maintain self-microemulsifying properties SMES after converting it into solid form by using the method of photon correlation of spectroscopy, with which we confirmed the spontaneous formation of (micro)emulsions after re-dispersion of coated pellets. In addition, we also confirmed that the size of the droplets of micro-emulsion forming after re-dispersion of coated pellets is comparable to the size of droplets of micro-emulsion of liquid SMES. By testing the release of the carvedilol from the pellets we proved that its absorption into the S-SMES considerably improves rate and extent of dissolution of carvedilol in comparison with its crystalline form.

The results of coating and evaluating manufactured self-microemulsifying pellets indicate that the technology of fluid-bed pellet coating presents a promising method for converting SMES into solid form and is therefore also suitable for further research and development. Thus fabricated pellets could also be suitable for further filling into capsules or compressing into tablets. With this method of converting SMES into solid form along with the characteristics of ingredients of SMES, which inhibit metabolic enzymes and secretory carriers within the digestive tract, the bioavailability of carvedilol, in comparison to its crystalline form, could increase.

Key words: • *self-microemulsifying system (SMES)* • *fluid-bed pellet coating* • *swirl airflow generator* • *coated pellets* • *carvedilol*

SEZNAM OKRAJŠAV

BSC - biofarmacevtski klasifikacijski sistem (*angl.: Biopharmaceutics Classification System*)

BU - biološka uporabnost

DSC - diferenčna dinamična kalorimetrija (*angl.: Differential Scanning Calorimetry*)

dv - dolgo-verižni

DZO - disperzija za oblaganje

FO - farmacevtska oblika

FS - faktor sferičnosti

FZ - fizikalna zmes

GIT - gastrointestinalni trakt

GRAS – splošno prepoznano kot varno (*angl.: Generally Recognised As Safe*)

HLB - hidrofilno-lipofilno ravnotežje

HPLC - tekočinska kromatografija visoke ločljivosti

HPMC - hidroksipropilmetil celuloza

IPS - izguba pri sušenju

kv – kratko-verižni

LFCS - klasifikacijski sistem na lipidih osnovanih sistemov

MF – mobilna faza

MK – maščobne kisline

O/V – olje v vodi

PAS - površinsko aktivne snovi

PEG – polietilenglikol

P-gp – P-glikoprotein

PDI - polidisperzni indeks

PVP – polivinilpirolidon

RV – razmejitveni valj

rpm – obrati na minuto

sdv – srednje dolgo-verižni

SEM - vrstična elektronska mikroskopija (*angl.: Scanning Electron Microscopy*)

S(M)ES - samo-(mikro)emulgirajoči sistemi

SME-obloga – samo-mikroemulgirajoča obloga

SNES - samo-nanoemulgirajoči sistemi

S-SMES - trdni samo-mikroemulgirajoči sistemi

T - temperatura

TG - trigliceridi

ZU - zdravilna učinkovina

1. UVOD

Posledica modernih pristopov v iskanju novih zdravilnih učinkovin (ZU), je prisotnost vse večjega števila novih farmakološko aktivnih, slabo vodotopnih lipofilnih spojin. Ravno vodotopnost je namreč eden od najpomembnejših parametrov za doseganje želene koncentracije ZU v sistemske krvnem obtoku in za doseg terapevtskega učinka. Zaradi preproste uporabe, natančnejšega odmerjanja, lažjega transporta in shranjevanja ter boljšega sodelovanja pacientov je peroralni vnos zdravila še vedno najbolj zaželena pot vnosa zdravil. Vgradnja teh spojin v peroralno obliko z zadostno biološko uporabnostjo (BU) predstavlja za znanstvenike velik izziv (1, 2). Boljšo vodotopnost učinkovine v prebavnem traktu lahko dosežemo z modifikacijo kristalne rešetke, z zmanjšanjem velikosti delcev, s tvorbo soli ali kokristalov, pretvorbo kristalne v amorfno obliko ter z modifikacijo pH (4). V zadnjem času pa se kot potencialnim prenašalcem za dostavo ZU, izboljšanje topnosti, raztapljanja, permeabilnosti in BU različnih ZU, ki so slabo topne v vodi, precej pozornosti namenja trdnim lipidnim nano- ali mikrodalcem ter na lipidih osnovanim sistemom (3).

1.1. NA LIPIDIH OSNOVANI SISTEMI

Za razvoj novih, vse naprednejših zdravil, je najbolj pomembno dobro poznavanje fizikalno-kemijskih in biofarmaceutskih lastnosti ZU. Iz biofarmaceutskega vidika nam je zato lahko v veliko pomoč biofarmaceutski klasifikacijski sistem (BSC). Pri tem so ZU razvrščene v eno izmed štirih skupin (preglednica I), glede na njihovo topnost v vodi in permeabilnost (4).

Preglednica I: Razredi Biofarmaceutskega klasifikacijskega sistema (4).

Razred I Dobra topnost / dobra permeabilnost	Razred II Slaba topnost / dobra permeabilnost
Razred III Dobra topnost / slaba permeabilnost	Razred IV Slaba topnost / slaba permeabilnost

Veliko število novih ZU spada v razred II, kar pomeni, da imajo slabo topnost in dobro permeabilnost. Zaradi slabe topnosti se v prebavnem traktu sprosti manj ZU, kar vodi k zmanjšani absorpciji in s tem k nizki BU (6). Velika raznolikost prisotnih lipidnih pomožnih snovi je omogočila zelo raznoliko načrtovanje na lipidih osnovanih sistemov, ki omogočajo izboljšano absorpcijo slabo vodotopnih ZU. Ena glavnih prednosti peroralnih na lipidih osnovanih sistemov je, da so ZU v raztopljeni obliki, kar nam omogoča, da se v veliki meri

izognemo fazi raztapljanja ZU v prebavnem traktu in tako lahko ZU preide biološke membrane. Posebno pozornost pri uporabi teh sistemov moramo nameniti možnosti obarjanja ZU v gastrointestinalnem traktu (GIT), saj se oborjena ZU v GIT počasneje raztaplja, kar vpliva na počasnejšo hitrost in večjo variabilnost absorpcije ZU. Pri lipidnih dostavnih sistemih se je izkazalo, da v vodi slabo topne, hidrofozne in hkrati dovolj lipofilne ZU, ki so dobro topne v lipidni podlagi, lahko v veliki večini ostanejo raztopljene v lipidnih kapljicah tudi po dispergiranju sistema v vodnem mediju prebavnega trakta. Dodatna prednost teh sistemov je možnost dostave predhodno raztopljene ZU na mesto absorpcije, s čimer se izognemo kritičnemu omejitvenemu dejavniku in lahko dosežemo ponovljiv absorpcijski profil, kot ga dosežajo dobro topne in dobro permeabilne ZU iz razreda I. (2, 5, 66). Danes je poznanih mnogo različnih lipidnih dostavnih sistemov, od preprostih oljnih raztopin ali suspenzij, do grobih, večkratnih in suhih emulzij ter kompleksnih samo-(mikro)emulgirajočih (S(M)ES) in samo-nanoemulgirajočih sistemov (SNES). Zgradba zadnjih dveh je precej podobna, saj sta le-ta sestavljena iz mešanice različnih lipidov (mono-, di- in trigliceridi), površinsko aktivnih snovi (PAS) in možnih hidrofilnih sopolimerov, ki po razredčenju z vodnim medijem ob rahlem mešanju hitro in spontano tvorijo emulzije tipa olje v vodi (O/V) z nanometrsko velikostjo kapljic notranje faze (6, 7). V pomoč pri lažjem načrtovanju ustreznih formulacij sistemov za posamezne ZU nam je tudi Poutonov klasifikacijski sistem na lipidih osnovanih sistemov (angl.: *Lipid Formulation Classification System*: LFCS) (preglednica II). Po slednjem so sistemi razdeljeni v štiri skupine, glede na njihovo sestavo in zmožnost preprečevanja obarjanja učinkovine med dispergiranjem ter prebavo v prebavnem traktu (7, 9).

Preglednica II: Klasifikacijski sistem na lipidih osnovanih sistemov - LFCS (9, 10, 11).

	SESTAVA	ZNAČILNOSTI	VELIKOST KAPLJIC (nm)
Razred I	olja (MG, DG, TG) 100 %	Preproste oljne raztopine	nad 500
Razred II	olja (MG, DG, TG) 40 - 80 % lipofilne PAS (HLB < 12) 20 - 60 %	Sposobnost samo-emulgiranja	100 - 250
Razred IIIa	olja (MG, DG, TG) 40 – 80 % hidrofilne PAS (HLB > 12) 20 – 40 % hidrofilna sotpila 0 – 40 %	Sposobnost samo-emulgiranja	100 - 250
Razred IIIb	olja (MG, DG, TG) < 20 % hidrofilne PAS (HLB > 12) 20 – 50 % hidrofilna sotpila 20 – 50 %	Sposobnost samo-mikroemulgiranja	pod 100 oz. 50
Razred IV	lipofilne PAS (HLB < 12) 0 – 20 % hidrofilne PAS (HLB > 12) 30 - 80 % hidrofilna sotpila 0 – 50 %	Spontani nastanek micelarne disperzije	pod 50

*Legenda: **MG** - monogliceridi; **DG** – digliceridi; **TG** – trigliceridi; **PAS** – površinsko aktivne snovi; **HLB** – hidrofilno-lipofilno ravnotežje*

Sistemi, ki spadajo v razred I, so enostavne oljne raztopine (sestavljene iz mono-, di- in/ali trigliceridov), ki navadno ne vsebujejo PAS (oz. le v zelo nizkem odstotku). Zanje je značilno, da imajo status GRAS (*angl.: Generally Recognized as Safe*), kar pomeni, da so v splošnem prepoznani kot varni. So enostavni za izdelavo, imajo zelo dobro kompatibilnost z želatinastimi kapsulami in slabo kapaciteto za raztapljanje ZU, ki niso zelo lipofilne. V razred II uvrščamo sisteme, ki poleg oljne faze vsebujejo tudi lipofilne PAS, z namenom povečanja topnosti vgrajenih ZU in olajšanega emulgiranja sistema po razredčenju. Te lipidne dostavne sisteme poznamo kot samo-emulgirajoče sisteme (7, 10). Če gliceridom

dodamo še hidrofilne PAS in/ali sotopila, dobimo sisteme, ki spadajo v razred III. Ti po redčenju spontano tvorijo bistre do rahlo opalescentne disperzije, zato za absorpcijo ZU iz sistema ni potreben s prebavo oljne faze spodbujen proces emulgiranja. Razred III se deli na dva podrazreda - IIIa in IIIb. Sistemi razreda IIIa so poznani kot samo-emulgirajoči sistemi, vsebujejo več gliceridov in manj hidrofilnih komponent ter ob dispergiranju tvorijo emulzije z velikostjo kapljic nad 100 nm. Pri razredu IIIb pa je vsebnost hidrofilnih komponent večja, zato ob dispergiranju tvorijo mikroemulzije z velikostjo kapljic pod 100 oz. 50 nm. Take sisteme imenujemo samo-mikroemulgirajoči sistemi (SMES). Le-ti imajo veliko solubilizacijsko kapaciteto za raztapljanje in vgradnjo ZU, katerih porazdelitveni koeficient ($\log P$) znaša med 2 in 4. Predstavniki na lipidih osnovanih sistemov, ki vsebujejo največ hidrofilnih komponent, so sistemi razreda IV. Sestavljeni so samo iz hidrofilnih PAS in hidrofilnih sotopil, ki tvorijo koloidne micle po redčenju z vodnim medijem (8, 11).

1.2. SAMO-(MIKRO)EMULGIRAJOČI SISTEMI – S(M)ES

Izmed vseh lipidnih formulacij se v zadnjem času vedno več pozornosti namenja SMES. Po definiciji so SMES izotropne mešanice naravnih ali sinteznih lipidov, trdnih ali tekočih PAS, enega ali več hidrofilnih topil ali sotopil in ZU. Po redčenju z vodnim medijem, kot je gastrointestinalna tekočina in pod vplivom rahlega stresanja, ki simulira gibanje prebavnega trakta, so sposobni spontano tvoriti mikroemulzije tipa O/V. Taki sistemi ne le, da povečajo topnost ZU, ampak tudi izboljšajo njihove absorpcijske lastnosti, zaradi nahajanja ZU v že raztopljeni obliki in zaradi zelo velike stične medfazne površine, ki jo zagotavlja majhna velikost kapljic. SMES tvorijo transparentne mikroemulzije, katerih velikost kapljic je manjša od 100 oz. 50 nm z ozko porazdelitvijo velikosti (3, 12, 17). Sama sestava SMES se lahko spreminja glede na vrsto in koncentracijo uporabljenih pomožnih snovi, kar se odraža v različni topnosti SMES v biološkem okolju in različni razpoložljivosti aktivnih substanc za absorpcijo (19). Povečanje peroralne absorpcije ZU je tako odvisno od vrste lipidov v formulaciji, razmerja med lipidi in (ko)emulgatorjem, koncentracije (ko)emulgatorja, v nekaterih primerih pa tudi od velikosti in naboja kapljic nastale emulzije. Lipidi lahko vplivajo na absorpcijo ZU tako, da povečajo solubilizacijo ZU v prebavnem traktu (tudi z vplivom na sestavo in lastnosti koloidnih veziklov, micelov in mešanih micelov, ki nastajajo v procesu prebave lipidov), lahko tudi interagirajo s prenašalnimi in metabolnimi procesi na nivoju enterocitov, od vrste lipidov (in lastnosti ZU) pa je odvisna tudi pot transporta ZU v sistemski krvni obtok (portalna vena vs. limfni obtok). Velik vpliv na izboljšanje BU imajo

tudi PAS, ki povečujejo topnost ZU, povečajo njihovo permeabilnost skozi epitelij prebavnega traka ter inhibirajo P-glikoprotein (P-gp) in/ali CYP450 (5, 20). SMES imajo kot lipidni dostavni sistemi precej pozitivnih lastnosti, saj omogočajo dostavo hormonov, peptidov, substratov encimov in inhibitorjev encimov ter nudijo zaščito pred njihovo encimsko razgradnjo. Obenem vplivajo na izboljšanje peroralne BU, zmanjšujejo inter- in intra-individualne variabilnosti absorpcije in zmanjšujejo dražec učinek ZU na sluznico želodca (13, 15). A kljub številnim prednostim imajo tudi nekaj slabosti. Prisotnost visokih koncentracij PAS v SMES lahko povzroča slabšo stabilnost ZU in draženje sluznice v gastrointestinalnem traktu (GIT), možen je prehod hlapnih sopolil iz formulacije v ovojnico kapsule, kar lahko povzroči precipitacijo ZU in relativno omejena izbira končnih farmacevtskih oblik (FO) (14, 15).

1.2.1. SESTAVA SMES

Proces samo-mikroemulgiranja je odvisen od kombinacije in razmerja med lipidi in PAS, koncentracije PAS ter od temperature (T), pri kateri pride do samo-mikroemulgiranja. Samo točno določena kombinacija specifičnih pomožnih snovi lahko vodi do učinkovitega SMES sistema. Pri načrtovanju mikroemulzij je zato ključnega pomena prava izbira ustreznih kombinacij oljne in vodne faze, ki se morata dobro mešati z zmesjo PAS in pomožne PAS. Zaželeno je uporaba neionskih PAS z relativno visokimi hidrofilno-lipofilnimi ravnotežnimi (HLB) vrednostmi, ki imajo sposobnost, da že pri zelo nizkih koncentracijah ustrezno znižajo medfazno napetost. S tem omogočijo nastanek mikroemulzij, saj so lahko visoke koncentracije PAS v SMES fiziološko nesprejemljive (1, 5). Za določitev optimalnega razmerja med posameznimi komponentami v SMES je potrebno izdelati trikomponentni fazni diagram. Ta nam pokaže območje nastanka sistema, a je njegova eksperimentalna določitev dolgotrajen proces, ki zahteva natančno načrtovanje in vrednotenje vseh faz v sistemu (16). Učinkovitost vgradnje ZU v SMES je odvisna od fizikalno-kemijske združljivosti med ZU in SMES, absorpcijski profil in porazdelitev ZU med krvjo in limfo pa od dolžine verig trigliceridov, stopnje nasičenosti in deleža lipidov (1).

Lipidi so ena najpomembnejših sestavin v sistemu. Večinoma so sestavljeni iz trigliceridov (TG) ali mešanih gliceridov (mešanica mono-, di- in trigliceridov) rastlinskih olj in se delijo na TG z dolgimi verigami (dv-TG), srednje dolgimi verigami (sdv-TG) in kratkimi verigami (kv-TG). Lipidi ne predstavljajo varnostnih težav po tem, ko se razgradijo in absorbirajo. Naravna rastlinska olja sestojijo predvsem iz mešanice TG, prostih maščobnih kislin (MK),

fosfolipidov in neumiljivih sestavin, medtem ko so rafinirana rastlinska olja sestavljena le iz čistih TG in prostih MK (6, 18). Dv-TG (olivno, sončnično, sezamovo, ricinusovo olje) imajo status GRAS. Z lahkoto jih zaužijemo, so lahko prebavljivi in se hitro absorbirajo, imajo pa slabe samo-disperzijske lastnosti. Njihova prednost v splošnem je višja topnostna kapaciteta po redispergiranju in presnovi formulacije v prebavnem traktu. Sdv-TG (frakcionirano kokosovo olje, olje palminih semen, TG kaprinske kisline, Miglyol® 812, Captex® 355) izkazujejo dobro topnostno kapaciteto za manj lipofilne ZU, dobre samo-dispergirajoče sposobnosti in so bolj kemijsko stabilni. Zaradi navedenih lastnosti so pogosto bolj uporabljeni kot dv-TG. Mešani mono-, di- in trigliceridi (Imwitor® 988, Peceol®, Capryol®) zaradi njihove amfifilne narave posedujejo površinsko aktivne lastnosti, prav tako pa so zaradi boljših samo-dispergirajočih sposobnosti in višje topnostne kapacitete za slabo vodotopne ZU, učinkoviti pri nadomeščanju konvencionalnih olj (7).

Dejavnik, ki lahko ključno vpliva na načrtovanje SMES, je izbor primernih površinsko aktivnih snovi, tako imenovanih emulgatorjev. Pogosto je stabilnost (mikro)emulzij v prebavnem traku že predhodno določena glede na tip emulgatorja, ki ga uporabimo. Večina najbolj stabilnih mikroemulzij je izdelana iz kombinacije PAS, pri katerih en deluje kot emulgator, drugi pa kot koemulgator glede na njuno vrednost HLB. Molekule PAS delujejo tako, da se porazdelijo med oljno in vodno fazo (mikro)emulzije ter z znižanjem medfazne napetosti in zaščito kapljic pred združitvijo stabilizirajo notranjo oljno fazo emulgirajočih dostavnih sistemov. Glede na njihovo HLB vrednost jih lahko razdelimo med lipofilne ($HLB \leq 10$) in hidrofilne ($HLB > 10$) PAS. Za SMES so najbolj primerne neionske PAS (Cremophor® EL, Cremophor® RH 40, Labrasol®), katerih HLB vrednost je višja od 12 in je potrebna za nastanek sistemov, ki spontano tvorijo O/V emulzije po razredčenju v GIT. Pri izbiri PAS moramo še posebej paziti na varnost, saj jih je za peroralno uporabo uporabnih zelo malo (Myrj®, Solutol® HS15, Brij® 35). Ravno zaradi varnosti se največ uporabljajo naravne in neionske PAS (polietoksilirani lipidni derivati), saj imajo manjšo toksičnost od sinteznih, anionskih in kationskih PAS. Neionske PAS vsebujejo MK, alkohole ali gliceride, ki so preko esterskih (MK in gliceridi) in eterskih (alkoholi) vezi povezani z določenim številom ponavljajočih se enot polietilen oksidov, katere jim dajejo hidrofilne lastnosti. Poleg nižje toksičnosti omogočajo dobro stabilizacijo emulzij v širšem območju ionske jakosti in pH, a lahko slabo vplivajo na permeabilnost v lumnu GIT. Za tvorbo stabilnih SMES je primerna koncentracija PAS med 30 % in 60 % (m/m), vendar je pri izdelavi SMES

potrebno uporabiti čim nižje koncentracije PAS, da se tako zmanjša verjetnost draženja želodca (7, 21).

Z namenom povečanja topnosti hidrofobnih ZU, so večini formulacij SMES na trgu dodana sotopila. Med največ uporabljenimi so etanol, glicerol, propilen glikol in polietilen glikoli (PEG 400). Kljub bistvenemu povečanju zmogljivosti topila ob dodatku sotopil, moramo uporabiti visoke koncentracije sotopil, kar pa lahko pripelje do tveganja za obarjanje ZU po dispergiranju v vodi. Ravno zaradi možnosti obarjanja raztopljene ZU po znižanju topnostne kapacitete kot posledica razredčenja sistema, nemešanja nekaterih sotopil z olji in nezdržljivosti nizkomolekularnih sotopil z ovojnici kapsul, v katere se v veliki meri ti sistemi polnijo, obstajajo določene omejitve pri njihovi uporabi (10).

1.2.2. VKLJUČITEV UČINKOVINE V SMES

ZU z nizko vodotopnostjo so zaradi hidrofobnega značaja netopne v večini topil. Pred načrtovanjem SMES je zato potrebno do dobra preučiti določene lastnosti ZU in ovrednotiti smiselnost vgradnje ZU v le-tega. Po definiciji se v SMES med prehodom GIT ZU ohranjajo v raztopljenem stanju. Za zagotavljanje le-tega pa je glavni pogoj, da je ZU topna v lipidih. Pri preučevanju razmerja topnosti ZU v posameznih komponentah SMES nam je v veliko pomoč porazdelitveni koeficient ZU, ki je merilo intrinzične hidrofilnosti/lipofilnosti snovi. Po navedbah v literaturi (65) so za vgradnjo v SMES primerne predvsem ZU, katerih log P je višji od 2. Učinkovitost vgradnje ZU v SMES je glede na fizikalno-kemijsko kompatibilnost med ZU in sistemom specifična za vsak sistem posebej. V večini primerov se ob vgradnji ZU v sistem spremeni optimalno razmerje med oljem in PAS, lahko pa se v odvisnosti od koncentracije vgrajene ZU, spremeni porazdelitev velikosti kapljic sistema. Dovzetnost za spremembe je pogostejša pri emulzijah z manjšo velikostjo kapljic v zahtevnejših formulacijah (formulacije z večjim številom komponent SMES) (12). Tako je za razvoj optimalnega SMES potrebno že predhodno določiti topnost ZU v posameznih komponentah in izdelati fazne diagrame, iz katerih lahko razberemo območje nastanka mikroemulzij in morebiten vpliv ZU na sistem (5).

1.3. TRDEN SAMO-MIKROEMULGIRAJOČI SISTEM – S-SMES

Zaradi omejenih končnih FO tekočega SMES (v obliki tekočih FO ali napolnjeni v mehke želatinaste kapsule) in glavnih slabosti tekočih SMES (možnost obarjanja ZU ali pomožnih

snovi, visoki stroški proizvodnje polnjenja tekočega SMES v mehke želatinaste kapsule in nezdružljivost nekaterih sestavin SMES s sestavinami ovojnice kapsul), so raziskovalci našli rešitev v tehnološki inovaciji pretvorbe tekočega SMES v trdne samo-mikroemulgirajoče sisteme (*angl.: Solid SMES: S-SMES*). Pretvorbo lahko izvedemo s pomočjo različnih tehnoloških postopkov kot so sušenje z razprševanjem, adsorpcija na trdne nosilce, granuliranje s talinami, iztiskanje talin s krogličanjem in razprševanje s strjevanjem. Pri pretvorbi v trdno obliko lahko dobimo dobro pretočne praške, granule, pelete, tablete, trdne disperzije, mikrosfere in nanodelce (22). Trdni SMES so formulacije, ki vsebujejo prednosti tekočih SMES (boljša topnost in BU), hkrati pa so jim pridružene še prednosti trdnih FO kot so večja stabilnost, nižji stroški izdelave, možnost dobre medprocesne kontrole in s tem doseganje boljše ponovljivosti ustrezne kakovosti končnega farmacevtskega izdelka, boljša complianca pacientov, natančnejše odmerjanje ter lažje rokovanje in shranjevanje (23).

1.3.1. TEHNOLOŠKI POSTOPKI ZA PRETVORBO SMES V TRDNO OBLIKO

Polnjenje kapsul s tekočim ali poltrdim SMES: Polnjenje kapsul je najenostavnejša in najpogostejša metoda za pretvorbo tekočega ali poltrdnega SMES v trdno obliko za peroralno uporabo. Za pripravo poltrdnih formulacij najprej segrejemo poltrdno pomožno snov na T, ki je za vsaj 20 °C višja od T tališča, nato med mešanjem dodamo ZU, napolnimo v trdne ali mehke kapsule in jih pustimo, da se ohladijo na sobno temperaturo (24). Tekoče formulacije moramo po polnjenju kapsule med telesom in kapo zatesniti, bodisi z trakom ali mikrosprejem. Najpomembnejši dejavnik pri tej metodi je kompatibilnost pomožnih snovi SMES z ovojnico kapsule. Prednosti metode polnjenja kapsul so predvsem v enostavnosti izdelave, ustreznosti FO za majhne odmerke zelo močnih ZU in možen visok odstotek vgrajene ZU (do 50 % (w/w)) (1, 18).

Sušenje z razprševanjem: Pri tej metodi uporabljamo mešanico lipidov, PAS, ZU in trdnega nosilca, katere je potrebno raztopiti oz. dispergirati, preden jih skozi šobo razpršimo v drobne kapljice. Kapljice uvajamo v sušilno komoro, kjer pod nadzorovano T in pretokom zraka, hlapna faza (na primer voda iz emulzije) izhlapi, pri čemer se tvorijo suhi delci (prašek). Slednje lahko v nadaljevanju polnimo v kapsule ali jih stisnemo v tablete. Šoba, procesni parametri med procesom sušenja z razprševanjem in sušilna komora so izbrani na podlagi lastnosti sušenja SMES in lastnosti praška (1).

Adsorpcija na trdne nosilce: Ena izmed možnosti izdelave praškov z dobrimi pretočnimi lastnostmi iz tekočih lipidnih formulacij je adsorpcija tekočih SMES na trdne nosilce. Proces adsorpcije je preprost in vključuje dodajanje tekoče formulacije trdnemu nosilcu med mešanjem v mešalniku. Kot nosilci se uporabljajo mikroporozne anorganske substance, koloidni anorganski adsorbenti z veliko površino (silicijev dioksid, smukec, magnezijev hidroksid, silikati), premreženi polimeri (z natrijem premrežena karboksimetil celuloza, zamreženi polimetakrilat) ali nanodelci kot adsorbenti (ogljikove nanocevke, porozni silicijev dioksid (Sylysia 550), fulereni, oglje). Ti so izbrani na podlagi njihove sposobnosti adsorpcije tekočih pomožnih snovi in pretočnih lastnostih zmesi po adsorpciji. Tako dobljene praške z dobrimi pretočnimi lastnostmi lahko v nadaljevanju polnimo v kapsule ali pa jim dodamo ustrezne pomožne snovi in stisnemo v tablete. Največje prednosti te metode so enakomernost vsebnosti, sposobnost velike adsorpcije lipidov na nosilec (vse do 70 % (m/m)) in enostaven proces izdelave. Njena slabost je v zmanjšani kapaciteti vgradnje ZU v končni FO, saj zaradi dodanega trdnega nosilca in pomožnih snovi za tabletiranje, pride do zmanjšanja deleža lipidne formulacije (1, 18).

Granuliranje s talinami: To je proces, pri katerem je zmesi prahov dodano vezivo, ki se tali ali mehča pri relativno nizki T in omogoča nastanek aglomeratov prahov (zrnca, pelete). Granuliranje s talinami je enostopenjski proces, kar nudi številne prednosti v primerjavi s konvencionalnim mokrim granuliranjem, saj ne potrebujemo tekočine za granuliranje, s čimer se izognemo fazi sušenja. Poleg tega je tudi dobra alternativa uporabi organskih topil. Kot veziva, ki se talijo, lahko pri tem postopku uporabimo veliko različnih trdnih in poltrdnih lipidov. Glavni parametri za nadzor procesa so hitrost in čas mešanja zmesi, velikost delcev veziva ter viskoznost veziva v talini. Prednosti granuliranja z lipidi so predvsem enostavnost procesa izdelave (enostopenjski), odsotnost topil in potencialna možnost vgradnje visokega deleža ZU (po podatkih iz literature do 66 %) (1, 18).

Iztiskanje talin s krogličanjem: Iztiskanje je proces, pri katerem material s plastičnimi lastnostmi potisnemo skozi matrico pod nadzorovanim tlakom, T in hitrostjo iztiskanja ter na ta način oblikujemo končni produkt enotne oblike in gostote. Po iztiskanju sledi proces rezanja iztiskancev in krogličanje. V industriji se postopek iztiskanja, kateremu nato sledi faza krogličanja, običajno uporablja za izdelavo enakomerno velikih sferičnih delcev (pelet). Velikost tako izdelanih pelet je odvisna od velikosti odprtin matrice skozi katero potisnemo material. Iztiskanje talin s krogličanjem je postopek, v katerem ne uporabljamo topila, ampak talino veziva, omogoča pa enakomernost vsebnosti in visoko vgradnjo ZU (60 %) (1).

