Ispitivanje utjecaja pomoćnih tvari na fizičku stabilnost suspenzije posakonazola

Orešković, Jelena

Master's thesis / Diplomski rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:026216

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Jelena Orešković

Ispitivanje utjecaja pomoćnih tvari na fizičku stabilnost suspenzije posakonazola

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2015.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Industrijska farmacija Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen u PLIVI Hrvatska d.o.o. pod stručnim vodstvom dr. sc. Biserke Cetine-Čižmek, znanstvene savjetnice, PLIVA Istraživanje i razvoj.

Srdačno se zahvaljujem svojoj mentorici dr. sc. Biserki Cetini-Čižmek na stručnom vodstvu i savjetima prilikom izrade i pisanja ovoga rada. Veliko hvala mr. sc. Ivi Tunjić na nesebičnoj pomoći te na pruženom teorijskom i praktičnom znanju. Zahvaljujem svim dragim ljudima u PLIVI na odjelu Pretformulacije na pomoći, gostoprimstvu i vrijednim savjetima.

Veliko hvala najdražoj profesorici dr. sc. Lidiji Bach-Rojecky koja je kod mene razvila ljubav prema mome pozivu.

Najveća zahvala mojim roditeljima, seki Luciji te cijeloj mojoj obitelji i prijateljima na pruženoj ljubavi, strpljenju i potpori tijekom studiranja.

SADRŽAJ

1. UVOD 1
1.1. GLJIVIČNE INFEKCIJE 2
1.2. AZOLI 2
1.2.1. MEHANIZAM DJELOVANJA 2
1.3. POSAKONAZOL 3
1.3.1. TERAPIJSKE INDIKACIJE 3
1.3.2. KEMIJSKA STRUKTURA 4
1.4. SUSPENZIJE 4
1.4.1. SVOJSTVA SUSPENZIJA 5
1.4.2. STABILNOST SUSPENZIJA 6
1.4.3. IZRADA SUSPENZIJA 7
1.4.4. ISPITIVANJE SUSPENZIJA 7
1.5. ANALITIČKE METODE KARAKTERIZACIJE POSAKONAZOLA 8
1.5.1. OPTIČKA MIKROSKOPIJA 8
1.5.2. PRETRAŽNA ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA (SEM) 9
1.5.3. LASERSKA DIFRAKCIJA SVJETLOSTI PRI NISKOM KUTU (LALLS) 9
1.5.4. DINAMIČKO RASPRŠENJE SVJETLOSTI (DLS) 11
1.5.5. ZETA-POTENCIJAL 12
1.5.6. KUT MOČENJA 14
2. OBRAZLOŽENJE TEME 16
3. MATERIJALI I METODE 18
3.1. MATERIJALI 19
3.2. METODE 20
3.2.1. MORFOLOŠKA KARAKTERIZACIJA POSAKONAZOLA 20
3.2.1.1. Optička mikroskopija 20
3.2.1.2. Pretražna elektronska mikroskopija (SEM) 20
3.2.1.3. Laserska difrakcija svjetlosti pri niskom kutu (LALLS) 21
3.2.1.4. Dinamičko raspršenje svjetlosti (DLS) 22
3.2.2. PRIPREMA SUSPENZIJA POSAKONAZOLA 22
3.2.3. ISPITIVANJE SUSPENZIJA 24
3.2.3.1. Zeta-potencijal 24

3.2.3.2. Mikroskopska analiza 24
3.2.3.3. Izgled suspenzija 25
3.2.3.4. Resuspenzibilnost 25
3.2.4. KUT MOČENJA 25
4. REZULTATI I RASPRAVA 27
4.1. MORFOLOŠKA KARAKTERIZACIJA POSAKONAZOLA 28
4.1.1. OPTIČKA MIKROSKOPIJA 28
4.1.2. PRETRAŽNA ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA 29
4.1.3. LASERSKA DIFRAKCIJA SVJETLOSTI PRI NISKOM KUTU 31
4.1.4. DINAMIČKO RASPRŠENJE SVJETLOSTI 33
4.2. KARAKTERIZACIJA SUSPENZIJA 35
4.2.1. ZETA-POTENCIJAL 35
4.2.2. MIKROSKOPSKA ANALIZA 37
4.2.3. IZGLED SUSPENZIJA 39
4.2.4. RESUSPENZIBILNOST 40
4.3. KUT MOČENJA 41
5. ZAKLJUČCI 43
6. LITERATURA 46
7. SAŽETAK / SUMMARY 49

1. UVOD

1.1. GLJIVIČNE INFEKCIJE

Gljivične infekcije su jedan od glavnih uzroka morbiditeta i mortaliteta kod imunokompromitiranih pacijenata. Nitaste plijesni i kvaščeve gljivice su sveprisutni organizmi nađeni diljem svijeta u različitim medijima. Vrste roda Candida su najčešći uzrok gljivičnih infekcija. Međutim, epidemiološki pomaci su se počeli javljati najvjerojatnije uslijed profilaktičke i empirijske primjene antifungalnih sredstava. Novi gljivični patogeni, kao što su Aspergillus, Fusarium i Zygomycetes, mijenjaju klinički spektar gljivičnih dijagnoza. (www.medscape.org)

1.2. AZOLI

U farmakoterapiji gljivičnih infekcija u posljednjih su nekoliko desetljeća nastupile revolucionarne promjene uvođenjem relativno netoksičnih azolnih lijekova (koji postoje u obliku oralnih i parenteralnih pripravaka). Ovi novi lijekovi omogućuju usmjereniju i manje toksičnu terapiju od starijih lijekova za bolesnike s ozbiljnim sistemskim gljivičnim infekcijama.

Azoli su sintetski spojevi koji se, s obzirom na broj dušika u peteročlanom azolnom prstenu, mogu klasificirati u imidazole i triazole. Među imidazole se ubrajaju ketokonazol, mikonazol i klotrimazol. Triazolima pripadaju itrakonazol, flukonazol, vorikonazol i posakonazol.

Svaki od azolnih lijekova ima jedinstvena farmakološka obilježja, što pridonosi razlikama u njihovoj kliničkoj primjeni. (Katzung i sur., ured., 2011.)

1.2.1. MEHANIZAM DJELOVANJA

Antimikotični učinak azolnih lijekova posljedica je smanjenja sinteze ergosterola putem inhibicije gljivičnih citokrom P450 enzima. Selektivna toksičnost azolnih lijekova nastaje zbog većeg afiniteta ovih lijekova za gljivične citokrom P450 enzime nego za humane.

Imidazoli su manje selektivni od triazola, zato imaju veću incidenciju interakcija s drugim lijekovima i više nuspojava. (Katzung i sur., ured., 2011.)

1.3. POSAKONAZOL

Posakonazol je antifungalni lijek, najnoviji triazol. On ima najširi spektar od svih azolnih antifungalnih lijekova. (Katzung i sur., ured., 2011.)

Proizvela ga je Schering-Plough korporacija te ga je američka Agencija za hranu i lijekove (FDA) prvi put odobrila 15. rujna 2006. pod zaštićenim imenom Noxafil u obliku oralne suspenzije. (www.medscape.org)

Danas je dostupan u obliku injekcije (18 mg/mL), tablete s produženim oslobađanjem (100 mg) i oralne suspenzije (40 mg/mL). (www.merck.com)

1.3.1. TERAPIJSKE INDIKACIJE

Posakonazol se koristi za liječenje odraslih (18 godina i više) sa sljedećim gljivičnim oboljenjima, kod netoleriranja drugih antifungalnih lijekova (amfotericina B, itrakonazola ili flukonazola) ili kad nema napretka nakon najmanje 7 dana liječenja s drugim antifungalnim lijekovima:

- invazivna aspergiloza (gljivična infekcija uzrokovana vrstama roda Aspergillus),
- fuzarioza (gljivična infekcija uzrokovana vrstama roda Fusarium),
- kromoblastomikoza i micetom (dugoročne gljivične infekcije kože ili tkiva neposredno ispod kože, spore gljivica najčešće dođu na ranu pomoću trna ili krhotine),
- kokcidioidomikoza (gljivična infekcija pluća uzrokovana udisanjem spora).