Razprševanje s strjevanjem: Je postopek, pri katerem se staljeno snov razprši v hladilno komoro. Ob stiku s hladnim zrakom se staljene kapljice strdijo in oblikujejo v okrogle trdne delce, ki v obliki praška padejo na dno komore. Praške lahko nato polnimo v kapsule ali stisnemo v tablete. Količina vgrajene ZU je odvisna od viskoznosti formulacije (do 30 %). Za razprševanje SMES se najpogosteje uporablja ultrazvočna šoba. Glavni parametri, na katere moramo biti pozorni pri razprševanju, so T tališča pomožnih snovi, ki naj bi bila med 50 in 80 °C, viskoznost taline za razprševanje in T hlajenja v komori, katera mora omogočati hitro in popolno strditev kapljic. Glavne pomožne snovi, uporabljene pri tej metodi, so polioksilgliceridi in bolj specifični stearoil polioksilgliceridi (Gelucire® 50/13), ki omogočajo izdelavo mikrodorcev z ozko porazdelitvijo velikosti ter po literaturnih podatkih omogočajo statistično značilno izboljšanje profila sproščanja za slabo vodotopne ZU kot sta diklofenak in prazikvantel (18).

1.3.2. OBLAGANJE PELET

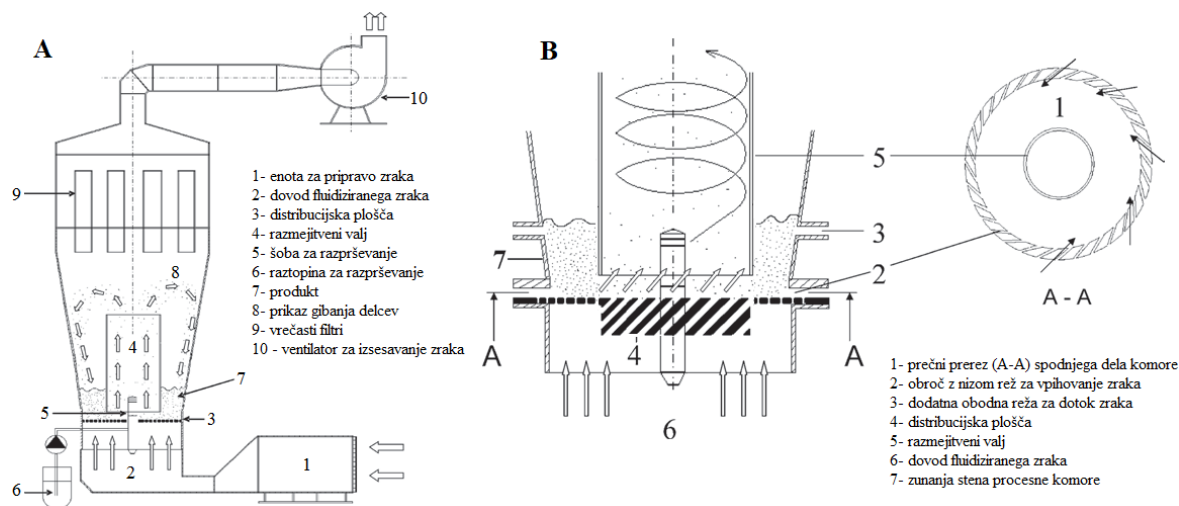
V iskanju novih načinov pretvorbe tekočih SMES v trdno obliko, je v zadnjih letih naraslo zanimanje za različne postopke izdelave pelet. Še ne dolgo nazaj je bila edina tehnika izdelave pelet iztiskanje talin s krogličanjem, sedaj pa se vedno več pozornosti namenja tudi oblaganju inertnih peletnih jeder (26). Tehnologija oblaganja delcev je pogosto uporabljena v farmacevtski industriji, kjer v enem samem kosu opreme enakomerno razpršimo raztopino ali suspenzijo na osnovne gibajoče se delce, hkrati pa se ti delci pri gibanju v komori tudi sušijo. Končni cilj postopka oblaganja v vrtinčnoslojni komori je izdelava enakomerno obloženih delcev ob čim višjih izkoristkih procesa (28). Sistem tehnologije z vrtinčenjem je sestavljen iz treh enot (slika 1A). Za ustrezen pretok zraka skrbi ventilator, ki črpa atmosferski zrak skozi vstopno enoto. Zrak se kasneje pod vplivom predgrelca, grelca, vlažilca, razvlaževalca, usmerjevalca pretoka zraka in HEPA ("high-efficiency particulate air filter") filtrov, ki sestavljajo vstopno enoto, primerno ogreje, navlaži in očisti ter skozi distribucijsko ploščo vstopi v procesno komoro. Zgornji del komore predstavlja ekspanzijski prostor, ki omogoča, da se obloženi delci sušijo in se zaradi zmanjšane jakosti zračnega toka ob steni vrnejo na dno. Na vrhu komore so vstavljeni filtri, ki preprečujejo izgubljanje obloženih delcev iz komore. Zaradi drobnih delcev se filtri med procesom radi zamašijo, zato jih je potrebno kontinuirano stresati ali izpihovati s pomočjo stisnjenega zraka. Za dodatno zaščito skrbijo filtri v cevi za izstopni zrak, ki preprečujejo prehajanje zelo majhnih delcev v ozračje (33). Proces temelji na postopku, kjer se trdni delci v komori, pod vplivom

zraka, ki ga z nadzorovano, konstantno hitrostjo uvajamo skozi perforirano ploščo na dnu komore, gibljejo v obliki zvrtničnega sloja. Ta postopek uporabljamo predvsem za oblaganje majhnih delcev (pelet) ali tablet, zlasti za nanos funkcionalnih oblog kot so gastrozistentne obloge, obloge za doseganje zadržanega, podaljšanega in pulzirajočega sproščanja, specifično dostavo učinkovine v debelo črevo ter prekrivanje neprijetnega okusa učinkovine (29). Najpomembnejši lastnosti obloženih delcev pri oblaganju sta debelina obloge in njena enakomernost, saj skrbita za zaščito ZU in drugih materialov pred sončno svetlobo, predstavljata bariero pred vlago in kisikom iz ozračja ter dajeta izboljšan estetski videz FO. Zaradi enakomernega nanosa obloge, so pri tem procesu, za doseg želenih rezultatov, potrebne manjše količine materialov za oblaganje, krajši čas samega procesa in manjša poraba energije. Na dnu komore je centralno nameščena dvokanalna šoba, ki omogoča razprševanje tekočine v smeri toka zraka. Učinkovito oblaganje je namreč možno le, če so delci suspendirani v navzgor usmerjenem toku zraka. To omogoča, da se kapljice tekočine za oblaganje enakomerno nalagajo na površino delcev, topilo pa zaradi ogretega zraka v ekspanzijskem prostoru nato izhlapi. Pri dvokanalni šobi je en kanal povezan s črpalko za dovajanje DZO, drugi pa predstavlja dovod komprimiranega zraka. Kapljevina se na vrhu šobe pod vplivom komprimiranega zraka razprši v drobne kapljice, ki kasneje obložijo delce. Z nadzorom tlaka razprševanja, pretoka tekočine in širine curka, ki ga omogoča ta vrsta šob, lahko vplivamo na velikost razpršenih kapljic ter posredno na proces oblaganja. Nenehno kroženje delcev skozi območje razprševanja nam daje želeno maso in debelino obloge. Komora za oblaganje mora zagotavljati nanos enakomerne debeline obloge, ne glede na porazdelitev velikosti delcev, saj lahko neenakomerno nanešena obloga vpliva na učinkovitost in delovanje obloženega produkta. Eden od neželenih izidov pri oblaganju je nastanek aglomeratov, zato je potrebno opremo in procesne parametre prilagoditi tako, da dosežemo maksimalno enakomernost debeline obloge in zmanjšamo ali celo izničimo nastanek aglomeratov (27, 29, 68).

Najpogosteje uporabljena je tako imenovana Wurster komora (slika 1A), ki jo je leta 1953 patentiral Dale Wurster, z namenom izdelave granulata znotraj ene same procesne komore in jo še danes uporabljamo za oblaganje pelet. V vrtničnoslojni komori stožčaste oblike je na sredini vertikalno postavljen razmejivni valj (RV), na dnu komore pa je perforirana plošča s specifično razporeditvijo odprtin. Pri tej distribucijski plošči je več odprtin na sredini in manj na obrobju, kar omogoča pretok zraka tudi ob stenah v spodnjem delu komore. Odprtine na obrobju distribucijske plošče preprečujejo dlje časa trajajoče

zadrževanje delcev, ki zaradi relativno šibkega toka zraka ob steni komore težje vstopajo v območje razprševanja. Namenjene so rahljanju sloja ob stenah komore, da delci lažje prehajajo od stene komore proti RV. S pomočjo specifično razporejenih, gostejših odprtin na sredini distribucijske plošče, ki omogočajo večji pretok zraka in s tem tok delcev skozi RV proti ekspanzijskemu delu komore, zagotavljamo enakomerno oblaganje vseh delcev. Šoba za razprševanje je nameščena centralno na dnu komore, kar omogoča razprševanje tekočine v smeri toka zraka (30). Pot razpršenih kapljic do delcev je zaradi tega zelo kratka. Kapljice se ob trku z trdnimi delci najprej razprostrejo po površini delcev in nato koalescirajo. V toku toplega zraka v ekspanzijskem delu komore začne topilo izhlapevati, obenem pa pride do kristalizacije raztopljene snovi ali precipitacije v amorfnobliko. Med delci in oblogo ter med posameznimi plastmi obloge se pričnejo tvoriti snovne povezave, ki tako omogočajo nastanek obloge. Ko nad RV in v ekspanzijski komori gravitacijska sila prevlada nad silo toka zraka, pričnejo delci med RV in steno komore padati na dno in na tak način se proces homogenega, vrtinčastega gibanja ponavlja (31).

V želji po napredku in izboljšavah so raziskovalci na Fakulteti za farmacijo v Ljubljani razvili Wurster komoro, opremljeno z generatorjem vrtinčastega toka (slika 1B). Ta se po obliki komore ne razlikuje od konvencionalne Wurster komore, a ima drugače zasnovano dno komore in v distribucijsko ploščo vgrajene lamele za generiranje vrtinčastega toka zraka (29). Spodnji del procesne komore sestoji iz ukrivljene ali ravne perforirane distribucijske plošče s centralno pritrjenim generatorjem vrtinčastega toka, ki ga predstavlja niz poševnih utorov, orientiranih v krožni način. Generator vrtinčastega toka je zasnovan tako, da vključuje tangencialno komponento zračnega toka in tako ustvarja vrtinčasto gibanje delcev znotraj RV (32). Ukrivljena perforirana plošča v primerjavi z ravno, domnevno zmanjšuje zastoj delcev ob robu zunanje stene in perforirane plošče na dnu komore ter posledično zmanjša razlike v porazdelitvi velikosti delcev. Tudi pri tej distribucijski plošči so ob robu manjše in redkejšee odprtine, ki usmerjajo delce proti centralno nameščenemu RV in s tem skrajšajo čas zadrževanja delcev ob steni ter posledično vplivajo na večjo enakomernost nanosa obloge (29). Generator vrtinčastega toka omogoča, da večji delež pelet potuje ob stenah znotraj RV, zasnova perforirane plošče pa lahko pomembno vpliva na hidrodinamiko v komori za oblaganje. Tako se posledično poveča enakomernost nanešene obloge ne glede na velikost delcev in zmanjša stopnja neželenih aglomeratov (32).



Slika 1: Shematski prikaz konvencionalnega Wurster oblagalnika (A) in Wurster komore, opremljene z generatorjem vrtničastega toka (B).

V farmaciji se tehnologija z vrtnčenjem (*angl.: Fluid Bed Technology*) uporablja za različne postopke kot so: filmsko oblaganje, granuliranje z dograjevanjem, sušenje, mešanje, direktno izdelavo pelet, oblaganje z raztopinami, suspenzijami in praškastimi delci (pomožne snovi in/ali ZU). Proces oblaganja z disperzijami poteka z nanosom več plasti obloge na začetna jedra, ki so lahko nevtralna (peletna) jedra ali kristali učinkovine (30). Področje vrtnčnoslojnega oblaganja pelet s SMES je dokaj neraziskano, zato je na razpolago le malo literaturnih virov. Najpogostejši problem pri nanosu debelega sloja obloge (*angl.: layering*) s SMES na pelete, je zmogljivost obloge, da zadrži tekoči SMES. Za učinkovito vgradnjo tekočega SMES v nanešeno plast obloge je pri oblaganju zelo pomemben izbor primerne polimera, ki je raztopljen ali suspendiran v vodi in polnila (26). Uporabnost polimerov je definirana na podlagi njihove topnosti v vodi, zato jih delimo na vodotopne, v vodi netopne oz. nabrekajoče in tiste, katerih topnost je odvisna od pH medija. V vodi topni polimeri ne zadržujejo sproščanja ZU, zato jih uporabljamo pri FO s takojšnjim sproščanjem in so primerni za nanos debelejšega sloja obloge z vključeno ZU. Najpogosteje uporabljeni vodotopni polimeri so hidroksipropilmetilceluloza (HPMC), natrijeva karboksimetilceluloza (Na-CMC), polivinilpirolidon (PVP) in Eudragit® E. V vodi netopni oz. v vodi nabrekajoči polimeri (etilceluloza (EC), Na – alginat, hidroksietilceluloza (HEC), Eudragit® RL, Eudragit® RS) se uporabljajo za izdelavo FO s prirejenim sproščanjem. Pogosto jim dodajamo še vodotopne polimere, da pospešimo sproščanje ZU iz filmov za prirejeno sproščanje. Polimeri, katerih topnost je odvisna od pH medija, so namenjeni predvsem za izdelavo gastrozistentnih FO (polivinil acetat ftalat (PVAP), kopolimeri metakrilne kisline

(Eudragit® L, Eudragit® S)), obenem pa jih lahko uporabljamo za preprečevanje draženja želodčne sluznice zaradi ZU ali za ciljano dostavo ZU v tanko črevo (34, 35).

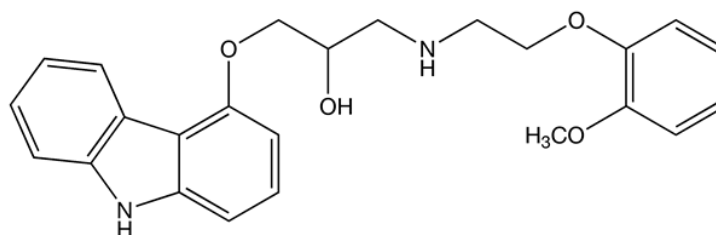
Velik vpliv na proces oblaganja imajo procesne spremenljivke (preglednica III). Sam proces oblaganja v vrtinčnoslojnih napravah je zelo zapleten in vključuje več kot 20 različnih spremenljivk, ki jih razdelimo v tri skupine. Delimo jih na procesne, formulacijske (spremenljivke vhodnih snovi) in konstrukcijske spremenljivke (36).

Preglednica III: Spremenljivke, ki vplivajo na kakovost oblaganja pri procesu oblaganja s tehnologijo z vrtinčenjem (33, 36).

PROCESNE	FORMULACIJSKE	KONSTRUKCIJSKE
• T, pretok in vlažnost zraka za fluidizacijo / sušenje • hitrost razprševanja • tlak razprševanja in pretok tekočine (velikost kapljic) • interval izpihovanja filtrov	• lastnosti delcev (velikost, oblika, gostota, količina in površinske lastnosti) • sestava disperzije za oblaganje (viskoznost, gostota, površinska napetost, T steklastega prehoda, koncentracija polimera) • velikost serije	• vrsta in velikost komore • vrsta in položaj šobe za razprševanje ter notranji premer • vrsta distribucijske plošče • dolžina in premer RV • razmik med distribucijsko ploščo in razmejitvenim (Wursterjevim) valjem

1.4. KARVEDILOL

Karvedilol je bel ali skoraj bel kristaliničen prašek. Njegovo kemijsko ime po IUPAC nomenklaturi je (2RS)-1-(9H-karbazol-4-iloksi)-3-[[2-(2 metoksifenoksi)etil]amino]propan-2-ol (37), kemijska struktura pa je prikazana na sliki 2. Učinkovina je praktično netopna v vodi, njegova topnost pa je zelo odvisna od vrednosti pH. Njegova topnost je < 1 µg/ml nad pH 9, 23 µg/ml pri pH 7 in okoli 100 µg/ml pri pH 5, merjeno pri sobni T. Po BCS klasifikaciji spada v razred II, s pKa vrednostjo 7,8 ter log P 3,8 (38, 67).



Slika 2: Kemijska struktura karvedilola.

Karvedilol je vazodilatatorni neselektivni zaviralec adrenergičnih receptorjev β in selektivni zaviralec adrenergičnih receptorjev α_1 . Ima tudi antioksidativne in antiproliferativne lastnosti. Preko neselektivne zavore β -adrenergičnih receptorjev zavira sistem renin-angiotenzin-aldosteron, s selektivno zavoro α_1 -adrenergičnih receptorjev pa z vazodilatacijo zniža periferni žilni upor. Znižuje krvni tlak ter zmanjšuje srčno frekvenco in minutni volumen srca. Znižuje tlak v desnem atriju in posledično v pljučni arteriji, z vazodilatacijo pa povzroči zmanjšan sistemski žilni upor. Tako razbremeni srčno mišico in prepreči nastanek angine pectoris, obenem pa pri bolnikih s srčnim popuščanjem poveča iztisni delež levega atrija in tako izboljša simptome bolezni. Kemijsko je karvedilol racemat dveh stereoizomerov (S(-) in R(+)). Oba enantiomera zavirata α_1 receptorje, medtem ko na neselektivno zaviranje β receptorjev vpliva zlasti S(-) enantiomer. V različnih študijah na živalih in ljudeh so bile dokazane tudi antioksidativne lastnosti karvedilola. Več kot 98 % karvedilola se veže na plazemske beljakovine s prostornino porazdelitve približno 2 l/kg, dobro se absorbira iz GIT, a je močno podvržen prvemu prehodu skozi jetra. Presnavlja se predvsem s pomočjo jetrnih citokromskih P450 encimov (izoencimov CYP2D6 in CYP2C9). Njegova absolutna BU je približno 25 %, razpolovni čas pa od 5 do 11 ur. Njegovo izločanje poteka predvsem z blatom. Največji priporočeni odmerek je 25 mg 2-krat na dan, izjemoma pa lahko bolnikom, težjim od 85 kg, previdno povečamo odmerek na 50 mg 2-krat na dan. Karvedilol se uporablja pri zdravljenju povišanega krvnega tlaka (esencialna hipertenzija), za zdravljenje kronične stabilne angine pectoris in kroničnega srčnega popuščanja ter za zdravljenje po miokardnem infarktu z dokazano disfunkcijo levega prekata (iztisni delež levega prekata je 40 % ali manj). Karvedilol je tako substrat kot zaviralec P-gp, zato se lahko biološka razpoložljivost zdravil, ki se prenašajo prek P-gp, ob sočasni uporabi poveča. Tako lahko induktorji in zaviralci P-gp vplivajo na BU karvedilola. Na koncentracijo učinkovine pa lahko s spremembo presnove vplivajo tudi induktorji in zaviralci CYP2D6 ter CYP2C9 (39, 40).

2. NAMEN DELA

Namen magistrske naloge je pretvorba tekočega SMES s karvedilolom v trdno obliko z metodo vrtninoslojnega oblaganja pelet in vrednotenje izdelanih samo-emulgirajočih pelet. Pripravili bomo tekoči SMES in vanj vgradili v vodi slabo topno ZU karvedilol. Z izbiro različnih vrst in koncentracij polimera oz. polnila in vsebnosti SMES bomo optimizirali sestavo formulacije ter poskušali doseči čim višji izkoristek procesa oblaganja nevtralnih peletnih jeder. Ob izboru optimalnih procesnih spremenljivk bomo tako dobljene disperzije SMES, z ali brez vgrajene ZU, z metodo vrtninoslojnega oblaganja pelet pretvorili v trden samo-mikroemulgirajoči sistem.

Za vrtninoslojno oblaganje bomo uporabili konvencionalno Wurster komoro in prirejeno Wurster komoro z vgrajenim generatorjem vrtninčastega toka. Zanima nas predvsem ali je metoda vrtninoslojnega oblaganja primerna za pretvorbo tekočega SMES v trdno obliko. Obloženim peletam bomo s pomočjo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (HPLC) določili učinkovitost vgradnje in vsebnost vgrajenega karvedilola v peletah ter izračunali izkoristke oblaganj. Enakomernost porazdelitve velikosti pelet pri sejanju med posameznimi stopnjami procesa, bomo določali z optičnim čitalnikom (Epson V700) visoke ločljivosti. S testom sproščanja bomo določili profil sproščanja karvedilola iz samo-mikroemulgirajočih pelet v vodni raztopini HCl s pH 1,2 in raztopini fosfatnega pufru s pH 6,8. Odsotnost kristalinične oblike karvedilola v trdnih SMES bomo dokazovali s pomočjo diferenčne dinamične kalorimetrije (DSC). Z metodo fotonske korelacijske spektroskopije bomo določili sposobnost samo-mikroemulgiranja po pretvorbi tekočega SMES v trdno obliko in določili velikost kapljic mikroemulzije, ki nastane po dispergiranju v vodi. Izvedli bomo tudi morfološko analizo delcev s pomočjo vrstičnega elektronskega mikroskopa (SEM).

V magistrski nalogi želimo potrditi ali ovreči naslednje *hipoteze*:

1. Tehnologija vrtninoslojnega oblaganja pelet je primerna metoda za pretvorbo tekočega SMES v trdo obliko.
2. Nastavitve procesnih in konstrukcijskih parametrov vrtninoslojnega oblaganja kot so tlak za razprševanje, pretok vhodnega zraka, hitrosti dovajanja DZO, T produkta imajo pomemben vpliv na izkoristek procesa oblaganja.
3. Modificirana Wurster komora z vgrajenim generatorjem vrtninčastega toka omogoča boljši in hitrejši pretok pelet znotraj RV, kar ima za posledico povečano enakomernost nanešene obloge ob minimalnih variacijah velikosti delcev in

zmanjšan obseg tvorbe aglomeratov ter je tako ustrežnejša za vrtninčnoslojno oblaganje pelet kot klasična konvencionalna Wurster komora.

4. Izbor ustreznih pomožnih snovi (veziv) v DZO, ki imajo visoko zmogljivost, da zadržijo tekoči SMES v nanešeni plasti obloge je zelo pomemben za uspešnost poskusov oblaganja pelet, pri čemer lahko dosežemo razmerje mas med SMES z ZU in vezivom 1 : 2.
5. Pelete s SME-oblogo med shranjevanjem ohranijo svoje organoleptične lastnosti, brez dodatnega nanosa zaščitne obloge.
6. Pomožna snov PVP K30, uporabljen kot vezivo pri izdelavi samo-mikroemulgirajočih pelet, pripomore k ohranjanju samo-(mikro)emulgirajočih lastnosti po redispergiranju.
7. V izdelanih peletah s SME-oblogo je ZU prisotna v raztopljenem ali amorfem stanju.
8. ZU vgrajena v SME-oblogo pelet izkazuje bistveno večjo hitrost in obseg sproščanja ZU, v primerjavi z raztapljanjem kristalinične oblike ZU.

3. MATERIALI IN METODE

3.1. MATERIALI

3.1.1. MATERIALI ZA PRIPRAVO SMES

Kolliphor® RH 40 (Sigma Aldrich, ZDA) ali **Cremophor® RH 40** je makrogolgliceril hidroksistearat in je neionogena PAS (emulgator O/V). Pridobljen je z reakcijo med hydrogeniranim ricinusovim oljem in etilen oksidom. Glavna sestavina je glicerol polietilen glikol hidroksistearat, ki skupaj z estri MK glicerol poliglikola, tvori hidrofojni del produkta. Hidrofilni del je sestavljen iz PEG in glicerol etoksida. Kolliphor RH 40 je bele do rahlo rumene barve, poltrdne oblike, ki se stali pri 30 °C in ima HLB vrednost med 14 in 16. Ima zelo blag vonj in je v vodni raztopini skoraj brez okusa. Topen je v vodi, etanolu, MK, maščobnih alkoholih in rastlinskih oljih. Kemijsko je zelo stabilen, daljša izpostavljenost povišani T lahko ob ohlajanju povzroči ločitev faz, ki jih lahko s homogeniziranjem povrnemo v prvotno stanje (41).

PEG 400 (Sigma Aldrich, ZDA) je kemijsko polioksietilen glikol s povprečno molekulsko maso 400 g/mol in ga najdemo tudi pod imenom makrogol 400. Nahaja se v obliki bistre, brezbarvne do rahlo rumene, viskozne in higroskopne tekočine, ki ima blag vonj ter grenak, rahlo pekoč okus. Zaradi hidrofilnosti je topen v vodi, acetonu, alkoholu, benzenu, glicerinu in glikolih, težko topen v alifatskih ogljikovodikih in etrih ter netopen v lipidih in mineralnih oljih. Je varen za uporabo, saj ni toksičen in ne draži kože. Uporablja se ga kot mazivo, sestavino v mazilih, sestavino podlag za svečke, plastifikator, topilo, vezivo, stabilizator emulzij in kot pomožno snov za izboljšanje topnosti učinkovin, ki so slabo topne v vodi. V koncentraciji do 30 % (v/v) se uporablja kot topilo za parenteralne FO, ob višjih koncentracijah pa lahko peroralno deluje kot odvajalo. Prav tako lahko v višjih koncentracijah vpliva na izboljšanje BU ZU, saj inhibira P-gp in metabolne encime CYP450 (še posebej izoencim CYP3A) (44, 45).

Capmul® MCM EP (Abitec Corporation, ZDA) je mešanica mono- in digliceridov sdv-MK kaprilne in kaprinske kisline. Pri sobni T je v obliki tekoče ali poltrdne, brezbarvne do rahlo rumene snovi s HLB vrednostjo med 5 in 6. Je netopen v vodi, ob povišani T pa se raztaplja v oljih. Ima nizko akutno oralno toksičnost, zato ga uvrščamo med splošno varne snovi. Spada med odlična topila za mnogo organskih snovi, vključno s steroidi. Na področju farmacije se uporablja za povečevanje BU, kot pomožno snov za izboljšanje topnosti slabo

vodotopnih ZU, za povečanje obsega penetracije pri dermalni uporabi, prav tako pa je zelo uporaben kot (ko)emulgator tipa V/O (46, 47)

Ricinusovo olje, rafinirano (Ph.Eur.: 7.6, Caesar & Loretz GmbH, Nemčija) je sestavljeno iz mešanice palmitinske (max. 2,0 %), stearinske (max. 2,5 %), oleinske (2,5 - 6,0 %), linolne (2,5 - 7,0 %), linolenske (max. 1,0 %), eikozanoidne (max. 1,0 %), ricinolne (85,0 - 92,0 %) in ostalih (max. 1,0 %) MK. Nahaja se v obliki bistre, brezbarvne ali rahlo rumene, viskozne oljne tekočine, z rahlim značilnim vonjem in rahlo trpkim okusom. Meša se kloroformom, dietiletrom, etanolom, ledocetom in metanolom. Je prosto topen v etanolu in petroletru ter praktično netopen v vodi. V farmaciji ga uporabljamo v kremah in mazilih za aplikacijo na kožo, pri izdelovanju peroralnih tablet in kapsul, kot sestavino emulzij za aplikacijo v oko ter kot topilo pri izdelavi intramuskularnih injekcij. Prav tako se ga uporablja kot odvajalo, a lahko ob zaužitju večje količine povzroča slabost in bruhanje (48, 49).

Karvedilol doniralo podjetje Krka d. d., Novo mesto, Slovenija.

3.1.2. MATERIALI ZA PRIPRAVO SUSPENZIJE ZA OBLAGANJE

PVP K30 (Lek d. d.) je sintetičen, higroskopen, amorfen polimer 1-vinil-2-pirolidona. V farmacevtski industriji se ga uporablja kot polimerno sredstvo za razprševanje, saj zaradi adhezivnih, kohezivnih in disperznih lastnosti tvori trdne svetleče transparentne obloge in kot polimerno sredstvo za suspendiranje ZU. Najpogosteje se uporablja kot vezivo pri granuliranju in tabletiranju, kot pospeševalec raztapljanja, kot stabilizator suspenzij, tvorilec filma pri oblaganju pelet, kot pomožna snov pri žvečljivih tabletah, inhibitor obarjanja, razgrajevalo in kot adheziv v transdermalnih sistemih. PVP K30 je v obliki belega do skoraj belega praška. Spada med linearne ne-ionogene polimere, topen je v vodi in organskih topilih ter je pH stabilen. Število K nam pove povprečno molekulsko maso posameznega PVP, z višanjem števila pa se večja stopnja polimerizacije in viskoznost vodne raztopine (50 - 52).