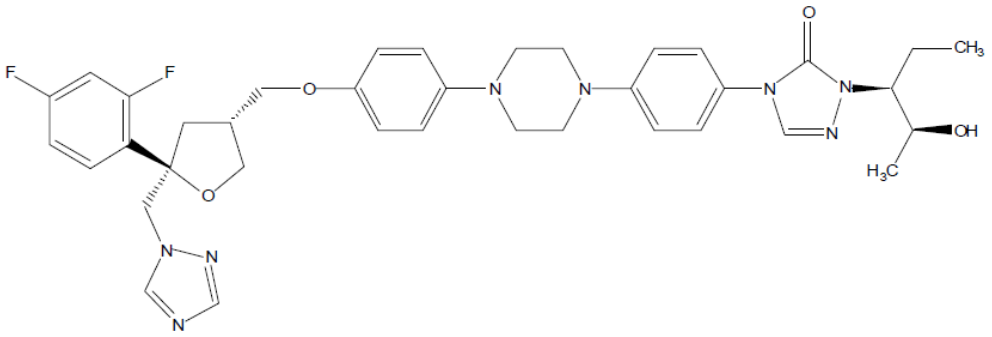
Posakonazol oralna suspenzija se koristi i kao prva linija za liječenje „mliječca“, gljivične infekcije usta i grla uzrokovane vrstama roda Candida. Koristi se kod bolesnika s teškom infekcijom ili kod bolesnika s oslabljenim imunološkim sustavom kada lijekovi primjenjeni lokalno ne djeluju.

Posakonazol oralna suspenzija, otopina za injekciju ili gastrorezistentna tableta se mogu koristiti za sprječavanje invazivnih gljivičnih infekcija kod pacijenata čiji je imunološki

sustav oslabljen zbog terapije za liječenje raka krvi ili koštane srži, ili zbog lijekova koji se koriste kod transplantacije hematopoetskih matičnih stanica. (www.ema.europa.eu)

1.3.2. KEMIJSKA STRUKTURA

Posakonazol je kemijski opisan kao 4-[4-[4-[4-[[5-(2,4-difluorofenil)-5-(1,2,4-triazol-1-ilmetil)oksolan-3-il]methoksi]fenil]piperazin-1-il]fenil]-2-[(2S,3S)-2-hidroksipentan-3-il]-1,2,4-triazol-3-on s empirijskom formulom $C_{37}H_{42}F_2N_8O_4$ i s relativnom molekulskom masom 700,8.



Slika 1. Strukturna formula posakonazola

Posakonazol je bijeli prah, slabo topljiv u vodi.

Noxafil oralna suspenzija je bijela suspenzija, s okusom trešnje i s trenutnim otpuštanjem, sadrži 40 mg posakonazola po mililitru i sadrži sljedeće pomoćne sastojke: polisorbat 80, simetikon, natrijev benzoat, natrijev citrat dihidrat, monohidrat limunske kiseline, glicerin, ksantan gumu, tekuću glukozu, titanov dioksid, umjetni okus trešnje i pročišćenu vodu. (www.merck.com)

1.4. SUSPENZIJE

Suspenzije su grubo-disperzni sustavi u kojima disperznu fazu čini čvrsta supstancija koja je u tekućem disperznom sredstvu praktički netopljiva ili bar teško topljiva. Udio čvrstih tvari u suspenzijama, ovisno o području primjene, jest između 0,5 i 40 %. Tekuća je faza

najčešće voda, a ponekad i biljno ulje. Suspenzije se mogu primjenjivati interno (parenteralni i oralni pripravci) i eksterno (očni i dermatološki pripravci). (Senjković, 2003.)

Ovisno o načinu primjene veličina čestica u suspenziji može varirati od manje od 1 μm za oftalmičku primjenu, 10-100 μm za dermatološku primjenu te do 200 μm za oralnu primjenu.

Mnoge nedavno otkrivene aktivne farmaceutske supstancije su vrlo hidrofobne s ograničenom topljivošću. Uz to su i vrlo neukusne. Drugi su pak lijekovi vrlo podložni kemijskoj razgradnji te to isključuje njihovu primjenu u obliku vodenih otopina, ali u tom slučaju može biti moguće sintetizirati netopljivi derivat. U nekim slučajevima, potrebno je dugo vrijeme zadržavanja lijeka u gastrointestinalnom traktu ili u konjuktivnom džepu. Za takve lijekove suspenzija je idealan sustav za isporuku, omogućuje bolju kemijsku stabilnost i veću površinu, a često i veću bioraspoloživost u odnosu na vodene otopine, tablete i kapsule.

Oblikovanje stabilne, sigurne i učinkovite suspenzije je tehnički zahtjevna zadaća u odnosu na vodene otopine, tablete i kapsule. Farmaceutske suspenzije su termodinamički nestabilni sustavi. Prema tome, priprava takvih sustava je često povezana s problemima fizičke stabilnosti, ujednačenosti sadržaja, sedimentacije, aglomeracije, resuspenzibilnosti i rasta kristala. Nadalje, moraju se uzeti u obzir i problemi koji se odnose na prikrivanje gorkog okusa i nepoželjnog mirisa farmaceutskog sastojka. (Ali i sur., 2010.)

1.4.1. SVOJSTVA SUSPENZIJA

Neke poželjne osobine suspenzije su opisali Bhargava i sur. (1996.).

1. Trebala bi biti sigurna, učinkovita, stabilna i farmaceutski elegantna tijekom roka trajanja proizvoda.
2. Lijek se ne bi trebao brzo taložiti. Resuspendiranje nakon protresivanja bi trebalo biti lako, bez zaostajanja kolača.
3. Fizičke osobine, kao što su distribucija veličine čestica i viskoznost, trebaju ostati prilično ujednačene tijekom roka trajanja proizvoda.
4. Njezina viskoznost mora promicati slobodan i ujednačeni tok iz spremnika.
5. Resuspendiranjem se treba proizvesti homogena mješavina čestica lijeka, tako da je sadržaj svake doze ujednačen.

Kako bi se pripremio proizvod koji zadovoljava opisane parametre, formulator mora imati sustavan pristup u dizajniranju eksperimenta, tako da može brzo prepoznati prototip u fazi razvoja proizvoda. (Ali i sur., 2010.)

1.4.2. STABILNOST SUSPENZIJA

Suspenzije su kao disperzijski sustavi uglavnom nestabilni pripravci pa se mora uložiti mnogo napora da se spriječi taloženje čvrstih čestica (sedimentacija) ili njihovo izlučivanje na površini (flotacija), odnosno stvaranje nakupina (flokulacija).

Suspenzija je stabilnija, čestice se sporije talože ili isplivavaju ako je njihova veličina manja. Teorijski su najprikladnije za izradu suspenzija mikronizirane čvrste supstancije jer se tada može računati i s pojačanjem djelovanja. Međutim, dalekosežno usitnjavanje zahtjeva posebne tehnike, a vrlo male čestice mogu se također aglomerirati. Prema tome glede veličine čestica treba pronaći kompromis.

Povećana viskoznost disperznog sredstva djeluje na stabilnost sustava u istom smislu kao i smanjenje veličine čestica. Viskoznost se uglavnom povećava dodatkom makromolekula tipa hidrofilnih koloida ili viševalentnih alkohola. Na taj se način često smanjuje i razlika gustoća čvrste i tekuće faze. Najbolji su stabilizatori dugolančani topljivi polimeri ako se dobro učvršćuju na površini čestica, a da ne stvaraju zbijeni sloj. Tip i koncentracija stabilizatora odabiru se ovisno o slučaju. Rabe se makromolekule poznate kao pseudoemulgatori: pektin, tragant, želatina, u vodi topljivi derivati celuloze, polimerizati akrilne kiseline i polietilenglikol. Od viševalentnih alkohola najčešće se primjenjuju glicerol i sorbitol.

Dodatkom sredstava za močenje (tenzidi HLB-vrijednosti od 7 do 9) smanjuje se napetost površine između dispergiranih čvrstih supstancija i tekućeg disperzijskog sredstva, pri čemu se znatno poboljšava močenje čestica. Osim toga, molekule sredstava za močenje, apsorbiranjem na površini čvrstih čestica, oko njih stvaraju sloj koji sprječava ili bar smanjuje njihovo aglomeriranje i taloženje. Potrebna količina sredstava za močenje ovisi o veličini čestica i koncentraciji čvrste faze, a mora se ustanoviti eksperimentalno reološkim ispitivanjima. Višak sredstava za močenje, zbog pojačanog oblaganja čestica, pogoduje stvaranju aglomerata, a može uzrokovati i promjene osobina tečenja. Na to treba obratiti posebnu pozornost jer se suspenzije uvijek moraju lako lijevati. Uporabom ionogenih tenzida čestice čvrste supstancije poprimaju istovrsni naboj koji potpomaže stabilnosti suspenzija jer

dolazi do odbijanja čestica. Međutim, sa srednjim koncentracijama tenzida može nastati izjednačavanje naboja čestica disperzne faze s protivno nabijenim adsorbiranim ionogenim tenzidom, što uzrokuje spontanu flokulaciju. Bolje je stoga uporabiti neionogene tenzide. (Senjković, 2003.)