Manitol (Lek d. d.) je bel, nehigroskopen, kristaliničen prašek ali v obliki granul z dobrimi pretočnimi lastnostmi, brez vonja, lahko topen v vodi in zelo težko topen v alkoholu. Manitol je kemijsko poliol in se večinoma nahaja v obliki D-manitola. V farmaciji se najpogosteje uporablja kot polnilo pri izdelavi tablet, saj ni higroskopen in se zato lahko uporablja z ZU, ki so občutljive na vlago. Lahko ga uporabljamo tudi pri direktnem tabletiranju, granuliranju, zaradi njegovega sladkega okusa pa ga uporabljajo tudi za izdelavo žvečljivih tablet. Terapevtsko se v obliki FO za parenteralno aplikacijo uporablja kot osmotski diuretik,

diagnostično sredstvo za preverjanje funkcije ledvic, kot dodatek pri zdravljenju akutne odpovedi ledvic, kot sredstvo za zmanjšanje intrakranialnega tlaka, za zdravljenje možganskega edema in znižanje intraokularnega tlaka. Pri peroralni uporabi se slabo absorbira iz prebavnega trakta, zato lahko v velikih odmerkih povzroči osmotsko diarejo (37, 49).

Laktoza mesh 200 (Lek d. d.) je naravni disaharid, ki je sestavljen iz galaktoze in glukoze in jo pridobivamo iz mleka. Nahaja se v obliki zelo drobnega belega ali skoraj belega, kristaliničnega praška, s povprečno velikostjo delcev 200 μm . Laktoza je lahko, ampak počasi topna v vodi in skoraj netopna v etanolu. V farmaciji je zaradi dostopnosti, nizke cene in fizikalno kemijske stabilnosti široko uporabljana. Najpogosteje jo uporabljamo kot polnilo v tabletah in kapsulah, kot vezivo v procesu vlažnega granuliranja, pri filmskem oblaganju v obliki vodnih raztopin ali suspenzij, v bolj omejenem obsegu pa kot pomožno snov v procesu liofilizacije in v FO, ki so namenjene za zdravljenje dojenčkov. Prav tako se kot polnilo uporablja v praških za inhaliranje in občasno v praških za intravenske injekcije. Zaradi svojega rahlo sladkega okusa je v kombinaciji z drugimi sladkorji uporabna tudi za prikrivanje neprijetnega okusa ZU (49).

Pharmacoat 606 (doniralo podjetje Krka d. d., Novo mesto, Slovenija) ali hidroksipropil metilceluloza (HPMC) je delno *O*-metilirana in *O*-(2-hidroksipropilirana) celuloza. Najdemo ga v obliki belega, rumeno-belega ali sivo-belega higroskopskega praška ali granul, brez vonja in okusa. Topen je v mrzli vodi, kjer tvori viskozne koloidne raztopine, v mešanici etanola in diklorometana, v mešanici alkohola in vode ter slabo topen v vroči vodi, acetonu, etanolu (95 %) in toluenu. V farmaciji ga uporabljamo kot vezivo pri pripravi zmesi za tabletiranje, snov za filmsko oblaganje, pomožno snov za prirejeno sproščanje, stabilizator emulzij in suspenzij, kot zgoščevalo in sredstvo za povečanje viskoznosti v tekočih peroralnih FO ter kot inhibitor obarjanja slabo vodotopnih ZU (37, 49, 53).

PEG 6000 (Fluka, Švica) je kemijsko polioksietilen glikol s povprečno molekulsko maso 6000 g/mol in ga najdemo tudi pod imenom makrogol 6000. Z večanjem molske mase se spreminja tudi agregatno stanje PEG. Pri sobni T se nahaja v obliki belega praška ali granul in ima rahlo slahek vonj. Zaradi hidrofilnosti je topen v acetonu, diklorometanu, etanolu (95%), metanolu in v vodi ter netopen v maščobah in mineralnih oljih. V raztaljenem stanju se v vseh razmerjih meša z ostalimi PEG. Zaradi njegove nizke toksičnosti je njegova uporaba precej razširjena. V farmaciji ga uporabljamo pri trdnih FO kot dodatek vezivom ali

kot mazivo in kot plastifikator pri filmskem oblaganju, prav tako pa se uporablja tudi pri parenteralnih FO, FO za oko in FO za dermalno aplikacijo (49, 54).

Cellets® 200 (Harke Pharma GmbH, Nemčija) so bela, nevtralna, trdna, okrogla ali skoraj okrogla peletna jedra, ki so izdelana iz mikrokristalne celuloze in katerih velikost je med 200 in 355 µm. So netopna v vodi, etanolu, acetonu, razredčenih kislinah in raztopini natrijevega hidroksida. V farmaciji jih uporabljamo kot začetna jedra v procesu oblaganja (55).

3.1.3. OSTALI MATERIALI

Prečiščena voda, pridobljena z reverzno osmozo (Fakulteta za farmacijo, Slovenija)

HCl (37 %) (Panreac Quimica S.A.U., Španija)

KH₂PO₄ (Merck KGaA, Nemčija)

K₂HPO₄ (puriss p.a., Sigma Aldrich, ZDA)

NaOH (Merck KGaA, Nemčija)

CH₃COOH za HPLC (Baker analysed, J.T. Baker, ZDA)

CH₃OH za HPLC (ultra gradient HPLC grade, J.T. Baker, ZDA)

3.1.4. PRIPOMOČKI IN NAPRAVE ZA IZDELAVO IN VREDNOTENJE OBLOŽENIH PELET

- Precizna tehtnica, Vibra AJ Tuning-Fork Balance, Tehnica, Slovenija
- Precizna tehtnica, CP 3202S, Sartorius AG Göttingen, Nemčija
- Analitska tehtnica, Mettler Toledo AG 245, Švica
- Analitska tehtnica, Mettler Toledo XS 205, Švica
- Magnetno mešalo, Variomag Poly, Komet, Slovenija
- Magnetno mešalo, RO 15, IKA-WERKE, Nemčija
- Grelno magnetno mešalo, Rotamix 550 MMH, Tehnica, Slovenija
- Grelno magnetno mešalo, RCT basic safety control, IKA-WERKE, Nemčija
- Propellersko mešalo, RW 16 basic, IKA-WERKE, Nemčija
- Vrtinčnoslojni oblagalnik GPCG-1, Glatt GmbH, Nemčija
- Enokanalna peristaltična črpalka, 1B.1003-R/65, Petro Gas Ausrüstungen Berlin KG, Nemčija

- Naprava za merjenje vlage, Büchi Moisture Analyzer B-302, Büchi Labortechnik AG, Švica
- Optični čitalec, Epson Perfection V700 Photo, Japonska
- Zeta Sizer Nano series, Malven Instruments Ltd, Velika Britanija
- Polistirenske kivete, Sarsted AG & CO, Nemčija
- Vrstični elektronski mikroskop, Supra 35 VP, Carl Zeiss, Švica
- Diferenčni dinamični kalorimeter, Mettler Toledo DSC1 STAR^e System, Švica
- Aluminijasti lončki, 40 µL, Mettler Toledo, Švica
- Elektronski pH meter, Seven Compact, Mettler Toledo, Švica
- Brizge 5 in 10 ml, BD Discardit II, Becton, Dickinson & CO, ZDA
- Membranski filter 0,45 µm RC, Lab Logistic Group GmbH, Nemčija
- Naprava za sproščanje z vesli, Vankel VK 7010 Tablet Dissolution Tester, z avtomatskim vzorčevalnikom VK 8000, VanKel Industries, Inc, ZDA
- Viale za HPLC, Agilent Technologies, ZDA
- HPLC (tekočinska kromatografija visoke ločljivosti), Alliance, Waters Corporation, ZDA
- Spektrofotometer, Cary 50 Tablet, Varian Medical Systems, Inc, ZDA
- Ostali pripomočki (steklene čaše, erlenmajerice in palčke, žličke, spatule, sita, kapalke)

3.2. METODE

3.2.1. PRIPRAVA SMES

Za izdelavo SMES smo uporabili formulacijo, ki so jo že predhodno razvili in ustrezno ovrednotili na Katedri za farmacevtsko tehnologijo. Njena sestava je podana v preglednici IV.

Preglednica IV: Sestava SMES, vloga in delež posameznih sestavin.

SESTAVINE	VLOGA V SMES	DELEŽ V ODSOTOKIH (m/m)
Kolliphor [®] RH 40	Emulgator	40
PEG 400	Sotopilo	40
Capmul [®] MCM EP	Oljna faza	10
Ricinusovo olje	Oljna faza	10

Sestavine SMES smo po navedenem vrstnem redu natančno zatehtali v stekleno čašo in jih na grelnem magnetnem mešalu (pri 60 °C) mešali do nastanka bistre homogene zmesi, katero smo nato uporabili za izdelavo disperzije za oblaganje (DZO). SMES smo običajno

pripravljali v večjih količinah (200 g) in ga porabili v času enega tedna. Pred vsako uporabo smo SMES ob mešanju segreli, da smo zmanjšali viskoznost in povečali transparentnost SMES.

3.2.2. PRIPRAVA SMES S KARVEDILOLOM

SMES z ZU smo pripravili tako, da smo 1 g SMES med mešanjem in segrevanjem (50 °C) postopoma dodali 100 mg ali 110 mg karvedilola ter mešali na grelnem magnetnem mešalu tako dolgo, da se je raztopil ves karvedilol. Dobljeni koncentraciji karvedilola v SMES ustrezata približno 81 % ali 89 % nasičene topnosti karvedilola v našem SMES, saj slednja pri temperaturi 25 °C znaša 123 mg karvedilola / g SMES.

3.2.3. PRIPRAVA DISPERZIJ ZA OBLAGANJE

Za proces oblaganja pelet smo pripravili 12 različnih DZO, katerih sestava je prikazana v preglednici V. Pripravo DZO smo pričeli z ločeno pripravo SMES (z ZU) in koloidne raztopine veziv. Dobra topnost veziv v prečiščeni vodi nam je omogočala, da smo koloidne raztopine veziv pripravili tako, da smo vse sestavine veziv in prečiščeno vodo natehtali v stekleno čašo in ob segrevanju (60 °C) z mehanskim propellerskim mešalom mešali (800 obratov na minuto (rpm)), dokler ni nastala bistra raztopina. Tako smo pripravili vse koloidne raztopine razen DZO 12 (8 % HPMC + 1 % PEG 6000), pri kateri smo morali najprej v prečiščeni vodi, ki smo jo predhodno segreli na 50 °C, ob mešanju na mehanskem propellerskem mešalu (800 rpm in premer mešala 5 cm) raztopiti PEG 6000 in nato dodati še HPMC. Za izdelavo DZO 12 (8 % HPMC + 1 % PEG 6000) je namreč zelo pomemben vrstni red dodajanja sestavin, saj v nasprotnem primeru ne nastane bistra raztopina. Z mešanjem raztopin smo prenehali, ko smo dobili bistro raztopino, v kateri ni bilo opaziti neraztopljenih delcev. Po končani pripravi smo s tehtanjem nadomestili količino prečiščene vode, ki je izhlapela med pripravo raztopine. Vse raztopine smo pripravili sproti in se tako poskusili v čim večji meri izogniti obarjanju karvedilola. Pri izdelavi koloidnih raztopin, kjer smo kot vezivo uporabili samo PVP K30, je bilo v primerjavi z ostalimi raztopinami, kjer smo uporabili več različnih veziv, potrebno mešati dlje časa, da se je vezivo raztopilo. Pripravljeni koloidni raztopini veziva smo nato dodali še predhodno izračunano količino SMES (z ZU). Tako pripravljeno DZO smo ob rahlem mešanju s propellerskim mešalom in segrevanju pri T 32 °C pustili mešati še nadaljnjih 30 minut, da se je le-ta homogeno premešala. Homogeno premešani DZO smo ob koncu mešanja nadomestili še izhlapelo količino vode.

Preglednica V: Sestava posameznih DZO.

DZO	SESTAVA POSAMEZNIH DZO (m/m %)
1	5 % SMES + 10 % PVP K30 v prečiščeni vodi
2	5 % SMES + 10 % MANITOL v prečiščeni vodi
3	5 % SMES + 12,5 % MANITOL v prečiščeni vodi
4	5 % SMES + 5 % MANITOL + 5 % PVP K30 v prečiščeni vodi
5	5 % SMES + 12,5 % PVP K30 v prečiščeni vodi
6	5 % SMES z ZU + 12,5 % PVP K30 v prečiščeni vodi
7	5 % SMES z ZU + 12,5 % KOLLICOAT IR v prečiščeni vodi
8	6,25 % SMES z ZU + 12,5 % PVP K30 v prečiščeni vodi
9	5 % SMES z ZU + 5 % PVP K30 + 5 % LAKTOZA MESH 200 v prečiščeni vodi
10	5 % SMES + 5 % PVP K30 + 5 % LAKTOZA MESH 200 v prečiščeni vodi
11	ZU + 5 % PVP K30 + 5 % LAKTOZA MESH 200 v prečiščeni vodi
12*	8 % HPMC + 1 % PEG 6000 v prečiščeni vodi

3.2.4. OBLAGANJE PELET

Oblaganje pelet smo izvajali v dveh različnih vrtninoslojnih oblagalnih komorah. Prvih nekaj poskusov (P1 – P3 in P7 – P9) smo izvedli v klasični konvencionalni Wurster komori, ostale (P4 – P6 in P10 – P27) pa v modificirani Wurster komori z vgrajenim generatorjem vrtninčastega toka. Pri iskanju optimalnih procesnih spremenljivk in ustrezne komore za oblaganje pelet, se je modificirana Wurster komora z vgrajenim generatorjem vrtninčastega toka, zaradi minimalnih variacij velikosti delcev in zmanjšanega obsega tvorbe aglomeratov, izkazala za precej ustrežnejšo. Zaradi tega smo v nadaljnjih poskusih uporabljali le-to. Pred pričetkom oblaganja smo najprej pripravili ustrezno količino DZO ter natehtali 200 g inertnih peletnih jeder (Cellets® 200) in jim določili vsebnost vlage. Natehtano količino peletnih jeder smo prenesli v primerno ogreto procesno komoro za oblaganje pelet, in ko je njihova T dosegla 32 °C, pričeli z razprševanjem DZO. Pri poskusih oblaganja, ki so se pokazali kot uspešni, smo oblaganje izvedli v treh stopnjah, ob tem pa smo v vseh treh stopnjah uporabili enako DZO. Pred vsako naslednjo stopnjo oblaganja smo natehtali 200 g pelet iz predhodnje stopnje oblaganja in nanjo nanесли podobno količino DZO kot v predhodnih stopnjah. Za oblaganje pelet smo v vseh treh stopnjah oblaganja uporabili enake procesne parametre. Med procesom oblaganja pelet smo s kontinuiranim tehtanjem spremljali porabo DZO. Hkrati smo med celotnim procesom oblaganja DZO mešali s propellerskim mešalom in s tem zagotovili homogenost disperzije, zaradi delnega obarjanja ZU. DZO smo s peristaltično črpalko, s postopnim naraščanjem hitrosti dovajanja od 5 do 9 g/min, dovajali do dvokanalne šobe za razprševanje s premerom notranje odprtine 0,8 mm.

Šoba za razprševanje je bila centralno nameščena na spodnji strani komore, pri čemer je tlak zraka za razprševanje na šobi znašal 2 bara. Razmik med dnem komore in RV je znašal 10 mm, le pri večstopenjskem procesu smo pri 3. stopnji oblaganja le-tega povečali na 15 mm. Za preprečevanje uhajanja delcev smo izbrali vrečaste filtre z velikostjo odprtin 5 μm . Frekvenco stresanja smo z namenom čim manjšega mašenja filtrov občasno spreminjali in filtre po potrebi tudi zamenjali. Med procesom oblaganja z DZO smo T vhodnega zraka prilagajali tako, da smo vzdrževali T produkta med 32 in 33 °C. Ves čas oblaganja smo uporabljali tudi razvlaževalnik zraka, ki nam je omogočal, da je vhodni zrak dosegal pogoj 30 % vlažnosti pri 18 °C. Ko smo porabili celotno količino DZO, smo na obložene pelete nanesli še zaščitni sloj DZO 12 (8 % HPMC + 1 % PEG 6000) in pri tem T vhodnega zraka dvignili, da je T produkta znašala 36 °C. Po končanem oblaganju smo produkt še 5 - 10 minut sušili do T produkta 40 °C. Posušen produkt smo stehali, presejali in ga ustrezno ovrednotili.

Za potrebe vrednotenja samo-mikroemulgirajočih lastnosti vzorca, fizikalnega stanja karvedilola v vzorcu in vrednotenja profila sproščanja ZU, smo po enakem postopku izdelali še pelete, ki smo jih obložili z DZO 10 (vsebuje le SMES in veziva) in pelete obložene z DZO 11 (vsebuje le veziva in karvedilol brez SMES).

3.2.5. VREDNOTENJE OBLOŽENIH PELET

- **Določanje deleža aglomeratov**

Delež aglomeratov smo določili s sejanjem produkta skozi sita podana v preglednici VI. Za posamezne stopnje oblaganja smo določili spodnjo in zgornjo mejo velikost sita ter za nadaljnje vrednotenje uporabili vmesno frakcijo.

Preglednica VI: Velikosti sit za sejanje produkta.

	VELIKOST SPODNJEGA SITA [μm]	VELIKOST ZGORNJEGA SITA [μm]		VELIKOST SPODNJEGA SITA [μm]	VELIKOST ZGORNJEGA SITA [μm]
P14	355	600	P20, P25	355	500
P15	500	800	P21, P26	500	710
P16	600	1120	P22, P27	710	1000

Razmerje med maso aglomeratov in maso produkta nam poda delež aglomeratov, ki ga izračunamo po enačbi 1.

$$w_{agl} = \frac{m_{agl}}{m_{prod}} \times 100 \% \quad (Enačba 1)$$

w_{agl} – delež aglomeratov, m_{agl} – masa aglomeratov, m_{prod} – masa produkta

- **Izračun celokupnega izkoristka**

Celokupni izkoristek smo izračunali kot razmerje med prirastkom mase in maso suhih snovi v DZO. Pri izračunu smo upoštevali še delež vlage v peletnih jedrih pred začetkom oblaganja (IPS_z) in delež vlage v končnih obloženih peletah (IPS_k). Izračun celokupnega izkoristka predstavlja sklop enačb 2.

$$w_{s.s.} = \frac{m_{s.s.}}{m_{cel.disp.}} \quad (Enačba 2 - 1)$$

$$\eta_{cel} = \frac{m_{obl}}{m_{s.s.}} \times 100 \% = \frac{m_{prod} \times \left(\frac{100 - IPS_k}{100}\right) - m_j \left(\frac{100 - IPS_z}{100}\right)}{m_{po.disp.} \times w_{s.s.}} \times 100 \% \quad (Enačba 2 - 2)$$

η_{cel} – celokupni izkoristek, $m_{obl.}$ – masa obloge, $m_{s.s.}$ – masa suhih vhodnih snovi v DZO, m_{prod} – masa produkta, m_j – masa jeder, $m_{po.disp.}$ – masa porabljene disperzije, $w_{s.s.}$ – masni delež suhe snovi, IPS_k – delež vlage v produktu, IPS_z – delež vlage v jedrih, $m_{cel.disp.}$ – masa celokupne (pripravljene) disperzije

- **Določanje vsebnosti vlage v vzorcih**

Vsebnost vlage v vzorcih smo določali s termogravimetrično metodo, z aparaturo Büchi Moisture Analyzer B-302. Na pladenj smo natehtali približno 5 g vzorca in ga enakomerno razporedili po površini pladnja. Vzorce smo sušili 15 minut pri 85 °C. Rezultat izgube mase pri sušenju (IPS) smo podali v odstotkih glede na začetno maso vzorca.

- **Izračun teoretične vsebnosti karvedilola v obloženih peletah**

Teoretično vrednost vsebnosti karvedilola na 1 g obloženih pelet smo izračunali po sklopu enačb 3.

$$m_{uč} = \frac{m_{uč. v SMES} \times m_{po. DZO}}{m_{cel. DZO}} \times \eta_{cel} \quad (Enačba 3 - 1)$$

$$vsebnost\ ZU\ v\ peletah\ (mg/g) = \frac{m_{uč} \times 1\ g_{pelet}}{m_{prod}} \quad (Enačba 3 - 2)$$

$m_{uč}$ – masa učinkovine, $m_{uč. v SMES}$ – masa učinkovine v tekočem SMES, $m_{po. DZO}$ – masa porabljene DZO, $m_{cel. DZO}$ – masa celokupne pripravljene DZO, m_{prod} – masa produkta

Pri teoretičnem izračunu vsebnosti ZU v peletah je pri **drugi in tretji stopnji oblaganja** (P15, P16, P21, P22, P26 in P27) potrebno masi ZU prišteti še maso ZU, ki je že prisotna v peletah iz predhodnega oblaganja (masa ZU v začetnih peletah) in jo izračunamo po enačbi 3 - 3.

$$m_{uč. jed.} = vsebnost\ ZU\ v\ peletah \times m_{jed} \quad (Enačba\ 3 - 3)$$

$m_{uč.jed.}$ - masa učinkovine v jedrih, m_{jed} – masa jeder

- **Določanje prirastka mase nanešene obloge na eno peleto v posamezni stopnji večstopenjskega oblaganja pelet (3 zaporedne stopnje oblaganja) in vsebnosti ZU v posameznem sloju večstopenjskega oblaganja.**

Prirastek mase nanešene obloge na posamezno peleto in vsebnost ZU v posameznem sloju večslojnih obloženih pelet, smo določili s tehtanjem 1000 inertnih peletnih jeder ter obloženih pelet (poskusov P14 – P16, P20 – P22 in P25 – P27) večstopenjskega oblaganja pelet, ki smo ga izvedli v treh zaporednih stopnjah. Najprej smo stehali peletna jedra nato pa še pelete predhodno navedenih vzorcev. Mase stehanih peletnih jeder in obloženih pelet so navedene v prilogi III. Prirastek mase nanešene obloge na peleto smo izračunali po enačbi 4.

$$m_{obl.1Pn} = \frac{m_n - m_{n-1}}{1000} \quad (Enačba\ 4)$$

$m_{obl.1Pn}$ – masa obloge na eno peleto v posamezni stopnji oblaganja, v vzorcu n , m_n – masa 1000 pelet vzorca n

Pri poskusih P14, P20 in P25, ki predstavljajo prvo stopnjo v tristopenjskem procesu oblaganja, smo od mase obloženih pelet odšteli maso začetnih inertnih peletnih jeder (Cellets® 200), da smo dobili prirastek mase na eno peleto v prvi stopnji oblaganja.

Vsebnost ZU v posameznem sloju obloge tristopenjskega oblaganja smo izračunali po enačbi 5.

$$m_{ZUn} = \frac{m_{obl.1Pn} \times m_{uč}}{m_{po.disp.} \times w_{s.s.}} \quad (Enačba\ 5)$$

m_{ZUn} – masa ZU v posameznem sloju obloge v vzorcu n , $m_{obl.1Pn}$ – masa obloge na eno peleto v posamezni stopnji oblaganja, v vzorcu n (enačba 4), $m_{uč}$ – masa ZU v uporabljeni disperziji

za oblaganje (enačba 3 – 1), $m_{po.disp.}$ – masa porabljene disperzije, $w_{s.s.}$ – masni delež suhe snovi

- **Določanje eksperimentalne vsebnosti karvedilola v obloženih peletah**

Vsebnost karvedilola v peletah smo določili z metodo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (HPLC). Izbrani kromatografski pogoji HPLC analize so predstavljeni v preglednici VII.

Preglednica VII: Kromatografski pogoji HPLC analize.

KROMATOGRAFSKI POGOJI	
Puferna raztopina	4.5 g KH_2PO_4 + 0.61 g K_2HPO_4 v 1000 ml prečiščene vode
Mobilna faza	metanol : pufer : očetna kislina = 60 : 40 : 0.3
Kolona	Symmetry C18, $250 \times 4,6$ mm, 5 μm delci
Hitrost pretoka mobilne faze	1 ml/min
Temperatura (kolone)	30 °C
Valovna dolžina UV detekcije	284 nm
Volumen injiciranja	10 μl

Za pripravo vzorcev smo v 50 ml merilno bučko natančno natehtali količino pelet, katerih masa ustreza približno 25 mg ZU. Natehtanim peletam smo dodali približno 40 ml mobilne faze (MF) in bučke z vzorci 30 minut pustili v ultrazvočni kadički ter jih občasno premešali. Nato smo vzorce mešali še 30 minut na magnetnem mešalu, jih dopolnili do oznake z MF in še 10 minut mešali na magnetnem mešalu. 14 ml tako pripravljenega vzorca smo 15 minut centrifugirali pri 4000 rpm. Bistri supernatant smo nato redčili v razmerju 1 / 10 z MF in dobili končno raztopino vzorcev.

Za pripravo standarda smo v 20 ml merilno bučko točno natehtali približno 10 mg karvedilola, ga s pomočjo ultrazvoka (5 min) raztopili v MF in z MF dopolnili do oznake. Vse skupaj smo dobro premešali in redčili z MF v razmerju 1 / 10.

Za izračun koncentracije karvedilola v pripravljenih raztopinah vzorcev po HPLC analizi smo uporabili metodo eksterne standarda in preračunali vsebnost karvedilola v peletah po enačbi 6. Vsebnost smo določili v 2 paralelkah in rezultate podali kot povprečje obeh meritev.

$$\text{vsebnost ZU v peletah} = \frac{m_{std} \times 2 \text{ ml} \times A_{vz} \times 20 \text{ ml} \times 50 \text{ ml}}{20 \text{ ml} \times 20 \text{ ml} \times A_{std} \times 2 \text{ ml} \times m_{vz}} \quad (\text{Enačba 6})$$

A_{vz} – površina vrha karvedilola na kromatogramu vzorca, A_{std} – površina vrha karvedilola na kromatogramu standarda, m_{vz} – masa vzorca, m_{std} – masa standarda

- **Meritev velikosti pelet s slikovno analizo**

Z uporabo visoko ločljivostnega optičnega čitalnika Epson Perfection V 700 smo določili premer (d_{max} , d_{min} , d_{povp}), sferičnost in porazdelitev velikosti obloženih pelet. Pred izvajanjem meritev smo vsak vzorec pelet najprej dobro premešali in s tem preprečili vpliv segregacije delcev, do katere prihaja med shranjevanjem vzorcev. Na stekleno površino optičnega čitalnika smo nanесли pelete in jih razporedili tako, da je bila celotna površina pokrita s peletami. Pri tem smo pazili, da vmes ni bilo večjih praznih prostorov. Hkrati smo zagotovili, da se posamezne pelete med seboj niso stikale, saj smo želeli, da programska oprema zazna in ovrednoti pelete kot samostojne delce. Izvedli smo več zaporednih meritev na območju velikosti 5 x 10 cm po celotni površini optičnega čitalnika. Slikovno analizo smo izvedli pri zaprtem pokrovu optičnega čitalnika in tako dobili sliko pelet na temnem ozadju. S pomočjo računalniškega programa smo iz dvodimenzionalne slike dobili izračunane ustrezne velikostne parametre posameznih pelet, ki so zajemali podatke o premeru in sferičnosti delca. Te smo nato izvozili v Excelovo tabelo in jih ustrezno ovrednotili. Za vsak poskus smo ustrezno ovrednotili približno 2500 pelet.

- **Vrstična elektronska mikroskopija in prerez pelet**

Vrstična elektronska mikroskopija (*angl.: Scanning Electron Microscopy: SEM*) poleg visoke ločljivosti omogoča tudi veliko globinsko ostrino, zato je primerna za tridimenzionalno opazovanje površin in analizo struktur pri velikih povečavah. Namenjena je opazovanju površine najrazličnejših preparatov (polimeri, kovine, organski materiali), ki jih lahko najdemo v različnih oblikah, zato pri predhodni pripravi vzorcev debelina le-teh ni pomembna. V vrstičnem elektronskem mikroskopu uporabljamo kot vir valovanja snop elektronov, ki jih skozi vakuum, preko elektro-magnetne leče, v ozkem snopu vodimo po površini vzorca. Ti elektroni zaradi kratke valovne dolžine omogočijo mnogo boljše ločljivost od vidne svetlobe. Slika na ekranu nastane na podlagi detektiranih signalov, ki so lahko primarno povratno sipani elektroni ali sekundarni elektroni. Glavna prednost SEM je predvsem visoka ločljivost in širok interval uporabnih povečav (med 5 do 500.000-krat) (57, 58). Z metodo SEM smo ob uporabi sekundarnega detektorja posneli slike površine in

prereza pelet poskusov P16 in P27 pri 100- do 5000-kratni povečavi. Najprej smo s skalpelom opravili prerez pelet. S pomočjo pincete smo na objektnejem stekelcu fiksirali pelete in jih s pomočjo skalpela prerezali na polovico. Ustrezne prereze pelet smo nato pregledali pod svetlobnim mikroskopom in jih z objektnejega stekelca prenesli na nosilec za SEM.