1.4.3. IZRADA SUSPENZIJA

Suspenzije se redovito izrađuju tako da se čvrsta ljekovita supstancija usitnjena na željenu veličinu čestica, ako je potrebno i prosijana, pomiješa najprije s manjom količinom disperznog sredstva, a onda se postupno dodaje preostala količina tekućine. Sastoji li se disperzno sredstvo od više tekućina, tada se za miješanje uporabi tekućina najveće viskoznosti ili najboljeg močenja čestica. (Senjković, 2003.)

1.4.4. ISPITIVANJE SUSPENZIJA

Kod suspenzija se ispituje dogovoreni promjer čvrstih čestica mikroskopskim mjerenjem najveće dimenzije i dimenzije koja dijeli česticu na dvije jednake površine.

Za vrednovanje stabilnosti suspenzija provode se različite analize sedimentacije, kao suspenzijski kvocijent, koji je odnos volumena taloga i volumena suspenzije u određenom vremenu. Može se određivati i volumen sedimenta nakon završene sedimentacije čestica u mjernom cilindru. Pritom se može odrediti i poluvrijeme sedimentacije, tj. vrijeme u kojem sediment prevali polovinu puta.

Potresivost sedimenta određuje se pokretanjem sedimentirane suspenzije za 90°, a mjeri se ili vrijeme pokretanja ili broj pokreta koji su potrebni za cjelokupno redispergiranje. (Senjković, 2003.)

Mjerenjem zeta-potencijala suspenzije, može se predvidjeti njezina dugoročna stabilnost. (www.malvern.com)

1.5. ANALITIČKE METODE KARAKTERIZACIJE POSAKONAZOLA

1.5.1. OPTIČKA MIKROSKOPIJA

Svjetlosna mikroskopija je važna tehnika kojom se povezuju analitički podaci dobiveni pomoću drugih tehnika za fizikalno-kemijsku karakterizaciju spojeva ili se objašnjavaju uočene promjene kristalnog oblika.

Prijenosni svjetlosni mikroskopi bez sposobnosti polariziranja svjetla mogu se koristiti za određivanje kristalnih svojstva kao što su boja, oblik čestica i veličina čestica. Kad je opremljen polarizacijskim filterima, svjetlosni mikroskop se pretvara u snažan analitički alat s kojim je moguće proučavati mnoga optička svojstva kristala.

Kao tehnika za brzu karakterizaciju širokog raspona svojstava kristalnih polimorfa i drugih čvrstih oblika, mikroskopija s polariziranim svjetlom je nezamjenjiva bilo kojom drugom trenutno dostupnom tehnikom. Druge pojave koje se lako promatraju s optičkim mikroskopom uključuju: srasle kristale, aglomeraciju, distribuciju veličine čestica, kristaliničnost, topljivost kristala u različitim otapalima, sublimaciju i izomorfizam.

Polarizirana svjetlosna mikroskopija koristi dvolomni kontrast koji proizlazi iz dalekometnog usklađivanja molekula u kristalima, kada su u interakciji s polariziranim svjetlom. Optička svojstva različitih materijala mogu se promatrati i karakterizirati pomoću polarizirajućeg svjetlosnog mikroskopa.

Za snimanje izgleda uzorka kamera je bitan pribor svjetlosnog mikroskopa te se digitalne kamere sada koriste kod većine mikroskopa. (Nichols i sur., 2011.)

Moderni svjetlosni mikroskopi imaju maksimalno povećanje od oko 1000x. Moć razlučivanja mikroskopa nije samo ograničena brojem i kvalitetom leća, već i valnom duljinom svjetlosti koja se koristi za osvjetljavanje. (www.nanoscience.com)



Slika 2. Optički mikroskop s kamerom

1.5.2. PRETRAŽNA ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA (SEM)

Pretražni elektronski mikroskop pretražuje fokusiranjem snopa elektrona na površinu kako bi stvorio sliku. Elektronski snop u interakciji s uzorkom proizvodi različite signale koji se mogu koristiti za dobivanje informacija o topografiji i sastavu površine.