- **Čas redispergiranja samo-emulgirajočih pelet**

Čas redispergiranja smo določili tako, da smo v tehtalni čolničnik točno natehtali približno 1 g pelet in jih nato prenesli v suho 500 ml erlenmajerico. Med mešanjem na magnetnem mešalu (200 rpm) smo v erlenmajerico vzorcu dodali 250 ml vode in merili čas, ki je potreben za popolno redispergiranje. Le-tega smo določili na podlagi vizualne ocene (popolnoma raztopljen vzorec).

- **Določanje velikost kapljic po samomikroemulgiranju**

Velikost kapljic smo določali s fototonsko korelacijsko spektroskopijo na napravi Zeta Sizer Nano series, Malvern Instruments Ltd. Vzorce smo pripravili tako, da smo točno natehtali približno 1 g pelet/Cellets®/tekočega SMES (z ZU) in jih ob mešanju na magnetnem mešalu (200 rpm) dispergirali v 250 ml prečiščene vode. Vzorce smo na magnetnem mešalu pustili mešati 30 minut. Po končanem redispergiranju smo vzorce s pomočjo brizge prefiltrirali skozi membranski filter iz reverzne celuloze z velikostjo por 0,45 μm , da smo temeljiteje odstranili večje delce in s tem zagotovili ustrezne meritve. Približno 1 ml filtrata smo prenesli v čisto polistirensko kiveto in izvedli meritve. Meritve smo izvedli v dveh paralelah pri 25 °C. Rezultate smo podali v obliki krivulj porazdelitve velikosti glede na intenziteto sipanja svetlobe za izbrane vzorce. Prav tako smo numerično podali še povprečno velikost kapljic SMES (z ZU), (nano)delcev karvedilola in polidisperzni indeks (PDI).

- **Diferenčna dinamična kalorimetrija**

Diferenčna dinamična kalorimetrija (DSC) je ena izmed najpogostejše uporabljenih termičnih analizičnih metod v farmaciji. Omogoča nam nadzorovano segrevanje vzorca, hlajenje ali vzdrževanje konstantne T. Poleg tega nam omogoča opazovanje kemijskih in fizikalnih sprememb, ki potekajo med procesom. Zmožnost vzorca, da lahko energijo absorbira (endotermna reakcija) ali sprošča (eksotermna reakcija), nam omogoča meritve različnih lastnosti snovi (entalpija, tališče, toplotna kapaciteta, kinetika reakcije), zato je primerna za zelo široko področje uporabe (analiza ZU, pomožnih snovi, nadzor farmacevtskih procesov in proučevanje FO). Rezultat merjenja predstavlja krivulja, ki prikazuje odvisnost toplotnega

toka od T vzorca ali časa meritev. Vrhovi na krivuljah predstavljajo spremembo entalpije v temperaturnem območju, v katerem je prišlo do spremembe (59).

Naš glavni namen uporabe DSC je bil ugotoviti kompatibilnost karvedilola in pomožnih snovi, ki smo jih uporabili pri oblaganju. Hkrati smo želeli potrditi odsotnost kristalinične oblike karvedilola v izdelanih samo-mikroemulgirajočih peletah. Termično analizo smo izvedli za vse uporabljene prahove (veziva, karvedilol), fizikalne zmesi (FZ) vseh materialov brez in z ZU v masnem razmerju 1 : 1 in izdelane samo-mikroemulgirajoče pelete. V aluminijaste lončke smo točno natehtali približno 3 - 8 mg vzorca in jih pokrili s preluknjanimi pokrovčki. Kot referenco smo uporabili prazne aluminijaste lončke, katerih pokrov je bil prav tako preluknjan. Izbrali smo metodo s temperaturnim intervalom od 0 do 160 °C in hitrostjo segrevanja 10 °C/min ob prepihanju z dušikom z volumskim pretokom 50 ml/min. Zbrane podatke smo na koncu obdelali s programom STAR^e software 9.30.

- ***In vitro* preizkus sproščanja karvedilola**

Priprava medijev za sproščanje

Raztopino HCl (pH 1,2), ki ponazarja kislo okolje želodčnega soka, smo pripravili z dodajanjem koncentrirane (37 %) HCl v prečiščeno vodo in dobro pretresli. Po končanem stresanju smo raztopino s pomočjo testnih lističev umerili do pH vrednosti 1,2.

Fosfatni pufer (pH 6,8), ki ponazarja črevesni sok, smo pripravili tako, da smo 6,805 g KH_2PO_4 in 0,896 g NaOH raztopili v približno 950 ml prečiščene vode. Dobljeni puforni raztopini smo z elektronskim pH metrom izmerili vrednost pH in ga po potrebi uravnali z 2 M NaOH. Na koncu smo bučko dopolnili s prečiščeno vodo do oznake 1000 ml.

Izvedba preizkusa sproščanja

Preizkus sproščanja karvedilola iz obloženih samo-mikroemulgirajočih pelet smo izvedli v napravi za sproščanje z vesli (USP 2, naprava II, Vankel VK 7010 Tablet Dissolution Tester, z avtomatskim vzorčevalnikom VK 8000). Za vsak vzorec smo izvedli tri ponovitve sproščanja, v dveh različnih medijih. Izvedli smo tudi preizkus sproščanja za kristalinično obliko karvedilola (čisti karvedilol v obliki prahu) in pelete obložene s karvedilolom (brez SMES). Tako smo lahko proučevali vpliv prisotnosti SMES na hitrost raztapljanja karvedilola. Izbrani pogoji preizkusa sproščanja karvedilola so navedeni v preglednici VIII.

Preglednica VIII: Pogoji sproščanja karvedilola.

PARAMETRI	RAZTOPINA HCl	FOSFATNI PUFER
Naprava	Naprava z vesli (Naprava II)	
Medij	Umetni želodčni sok pH = 1,2	Umetni črevesni sok pH = 6,8
Volumen medija	900 ml	
Temperatura medija	37 °C ± 0,5 °C	
Hitrost vrtenja mešal	50 rpm in 250 rpm zadnjih 15 min	50 rpm in 250 rpm zadnjih 5 min
Volumen vzorčenja	5 ml	
Časovni interval vzorčenja	10, 20, 30, 45, 60, 120 in 135 min	10, 20, 30, 45, 60, 120, 240 in 245 min

Po ustrezni pripravi medijev za sproščanje smo s pomočjo merilnega valja odmerili izbran volumen medija za sproščanje in ga prenesli v testne posode, ki so bile skoraj v celoti potopljene v vodno kopel. Tekom segrevanja medija za sproščanje na želeno T smo na cevke za vzorčenje namestili filtre z velikostjo por 10 µm in točno natehtali vzorce pelet, da so vsebovali približno 25 mg karvedilola. Enako količino karvedilola (25 mg) smo uporabili tudi v primeru sproščanja kristalinične oblike le-tega. V nadaljevanju, ko se je T medija dvignila na želeno T smo vse pripravljene vzorce hkrati kvantitativno prenesli v testne posode za sproščanje in vključili vrtenje veslastih mešal. V izbranih časovnih točkah je nato avtomatski vzorčevalnik prenašal po 5 ml vzorca iz vsake testne posode v epruvete. Vzorce smo nato z injekcijsko brizgo prefiltrirali skozi membranski filter iz reverzne celuloze z velikostjo por 0,45 µm in jih prelili v vialo za HPLC analizo. Koncentracijo karvedilola smo določili s HPLC metodo, katere pogoji so bili enaki kot v primeru določevanja vsebnosti karvedilola v obloženih samo-mikroemulgirajočih peletah. Delež sproščenega karvedilola v odvisnosti od časa raztapljanja smo podali v obliki profilov sproščanja tako, da smo v vsaki časovni točki upoštevali povprečno vrednost odstotka sproščenega karvedilola in standardni odklon vseh treh ponovitev meritev.

4. REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1. PRETVORBA SMES V TRDNO OBLIKO

V sklopu magistrske naloge smo na osnovi predhodno razvite formulacije SMES (sestava je predstavljena v preglednici IV) pripravili različne DZO (preglednica V). Sestava le-teh se razlikuje v koncentraciji SMES, prisotnosti ali odsotnosti karvedilola in v koncentraciji ter vrsti veziv. Ob izboru optimalnih procesnih spremenljivk smo tako dobljene DZO z metodo vrtinčnoslojnega oblaganja pelet pretvorili v trden samo-mikroemulgirajoči sistem. Za vrtinčnoslojno oblaganje smo uporabili klasično konvencionalno Wurster komoro in modificirano Wurster komoro z vgrajenim generatorjem vrtinčastega toka. Izbor optimalnega razmerja med koncentracijo SMES z ZU in vezivom v DZO je ključen za dosego čim višje vsebnosti ZU v končnem produktu. Hkrati z optimalnimi procesnimi spremenljivkami ključno vpliva na hitrost nastajanja obloge in njeno enakomerno nanešenost ter na končni izkoristek procesa. Naš glavni cilj je bil doseči čim višjo vsebnost karvedilola na 1 g pelet.

4.1.1. OBLAGANJE PELET

Pred pričetkom izdelave samo-mikroemulgirajočih pelet s tehnologijo vrtinčnoslojnega oblaganja, smo na podlagi predhodnih raziskav (26) in preliminarних poskusov, izbrali začetne procesne spremenljivke za oblaganje pelet. Med iskanjem optimalnih procesnih parametrov smo kot nevtralna peletna jedra izbrali Cellets® 350, izdelana iz mikrokristalne celuloze in velikosti med 355 in 500 µm. Ta peletna jedra so nekoliko večja od peletnih jeder Cellets® 200 (velikosti med 200 in 355 µm) in so zato manj nagnjena h koheziji in nastajanju aglomeratov tekom procesa oblaganja. V kasnejših poskusih oblaganja smo uporabili manjša inertna peletna jedra Cellets® 200, ki so nam, zaradi večje specifične površine, omogočila nanos večje količine DZO in s tem večjo vsebnost karvedilola v peletah. V prilogi I je priložena preglednica, ki vsebuje rezultate vseh poskusov oblaganja pelet, opise njihovih organoleptičnih lastnosti, sestavo DZO, mase vhodnih snovi in produkta, vsebnost vlage, procesne parametre oblaganja, celokupni izkoristek oblaganja, razmerje mas med SMES (z ZU) in polimerom ter teoretično in eksperimentalno določeno vsebnost ZU na 1 g pelet. Postopek razvoja DZO in optimizacije procesnih parametrov oblaganja peletnih jeder so navedeni v preglednicah IX - XIII.

Preglednica IX: Sestava DZO 1 in procesni parametri oblaganja.

VZOREC	PELETNA JEDRA	DZO 1	PROCESNI PARAMETRI
P1, P2	Cellets® 350 (355 – 500 µm)	5 % SMES + 10 % PVP K30	$T_{\text{vhodni zrak}} = 40 - 50 \text{ }^{\circ}\text{C}$
			$T_{\text{produkt}} = 31 - 35 \text{ }^{\circ}\text{C}$
			Pretok zraka = 6,23 - 7,05 m/s
			Črpalka = 5 - 7 g/min
		$m_{\text{po,disp,P1}} = 140,40 \text{ g}$	Razmik valja = 10 - 15 mm
		$m_{\text{po,disp,P2}} = 360,00 \text{ g}$	$P_{\text{šoba}} = 1,8 - 2,0 \text{ bar}$
P3, P4	Cellets® 350 (355 – 500 µm)	5 % SMES + 10 % PVP K30 + dodatni sloj DZO 12	$T_{\text{vhodni zrak}} = 40 - 53 \text{ }^{\circ}\text{C}$
			$T_{\text{produkt}} = 30 - 39 \text{ }^{\circ}\text{C}$
			Pretok zraka = 6,18 - 7,09 m/s
			Črpalka = 5 - 8 g/min
		$m_{\text{po,disp,P3}} = 600,00 \text{ g}$	Razmik valja = 10 - 15 mm
		$m_{\text{po,DZO 12 P3}} = 40,00 \text{ g}$	
		$m_{\text{po,disp,P4}} = 751,20 \text{ g}$	$P_{\text{šoba}} = 2,0 \text{ bar}$
		$m_{\text{po,DZO 12 P4}} = 50,00 \text{ g}$	

Legenda: $m_{\text{po,disp}}$ - masa celotne porabljene disperzije, $m_{\text{po,DZO12}}$ - masa porabljene DZO 12

V začetnih poskusih (P1 in P2) smo na podlagi predhodnih raziskav (26) uporabili DZO 1, ki je bila sestavljena iz SMES in PVP K30 v razmerju 1 : 2. PVP K30 je zelo pogosto uporabljena pomožna snov za oblaganje pelet; uporabljamo ga za pripravo prenasitčenih raztopin ZU, saj omejuje obarjanje ZU po zaužitju samo-emulgirajoče formulacije (60). Prvi poskus oblaganja smo izvedli v klasični Wurster komori, v kateri smo še pred začetkom razprševanja DZO opazili združevanje peletnih jeder v skupke in oprijemanje na RV. Predvidevali smo, da zaradi nekontrolirane vlage in T vhodnega zraka prihaja do statične napetosti med peletnimi jedri. Pri poskusu P2 smo zato uporabili razvlaževalnik vhodnega zraka (30 % vlažnost pri 18 °C) in povsem odpravili zgoraj opisano težavo. V prvem poskusu se je nadalje izkazalo, da je nastavitev T produkta na 35 °C previsoka, saj delci pri tej T postanejo bolj kohezivni in pričnejo se tvoriti aglomerati, zato smo v naslednjem poskusu (P2) poskušali vzdrževati T produkta na 32 °C, kar se je izkazalo za ustrezno. Nastajanje aglomeratov je bilo opazno še zlasti pri poskusu P1, kjer so aglomerati nastali že po 14 min oblaganja. Poleg T produkta je na nastajanje aglomeratov vplival tudi prenizek začetni tlak razprševanja na dvokanalni šobi (1,8 bar). Namreč, ko smo na peristaltični črpalki povečali hitrost dovajanja DZO z začetnih 5 g/min na končnih 7 g/min (P1), so se pričeli tvoriti aglomerati. Predvidevali smo, da nižji tlak razprševanja vpliva na nastanek večjih kapljic, ki se v ekspanzijskem delu komore ne uspejo zadosti hitro posušiti, zato so

pelete nagnjene h koheziji. Obenem smo ugotovili tudi, da je za zadosti hitro sušenje pelet v ekspanzijskem delu komore in s tem zmanjšanje nagnjenosti pelet h koheziji zelo pomembno postopno povečevanje hitrosti dovajanja DZO (povečevanje za 1 g/min, iz začetnih 5 g/min na končnih 9 g/min, vsakih 8 – 10 minut). Nadalje smo na eni strani notranjega dela RV (P1) opazili večji skupek sprijetih pelet. Vzrok bi lahko bila rahlo vstran zamaknjena šoba za razprševanje DZO, zato smo pri vseh nadaljnjih poskusih šobo vedno natančno naravnali in tako odpravili opisano težavo. Kot optimalna hitrost pretoka zraka se je izkazal izhodiščni interval med 7,01 in 7,05 m/s (P2); ob nižjih hitrostih (P1) pretoka zraka se razpršene kapljice DZO na peletah niso uspele zadosti hitro sušiti, ob višjih hitrostih pretoka zraka (P3) pa so se pričeli mašiti vrečasti filtri, saj so se pelete pričele lepiti na filtre. Obložene pelete, izdelane v poskusih P1 in P2, so bile na otip precej »mastne« in so se ob shranjevanju zelo hitro sprijele v večje skupke, ki pa smo jih z mehansko silo (stisk s prsti roke) in uporabo sit lahko hitro ločili. Večji skupki pelet in izgled slednjih po ločevanju skupkov z mehansko silo, so razvidni na sliki 3.



Slika 3: Večji skupki pelet (A) in izgled slednjih po ločevanju skupkov z mehansko silo (B).

Pri izvedbi poskusa P3 smo uporabili DZO 1 in klasično Wurster komoro ter pri tem uporabili procesne parametre, ki so se v prvih dveh poskusih pokazali kot najprimernejši. Po nanosu 266 g DZO smo zaradi nastajanja aglomeratov proces oblaganja ustavili, pelete presejali skozi sito 600 μm in s peletami velikosti pod 600 μm proces nadaljevali do končnega nanosa 600 g DZO. Lei Y in sodelavci so v svoji raziskavi oblaganja pelet (26) opisali, da prihaja pri shranjevanju pelet, izdelanih z vrtninoslojnim oblaganjem peletnih jeder s tekočim SMES in PVP K30 kot vezivom, do nagnjenosti pelet k zlepljanju v večje skupke, v kolikor delež SMES pri masi obloge presega 40 %. Ugotovili so, da se stanje statistično izboljša, če se ob koncu oblaganja na pelete nanese dodaten polimerni zaščitni

sloj. V poskusu P3 smo tako v izogib težavam povezanim z zlepljanjem pelet vključili zaključno oblaganje pelet z DZO 12, ki je vsebovala 8 % HPMC in 1 % PEG 6000; slednjo smo v tankem sloju nanесли na pelete ob koncu oblaganja slednjih z DZO, brez vmesnega ustavljanja procesa. V fazi oblaganja pelet z DZO 12 smo T produkta dvignili na 38 – 39 °C, a se je nastavitev izkazala za previsoko, saj so nemudoma pričeli nastajati aglomerati. Zaradi nastanka aglomeratov smo povečali višino RV iz 10 na 15 mm in proces uspešno izpeljali do konca. Ob končnem pregledu pelet smo ugotovili, da se je z nanosom tankega polimernega sloja »mastnost« pelet zmanjšala, med njihovim shranjevanjem pa ni prišlo do zlepljanja v skupke.

Ker smo hoteli preprečiti nastajanje aglomeratov, smo v poskusu P4 uporabili modificirano Wurster komoro z vgrajenim generatorjem vrtinčastega toka. Ta namreč omogoča boljši in hitrejši pretok pelet znotraj RV, kar ima za posledico povečano enakomernost nanešene obloge ob minimalnih variacijah velikosti delcev in zmanjšan obseg tvorbe aglomeratov (32). Pri poskusu P4 smo v fazi nanašanja zaključnega polimernega sloja DZO 12 (8 % HPMC in 1% PEG 6000) znižali tudi T produkta (iz 38 - 39°C na 36 °C), da bi zmanjšali kohezivnost delcev. Obe modifikaciji sta se izkazali kot primerni, saj je proces oblaganja potekal brez težav, a so bile na koncu pelete še vedno rahlo »mastne« in lepljive.

Preglednica X: Sestava DZO 5 in 6 ter procesni parametri oblaganja.

VZOREC	PELETNA JEDRA	DZO 5	PROCESNI PARAMETRI
P11	Cellets® 350 (355 – 500 µm)	5 % SMES + 12,5 % PVP K30 + dodatni sloj DZO 12 m _{po.disp.P11} = 600,08 g m _{po.DZO 12 P11} = 50,08 g	T _{vhodni zrak} = 44 - 46 °C
			T _{produkt} = 31 - 36 °C
			Pretok zraka = 7,01 - 7,07 m/s
			Črpalka = 5 - 9 g/min
			Razmik valja = 10 mm
P12	Cellets® 200 (200 – 355 µm)	5 % SMES + 12,5 % PVP K30 + dodatni sloj DZO 12 m _{po.disp.P12} = 1134,40 g m _{po.DZO 12 P12} = 51,04 g	Pšoba = 2,0 bar
			T _{vhodni zrak} = 44 - 46 °C
			T _{produkt} = 31 - 36 °C
			Pretok zraka = 7,03 - 7,07 m/s
			Črpalka = 5 - 9 g/min
P13	Cellets® 200 (200 – 355 µm)	DZO 6	Razmik valja = 10 mm
		5 % SMES z ZU + 12,5 % PVP K30 + dodatni sloj DZO 12 m _{po.disp.P13} = 466,02 g m _{po.DZO 12 P13} = 50,54 g	Pšoba = 2,0 bar
			T _{vhodni zrak} = 44 - 50 °C
			T _{produkt} = 31 - 36 °C
			Pretok zraka = 7,01 - 7,07 m/s

P14, P15, P16	Cellets® 200 (200 – 355 µm)	5 % SMES z ZU + 12,5 % PVP K30 + dodatni sloj DZO 12	T _{vhodni zrak} = 43 - 50 °C
			T _{produkt} = 31 - 40 °C
			Pretok zraka = 7,03 - 7,05 m/s
		m _{po.disp.P14} = 1945,00 g	Črpalka = 5 - 9 g/min
		m _{po.DZO 12 P14} = 51,08 g	
		m _{po.disp.P15} = 1947,60 g	Razmik valja = 10 - 15 mm
		m _{po.DZO 12 P15} = 51,12 g	
P18	Cellets® 200 (200 – 355 µm)	DZO 8	T _{vhodni zrak} = 44 - 50 °C
		6,25 % SMES z ZU + 12,5 % PVP K30 + dodatni sloj DZO 12	T _{produkt} = 32 - 40 °C
		m _{po.disp.P18} = 557,11 g	Pretok zraka = 7,03 - 7,05 m/s
		m _{po.DZO 12 P18} = 50,80 g	Črpalka = 5 - 9 g/min
			Razmik valja = 10 mm
			P _{šoba} = 2,0 bar

Proces oblaganja pri poskusu P4 je potekal dobro, izdelane pelete pa so bile na otip še vedno nekoliko »mastne«. S ciljem, da bi optimizirali formulacijo poskusa P4 smo med poskusom P11 v DZO 5 povečali delež PVP K30 (z 10 na 12,5 %). Med poskusom P11 je prišlo do mašenja filtrov, kar smo skušali rešiti s povečano odprtostjo lopute za vhodni zrak, a je pretok vhodnega zraka posledično preveč padel, zato smo morali med procesom oblaganja filtre zamenjati. Kljub opisanemu zapletu med oblaganjem ni prišlo do nastanka večjih aglomeratov, izdelane pelete pa na otip niso bile »mastne«. Povečanje deleža PVP K30 v DZO se je torej izkazalo kot korak v pravo smer, ob ustrezni prilagoditvi procesnih parametrov (pretok vhodnega zraka).

Vse nadaljnje poskuse vrtninoslojnega oblaganja peletnih jader, s katerimi smo želeli povečati maso obloge pelet in s tem vsebnost SMES z ZU v peletah, smo zato izvajali v modificirani Wurster komori in pri nastavitvah procesnih parametrov, ki so se izkazali kot optimalni pri poskusu P11.

S ciljem povečanja debeline obloge pelet smo naslednji sklop poskusov (P12 – P16) izvedli z uporabo manjših inertnih peletnih jader (Cellets® 200), ki imajo posledično večjo specifično površino. Poskus P12 smo sicer izvedli pri enakih pogojih kot P11, le da smo zaradi manjše velikosti peletnih jader na le-te nanесли večjo količino DZO 5. Na ta način smo pridobili preliminarne informacije o dogajanju med procesom oblaganja pri nanosu večjih količin DZO. Ugotovili smo, da je za nastanek aglomeratov ključnih prvih 30 minut poskusa, v nadaljevanju pa se proces stabilizira in do tvorbe aglomeratov ne prihaja več.

Pri poskusu P13 smo prvič uporabili ZU. V DZO 6 smo tako vključili SMES z vgrajenim karvedilolom (vsebnost slednjega v SMES je bila 100 mg/g, kar predstavlja približno 81 %

nasičene topnosti karvedilola v našem SMES). Dodatek ZU ni predstavljal nobenih težav za samo stabilnost procesa, prav tako ni vplival na pogoje vrtinčnoslojnega oblaganja. Pred pričetkom oblaganja pelet smo sicer opazili, da se je pričela ZU v DZO rahlo obarjati, zato smo DZO tekom celotnega procesa oblaganja mešali s propelerskim mešalom.

Z namenom izdelave pelet s čim debelejšo oblogo in z visoko vsebnostjo SMES z ZU smo izvedli zaporedno (večstopenjsko) oblaganje pelet s serijo treh poskusov. Poskus P14 (enak kot poskus P13) predstavlja prvo stopnjo oblaganja, ki se nadaljuje še v poskusih P15 in P16. Pri vseh treh poskusih smo peletna jedra oblagali z DZO 6 in po koncu vsake stopnje oblaganja nanесли še tanek sloj DZO 12 (8 % HPMC in 1 % PEG 6000). V vsakem poskusu oz. stopnji oblaganja smo na 200 g pelet iz predhodne stopnje nanесли približno 2000g DZO 6 in 50 g DZO 12. Po vsakem poskusu smo pelete presejali skozi ustrezno velikost sita (P14 (355 in 600 μm), P15 (500 in 800 μm) in P16 (600 in 1120 μm)); vmesno frakcijo smo najprej ustrezno ovrednotili (po že predhodno navedenih postopkih v poglavju 3.2.5.) ter jo nato uporabili za izvedbo naslednje stopnje oblaganja. Pri poskusih P15 in P16 smo kot začetna peletna jedra uporabili približno 200 g pelet iz predhodnega poskusa oblaganja (v poskusu P15 smo uporabili končno formulacijo poskusa P14, v poskusu P16 pa pelete izdelane v poskusu P15). Po koncu vsake stopnje oblaganja smo produkt še 5 minut sušili do T produkta 40 °C. Ugotovili smo, da ob prenehanju dovajanja DZO, povišana T vhodnega zraka ne vpliva na kohezivnost delcev.

Z namenom še dodatnega povečanja vsebnosti ZU v peletah smo se pri poskusu P18 odločili v izdelani DZO 8 povečati koncentracijo SMES z ZU (iz 5 % SMES z ZU v DZO 6 na 6,25 % v DZO 8). Oblaganje smo izvedli pod enakimi pogoji kot poskus P13. Povečanje koncentracije SMES z ZU v DZO 8 je sicer povečalo vsebnost ZU v peletah, vendar smo dosegli precej nižji izkoristek oblaganja (67,3 %). Za primerjavo so izkoristki procesa oblaganja pelet poskusov P14 – P16 podani v preglednici XII. Prav tako smo ob koncu poskusa na RV opazili skupek zlepljenih pelet, njihova površina pa je bila na otip »mastna«. Iz tega smo sklepali, da je količina uporabljenega SMES z ZU v DZO 8 prevelika, zato smo kot optimalno vsebnost SMES z ZU v DZO identificirali izhodiščni, tj. 5 % masni delež.

Preglednica XI: Sestava DZO 9 in procesni parametri oblaganja.

VZOREC	PELETNA JEDRA	DZO 9	PROCESNI PARAMETRI
P19	Cellets® 200 (200 – 355 µm)	5 % SMES z ZU + 5 % PVP K30 + 5 % LAKTOZA MESH 200 + dodatni sloj DZO 12	T _{vhodni zrak} = 44 - 50 °C
			T _{produkt} = 32 - 40 °C
			Pretok zraka = 7,03 - 7,05 m/s
			Črpalka = 5 - 9 g/min
		m _{po,disp.P19} = 470,30 g	Razmik valja = 10 mm
m _{po.DZO 12 P19} = 20,20 g	P _{šoba} = 2,0 bar		
P20, P21, P22	Cellets® 200 (200 – 355 µm)	5 % SMES z ZU + 5 % PVP K30 + 5 % LAKTOZA MESH 200 + dodatni sloj DZO 12	T _{vhodni zrak} = 44 - 50 °C
			T _{produkt} = 32 - 40 °C
			Pretok zraka = 7,01 - 7,05 m/s
		m _{po,disp.P20} = 1929,15 g	Črpalka = 5 - 9 g/min
		m _{po.DZO 12 P20} = 50,76 g	
		m _{po,disp.P21} = 1960,86 g	Razmik valja = 10 - 15 mm
		m _{po.DZO 12 P21} = 51,08 g	
		m _{po,disp.P22} = 1961,00 g	
m _{po.DZO 12 P22} = 50,75 g			
P25, P26, P27	Cellets® 200 (200 – 355 µm)	5 % SMES z ZU + 5 % PVP K30 + 5 % LAKTOZA MESH 200 + dodatni sloj DZO 12	T _{vhodni zrak} = 44 - 50 °C
			T _{produkt} = 32 - 41 °C
			Pretok zraka = 7,01 - 7,05 m/s
		m _{po,disp.P25} = 1950,82 g	Črpalka = 5 - 9 g/min
		m _{po.DZO 12 P25} = 51,90 g	
		m _{po,disp.P26} = 1951,11 g	Razmik valja = 10 - 15 mm
		m _{po.DZO 12 P26} = 50,83 g	
		m _{po,disp.P27} = 1959,81 g	
m _{po.DZO 12 P27} = 44,99 g			

Lei Y. in njegovi sodelavci so v raziskavi (62) določili nižjo BU peletam, ki so bile obložene z disperzijo, katera je poleg SMES vsebovala 10 % PVP K30, v primerjavi s tekočim SMES. Zaradi tega smo poskusili znižati vsebnost PVP K30 v DZO in slednjega delno nadomestiti s klasičnim polnilom. Vključitev slednjih se je tudi sicer že večkrat izkazalo kot učinkovita rešitev za povečanje kapacitete vgradnje tekočih SMES v trdne formulacije (69). V DZO 9 smo tako del PVP K30 nadomestili z laktozo mesh 200. Po oblaganju (poskus P19) smo dobili pelete, ki so vsebovale zelo nizek delež aglomeratov in na otip niso bile »mastne«. Tudi pri tej DZO je prišlo do rahlega obarjanja ZU, zato smo med procesom oblaganja DZO ves čas mešali z mešalom.

Poskuse P20, P21 in P22 smo sicer izvedli po enakem postopku kot poskuse P14 - P16 (serija 3 zaporednih stopenj oblaganj), s to razliko, da smo za vsako naslednjo fazo uporabili

frakcijo pelet z ožjo porazdelitvijo velikosti (med vsako fazo oblaganja smo uporabili ožjo porazdelitev velikosti sit; poskus P20 (355 in 500 μm), P21 (500 in 710 μm) in P22 (710 in 1000 μm)). Tako smo povečali enakomernost velikosti pelet. Zaradi želje po čim višji vsebnosti ZU smo v poskusih P20 - P22 spremenili še koncentracijo karvedilola v tekočem SMES in tako namesto koncentracije 100 mg/g SMES (uporabljena v poskusih P14 – P16) uporabili koncentracijo 110 mg/g SMES ali približno 89 % nasičene topnosti karvedilola v našem SMES. S tem smo uspeli povečati končno vsebnost ZU na gram pelet iz 23,24 mg/g pri poskusu P16, na 29,09 mg/g pri poskusu P22 (poglavje 4.2.1.).

Z namenom proučevanja ponovljivosti procesa oblaganja peletnih jeder smo poskuse P25 - P27 izvedli pod enakimi pogoji kot poskuse P20 - P22, le da smo zaradi rahlo višje vsebnosti vlage (priporočena vrednost je manj kot 4 % (70)) v peletah poskusov P14 – P16 in P20 – P22, čas sušenja pri posamezni fazi oblaganja (P25 - P27) podaljšali iz prvotnih 5 minut na 10 minut. S tem smo dosegli, da se je končna vsebnost vlage zmanjšala iz 3 % na 2 % (priloga I).

Izkoristke in deleže aglomeratov smo izračunali na podlagi enačb, podanih v poglavju 3.2.5. Pri izračunih smo upoštevali vsebnost vlage v začetnih peletnih jedrih in končnih obloženih peletah. Iz preglednice XII je razvidno, da so vsi izkoristki razen enega (pri poskusu P16) nad 80 %. Nekoliko višji izkoristki so pri poskusih, kjer smo nanесли DZO 9. Na podlagi izkoristkov analiziranih poskusov oblaganja pelet lahko vidimo, da so le-ti povezani s potekom procesa oblaganja, saj so bili izkoristki večji, ko je bilo manj sprijemanja pelet na stene komore, RV ali vrečaste filtre (največ sprijemanja je bilo pri poskusih P16 in P22). Pri vseh večstopenjskih oblaganjih smo v tretji stopnji oblaganja opazili, da so bili vrečasti filtri precej zaprašeni. Predvidevamo, da do tega prihaja zaradi trkanja pelet ob steno in posledično do krušenja posušene obloge, kar se odraža tudi v nižjem izkoristku. V preglednici je podan tudi celokupni izkoristek, ki je zmnožek vseh treh izkoristkov tristopenjskega procesa oblaganja pri analiziranih produktih in deleži aglomeratov za vsak posamezni poskus. Kot uporabno frakcijo smo uporabili delce, ki so se po sejanju produkta nahajali med spodnjim in zgornjim sitom, delež aglomeratov pa smo določili iz mase delcev, ki so po sejanju ostali na zgornjem situ. Na podlagi deleža aglomeratov lahko pojasnimo potek razprševanja (mikro)emulzije v posamezni stopnji oblaganja. Delež aglomeratov je večji v prvih stopnjah oblaganja, saj imajo takrat pelete še relativno majhen premer in so zaradi večje specifične površine bolj podvržene aglomeraciji. V kasnejših stopnjah oblaganja

se delež aglomeratov zaradi povečevanja premera pelet precej zmanjša. V našem primeru je v tretji stopnji oblaganja le-ta zelo majhen.

Preglednica XII: Izračunani izkoristki procesa oblaganja, celokupni izkoristek pri poskusih s tremi stopnjami oblaganj, deleži aglomeratov in velikost pelet uporabne frakcije.

	DZO	IZKORISTEK PROCESA OBLAGANJA [%]	CELOKUPNI IZKORISTEK [%]	DELEŽ AGLOMERATOV [%]	VELIKOST PELET UPORABNE FRAKCIJE [μm]
P14	DZO 6	80,21	54,08	7,76	355 – 600
P15		84,37		5,23	500 – 800
P16		79,91		0,18	600 – 1120
P20	DZO 9	87,58	65,93	8,48	355 – 500
P21		86,99		3,52	500 – 710
P22		86,54		0,62	710 – 1000
P25	DZO 9	87,69	65,75	8,63	355 – 500
P26		85,48		1,01	500 – 710
P27		87,72		0,13	710 – 1000

V nadaljnjih poskusih smo želeli proučiti tudi vpliv vključitve klasičnih polnil (v našem primeru manitola in laktoze) na kapaciteto vgradnje SMES v oblogo pelet.

Preglednica XIII: Sestava DZO 2, 3 in 4 ter procesni parametri oblaganja.

VZOREC	PELETNA JEDRA	DZO 2	PROCESNI PARAMETRI
P5, P6	Cellets® 350 (355 – 500 μm)	5 % SMES + 10 % MANITOL m _{po,disp,P5} = 115,53 g m _{po,disp,P6} = 99,11 g	T _{vhodni zrak} = 50 - 60 °C
			T _{produkt} = 36 - 40 °C
			Pretok zraka = 7,01 - 7,05 m/s
			Črpalka = 5 - 9 g/min
			Razmik valja = 10 mm
P7	Cellets® 350 (355 – 500 μm)	5 % SMES + 10 % MANITOL + dodatni sloj DZO 12 m _{po,disp,P7} = 350,00 g m _{po,DZO 12 P7} = 35,21 g	P _{šoba} = 2,0 bar
			T _{vhodni zrak} = 45 - 47 °C
			T _{produkt} = 33 - 35 °C
			Pretok zraka = 7,01 - 7,05 m/s
			Črpalka = 5 - 8 g/min
P8, P9	Cellets® 350 (355 – 500 μm)	DZO 3 5 % SMES + 12,5 % MANITOL m _{po,disp,P8} = 80,20 g m _{po,disp,P9} = 61,96 g	Razmik valja = 10 - 25 mm
			P _{šoba} = 2,0 bar
			T _{vhodni zrak} = 45 - 55 °C
			T _{produkt} = 34 - 41 °C
			Pretok zraka = 7,01 - 7,05 m/s
			Črpalka = 5 - 7 g/min
			Razmik valja = 10 mm
			P _{šoba} = 2,0 bar

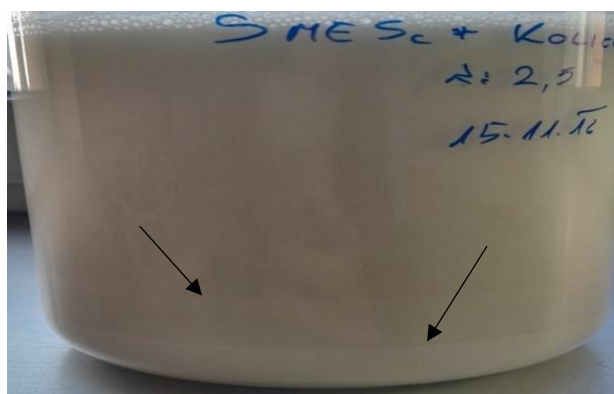
P10	Cellets® 350 (355 – 500 µm)	DZO 4	T _{vhodni zrak} = 42 - 45 °C
		5 % SMES + 5 % MANITOL + 5 % PVP K30	T _{produkt} = 31 - 33 °C
			Pretok zraka = 7,03 - 7,05 m/s
			Črpalka = 5 - 7 g/min
			Razmik valja = 10 mm
		m _{po.disp.P10} = 96,45 g	P _{šoba} = 2,0 bar

Pri poskusih P5 in P6 smo tako uporabili DZO 2, ki je vsebovala SMES in manitol v razmerju 1 : 2. Oba poskusa oblaganja smo izvedli v modificirani Wurster komori. Za poskus P5 smo si izbrali procesne parametre iz poskusa P3 in T produkta 38 – 40 °C, pri poskusu P6 pa smo T produkta spustili na 36 °C. V obeh primerih so se že po nekaj minutah pričeli tvoriti aglomerati, zato smo morali proces ustaviti. Ob pregledu pelet smo ugotovili, da so bile le-te na otip zelo »mastne«. V poskusu P7 smo zato dodatno znižali T produkta med oblaganjem na 33 °C, kar se je pri oblaganju s PVP K30 izkazalo kot primerno. Dodatno smo nanegli tudi zaključni polimerni sloj DZO 12 (8 % HPMC in 1 % PEG 6000) ter proces prenesli iz modificirane Wurster komore v klasično Wurster komoro, saj smo predvidevali, da je zaradi počasnejšega kroženja delcev, klasična konvencionalna Wurster komora primernejša za oblaganje pelet s klasičnim polnilom (manitol). Kljub navedenim modifikacijam so se med procesom pričeli tvoriti aglomerati, prav tako nismo odpravili »mastnosti« pelet. Predvidevali smo, da so opisane težave lahko posledica premajhnega deleža manitola v DZO, zaradi česar smo presegli kapaciteto vgradnje SMES v oblogo.

V disperziji DZO 3 smo zato povečali delež manitola (z 10 na 12,5 %) in poskusa P8 in P9 ponovno izvedli v klasični Wurster komori. Za poskus P9 smo si izbrali procesne parametre iz poskusa P5 in T produkta 38 – 41 °C, pri poskusu P8 pa smo T produkta spustili na 34 - 36 °C. Kljub povečani vsebnosti manitola je v obeh primerih že po 15 minutah oblaganja prišlo do tvorbe večjih aglomeratov, zato smo morali proces ustaviti.

Ker zgolj povečanje vsebnosti manitola ni pripomoglo k izboljšanju procesa oblaganja, smo v nadaljevanju v DZO poleg manitola (v vlogi klasičnega polnila) ponovno dodali tudi polimer oz. vezivo (PVP K30) in pri poskusu P10 uporabili DZO 4, ki je vsebovala SMES, manitol in PVP K30 v razmerju 1 : 1 : 1. Na podlagi rezultatov predhodnih oblaganj smo proces oblaganja ponovno prenesli v modificirano Wurster komoro in uporabili procesne parametre, ki so se v predhodnih poskusih oblaganja pelet s SMES izkazali za optimalne. Tudi v tem poskusu so se po 10 minutah oblaganja pričeli tvoriti aglomerati. Na osnovi pridobljenih rezultatov smo zaključili, da manitol ni primerna pomožna snov za oblaganje peletnih jeder z disperzijo, ki vsebuje SMES.

Poleg klasičnih polnil (manitol in laktoza) smo želeli proučiti še vpliv vključitve sintetičnega polimera (v našem primeru Kollicoat IR) na kapaciteto vgradnje SMES v oblogo pelet. Pri poskusu P17 je že ob sami pripravi DZO 7 prišlo do velikega obarjanja ZU. DZO s Kollicoat IR je bila precej motna, kar se sklada z navedbami iz literature (61). Takoj po prenehanju mešanja z mešalom smo opazili, da se je karvedilol in, glede na količino sedimenta, tudi Kollicoat IR začel posedati, kar je lepo vidno na sliki 4. Ob tem smo predvidevali, da pride do delnega obarjanja Kollicoat IR zaradi njegove slabe topnosti v nepolarnih topilih (61), v našem primeru komponentah našega SMES. Zaradi nestabilnosti DZO 7 smo se odločili, da poskusa oblaganja ne bomo izvedli.



Slika 4: Oborjena ZU in Kollicoat IR v DZO 7 (5 % SMES z ZU in 12,5 % Kollicoat IR).

Iz opisanih poskusov oblaganja lahko povzamemo, da je optimalna T produkta med procesom oblaganja 32 °C. Pri tem je zelo pomembno postopno povečevanje hitrosti dovajanja DZO, ki jo na vsakih 8 – 10 min povečamo za 1 g/min do končnega pretoka DZO 9 g/min. Višina reže RV se poveča le v tretji stopnji oblaganja, ker so pelete takrat že nekoliko večje in tako zagotovimo boljše kroženje pelet. V fazi sušenja pelete ne izkazujejo težnje po nastajanju aglomeratov, zato lahko T produkta dvignemo na 40 °C.

Med oblaganjem smo tako izdelali tri optimalne produkte (P16, P22 in P27) iz DZO 6 in 9, v katere smo uspeli vgraditi ZU, hkrati pa so imeli dobre organoleptične lastnosti ter dosegali visoke izkoristke. Izdelane optimalne produkte smo v nadaljevanju tudi ustrezno ovrednotili.

4.2. VREDNOTENJE OBLOŽENIH PELET

4.2.1. VSEBNOST KARVEDILOLA V OBLOŽENIH PELETAH

Vsebnost karvedilola v obloženih peletah smo določili na podlagi izračunov in postopka, navedenega v poglavju 3.2.5. Naš cilj je bil vgraditi čim večji delež SMES s karvedilolom

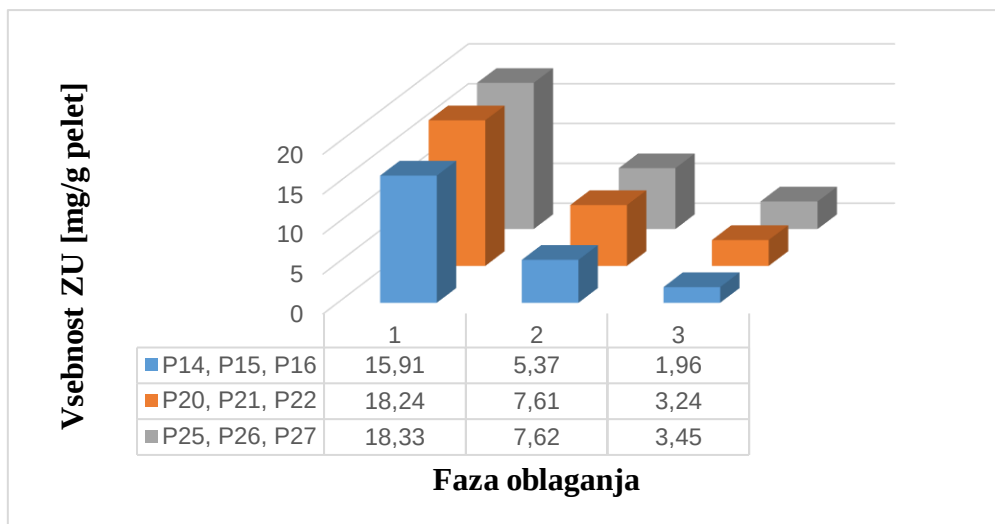
v oblogo pelet. Iz preglednice XIV je razvidno, da smo največ ZU na gram pelet nanesli v prvih stopnjah trostopenjskega oblaganja nato pa vrednost eksponentno pada, kar lahko vidimo na sliki 5. Ob pogledu na povprečno maso nanešene obloge posameznega sloja trostopenjskega oblaganja lahko vidimo, da le-ta pri vseh poskusih (P14 - P16, P20 – P22 in P25 – P27) z vsakim naslednjim slojem obloge narašča, posledično pa narašča tudi vsebnost ZU v posameznem sloju.

Preglednica XIV: Masna koncentracija ZU v SMES, teoretična in eksperimentalno določena vsebnost ZU v obloženih peletah, povprečna masa nanešene obloge na peletu, izračunana povprečna vsebnost ZU v sloju nanešene obloge na peletu ter povprečen premer pelet.

	MASNA KONCENTRACIJA ZU v SMES (mg/g SMES)	TEORETIČNA VSEBNOST ZU na g PELET [mg/g pelet]	EKSPERIMENTALNO DOLOČENA VSEBNOST ZU na g PELET [mg/g pelet]	POVPREČNA MASA NANEŠENE OBLOGE na PELETO [μg]	POVPREČNA VSEBNOST ZU v SLOJU NANEŠENE OBLOGE na PELETO [μg]	POVPREČEN PREMER PELET [μm]
P14	100	15,91	/	46	1,01	458,93
P15		21,28		116	2,51	667,64
P16		23,24	24,30	288	5,90	929,00
P20	110	18,24	/	31	0,88	438,73
P21		25,85		88	2,49	600,34
P22		29,09	25,60	205	5,77	817,61
P25	110	18,33	/	39	1,11	434,78
P26		25,95		87	2,42	598,89
P27		29,40	27,00	203	5,80	805,68

Legenda: Teoretična in eksperimentalna vsebnost ZU je določena v mg ZU na 1 g obloženih pelet.

Opazimo lahko, da smo z uporabo višje masne koncentracije ZU (110 mg/g SMES) v poskusih P20 - P22 in P25 - P27, dosegli višjo končno vsebnost karvedilola na gram pelet. Do razlikovanja med izračunano teoretično vsebnostjo ZU in eksperimentalno določeno vsebnostjo ZU je lahko prišlo zaradi krušenja delcev obloge med procesom oblaganja. Pri drugi fazi oblaganja je bilo okrušenih delcev nekoliko manj, pri tretji fazi pa smo predvsem pri poskusih P22 in P27 opazili, da je po koncu oblaganja na vrečastih filtrih ostalo precej prašnih delcev med katerimi bi lahko bila ZU.



Slika 5: Povečevanje vsebnosti ZU na gram pelet v posameznih fazah oblaganja.

4.2.2. MERITVE VELIKOSTI PELET S SLIKOVNO ANALIZO

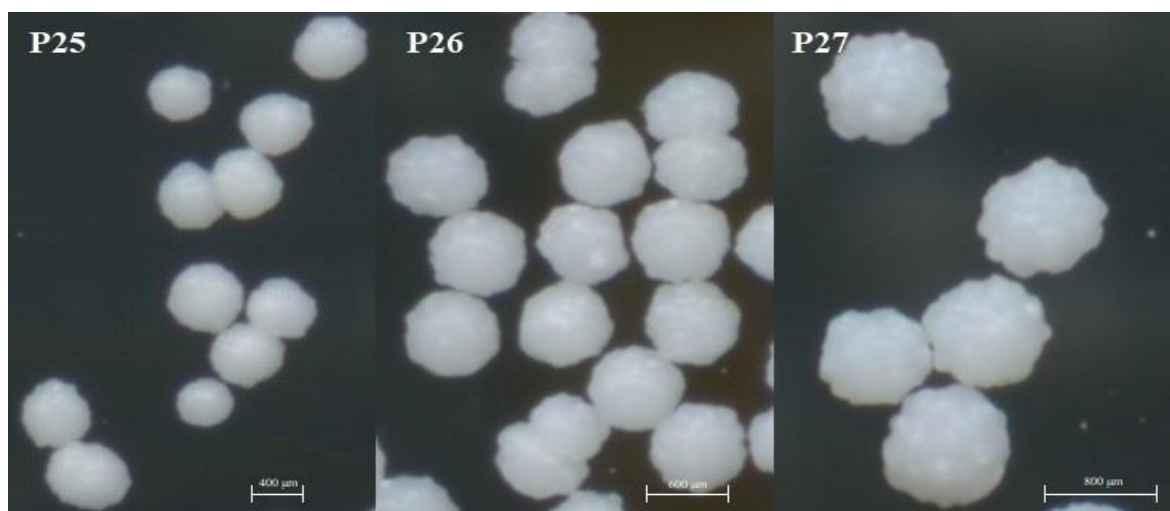
Velikost obloženih pelet večstopenjskega oblaganja, ki je obsegalo tri zaporedne stopnje oblaganja, smo določili s slikovno analizo z uporabo visokoločljivostnega optičnega čitalnika, ki na podlagi dvodimenzionalne slike posamičnih pelet, izračuna njihov premer in faktor sferičnosti (FS). Rezultati so podani v preglednici XV.

Preglednica XV: Porazdelitev velikosti pelet, povprečni premer in faktor sferičnosti.

	PORAZDELITEV VELIKOSTI PELET		POVPREČEN PREMER [μm]	POVPREČEN FAKTOR SFERIČNOSTI
	d (min) [μm]	d (max) [μm]		
Celllets [®] 200	267,03	435,27	310,44	0,954
P14	267,03	634,10	458,93	0,953
P15	313,24	799,98	667,64	0,927
P16	622,64	1036,75	929,00	0,911
P20	267,83	590,50	438,73	0,950
P21	328,57	783,32	600,34	0,941
P22	505,18	998,78	817,61	0,922
P25	317,19	568,34	434,78	0,959
P26	460,04	736,49	598,89	0,953
P27	663,08	944,85	805,68	0,926

Iz podatkov predstavljenih v preglednici XV lahko razberemo, da so obložene pelete pri vseh analiziranih poskusih oblaganja skoraj okrogle oblike. Popolnoma okrogle pelete imajo vrednost FS enako 1,00. V našem primeru imajo pelete v prvih dveh stopnjah posameznih procesov oblaganj FS nad 0,93, obenem pa pri slikovni analizi nismo zasledili pelet eliptične oblike. To pomeni, da je bil proces oblaganja pelet izveden nadzorovano. Na podlagi

visokega FS lahko sklepamo na enakomerno oblogo po celotni površini jedra, saj se FS obloženih pelet le malo razlikuje od FS peletnih jeder, ki znaša 0,95. FS je nekoliko nižji v tretji stopnji posameznih oblaganj (P16, P22 in P27), kar lahko povežemo s predpostavko o krušenju delcev v tej stopnji oblaganj, opisano v poglavju 4.1.1. V poskusih P25, P26 in P27 smo dokazali, da lahko z natančnim vodenjem procesa oblaganja (ustrezna nastavitve tlaka za razprševanje, pretoka vhodnega zraka, hitrosti dovajanja DZO in vzdrževanje T produkta v izbranem območju) zmanjšamo krušenje delcev in povečamo FS obloženih pelet. Velikost pelet podajamo z njihovim povprečnim premerom. Iz preglednice je razvidno, da je premer v prvih stopnjah oblaganj (P14, P20 in P25) pričakovano najmanjši in se povečuje tekom nadaljnjih stopenj oblaganj. Pri večstopenjskem oblaganju, ki je obsegalo tri zaporedne stopnje oblaganja, se je premer pelet povečal za 300 – 400 % začetnega premera peletnih jeder. Pri poskusih P14 - P16 lahko opazimo, da se porazdelitev velikosti delcev (d_{min} – d_{max}) z vsakim novim nanosom obloge povečuje, kar nakazuje na neenakomerno oblaganje pelet. Poglavitni razlog v širši porazdelitvi delcev je v izbiri sit za sejanje pelet in posledično širši distribuciji pelet, ki predstavljajo začetna jedra za naslednjo stopnjo oblaganja. Iz preglednice VI lahko vidimo, da smo pri poskusih P14, P15 in P16 pri sejanju izbrali širšo porazdelitev velikosti sit, kar je glavni vzrok širše porazdelitve velikosti pelet. V ostalih poskusih smo zato izbrali ožjo porazdelitev velikosti sit in tako dobili ožjo porazdelitev delcev posamezne uporabne frakcije. Sklepamo tudi, da se je med oblaganjem del pelet zadrževal ob robu komore, zato je morda tudi to posledica neenakomernega oblaganja. Na sliki 6 je prikazana porazdelitev velikosti in sferičnost obloženih pelet pri posameznih stopnjah (poskus P25, P26 in P27) večstopenjskega oblaganja pelet.

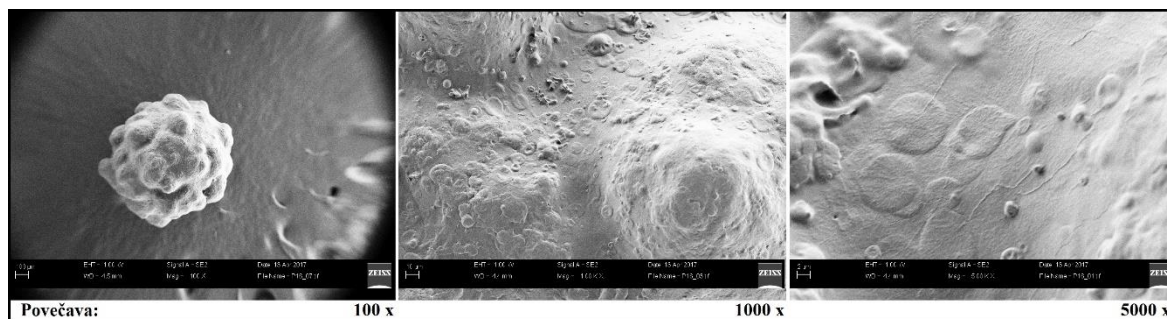


Slika 6: Prikaz porazdelitve velikosti in sferičnost obloženih pelet iz poskusov P25, P26 in P27 s slikovno analizo.

4.2.3. VRSTIČNA ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA IN PREREZ PELET

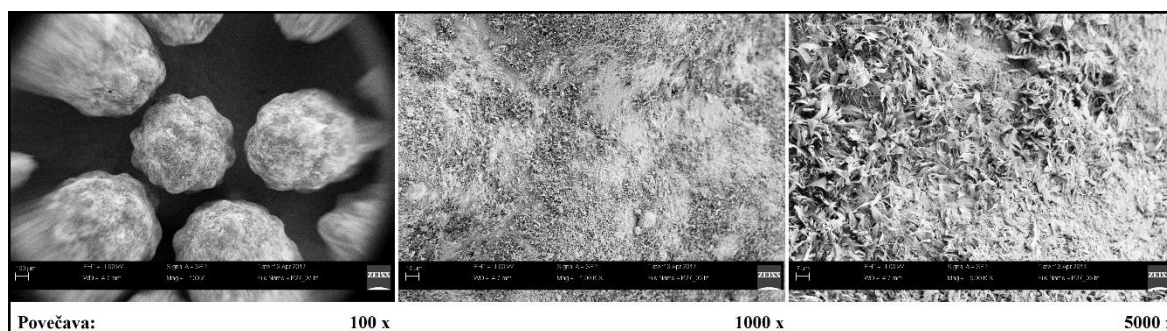
Z vrstičnim elektronskim mikroskopom smo opazovali obliko, površino in prerez pelet poskusov P16 in P27 ter jih medsebojno primerjali. Vzorca smo izbrali na podlagi nanosa različnih DZO (P16 vsebuje DZO 6, P27 pa vsebuje DZO 9) in dobrega FS. Zanimalo nas je predvsem ali so pelete sferične oblike in enakomernost nanosa obloge.

Na slikah 7 in 8 sta prikazani oblika in površina pelet poskusov P16 in P27, na sliki 9 pa je prikazan še prerez pelet poskusov P16 in P27. Opazimo lahko, da je oblika obeh vzorcev pelet skoraj kroglaste oblike, a imata oba na površini precej izboklin. Nastanek izboklin bi lahko bila posledica krušenja obloge. Sklepali bi lahko tudi na ekspanzijo zračnih mehurčkov ujetih v oblogi zaradi vakuumu pri SEM slikanju, a smo ta sklep ovrgli, saj so bile vidne izbokline na površini obloženih pelet že ob pregledu vzorca za SEM analizo pod svetlobnim mikroskopom. Obenem lahko opazimo, da imajo pelete P27 manj izboklin in so bolj okrogle oblike v primerjavi s peletami P16, kar je razvidno tudi iz FS v preglednici XV.

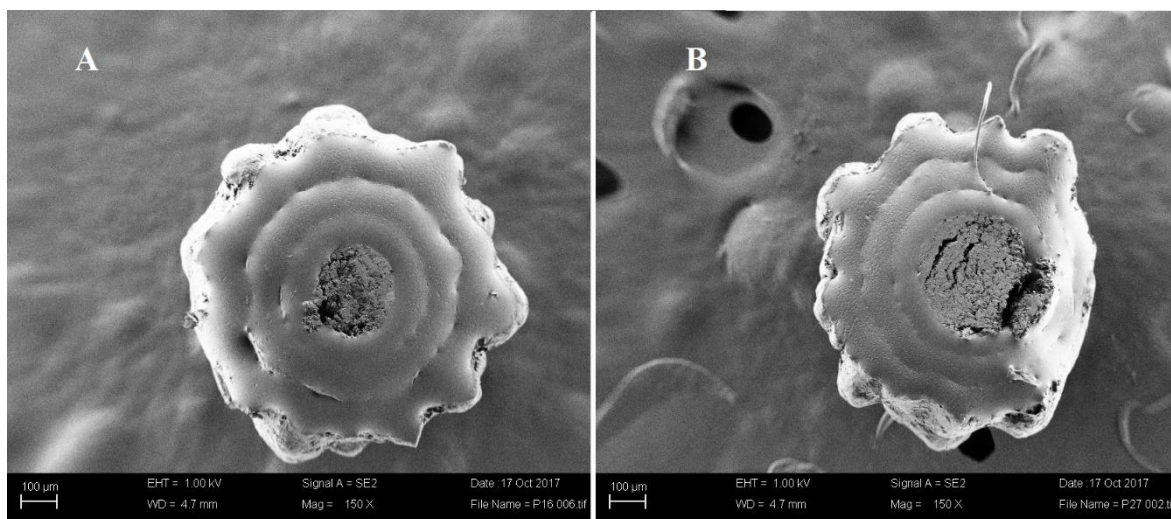


Slika 7: Površina in oblika pelet iz poskusa P16 pod vrstičnim elektronskim mikroskopom pri 100-, 1000- in 5000-kratni povečavi.