Elektronski mikroskop je razvijen kada je valna duljina postala ograničavajući faktor kod svjetlosnog mikroskopa. Elektroni imaju mnogo kraće valne duljine, što omogućuje bolju rezoluciju. (www.nanoscience.com)

Tri glavne prednosti korištenja SEM-a koje se ne mogu postići pomoću svjetlosnog mikroskopa su: veće povećanje od 250000x (u usporedbi s oko 1000x kod svjetlosnog mikroskopa), velika dubina polja (mnogo puta veća nego što je kod svjetlosnog mikroskopa) i bočna prostorna rezolucija od 3 nm (u odnosu na 200 nm za svjetlosni mikroskop).

Rutinska primjena elektronske mikroskopije raširena je u cijeloj farmaceutskoj industriji i primjenjuje se za ispitivanje aktivnih farmaceutskih sastojaka (API-a), pomoćnih tvari, praškastih smjesa, ambalažnog materijala i onečišćenja stranim tvarima. SEM ima značajnu ulogu u podržavanju razvoja i optimizaciji procesa proizvodnje kod većine krutih dozirnih oblika, kao što su: tablete, praškaste mješavine za oralnu suspenziju, aerosolski prašci za inhalaciju, suho-raspršivani prahovi, liofilizirani proizvodi i injekcijski prašci. (Nichols i sur., 2011.)

1.5.3. LASERSKA DIFRAKCIJA SVJETLOSTI PRI NISKOM KUTU (LALLS)

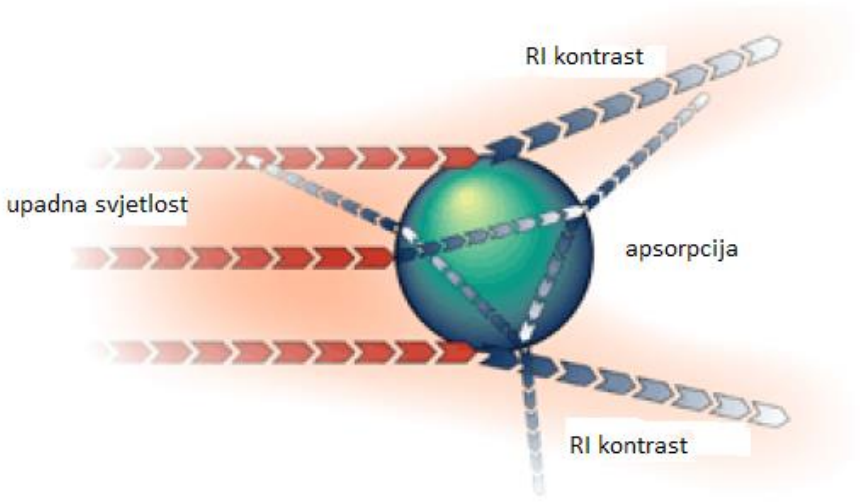
Laserska difrakcija je trenutno jedna od najčešće korištenih tehnika za analizu veličine čestica. Njezina fleksibilnost, širok dinamički raspon i vrijeme analize su značajne prednosti u odnosu na tradicionalne tehnike kao što je prosijavanje. Međutim, kako je jednostavnost uporabe tehnike napredovala do točke u kojoj sustavi zahtijevaju gotovo samo pritisak jednog gumba, lako je zaboraviti na uvjete za točnu analizu u smislu pripreme uzorka. Ako procesi pripreme uzorka nisu pod kontrolom, rezultirati će pogreškama daleko izvan onih koje su povezane sa samom lasersko-difrakcijskom tehnikom. To može dovesti do rezultata koji su neosjetljivi na promjene u kvaliteti proizvoda ili su potpuno netočni.

Lasersko-difrakcijski sustavi predstavljaju brzu, točnu i preciznu metodu za mjerenje raspodjele veličina čestica u širokom rasponu aplikacija. (Kippax, 2004.)

Instrumentima laserske difrakcije dobije se informacija o veličini čestica mjerenjem kutne ovisnosti intenziteta raspršene svjetlosti laserske zrake na česticama. Optički model se tada koristiti za interpretaciju podataka o raspršenju te se izračuna raspodjela veličine čestica. Model raspršenja obično koristi Mie teoriju. To je model raspršenja koji se preporuča od strane međunarodne norme za lasersku difrakciju (ISO13320-1), pogotovo kada se mjere čestice manje od 50 μm.