Na sliki 8 lahko pod 5000-kratno povečavo opazimo, da površina pelet ni popolnoma gladka, kar lahko nakazuje, da je prišlo do kristalizacije laktoze mesh 200.



Slika 8: Površina in oblika pelet iz poskusa P27 pod vrstičnim elektronskim mikroskopom pri 100-, 1000- in 5000-kratni povečavi.



Slika 9: Prerez pelet poskusov P16 (A) in P27 (B) pri 150-kratni povečavi.

Na sliki 9 vidimo, da je v obeh poskusih (P16 in P27) enak, skoraj popolnoma okrogel prerez obložene pelete. To nam pove, da je obloga enakomerno nanešena okrog peletnega jedra. Jedro predstavlja najmanjši krog v sredini, ki vsebuje nekaj razpok. Do teh je najverjetneje prišlo pri rezanju obloženih pelet. Prav tako opazimo, da je med rezanjem obloženih pelet prišlo do rahle deformacije vzorca P27 (B). Vidimo, da je okrog jedra enakomerno nanešena približno 400 µm debela obloga, ki jo sestavljajo lepo vidni trije sloji. Mejo med sloji predstavlja tanka plast polimerne obloge DZO 12 (8 % HPMC in 1 % PEG 6000), ki smo jo nanesli po vsaki stopnji tristopenjskega oblaganja.

4.2.4. SAMO-MIKROEMULGIRAJOČE LASTNOSTI S-SMES

Ohranitev samo-mikroemulgirajočih lastnosti po pretvorbi SMES v trdno obliko (obložene pelete ali pelete s samo-mikroemulgirajočo oblogo (SME-oblogo)) smo vrednotili z merjenjem velikosti kapljic emulzij, ki so nastale po dispergiranju izbranih obloženih pelet ter jih primerjali z velikostjo kapljic mikroemulzij, ki nastanejo po redčenju tekočega SMES brez in z vgrajeno ZU. SMES v vodnem mediju po definiciji tvorijo transparentne mikroemulzije, katerih velikost kapljic je manjša od 100 oz. 50 nm, z ozko porazdelitvijo velikosti (12). Zanimalo nas je, ali se sposobnost samo-mikroemulgiranja SMES ohrani tudi po njegovi pretvorbi v trdno obliko s procesom vrtninoslojnega oblaganja internih peletnih jeder z DZO (slednja vsebuje SMES in vezivo).

Ob redispergiranju samo-(mikro)emulgirajočih obloženih pelet, vizualno nismo mogli določiti časa redispergiranja, saj je bila nastala (mikro)emulzija popolnoma transparentna, inertna peletna jedra pa so v vodnem mediju netopna. Samo-(mikro)emulgirajoče lastnosti

obloženih pelet smo zato določali tako, da smo 1 g pelet raztopili v 250 ml vode ter na magnetnem mešalu pri 200 rpm mešali 30 minut. Dobili smo transparentne do rahlo opalescentne (mikro)emulzije z neraztopljenimi celuloznimi jedri.

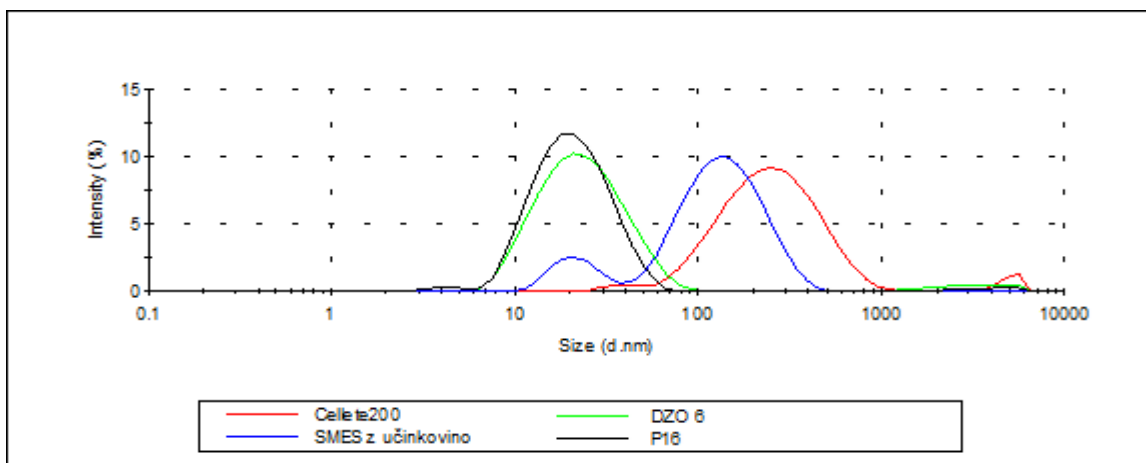
Zaradi možnega vpliva filtracije skozi membranski filter na velikost kapljic nastale (mikro)emulzije, ki nastane po dispergiranju v prečiščeni vodi, smo najprej določili velikost kapljic tekočemu SMES brez (23 nm) in z vgrajeno ZU (22 nm, 149 nm), in sicer tako pred kot po filtriranju skozi membranski filter. Primerjava rezultatov meritev velikosti kapljic pred in po filtriranju je pokazala, da so razlike minimalne, zato je filtracija disperzije skozi membranski filter z velikostjo por 0,45 μm pred merjenjem velikosti kapljic s fotonsko korelacijsko spektroskopijo primeren način priprave vzorca za meritev. Po dispergiranju SMES z ZU smo izmerili kapljice dveh velikostnih razredov; prvi vrh (22 nm) odraža velikost kapljic mikroemulzije, ki nastane iz SMES, drugi vrh (149 nm) pa lahko nakazuje na morebiten nastanek večjih kapljic (mikro)emulzije z raztopljeno ZU, bolj verjetno pa je posledica delnega obarjanja ZU v obliki nanodelcev, česar pa zaradi neselektivnosti fotonske korelacijske spektroskopije ne moremo zagotovo potrditi. Rezultati povprečne velikosti kapljic nastale (mikro)emulzije po (re)dispergiranju tekočega SMES in izdelanih obloženih pelet so predstavljeni v preglednici XVI. Zraven so prikazani še premeri velikosti kapljic SMES z ZU (vrh 1) pri posameznih vzorcih in premeri velikosti delcev ZU (vrh 2) ter PDI, ki je merilo porazdelitve velikosti.

Preglednica XVI: Prikaz velikosti kapljic (povprečne in posamezni vrhovi) po (re)dispergiranju tekočega SMES in izbranih obloženih pelet v vodnem mediju ter PDI.

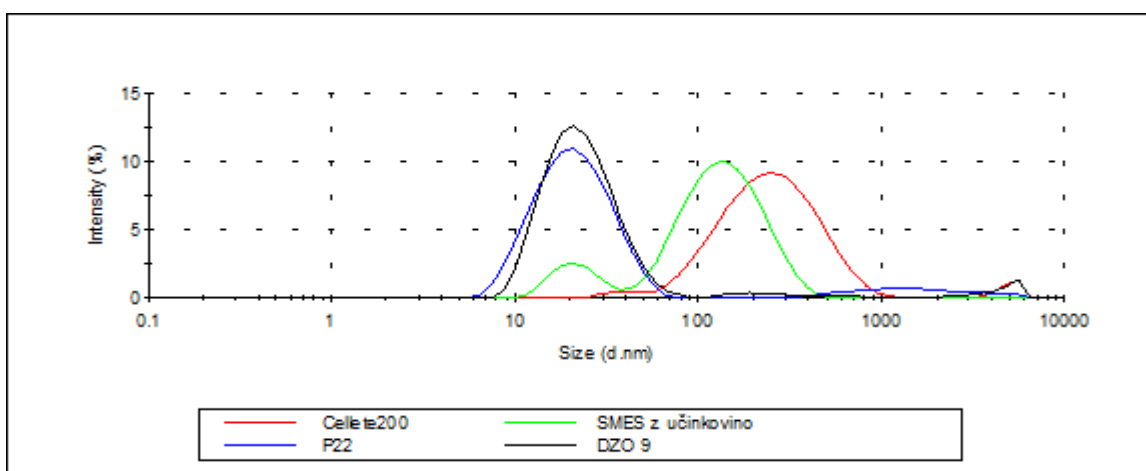
	VRH 1 [nm]	VRH 2 [nm]	POVPREČNI PREMER KAPLJIC d $\pm$ SD [nm]	PDI $\pm$ SD
SMES	25,03	/	23,13 $\pm$ 0,156	0,072 $\pm$ 0,004
SMES z ZU	21,93	149,4	81,61 $\pm$ 1,188	0,458 $\pm$ 0,001
P16	22,19	3822	18,27 $\pm$ 0,410	0,192 $\pm$ 0,000
P22	22,58	1769	20,32 $\pm$ 0,177	0,271 $\pm$ 0,000
P27	20,89	4291	18,38 $\pm$ 0,0212	0,183 $\pm$ 0,007

Iz preglednice vidimo, da so povprečni premeri velikosti kapljic iz SMES nastale (mikro)emulzije pri vseh vzorcih pelet s S(M)E-oblogo skoraj popolnoma identični, kar pomeni, da so se njihove samo-mikroemulgirajoče lastnosti v celoti ohranile. V obeh

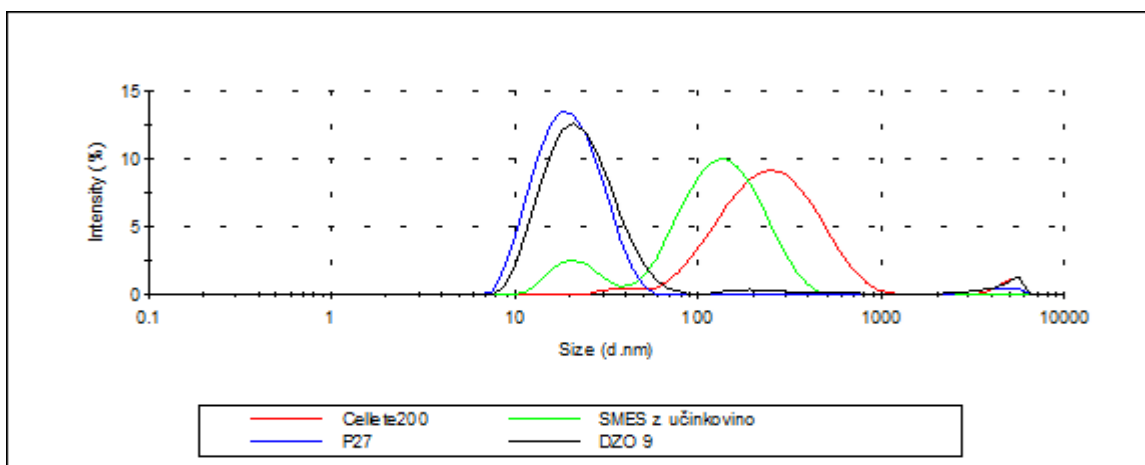
primerih DZO (6 in 9), uporabljenih pri poskusih P16 (DZO 6), P22 (DZO 9) in P27 (DZO 9) smo kot vezivo uporabili PVP K30, kar nakazuje, da PVP K30 pomaga pri ohranitvi samo-mikroemulgirajočih lastnosti, saj se je velikost kapljic ohranila. Ob tem smo prišli do drugačne ugotovitve kot Lei Y. in njegovi sodelavci, ki so v svoji raziskavi (62) ugotovili, da se je povprečni premer velikosti kapljic obloženih pelet, ki so za vezivo vsebovale PVP K30, po dispergiranju v prečiščeni vodi povečal, kar naj bi za posledico imelo nižjo BU. Vidimo, da je pri vseh vzorcih (P16, P22 in P27) PDI blizu 0 (0,2 – 0,3), kar kaže proti monodisperzni porazdelitvi velikosti delcev. Na slikah 10 - 12 je prikazana porazdelitev velikosti kapljic oz. delcev glede na intenziteto sipanja svetlobe za vzorce P16, P22 in P27. Le-ti so nato skupaj s SMES z ZU prikazani na sliki 13. Na vsaki sliki so poleg vzorca prikazane še komponente, ki sestavljajo posamezne obložene pelete.



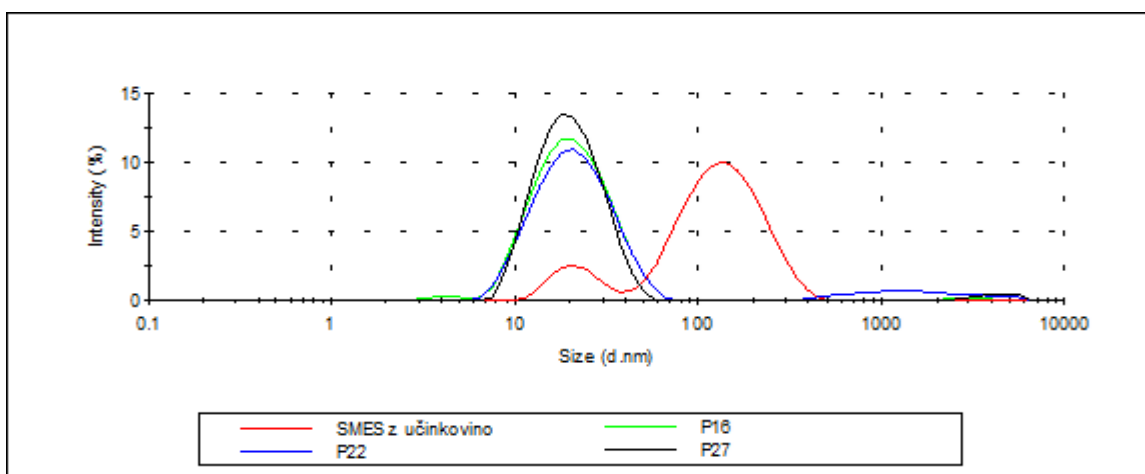
Slika 10: Porazdelitev velikosti delcev oz. kapljic za vzorec P16, SMES z ZU, DZO 6 in Cellets® 200



Slika 11: Porazdelitev velikosti delcev oz. kapljic za vzorec P22, SMES z ZU, DZO 9 in Cellets® 200



Slika 12: Porazdelitev velikosti delcev oz. kapljic za vzorec P27, SMES z ZU, DZO 9 in Cellets® 200

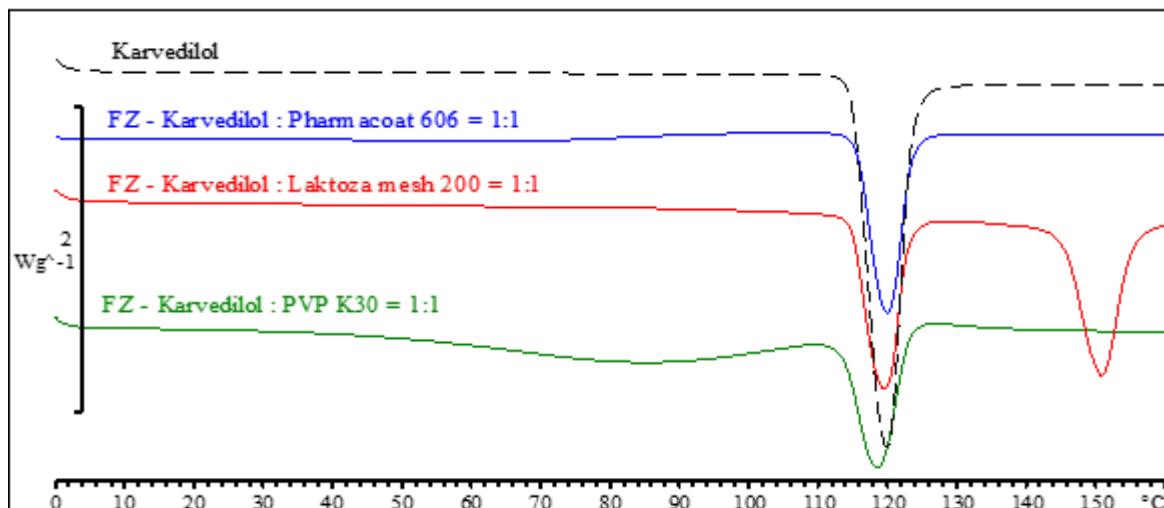


Slika 13: Porazdelitev velikosti delcev oz. kapljic za SMES z ZU in vzorce P16, P22 ter P27.

4.2.5. DIFERENČNA DINAMIČNA KALORIMETRIJA (DSC)

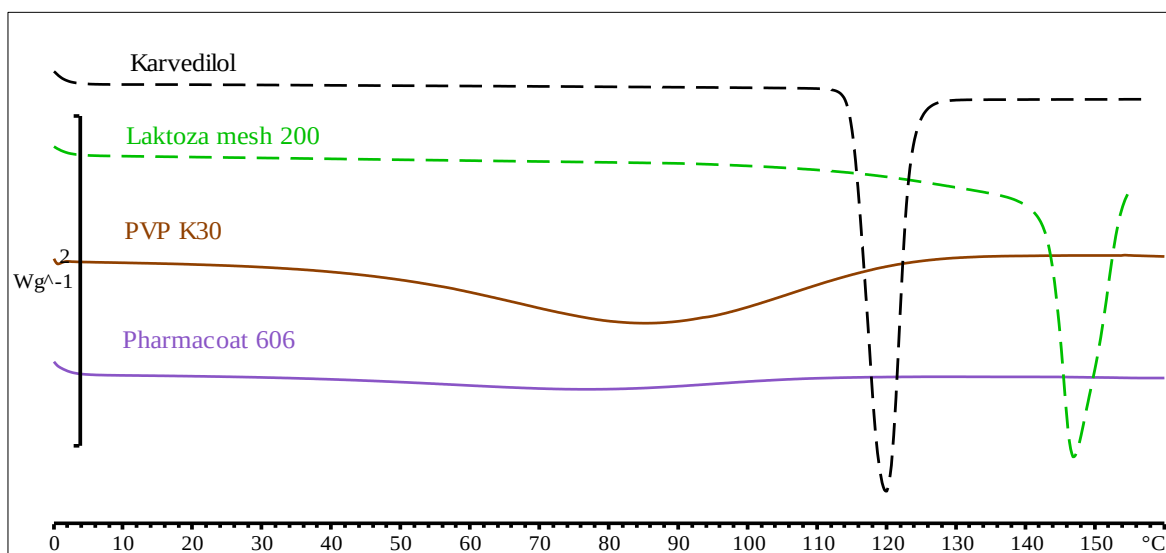
Z diferenčno dinamično kalorimetrijo (DSC) smo vrednotili fizikalno stanje karvedilola, kompatibilnost pomožnih snovi s karvedilolom in morebitne fazne spremembe pri izdelanih formulacijah pelet s SME-oblogo. Izvedli smo termično analizo čistega karvedilola, posameznih pomožnih snovi in fizikalnih zmesi (FZ) karvedilola z uporabljenimi pomožnimi snovmi v razmerju 1 : 1. Na podlagi DSC krivulj na sliki 14 lahko vidimo, da je izmerjena T tališča karvedilola skoraj enaka T tališča iz literarnih podatkov ($114,5^{\circ}\text{C}$) (63). Na sliki 14 so prikazane DSC krivulje segrevanja kristaliničnega karvedilola in FZ karvedilola z vezivi. Iz slednje sklepamo, da med ZU in vezivi ni prišlo do večjih interakcij, saj se T tališča karvedilola v FZ bistveno ne razlikuje od T tališča kristaliničnega karvedilola.

Na osnovi primerjave T tališča karvedilola in veziv ne prihaja do pomembnih interakcij, zato so slednje primerne za izdelavo pelet s SME-oblogo.

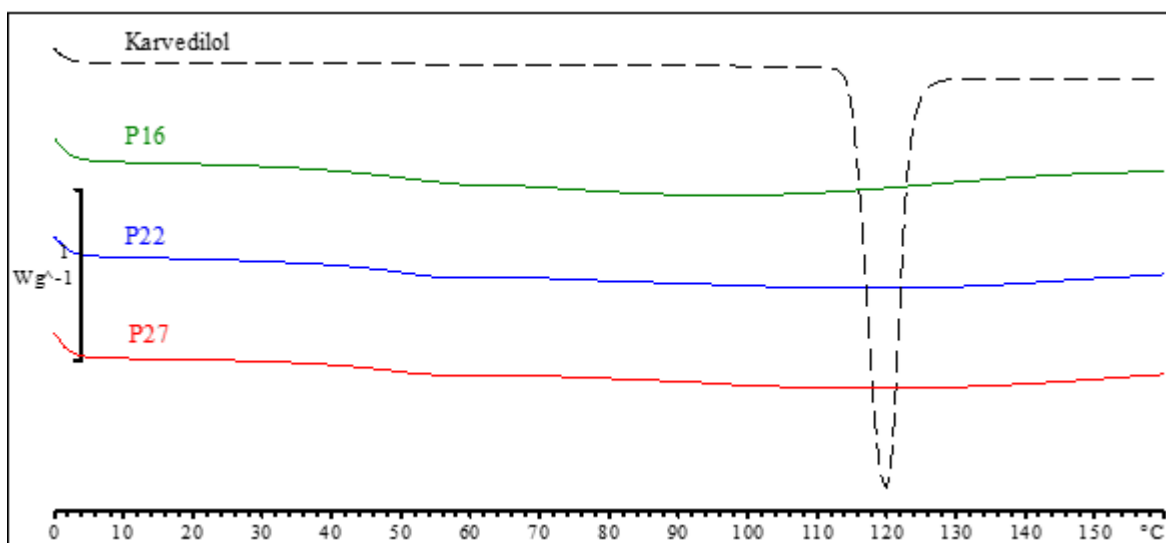


Slika 14: DSC krivulje segrevanja kristaliničnega karvedilola in FZ karvedilola z vezivi v razmerju 1 : 1.

Zaradi možnosti precipitacije ZU po pretvorbi tekočega SMES z ZU v trdno obliko nas je zanimalo ali je karvedilol v peletah s SME-oblogo ostal v raztopljenem (ali amorfem) stanju. Zato smo spremljali prisotnost ali odsotnost endotermnega talilnega vrha ZU na DSC krivuljah izdelanih pelet s SME-oblogo. Na sliki 15 so prikazane DSC krivulje segrevanja kristaliničnega karvedilola ter pomožnih snovi, ki so vključene v obložene pelete. DSC krivulje segrevanja kristaliničnega karvedilola in analiziranih vzorcev (P16, P22 in P27) pa so prikazane na sliki 16. V prilogi II je poleg poskusov P16, P22 in P27 prikazana še DSC krivulja segrevanja za poskus P24 (pelete obložene z DZO 11 (vsebuje le veziva in karvedilol, brez SMES)), ki prikazuje, da je karvedilol po oblaganju pelet, kljub temu, da ni raztopljen v SMES, prisoten v amorfni obliki. Iz slik 15 in 16 je razvidna odsotnost endotermnega talilnega vrha karvedilola v SME-oblogi, kar pomeni, da ni prisoten v kristalinični obliki, zato pričakujemo hitrejše sproščanje v primerjavi s samo ZU. S tem smo potrdili, da je karvedilol v izdelanih obloženih peletah prisoten bodisi v raztopljenem bodisi v trdnem amorfem stanju.



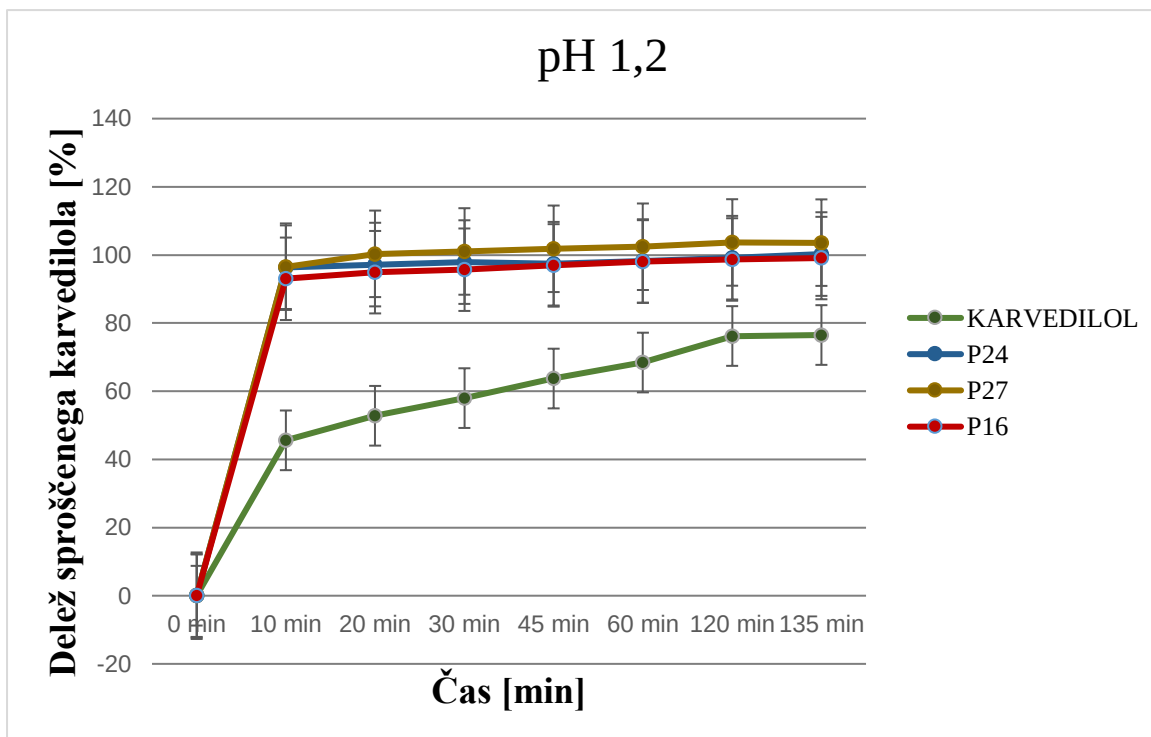
Slika 15: DSC krivulje segrevanja kristaliničnega karvedilola ter pomožnih snovi, ki so vključene v obložene pelete.



Slika 16: DSC krivulje segrevanja kristaliničnega karvedilola in vzorcev P16, P22 in P27.

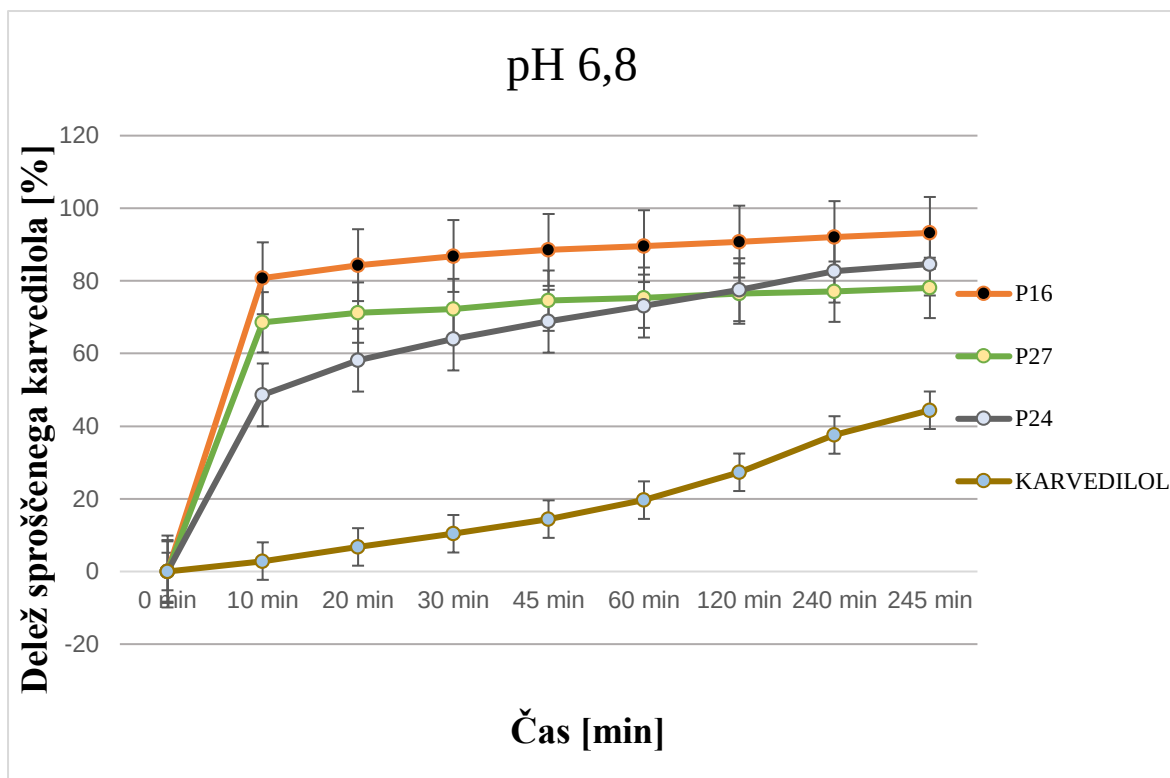
4.2.6. *IN VITRO* PREIZKUS SPROŠČANJA KARVEDILOLA

S preizkusom sproščanja smo želeli dokazati, da lahko z izdelavo SME-obloge oz. obloženih samo-mikroemulgirajočih pelet izboljšamo hitrost in obseg raztapljanja karvedilola. Preizkuse sproščanja smo izvajali v raztopini HCl s pH 1,2 in v fosfatnem pufru s pH 6,8. Rezultate sproščanja smo predstavili kot delež sproščenega karvedilola (v %) v odvisnosti od časa sproščanja. Na slikah 17 in 18 so prikazani profili sproščanja karvedilola iz izbranih vzorcev pelet in raztapljanje kristalinične oblike karvedilola, pri izbrani pH vrednosti.



Slika 17: Profil sproščanja karvedilola iz izbranih vzorcev pelet (P16 in P27), pelet P24, ki vsebujejo le veziva in karvedilol (brez SMES) ter raztapljanje kristalinične oblike karvedilola v kislem mediju s pH 1,2.

Iz slike 17 je razvidno, da se je v mediju s pH 1,2 karvedilol iz vseh izbranih vzorcev obloženih pelet (P16, P24 in P27) popolnoma sprostil že po prvih 10 minutah, s čimer smo dosegli takojšnje sproščanje. Če se ≥ 85 % ZU sprostí v manj kot 30 minutah, jo lahko opredelimo kot ZU s takojšnjim sproščanjem (71). Po dveh urah se je karvedilol iz pelet popolnoma sprostil. Takojšnje sproščanje smo opazili tudi pri poskusu P24, kar nakazuje, da je karvedilol v peletah v amorfni obliki. V primerjavi s sproščanjem karvedilola iz vzorcev pelet (P16, P24 in P27) se je v istem časovnem obdobju (10 minut) raztopilo le 46 % kristaliničnega karvedilola, po dveh urah pa 76 %. Z vgraditvijo karvedilola v samo-mikroemulgirajoče obložene pelete oz. SME-oblogo smo tako bistveno izboljšali njegovo raztapljanje.



Slika 18: Profil sproščanja karvedilola iz izbranih vzorcev pelet (P16 in P27), pelet P24, ki vsebujejo le veziva in karvedilol (brez SMES) ter raztapljanje kristalinične oblike karvedilola v mediju s pH 6,8.

Iz slike 18 je razvidno, da tako kot v kislem mediju (pH 1,2) tudi v mediju s pH 6,8 vgradnja karvedilola v obložene samo-mikroemulgirajoče pelete bistveno izboljša raztapljanje ZU v primerjavi z njeno kristalinično obliko. Karvedilol je šibko bazična ZU in je v fosfatnem pufru s pH 6,8 slabše topen kot v kislem mediju s pH 1,2. Iz P16 se je ZU sprostila najhitreje, saj se je v prvih 10 minutah sprostilo 81 %, skoraj popolno sproščanje (93 %) pa je bilo doseženo po 4 štirih urah. Nekoliko počasneje se je ZU sproščala pri P27, kjer se je po 10 minutah sprostilo 69 % ZU, po štirih urah pa je bilo sproščenih 78 % karvedilola. Ob primerjavi rezultatov sproščanja (slika 18) opazimo, da je pri vzorcu z najhitrejšim sproščanjem (P16) kot vezivo prisoten le PVP K30 (12,5 %). Ti rezultati se skladajo s podatki iz literature (64), da lahko PVP K30 zaradi visoke vodotopnosti in nizke viskoznosti v raztopini pospeši sproščanje ZU. Pri poskusu P24 smo za primerjavo z ostalimi vzorci s SME-oblogo, karvedilol, skupaj z izbranimi vezivi (5 % PVP K30 + 5 % laktoza mesh 200 + dodatni sloj DZO 12) v obliki suspenzije, nanесли neposredno na peletna jedra, brez predhodne vgradnje v tekoči SMES (le vezivo in karvedilol). Iz DSC krivulje (priloga II) je razvidno, da je bil karvedilol tudi v tem primeru v amorfni obliki, a je bilo njegovo sproščanje v mediju s pH 6,8 bistveno počasnejše kot v primeru vgradnje v SMES. V 10

minutah se je sprostil le 49 % ZU, po štirih urah pa 85 %. Vidimo, da med poskusoma P24 in P27 v deležu sproščene ZU na koncu ni statistično značilne razlike, a je za nas najbolj pomembno sproščanje karvedilola v prvih 30 minutah. V tem času je namreč sproščanje ZU iz poskusa P27 bistveno boljše, kar bi lahko vplivalo tudi na izboljšanje BU. S tem smo še dodatno potrdili, da uporaba SMES poveča hitrost sproščanja ZU. Tako kot v kislem mediju s pH 1,2, se je tudi v mediju s pH 6,8 kristalinični karvedilol slabo raztapljal, saj so se po 10 minutah raztopili le 3 % ZU (po štirih urah pa le 44 %).

Z vsemi izbranimi vzorci obloženih samo-mikroemulgirajočih pelet smo dosegli željene rezultate in bistveno povečali hitrost in obseg raztapljanja karvedilola. Iz tega lahko povzamemo in potrdimo, da je uporaba SMES in njegova pretvorba v trdno obliko s tehnologijo vrtninoslojnega oblaganja pelet primerna za izboljšanje BU slabo vodotopnih ZU.

5. SKLEPI

V sklopu magistrske naloge smo s tehnologijo vrtninčnoslojnega oblaganja pelet uspešno pretvorili tekoči SMES v trdno obliko z ohranjenimi samo-(mikro)emulgirajočimi lastnostmi. Dosegli smo optimizacijo procesnih parametrov oblaganja pelet in sestave formulacije DZO (izbira primerne veziva). Naš cilj je bil doseči čim višjo vsebnost karvedilola v obloženih peletah z visokim izkoristkom oblaganja in minimalnim deležem aglomeratov, pri čemer bi imele izdelane obložene pelete tudi ustrezne biofarmacevtske lastnosti. Ob raziskovanju smo prišli do pomembnih spoznanj, ki jih lahko povzamemo v naslednjih točkah:

- Tehnologija vrtninčnoslojnega oblaganja pelet je primerna metoda za pretvorbo tekočega SMES v trdno obliko. S tem smo potrdili **prvo hipotezo**. Tehnologija omogoča doseganje relativno visoke vsebnosti karvedilola v obloženih peletah, saj je za dosego enkratnega odmerka ZU (25 mg) potrebnih približno 1 g pelet.
- Dokazali smo, da je vodenje procesa močno odvisno od procesnih in konstrukcijskih spremenljivk ter s tem potrdili tudi **drugo hipotezo**. Za dosego visokega izkoristka z minimalnim deležem aglomeratov in izdelavo pelet z ustreznimi lastnostmi je potrebna ustrezna nastavitev tlaka za razprševanje (2 bara), pretoka vhodnega zraka (7,01 – 7,07 m/s), hitrosti dovajanja DZO (5 - 9 g/min) in vzdrževanje T produkta v izbranem območju (32 – 33 °C).
- Slikovna analiza pelet je pokazala, da je bila izbira modificirane Wurster komore z vgrajenim generatorjem vrtninčastega toka za vrtninčnoslojno oblaganje pelet ustrežnejša v primerjavi s klasično Wurster komoro, saj so bile v vseh izbranih vzorci pelete okrogle oblike ($FS > 0,92$) z ozko porazdelitvijo delcev (enakomerno oblaganje delcev). Tako smo potrdili **tretjo hipotezo**, katero še dodatno podpira dejstvo, da je bila izdelava pelet s SME-oblogo mogoča le v modificirani Wurster komori.
- **Četrto hipotezo**, ki pravi, da je izbor ustreznih pomožnih snovi (veziv) v DZO, ki imajo visoko zmogljivost, da zadržijo tekoči SMES v nanešeni plasti obloge zelo pomemben za uspešnost poskusov oblaganja pelet, pri čemer lahko dosežemo razmerje mas med SMES z ZU in vezivom 1 : 2, lahko potrdimo le delno. Potrdimo lahko, da je uspešnost poskusov oblaganja v veliki meri odvisna od ustrezne izbire veziva v DZO. V našem primeru sta se za uspešna izkazala PVP K30 in laktoza mesh

200, ki sta v primerjavi z manitolom uspešno zadržala tekoči SMES v nanešeni plasti obloge in med procesom oblaganja preprečevala nastanek aglomeratov. Obenem so izdelane obložene pelete, ki so vsebovale kot vezivo PVP K30 ali laktozo mesh 200 izkazovale dobre organoleptične lastnosti. V DZO 9, pri kateri smo poleg PVP K30 dodali še laktozo mesh 200 ter je bilo razmerje SMES z ZU : PVP K30 : laktoza mesh 200 = 1 : 1 : 1, smo v produktu dosegli razmerje mas SMES z ZU : vezivo = 1 : 2. Željeno razmerje mas ne velja za DZO 6, pri kateri je bilo v produktu razmerje SMES z ZU : PVP K30 = 1 : 2,5. Najverjetneje je razlog za višje razmerje mas v tem, da ima sam PVP K30 kot vezivo manjšo sposobnost zadrževanja SMES v oblogi v primerjavi s kombinacijo z laktozo.

- Po vsaki stopnji oblaganja smo pelete obložili še s tanko plastjo DZO 12 (8 % HPMC in 1% PEG 6000), da smo preprečili »mastnost« in zlepljanje pelet med shranjevanjem. **Peto hipotezo** smo tako ovrgli saj so bile pelete brez nanešenega zaščitnega sloja preveč nagnjene k zlepljanju v skupke.
- Sposobnost samo-(mikro)emulgiranja smo preverili s fotonsko korelacijsko spektroskopijo. Potrdili smo, da so izbrani vzorci samo-(mikro)emulgirajočih pelet (P16, P22 in P27) ohranili samo-mikroemulgirajoče lastnosti, saj so po (re)dispergiranju tvorili mikroemulzije z enako velikostjo kapljic kot tekoči SMES. Pri vseh analiziranih vzorcih smo kot vezivo uporabili PVP K30, kar nakazuje, da PVP K30 pripomore k ohranitvi samo-mikroemulgirajočih lastnosti in potrjuje **šesto hipotezo**.
- **Sedmo hipotezo**, ki pravi, da je ZU v izdelanih peletah s SME-oblogo prisotna v raztopljenem ali amorfnem stanju, lahko v celoti potrdimo, saj smo z diferenčno dinamično kalorimetrijo na podlagi DSC krivulj potrdili odsotnost kristalinične oblike karvedilola v obloženih peletah. Iz rezultatov sklepamo, da je karvedilol v obloženih peletah prisoten v raztopljenem ali amorfnem stanju. S tem smo dosegli tudi enega od ciljev vgradnje karvedilola v SME-oblogo pelet, saj na tak način izboljšamo raztapljanje oz. sproščanje ZU.
- Iz profilov sproščanja je razvidno, da se je karvedilol iz pelet s SME-oblogo pri vseh izbranih vzorcih obloženih pelet sprostil bistveno hitreje in v večjem obsegu, v primerjavi z njegovo kristalinično obliko. To potrjuje **osmo hipotezo**, saj smo z vgradnjo karvedilola v tekoči SMES in pretvorbo v trdno obliko bistveno izboljšali njegovo raztapljanje. Ugotovili smo, da uporaba veziva PVP K30 pozitivno korelira

z višjo hitrostjo sproščanja karvedilola, kar potrjuje, da je v našem primeru PVP K30 najprimernejšo vezivo za izdelavo samo-(mikro)emulgirajočih pelet.

Tekom raziskav magistrskega dela smo dosegli zastavljene cilje in karvedilol uspešno vgradili v SMES ter ga pretvorili v trdno obliko. Rezultati oblaganja in vrednotenja izdelanih pelet nakazujejo, da predstavlja tehnologija vrtninoslojnega oblaganja pelet obetavno metodo za pretvorbo SMES v trdno obliko in je primerna za nadaljnje raziskave in razvoj. V nadaljevanju so potrebne še dodatne *in vitro* in *in vivo* raziskave, ki bi potrdile izboljšanje BU izdelanih obloženih pelet. Povečana hitrost in obseg sproščanja karvedilola iz izdelanih obloženih pelet ter ohranjanje samo-mikroemulgirajočih lastnosti s primerljivo velikostjo kapljic po redispergiranju nakazujeta na možnost bistvenega izboljšanja BU. Pričakovano izboljšanje BU karvedilola vgrajenega v izbrani SMES podpirajo tudi ugotovitve Zhang W. in sodelavcev, ki v preglednem članku navajajo, da Kolliphor RH 40 zavira aktivnost izoencimov CYP3A4 in CYP2C9 (42), kar posledično lahko vpliva na presnovo karvedilola, ki se v veliki večini presnavlja z izoencimom CYP2C9. Tudi Bolko Seljak K. in njeni sodelavci so v svoji raziskavi ugotovili, da lahko Kolliphor RH 40 z inhibicijo P-gp in MRP signifikantno poveča BU za ZU, ki so substrati za P-gp in MRP (43). Ob tem je dodatna podpora pri izboljšanju BU tudi PEG 400, ki je del našega SMES in lahko prav tako v višjih koncentracijah vpliva na izboljšanje BU ZU, saj inhibira P-gp in metabolne encime CYP450 (45). Tako lahko zaključimo, da lahko hitro sproščanje karvedilola *in vivo* povzroči nasičenje encimskih sistemov, skupaj z nekaterimi lastnostmi sestavin SMES, ki inhibirajo metabolne encime ter sekretorne prenašalce, pa bi se BU karvedilola v primerjavi s kristalinično obliko lahko še dodatno izboljšala.

6. LITERATURA

1. Sudheer P, Kumar MN, Puttachari S, Shankar MS U, Thakur RS: Approaches to development of solid- self micron emulsifying drug delivery system: formulation techniques and dosage forms – a review. *Asian Journal of Pharmacy and Life Science*, 2012; Vol. 2 (2).
2. Tan A, Rao S, Prestidge AC: Transforming Lipid-Based Oral Drug Delivery Systems into Solid Dosage Forms: An Overview of Solid Carriers, Physicochemical Properties, and Biopharmaceutical Performance. *Pharm. Res.* (2013) 30:2993–3017.
3. Cirri M, Roghi A, Valleri M, Mura P: Development and characterization of fast-dissolving tablet formulations of glyburide based on solid self-microemulsifying systems. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 104 (2016) 19–29.
4. Kawabata Y, Wada K, Nakatani M, Yamada S, Onoue S: Formulation design for poorly water-soluble drug based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications. *Int. J. Pharm.* 2011; 420(1): 1-10.
5. Zvonar A, Gašperlin M, Kristl J: Samo(mikro)emulgirajoči sistemi - alternativen pristop za izboljšanje biološke uporabnosti lipofilnih učinkovin. *Farm. Vest.* 2008(59): 263-8.
6. Kalepun S, Manthina M, Padavala V: Oral lipid-based drug delivery systems – an overview. *Acta Pharm. Sinica B* 2013;3(6):361–372.
7. Čerpnjak K, Zvonar A, Gašperlin M, Vrečer F: Lipid-based systems as a promising approach for enhancing the bioavailability of poorly water-soluble drugs. *Acta Pharm.* 63 (2013) 427–445.
8. Shrestha H, Bala R, Sandeep A: Lipid-Based Drug Delivery Systems. *J. Pharm.*, 10 (2014), Article ID 801820.
9. Pouton CW: Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: Physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system. *Eur. J. Pharm. Sci.* 29 (2006) 278–287.
10. Pouton CW, Porter CJH: Formulation of lipid-based delivery systems for oral administration: Materials, methods and strategies. *Advanced Drug Delivery Reviews* 60 (2008) 625–637.

11. Porter CJH, Pouton CW, Cuine JF, Charman WN: Enhancing intestinal drug solubilisation using lipid-based delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews* 60 (2008) 673–691.
12. Patel MJ, Patel SS, Patel NM, Patel MM: A self-mikroemulsifying drug delivery system (SMEDDS). *Int. J. Pharm. Sci.* Vol. 4, Issue 3, 2010; Article 005.
13. Kumar S, Kumar Gupta S, Kumar Sharma P: Self-Emulsifying Drug Delivery Systems (SEDDS) for Oral Delivery of Lipid Based Formulations - A Review. *African Journal of Basic & Applied Sciences* 2012; 4(1): 07-11.
14. Oha DH, Kanga JH, Kimb DW, Leec BJ, Kima JO, Yonga CS, Choi HG: Comparison of solid self-microemulsifying drug delivery system (solid SMEDDS) prepared with hydrophilic and hydrophobic solid carrier. *Int. J. Pharm.* 420 (2011) 412– 418.
15. Pattewar S, Kasture S, Pande V, Sharma S: Self microemulsifying drug delivery system: A lipid based drug delivery system. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 2016; 7(2): 443-52.
16. Weerapol Y, Limmatvapirat S, Nunthanid J, Sriamor P: Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System of Nifedipine: Impact of Hydrophilic– Lipophilic Balance and Molecular Structure of Mixed Surfactants. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 2014.
17. Liu L, Li J, Zhao M, Xu H, Li L, Wang S: Loading of tacrolimus containing lipid based drug delivery systems into mesoporous silica for extended release. *Asi. J. Pharm. Sci.* 9 (2016) 751-59.
18. Jannin V, Musakhanian J, Marchaud D: Approaches for the development of solid and semi-solid lipid-based formulations. *Advanced Drug Delivery Reviews* 60 (2008) 734–746.
19. Janković J, Djekic L, Dobričić V, Primorac M: Evaluation of critical formulation parameters in design and differentiation of self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDSs) for oral delivery of aciclovir. *Int. J. Pharm.* 2015; 30; 497(1-2): 301-11.
20. Kuentz M: Lipid-based formulations for oral delivery of lipophilic drugs. *Drug Discov. Today Technol.* 2012; 9 (2) 97–104.
21. Kohli K, Chopra S, Dhar D, Arora S, Khar R. K: Self-emulsifying drug delivery systems: an approach to enhance oral bioavailability. *Drug Discovery Today* 2010; 15 (21/22): 958-965.

22. Beg S, Jena SS, Patra ChN, Rizwan M, Swain S, Sruti J, Rao MEB, Singh B: Development of solid self-nanoemulsifying granules (SSNEGs) of ondansetron hydrochloride with enhanced bioavailability potential. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 101 (2013) 414– 423.
23. Chavan RB, Modi SR, Bansal AK: Role of solid carriers in pharmaceutical performance of solid supersaturable SEDDS of celecoxib. *Int. J. Pharm.* 495 (2015) 374–384.
24. Sharma PK, Kar M, Jain DK: Self-emulsifying drug delivery system (SEDDS): A review. *J. App. Pharm. Res.*, 2 (4); 2014: 01 – 09.
25. Patel S, Jani G, Patel M: Solid Self Emulsifying Drug Delivery System: An Emerging Dosage Form for Poorly Bioavailable Drugs. *Inventi Rapid* 2012, Issue 4.
26. Lei Y, Lu Y, Qi J, Nie S, Hu F, Pan W, Wu W: Solid self-nanoemulsifying cyclosporin A pellets prepared by fluid-bed coating: preparation, characterization and in vitro redispersibility. *Int. J. Nanomed.* 2011;6 795–805.
27. Perpar M, Luštrik M, Dreu R, Srčič S, Žun I: Estimating coating quality parameters on the basis of pressure drop measurements in a Wurster draft tube. *Powder Technology* 246 (2013) 41–50.
28. Luštrik M, Šibanc R, Srčič S, Perpar M, Žun I, Dreu R: Characteristics of pellet flow in a Wurster coater draft tube utilizing piezoelectric probe. *Powder Technology* 235 (2013) 640–651.
29. Dreu R, Luštrik M, Perpar M, Žun I, Srčič S: Fluid-bed coater modifications and study of their influence on the coating process of pellets. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 2010, 1–11.
30. Luštrik M, Dreu R, Srčič S: Primerjava in razvoj naprav za oblaganje delcev. *Farm. Vest.* 2010(61): 155-61.
31. McGinity JW, Felton LA: *Aqueous Polymeric Coatings for Pharmaceutical Dosage Forms* Third Edition, Taylor & Francis Group, New York, 2008: 33-34.
32. Luštrik M, Dreu R, Šibanc R, Srčič S: Comparative study of the uniformity of coating thickness of pellets coated with a conventional Wurster chamber and a swirl generator-equipped Wurster chamber. *Pharmaceutical Development and Technology*, 2010, 1–9.

33. Mathur LK: Fluid-Bed Dryers, Granulators and Coaters. In: Swarbrick J, Boylan JC. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. Marcel Dekker, New York, 1992: 171-95.
34. Felton LA: Film coating of oral solid dosage forms. Encyclopedia of pharmaceutical technology, 3 (2007): 1729-747.
35. Siepmann F, Siepmann J, Walther M, MacRae RJ, Bodmeier R: Polymer blends for controlled release coatings. Journal of Controlled Release 125 (2008) 1–15.
36. Cheng XX, Turton R: The Prediction of Variability Occurring in Fluidized Bed Coating Equipment. I. The Measurement of Particle Circulation Rates in a Bottom-Spray Fluidized Bed Coater. Pharmaceutical Development and Technology, 2000, 5(3), 311–322.
37. Council of Europe. European Pharmacopoeia (5th ed., Volume II). Strasbourg: Council of Europe, 2005: 1193-94, 1780-81, 1971-73.
38. Kukec S, Dreu R, Vrbanec T, Srčič S, Vrečer F: Characterization of agglomerated carvedilol by hot-melt processes in a fluid bed and high shear granulator. Int. J. of Pharm. 430 (2012) 74– 85.
39. Povzetek glavnih značilnosti zdravila (SmPC): Coryol, Centralna baza zdravil, <http://www.cbz.si/> (datum dostopa: 10. 2. 2017)
40. Povzetek glavnih značilnosti zdravila (SmPC): Carvedigamma, Centralna baza zdravil, <http://www.cbz.si/> (datum dostopa: 10. 2. 2017)
41. <https://pharmaceutical.basf.com/en/Drug-Formulation/Kolliphor-RH40.html> (datum dostopa: 24. 6. 2017)
42. Zhang W, Li Y, Zou P, Wu M, Zhang Z, Zhang T: The Effects of Pharmaceutical Excipients on Gastrointestinal Tract Metabolic Enzymes and Transporters—an Update. The AAPS Journal (2016), Vol. 18, Issue 4, 830–843.
43. Bolko Seljak K, Berginc K, Trontelj J, Zvonar A, Kristl A, Gašperlin M: A Self-Microemulsifying Drug Delivery System to Overcome Intestinal Resveratrol Toxicity and Presystemic Metabolism. J. Pharm. Sci. (2014), Volume 103, Issue 11, 3491–3500.
44. Kibbe AH: Handbook of Pharmaceutical Excipients, Third Edition, Pharmaceutical Press, London, 2000: 392-98.

45. Ma BL, Yang Y, Dai Y, Li Q, Lin G, Ma YM: Polyethylene glycol 400 (PEG400) affects the systemic exposure of oral drugs based on multiple mechanisms: taking berberine as an example. RSC Adv. (2017), 7, 2435-2442.
46. http://www.abiteccorp.com/wp-content/files_mf/1395926112CapmulMCMTDSI17.pdf (datum dostopa: 29. 6. 2017)
47. <http://www.indcheminternational.com/products.htm> (datum dostopa: 29. 6. 2017)
48. Povzetek glavnih značilnosti olja: Oleum Ricini raffinatum, Caelo, www.caelo.de/getfile.html?type=sdb&num=7334 (datum dostopa: 29. 6. 2017)
49. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME: Handbook of Pharmaceutical Excipients, Sixth Edition, Pharmaceutical Press and the American Pharmacists Association, London, 2009: 126-27, 326-29, 364-69, 424-28, 517-22.
50. <http://www.greenpvp.com/en/Article.Asp?id=8> (datum dostopa: 30. 6. 2017)
51. Povzetek glavnih značilnosti polimera: Povidone K30, Drugs.com, <https://www.drugs.com/inactive/povidone-k30-373.html> (datum dostopa: 30. 6. 2017)
52. <http://www.greenpvp.com/en/ProductShow.asp?ArticleID=38> (datum dostopa: 30. 6. 2017)
53. Siepmann J, Peppas NA: Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). Advanced Drug Delivery Reviews 64 (2012) 163–174.
54. Povzetek glavnih značilnosti polimera: Polyethylene Glycol 6000, Institute of pharmaceutical science & Research centre Bhagwant University, http://shodhganga.inflibnet.ac.in/bitstream/10603/28951/12/12_chapter%206.pdf (datum dostopa: 2. 7. 2017)
55. Povzetek glavnih značilnosti inertnih peletnih jeder: Cellets® 200, Harke group, <http://www.harke.com/> (datum dostopa: 2. 7. 2017)
56. <https://industry.pharmaceutical-tech.com/suppliers/pharmatrans-sanaq/productspec/1490177893-microcrystalline-cellulose-spheres.pdf> (datum dostopa: 2. 7. 2017)
57. Povzetek glavnih značilnosti naprave: Vrstični elektronski mikroskop, Biotehnična fakulteta, Univerza v Ljubljani, <http://web.bf.uni-lj.si/bi/mikroskopija/mikroskop-sem.php#more> (datum dostopa: 2. 8. 2017)

58. Samardžija Z: Osnove metod SEM in AFM za preiskave površin. Vakuumist 2004; 24, 4-7.
59. Planinšek O, Zajc N, Srčič S: Uporaba diferenčne dinamične kalorimetrije v farmaciji. Differential Scanning Calorimetry used in Pharmacy. Farm. vestnik 2001; 52: 173-175.
60. Chavan RB, Thipparaboina R, Kumar D, Shastri NR: Evaluation of the inhibitory potential of HPMC, PVP and HPC polymers on nucleation and crystal growth. The Royal Society of Chemistry 2016; 6: 77569-77576.
61. Tehnične informacije o polimeru: Kollicoat® IR, BASF The Chemical Company, <https://www.google.si/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjNiJ7Jz8zVAhUEchQKHbc-AYIQFggMAA&url=https%3A%2F%2Findustries.basf.com%2Fbin%2Fbws%2FdocumentDownload.en.8805700479445&usg=AFQjCNHhnSKoAnVnlZyQlP7p-zlql5gPhQ> (datum dostopa: 10. 8. 2017)
62. Lei Y, Qi J, Nie S, Hu F, Pan W, Lu Y, Wu W: Solid self-Nanoemulsifying Cyclosporine A Pellets Prepared by Fluid-Bed Coating: Stability and Bioavailability Study. Jour. Biomed. Nanotechnology 2012; Vol. 8, 515-521.
63. Povzetek glavnih značilnosti zdravilne učinkovine: Carvedilol, Pubchem, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/carvedilol#section=Physical-Description> (datum dostopa: 21. 8. 2017)
64. Consiglieri VO, Mourao S, Sampaio M, Granizo P, Garcia P, Martinello V, Spricigo R, Ferraz HG: Improvement of fluconazole flowability and its effect on dissolution from tablets and capsules. Brazilian Jour. Pharm. Scien. 2010; Vol. 46 No. 1: 115-120.
65. Sharma V, Singh J, Gill B, Harikumar SL: SMEDDS: A novel approach for lipophilic drugs. Int. J. Pharm. Sci. Res. 2012; 3(8): 2444-2446.
66. Mu H, Holm R, Müllertz A: Lipid-based formulations for oral administration of poorly water-soluble drugs. Int. J. Pharm. 2013 avg; 453(1): 215-24.
67. Hamed R, Awadallah A, Sunoqrot S, Tarawneh O, Nazzal S, AlBaraghtli T, Al Sayyad J, Abbas A: pH-Dependent Solubility and Dissolution Behavior of Carvedilol—Case Example of a Weakly Basic BCS Class II Drug. AAPS PharmSci Tech 2016; Vol. 17 No. 2: 418.

68. Tzika M, Alexandridou S, Kiparissides C: Evaluation of the morphological and release characteristics of coated fertilizer granules produced in a Wurster fluidized bed. *Powder Technology*, 132 (2003): 16 – 24.
69. Zvonar A, Bolko K, Gasperlin M: Microencapsulation of self-microemulsifying systems: Optimization of shell-formation phase and hardening process. *Int. J. Pharm.*, 437 (2012): 294–302.
70. Shravani D, Lakshmi P. K, Balasubramaniam J: Preparation and optimization of various parameters of enteric coated pellets using the Taguchi L9 orthogonal array design and their characterization. *Acta Pharmaceutica Sinica B* 2011; 1(1): 56–63.
71. Rathod V.G, Kadam V, Jadhav S. B, Zamiruddin Md, Bharkad V. B, Biradar S. P: Immediate Release Drug Delivery System: A Review. *World J. Pharm. And Pharm. Scien.* 2014; Vol. 3, Issue 6, 545 – 558.