Mie teorija je opće rješenje Maxwellove jednadžbe za interakciju svjetlosti s materijom. Kada se primjenjuje za mjerenje difrakcije laserskih zraka, predviđa intenzitet svjetlosti koja se raspršuje na površini čestica, kao i ponašanje svjetlosti koja se prenosi i lomi na česticama, kao što je prikazano na slici 3. Da bi se ta teorija koristila ispravno, potreban je kompleks indeksa loma za materijal koji se mjeri. Kompleks indeksa loma obuhvaća realni i imaginarni dio. Realni dio indeksa loma je potreban za predviđanje difrakcije s površine čestica, te se može odrediti mjerenjem refraktometrom, mikroskopskim promatranjem ili se može procijeniti pomoću empirijskih metoda. Imaginarni indeks loma računa na prigušenje svjetlosti dok prolazi kroz čestice, a obično se naziva apsorpcija materijala.

Apsorpcija materijala ovisi o izgledu njegovih molekula i postoje li unutar molekularne strukture kromoforne skupine koje uzrokuju apsorpciju svjetlosti pri valnoj duljini izvora svjetlosti koji se koristi pri mjerenju laserskom difrakcijom. (www.malvern.com)



Slika 3. Raspršivanje predviđeno Mie raspršivačkim modelom

1.5.4. DINAMIČKO RASPRŠENJE SVJETLOSTI (DLS)

Dinamičko raspršenje svjetlosti postalo je jedan od najkorisnijih dijagnostičkih alata za kristale. Glavna svrha korištenja DLS-a u analizi kristala je pomoći analitičaru razumjeti distribuciju veličina, stabilnost i prisutnost aglomerata makromolekula u otopini. Može se koristiti i za razumijevanje kako eksperimentalne varijable utječu na aglomeraciju. Uz komercijalno dostupne instrumente, DLS je lako izvesti. (Borgstahl, 2007.)

DLS je tehnika za mjerenje veličine čestica u submikronskoj regiji. Mjeri Brownovo gibanje i preračunava ga na veličinu čestica. Brownovo gibanje je nasumično kretanje čestica zbog bombardiranja od strane molekula otapala koje ih okružuju. Obično se DLS bavi mjerenjem čestica suspendiranih u tekućini. Kod većih čestica bit će sporije Brownovo gibanje. Manje čestice su "odbačene" dalje molekulama otapala te se kreću brže. Potrebno je znati točnu temperaturu tijekom mjerenja (jer viskoznost tekućine ovisi o njezinoj temperaturi). Temperatura također treba biti stabilna, inače će konvekcija struje u uzorku uzrokovati ne-slučajne pokrete koji će spriječiti ispravnu interpretaciju veličine. Brzina Brownovog gibanja je definirana svojstvom nazvanim translacijski koeficijent difuzije (D).

Veličina čestica se izračuna za translacijski koeficijent difuzije korištenjem Stokes-Einsteinove jednadžbe;

$$d(H)= \frac{kT}{3\pi\eta D}$$

gdje su: d(H) = hidrodinamički promjer, D = translacijski koeficijent difuzije, k = Boltzmannova konstanta, T = apsolutna temperatura i η = viskoznost.

Promjer koji je mjeren u DLS-u je vrijednost koja se odnosi na to kako čestica difundira unutar tekućine pa se naziva i hidrodinamičkim promjerom. Promjer koji je dobiven ovim postupkom je promjer sfere koja ima isti translacijski koeficijent difuzije kao čestica.

Svaka promjena na površini čestice, koja utječe na brzinu difuzije, mijenja prividnu veličinu čestice. Apsorbirani polimerni sloj, koji strši van u medij, će smanjiti brzinu difuzije više nego ako polimer leži na površini. Priroda površine i polimera, kao i ionska koncentracija medija, može utjecati na konformaciju polimera koja može promijeniti prividnu veličinu nekoliko nanometara. (www.malvern.com)

1.5.5. ZETA-POTENCIJAL

Zeta-potencijal je fizikalno svojstvo koje je izraženo na bilo kojoj čestici u suspenziji, na površini makromolekule ili materijala. Može se koristiti kako bi se optimizirala formulacija suspenzije, emulzije i otopine proteina, kako bi se predvidjele interakcije s površinom i optimiziralo stvaranje filma i premaza. Poznavanje zeta-potencijala može skratiti vrijeme potrebno za izradu određene formulacije. On se također može koristiti kao pomoć u predviđanju dugoročne stabilnosti. (www.malvern.com)