7. PRILOGE

Priloga I: Poskusi vrtninoslojnega oblaganja

VZOREC	ORGANOLEPTIČNE LASTNOSTI	PELETNA JEDRA	DZO	MASA VHODNIH SNOVI IN IPS	MASA PRODUKTA IN IPS	PROCESNI PARAMETRI TEKOM RAZPRŠEVANJA DZO	CELOKUPNI IZKORISTEK [%]	RAZMERJE MAS SMES (z ZU) : POLIMER	IZRAČUNANA VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA VSEBNOST ZU [mg/g]
P1 WURSTER komora	Po 19 minutah je prišlo do aglomeracije. Pelete so mastne na otip in se sprijemajo v kepo, ki pa jo mehansko lahko razbijemo.	Cellets® 350	DZO 1 (5 % SMES, 10 % PVP K30)	Cellets® 350 = 300,00 g IPS = 3,90 %	307,01 g IPS = 2,50 %	T (vhodni zrak) = 50 °C	52,4	SMES brez ZU! SMES : PVP K30 = 1:2	/	/
						T (produkt) = 35 °C				
				DZO 1 = 140,40 g		Pretok zraka = 6,23 - 6,85 m/s				
						Črpalka = 5 - 7 rpm				
						Razmik valja = 10 - 15 mm				
						P (šoba) = 1,8 bar				
P2 WURSTER komora	Med oblaganjem so se pričeli tvoriti aglomerati, zato je bilo vmes potrebno povečati razmik valja. Delci so mastni na otip in se sprimejo v kepo.	Cellets® 350	DZO 1 (5 % SMES, 10 % PVP K30)	Cellets® 350 = 300,04 g IPS = 3,87 %	334,45 g IPS = 2,02 %	T (vhodni zrak) = 40 °C	72,71	SMES brez ZU! SMES : PVP K30 = 1:2	/	/
						T (produkt) = 31 - 33 °C				
				DZO 1 = 360,00 g		Pretok zraka = 6,55 - 7,05 m/s				
						Črpalka = 5 rpm				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)		Razmik valja = 10 - 15 mm				
						P (šoba) = 2,0 bar				
P3 WURSTER komora	Tvorijo se manjši aglomerati, vmes je bilo potrebno sejanje skozi sito 500. Pelete so manj mastne na otip in se ne sprijemajo v kepo.	Cellets® 350	DZO 1 (5 % SMES, 10 % PVP K30) + dodatni sloj DZO 12	Cellets® 350 = 300,01 g IPS = 3,87 %	204,80 g IPS = 1,83 %	T (vhodni zrak) = 40 - 53 °C	/	SMES brez ZU! SMES : PVP K30 = 1:2	/	/
						T (produkt) = 30 - 39 °C				
				DZO 1 = 600,00 g		Pretok zraka = 6,18 - 7,09 m/s				
				HPMC = 40,00 g		Črpalka = 5 - 8 rpm				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)		Razmik valja = 10 - 15 mm				
						P (šoba) = 2,0 bar				
P4 SWIRL komora	Pelete se po oblaganju niso sprijele in so lepo tekle. Prisotnih je malo aglomeratov. Precej mastne na otip.	Cellets® 350	DZO 1 (5 % SMES, 10 % PVP K30) + dodatni sloj DZO 12	Cellets® 350 = 300,04 g IPS = 3,84 %	372,82 g IPS = 1,95 %	T (vhodni zrak) = 44 - 50 °C	65,74	SMES brez ZU! SMES : PVP K30 = 1:2	/	/
						T (produkt) = 31 - 36 °C				
				DZO 1 = 751,20 g		Pretok zraka = 7,01 - 7,09 m/s				
				HPMC = 50,00 g		Črpalka = 5 - 8 rpm				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)		Razmik valja = 10 mm				
						P (šoba) = 2,0 bar				

VZOREC	ORGANOLEPTIČNE LASTNOSTI	PELETNA JEDRA	DZO	MASA VHODNIH SNOVI IN IPS	MASA PRODUKTA IN IPS	PROCESNI PARAMETRI TEKOM RAZPRŠEVANJA DZO	CELOKUPNI IZKORISTEK [%]	RAZMERJE MAS SMES (z ZU) : POLIMER	IZRAČUNANA VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA VSEBNOST ZU [mg/g]
P5 SWIRL komora	Pri oblaganja ob visoki T produkta so že po nekaj minutah nastali veliki aglomerati.	Cellets® 350	DZO 2 (5 % SMES, 10 % MANITOL)	Cellets® 350 = 300,05 g IPS = 3,82 %	m _p = 291,40 g IPS = 1,78 %	T (vhodni zrak) = 50 - 60 °C	/	SMES brez ZU! SMES : MANITOL = 1 : 2	/	/
				DZO 2 = 115,53 g		T (produkt) = 38 - 40 °C				
						Pretok zraka = 7,01 – 7,03 m/s				
						Črpalka = 5 - 9 rpm				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)		Razmik valja = 10 mm				
						P (šoba) = 2,0 bar				
P6 SWIRL komora	Tudi pri nižji T produkta so že po nekaj minutah nastali veliki aglomerati.	Cellets® 350	DZO 2 (5 % SMES, 10 % MANITOL)	Cellets® 350 = 300,08 g IPS = 3,82 %	m _p = 229,02 g	T (vhodni zrak) = 50 - 51 °C	/	SMES brez ZU! SMES : MANITOL = 1 : 2	/	/
				DZO 2 = 99,11 g		T (produkt) = 36 - 38 °C				
						Pretok zraka = 7,01 - 7,05 m/s				
						Črpalka = 5 - 7 rpm				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)		Razmik valja = 10 mm				
						P (šoba) = 2,0 bar				
P7 WURSTER komora	Nastali so aglomerati. Med oblaganjem smo produkt enkrat presejali skozi sito 500 in ga nato dalje oblagali. Pelete so mastne na otip.	Cellets® 350	DZO 2 (5 % SMES, 10 % MANITOL) + dodatni sloj DZO 12	Cellets® 350 = 300,04 g IPS = 3,82 %	m _p = 204,80 g IPS = 1,83 %	T (vhodni zrak) = 45 - 47 °C	69,01	SMES brez ZU! SMES : MANITOL = 1 : 2	/	/
				DZO 2 = 350,00 g		T (produkt) = 33 - 35 °C				
				HPMC = 35,21 g		Pretok zraka = 7,01 - 7,05 m/s				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)		Črpalka = 5 - 8 rpm				
						Razmik valja = 10 - 25 mm				
						P (šoba) = 2,0 bar				
P8 WURSTER komora	Oblagali smo pri nižji T produkta, a so hitro nastali aglomerati.	Cellets® 350	DZO 3 (5 % SMES, 12,5 % MANITOL)	Cellets® 350 = 300,08 g IPS = 3,87 %	m _p = 300,82 g	T (vhodni zrak) = 45 - 47 °C	/	SMES brez ZU! SMES : MANITOL = 1 : 2,5	/	/
				DZO 3 = 80,20 g		T (produkt) = 34 - 36 °C				
						Pretok zraka = 7,01 - 7,05 m/s				
						Črpalka = 5 - 7 rpm				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)		Razmik valja = 10 mm				
						P (šoba) = 2,0 bar				

VZOREC	ORGANOLEPTIČNE LASTNOSTI	PELETNA JEDRA	DZO	MASA VHODNIH SNOVI IN IPS	MASA PRODUKTA IN IPS	PROCESNI PARAMETRI TEKOM RAZPRŠEVANJA DZO	CELOKUPNI IZKORISTEK [%]	RAZMERJE MAS SMES (z ZU) : POLIMER	IZRAČUNANA VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA VSEBNOST ZU [mg/g]
P9 WURSTER komora	Oblagal smo še pri višji T produkta, a so tudi tukaj hitro nastali aglomerati.	Cellets® 350	DZO 3 (5 % SMES, 12,5 % MANITOL)	Cellets® 350 = 300,17 g IPS = 3,87 %	m _p = 300,62 g	T (vhodni zrak) = 50 - 55 °C	/	SMES brez ZU! SMES : MANITOL = 1 : 2,5	/	/
						T (produkt) = 38 - 41 °C				
				DZO 3 = 61,96 g		Pretok zraka = 7,01 – 7,05 m/s				
						Črpalka = 5 rpm				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)	Razmik valja = 10 mm					
					P (šoba) = 2,0 bar					
P10 SWIRL komora	Pogoje oblaganja smo izbrali na podlagi predhodnih poskusov, ki so se izkazali za uspešne, a so tudi v tem primeru hitro nastali veliki aglomerati.	Cellets® 350	DZO 4 (5 % SMES, 5 % MANITOL, 5 % PVP K30)	Cellets® 350 = 300,06 g IPS = 3,87 %	m _p = 301,52 g	T (vhodni zrak) = 42 - 45 °C	/	SMES brez ZU! SMES : MANITOL : PVP K30 = 1 : 1 : 1	/	/
						T (produkt) = 31 - 33 °C				
				DZO 4 = 96,45 g		Pretok zraka = 7,03 - 7,05 m/s				
						Črpalka = 5 - 7 rpm				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)	Razmik valja = 10 mm					
					P (šoba) = 2,0 bar					
P11 SWIRL komora	Nastale so lepe pelete, ki so vsebovale malo aglomeratov. Niso mastne na otip in se ne sprimejo v kepo.	Cellets® 350	DZO 5 (5 % SMES, 12,5 % PVP K30) + dodatni sloj DZO 12	Cellets® 350 = 300,10 g IPS = 3,87 %	m _p = 373,14 g IPS = 2,32 %	T (vhodni zrak) = 44 - 46 °C	69,40	SMES brez ZU! SMES : PVP K30 = 1 : 2,5	/	/
						T (produkt) = 31 - 36 °C				
				DZO 5 = 600,08 g		Pretok zraka = 7,01 - 7,07 m/s				
				HPMC = 50,08 g		Črpalka = 5 - 9 rpm				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)	Razmik valja = 10 mm					
					P (šoba) = 2,0 bar					
P12 SWIRL komora	Med oblaganjem ni bilo težav, nastale so lepe pelete, ki niso mastne na otip in se ne zlepijo. Delež aglomeratov je znašal 10,42 % (dvojčki in trojčki), njihov delež smo določil po sejanju skozi sito 500.	Cellets® 200	DZO 5 (5 % SMES, 12,5 % PVP K30) + dodatni sloj DZO 12	Cellets® 200 = 200,04 g IPS = 4,52 %	m _p = 353,90 g IPS = 2,77 %	T (vhodni zrak) = 44 - 46 °C	75,38	SMES brez ZU! SMES : PVP K30 = 1 : 2,5	/	/
						T (produkt) = 31 - 36 °C				
				DZO 5 = 1134,40 g		Pretok zraka = 7,03 - 7,07 m/s				
				HPMC = 51,04 g		Črpalka = 5 - 9 rpm				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)	Razmik valja = 10 mm					
					P (šoba) = 2,0 bar					

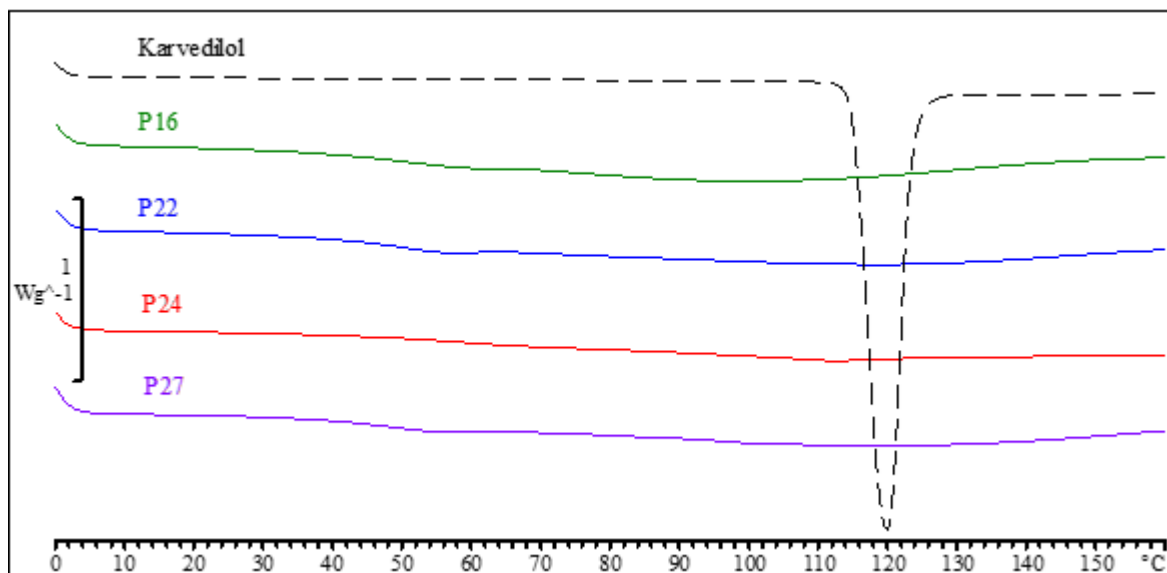
VZOREC	ORGANOLEPTIČNE LASTNOSTI	PELETNA JEDRA	DZO	MASA VHODNIH SNOVI IN IPS	MASA PRODUKTA IN IPS	PROCESNI PARAMETRI TEKOM RAZPRŠEVANJA DZO	CELOKUPNI IZKORISTEK [%]	RAZMERJE MAS SMES (z ZU) : POLIMER	IZRAČUNANA VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA VSEBNOST ZU [mg/g]
P13 SWIRL komora	Dobili smo lepe pelete, a jih nismo mogli ovrednotiti, ker se je pokvarila naprava za merjenje vlage.	Cellets® 200	DZO 6 (5 % SMES z ZU, 12,5 % PVP K30) + dodatni sloj DZO 12	Cellets® 200 = 200,10 g IPS = 4,47 %	m _p = 252,12 g	T (vhodni zrak) = 44 - 50 °C	/	SMES z ZU! SMES : PVP K30 = 1 : 2,5	/	/
				DZO 6 = 466,02 g		T (produkt) = 31 - 36 °C				
				HPMC = 50,54 g		Pretok zraka = 7,01 – 7,07 m/s				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)		Črpalka = 5 - 9 rpm				
						Razmik valja = 10 mm				
						P (šoba) = 2,0 bar				
P14 SWIRL komora	Nanesli smo 1. sloj SMES z učinkovino. Po oblaganju smo pelete presejali skozi siti 355 in 600. Delež aglomeratov je znašal 7,76%.	Cellets® 200	DZO 6 (5 % SMES z ZU, 12,5 % PVP K30) + dodatni sloj DZO 12	Cellets® 200 = 200,09 g IPS = 3,30 %	m _p = 490,25 g IPS = 2,50 %	T (vhodni zrak) = 44 - 50 °C	80,21	SMES z ZU! SMES : PVP K30 = 1 : 2,5	15,91	/
				DZO 6 = 1945,00 g		T (produkt) = 31 - 38 °C				
				HPMC = 51,08 g		Pretok zraka = 7,03 - 7,05 m/s				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)		Črpalka = 5 - 9 rpm				
						Razmik valja = 10 mm				
						P (šoba) = 2,0 bar				
P15 SWIRL komora	Nanesli smo 2. sloj SMES z učinkovino, za začetek smo vzeli pelete iz poskusa P14 . Po oblaganju smo pelete presejali skozi siti 500 in 800. Delež aglomeratov je znašal 5,23%.	Cellets® 200	DZO 6 (5 % SMES z ZU, 12,5 % PVP K30) + dodatni sloj DZO 12	Pelete P14 = 200,03 g IPS = 2,40 %	m _p = 500,77 g IPS = 2,80 %	T (vhodni zrak) = 44 - 50 °C	84,37	SMES z ZU! SMES : PVP K30 = 1 : 2,5	21,28	/
				DZO 6 = 1947,60 g		T (produkt) = 31 - 39 °C				
				HPMC = 51,12 g		Pretok zraka = 7,03 - 7,05 m/s				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)		Črpalka = 5 - 9 rpm				
						Razmik valja = 10 mm				
						P (šoba) = 2,0 bar				
P16 SWIRL komora	Nanesli smo 3. sloj SMES z učinkovino, za začetek smo vzeli pelete iz poskusa P15. Po oblaganju smo pelete presejali skozi siti 600 in 1120. Delež aglomeratov je znašal 0,18%.	Cellets® 200	DZO 6 (5 % SMES z ZU, 12,5 % PVP K30) + dodatni sloj DZO 12	Pelete P15 = 200,03 g IPS = 2,79 %	m _p = 487,33 g IPS = 3,50 %	T (vhodni zrak) = 43 - 50 °C	79,91	SMES z ZU! SMES : PVP K30 = 1 : 2,5	23,24	24,30
				DZO 6 = 1946,14 g		T (produkt) = 32 - 40 °C				
				HPMC = 50,76 g		Pretok zraka = 7,03 - 7,05 m/s				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)		Črpalka = 5 - 9 rpm				
						Razmik valja = 10 - 15 mm				
						P (šoba) = 2,0 bar				

VZOREC	ORGANOLEPTIČNE LASTNOSTI	PELETNA JEDRA	DZO	MASA VHODNIH SNOVI IN IPS	MASA PRODUKTA IN IPS	PROCESNI PARAMETRI TEKOM RAZPRŠEVANJA DZO	CELOKUPNI IZKORISTEK [%]	RAZMERJE MAS SMES (z ZU) : POLIMER	IZRAČUNANA VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA VSEBNOST ZU [mg/g]
P17	Raztopina za oblaganje je bila zelo motna in po videzu bele barve. Prišlo je do obarjanja učinkovine in Kollicoata IR, ki sta se posedla na dno čaše, zato z njo nismo niti poskusili oblagati.	/	DZO 7 (5 % SMES z ZU, 12,5 % KOLLICOAT IR)				/	SMES z ZU! SMES : KOLLICOAT IR = 1 : 2,5	/	/
P18 SWIRL komora	Na koncu je bilo precej pelet sprjetih na valj, kar je vzrok za izgube. Lahko sklepam, da so pelete med samim procesom oblaganja zaradi večje količine SMES bolj masne in se zato sprimejo na valj.	Cellets® 200	DZO 8 (6,25 % SMES z ZU, 12,5 % PVP K30) + dodatni sloj DZO 12	Cellets® 200 = 200,07 g IPS = 4,41 %	m _p = 270,00 g IPS = 2,00%	T (vhodni zrak) = 44 - 50 °C	67,30	SMES z ZU! SMES : PVP K30 = 1 : 2	7,89	/
						T (produkt) = 32 - 40 °C				
				DZO 8 = 557,11 g		Pretok zraka = 7,03 - 7,05 m/s				
				HPMC = 50,80 g		Črpalka = 5 - 9 rpm				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)		Razmik valja = 10 mm				
						P (šoba) = 2,0 bar				
P19 SWIRL komora	Nastale so dobre pelete, ki se niso sprijemale in so bile rahlo masne na otip. Ta masten občutek je verjetno posledica zelo majhnega nanosa HPMC. V raztopini za obl. se je oborilo nekaj učinkovine, zato smo jo nanесли ob mešanju z mehanskim mešalom.	Cellets® 200	DZO 9 (5 % SMES z ZU, 5 % PVP K30, 5 % LAKTOZA MESH 200) + dodatni sloj DZO 12	Cellets® 200 = 200,00 g IPS = 4,50 %	m _p = 253,45 g IPS = 2,40 %	T (vhodni zrak) = 44 - 50 °C	77,85	SMES z ZU! SMES : PVP K30 : LAKTOZA MESH 200 = 1 : 1 : 1	6,57	/
						T (produkt) = 32 - 40 °C				
				DZO 9 = 470,30 g		Pretok zraka = 7,03 - 7,05 m/s				
				HPMC = 20,20 g		Črpalka = 5 - 9 rpm				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)		Razmik valja = 10 mm				
						P (šoba) = 2,0 bar				
P20 SWIRL komora	Pelete niso masne na otip in se ne sprijemajo. Nanesli smo 1. sloj SMES z učinkovino. . Po oblaganju smo pelete presejali skozi siti 355 in 500, ter vmesno frakcijo shranili za nadaljnje oblaganje. Delež aglomeratov je znašal 8,48%.	Cellets® 200	DZO 9 (5 % SMES z ZU, 5 % PVP K30, 5 % LAKTOZA MESH 200) + dodatni sloj DZO 12	Cellets® 200 = 200,07 g IPS = 4,50 %	m _p = 459,07 g IPS = 2,30 %	T (vhodni zrak) = 44 - 50 °C	87,58	SMES z ZU! SMES : PVP K30 : LAKTOZA MESH 200 = 1 : 1 : 1	18,24	/
						T (produkt) = 32 - 40 °C				
				DZO 9 = 1929,15 g		Pretok zraka = 7,01 - 7,05 m/s				
				HPMC = 50,76 g		Črpalka = 5 - 9 rpm				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)		Razmik valja = 10 mm				
						P (šoba) = 2,0 bar				

VZOREC	ORGANOLEPTIČNE LASTNOSTI	PELETNA JEDRA	DZO	MASA VHODNIH SNOVI IN IPS	MASA PRODUKTA IN IPS	PROCESNI PARAMETRI TEKOM RAZPRŠEVANJA DZO	CELOKUPNI IZKORISTEK [%]	RAZMERJE MAS SMES (z ZU) : POLIMER	IZRAČUNANA VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA VSEBNOST ZU [mg/g]
P21 SWIRL komora	Nanesli smo 2. sloj SMES z učinkovino, za začetek smo vzeli pelete iz poskusa P20. Po oblaganju smo pelete presejal skozi siti 500 in 710, ter vmesno frakcijo shranil za nadaljnje oblaganje. Delež aglomeratov je znašal 3,52%.	Cellets® 200	DZO 9 (5 % SMES z ZU, 5 % PVP K30, 5 % LAKTOZA MESH 200) + dodatni sloj DZO 12	Pelete P20 = 200,12 g IPS = 3,10 %	m _p = 468,25 g IPS = 3,09 %	T (vhodni zrak) = 44 - 50 °C	86,99	SMES z ZU! SMES : PVP K30 : LAKTOZA MESH 200 = 1 : 1 : 1	25,85	/
				DZO 9 = 1960,86 g		T (produkt) = 32 - 40 °C				
				HPMC = 51,08 g		Pretok zraka = 7,01 - 7,05 m/s				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)		Črpalka = 5 - 9 rpm				
				Sušenje produkta 5 min (T prod. = 40 °C)		Razmik valja = 10 mm				
P22 SWIRL komora	Nanesli smo 3. sloj SMES z učinkovino, za začetek smo vzeli pelete iz poskusa P21. Po oblaganju smo pelete presejal skozi siti 710 in 1000, ter vmesno frakcijo shranil. Delež aglomeratov je znašal 0,62%.	Cellets® 200	DZO 9 (5 % SMES z ZU, 5 % PVP K30, 5 % LAKTOZA MESH 200) + dodatni sloj DZO 12	Pelete P21 = 200,03 g IPS = 3,10 %	m _p = 466,83 g IPS = 3,10 %	T (vhodni zrak) = 44 - 50 °C	86,54	SMES z ZU! SMES : PVP K30 : LAKTOZA MESH 200 = 1 : 1 : 1	29,09	25,60
				DZO 9 = 1961,00 g		T (produkt) = 32 - 40 °C				
				HPMC = 50,75 g		Pretok zraka = 7,01 - 7,03 m/s				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)		Črpalka = 5 - 9 rpm				
				Sušenje prod. 5 min (T prod. = 40 °C)		Razmik valja = 15 mm				
P23 SWIRL komora	Za izvedbo analize smo pripravili DZO, ki je enaka DZO pri poskusih P20 - P22 le, da ne vsebuje ZU.	Cellets® 200	DZO 10 (5 % SMES, 5 % PVP K30, 5 % LAKTOZA MESH 200) + dodatni sloj DZO 12	Cellets® 200 = 200,04 g IPS = 4,20 %	m _p = 252,55 g IPS = 2,10 %	T (vhodni zrak) = 43 - 48 °C	74,60	SMES brez ZU! SMES : PVP K30 : LAKTOZA MESH 200 = 1 : 1 : 1	/	/
				DZO 10 = 465,00 g		T (produkt) = 32 - 40 °C				
				HPMC = 51,58 g		Pretok zraka = 7,02 - 7,07 m/s				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)		Črpalka = 5 - 9 rpm				
				Sušenje prod. 5 min (T prod. = 40 °C)		Razmik valja = 10 mm				
P24 SWIRL komora	Izvedli smo oblaganje z enako DZO kot pri poskusih P20 - P22 le, da ni vsebovala SMES, ampak samo ZU. Natehtali smo toliko ZU, da je bila vsebnost ZU 25mg/g in upoštevali 85% izkoristek.	Cellets® 200	DZO 11 (5,80 g ZU, 5 % PVP K30, 5 % LAKTOZA MESH 200) + dodatni sloj DZO 12	Cellets® 200 = 200,04 g IPS = 4,20 %	m _p = 230,06 g IPS = 2,18 %	T (vhodni zrak) = 43 - 48 °C	62,9	ZU brez SMES! PVP K30 : LAKTOZA MESH 200 = 1 : 1	14,37	11,45
				DZO 11 = 453,24 g		T (produkt) = 31 - 40 °C				
				HPMC = 27,48 g		Pretok zraka = 7,06 - 7,27 m/s				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)		Črpalka = 5 - 8 rpm				
				Sušenje prod. 5 min (T prod. = 40 °C)		Razmik valja = 10 mm				
						P (šoba) = 2,0 bar				

VZOREC	ORGANOLEPTIČNE LASTNOSTI	PELETNA JEDRA	DZO	MASA VHODNIH SNOVI IN IPS	MASA PRODUKTA IN IPS	PROCESNI PARAMETRI TEKOM RAZPRŠEVANJA DZO	CELOKUPNI IZKORISTEK [%]	RAZMERJE MAS SMES (z ZU) : POLIMER	IZRAČUNANA VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA VSEBNOST ZU [mg/g]
P25 SWIRL komora	Nanesli smo 1. sloj SMES z učinkovino. . Po oblaganju smo pelete presejali skozi siti 355 in 500, ter vmesno frakcijo shranili za nadaljnje oblaganje. Delež aglomeratov je znašal 8,63%.	Cellets® 200	DZO 9 (5 % SMES z ZU, 5 % PVP K30, 5 % LAKTOZA MESH 200) + dodatni sloj DZO 12	Cellets® 200 = 200,02 g IPS = 4,01 %	m _p = 462,46 g IPS = 2,11 %	T (vhodni zrak) = 44 - 48 °C	87,69	SMES z ZU! SMES : PVP K30 : LAKTOZA MESH 200 = 1 : 1 : 1	18,33	/
				DZO 9 = 1950,82 g		T (produkt) = 32 - 40 °C				
				HPMC = 51,90 g		Pretok zraka = 7,03 - 7,05 m/s				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)		Črpalka = 5 - 9 rpm				
				Sušenje produkta 10 min (T prod. = 40 °C)		Razmik valja = 10 mm				
P26 SWIRL komora	Nanesli smo 2. sloj SMES z učinkovino, za začetek smo vzeli pelete iz poskusa P25. Po oblaganju smo pelete presejal skozi siti 500 in 710. Delež aglomeratov je znašal 1,01%.	Cellets® 200	DZO 9 (5 % SMES z ZU, 5 % PVP K30, 5 % LAKTOZA MESH 200) + dodatni sloj DZO 12	Pelite P25 = 200,13 g IPS = 2,11 %	m _p = 459,76 g IPS = 2,12 %	T (vhodni zrak) = 44 - 50 °C	85,48	SMES z ZU! SMES : PVP K30 : LAKTOZA MESH 200 = 1 : 1 : 1	25,95	/
				DZO 9 = 1951,11 g		T (produkt) = 32 - 41 °C				
				HPMC = 50,83 g		Pretok zraka = 7,03 - 7,05 m/s				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)		Črpalka = 5 - 9 rpm				
				Sušenje produkta 10 min (T prod. = 41 °C)		Razmik valja = 10 mm				
P27 SWIRL komora	Nanesli smo 3. sloj SMES z učinkovino, za začetek smo vzeli pelete iz poskusa P26. Po oblaganju smo pelete presejal skozi siti 710 in 1000. Delež aglomeratov je znašal 0,13%.	Cellets® 200	DZO 9 (5 % SMES z ZU, 5 % PVP K30, 5 % LAKTOZA MESH 200) + dodatni sloj DZO 12	Pelite P26 = 200,02 g IPS = 2,28 %	m _p = 466,31 g IPS = 2,02 %	T (vhodni zrak) = 44 - 50 °C	87,72	SMES z ZU! SMES : PVP K30 : LAKTOZA MESH 200 = 1 : 1 : 1	29,40	27,00
				DZO 9 = 1959,81 g		T (produkt) = 32 - 41 °C				
				HPMC = 44,99 g		Pretok zraka = 7,01 - 7,03 m/s				
				razvlaževalec zraka (30 % pri 18 °C)		Črpalka = 5 - 9 rpm				
				Sušenje produkta 10 min (T prod. = 41 °C)		Razmik valja = 15 mm				
						P (šoba) = 2,0 bar				

Priloga II: DSC krivulje segrevanja kristaliničnega karvedilola in vzorcev P16, P22, P24 in P27.



Priloga III: Mase 1000 stehtanih peletnih jeder in obloženih pelet poskusov P14 - P16, P20 – P22 in P25 – P27.

VZOREC	MASA 1000 PELET [mg]
Cellets® 200	22
P14	68
P15	184
P16	472
P20	53
P21	141
P22	346
P25	61
P26	148
P27	351