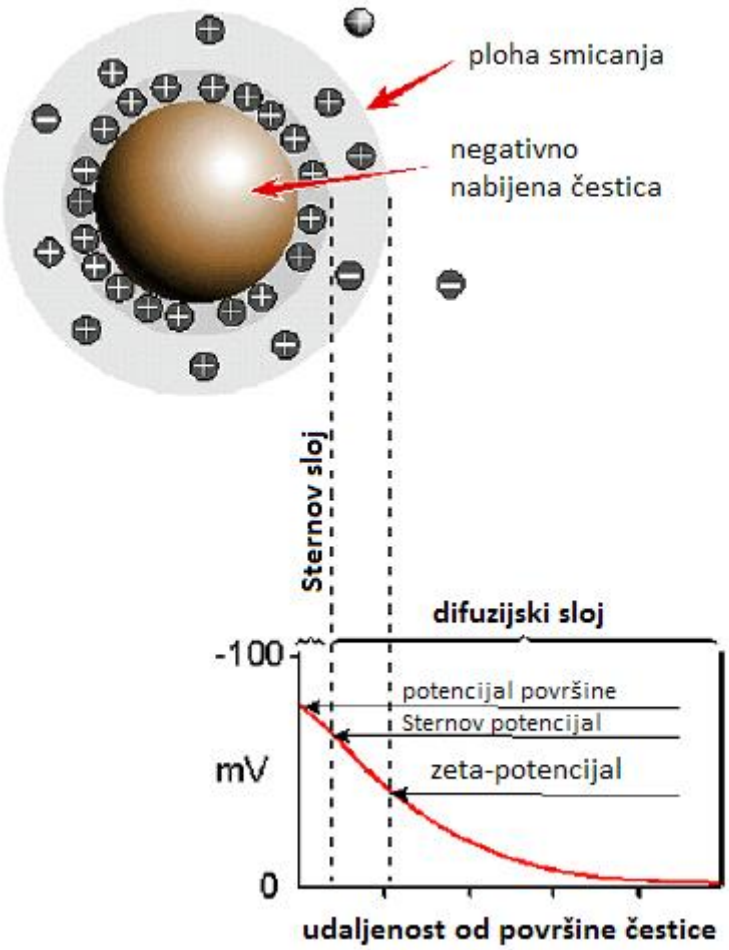
Površina čestica dispergirane faze može biti električki nabijena zbog suviška iona, što je prouzročeno adsorpcijom nekog iona iz otopine ili disocijacijom površinskih skupina. Na slici 4. negativno je nabijena površina čestice čvrste faze. Uz negativno nabijenu površinu nalaze se pozitivno nabijeni ioni u otopini tako da ih je uz samu površinu čestice najviše, a zatim se, s udaljenošću čestice prema „dubini“ otopine, broj pozitivnih i negativnih iona izjednačava. Opisana pojava naziva se dvostrukim električnim slojem. Neposredno uz česticu se nalazi sloj pozitivnih iona koji čine tzv. Sternov sloj, kojeg je debljina reda veličine iona. Drugi dio čini Gouy-Chapmanov sloj (difuzijski dio dvostrukog sloja). Debljina difuzijskog sloja δ, dana je recipročnom vrijednošću Debye-Hückelova parametra χ:

$$\delta=1/\chi.$$

Iz izraza proistječe da se debljina sloja smanjuje s koncentracijom elektrolita u sustavu.

Dvostruki električni sloj može se predočiti kao električni kondenzator od dviju suprotno nabijenih površina. Na slici 4. shematizirana je i promjena potencijala u sloju ovisno o udaljenosti od površine čestice. Potencijal na površini čestice ψ, maksimalan je, potom naglo opada (Sternov sloj), a zatim eksponencijalno (Gouy-Chapmanov sloj).

Nabijene dispergirane čestice putuju u električnom polju prema elektrodi suprotna predznaka, ta se pojava naziva elektroforetskom pokretljivošću. Zajedno s česticama giba se i Sternov sloj, te dio „vezanih“ molekula otapala. Može se zamisliti da se zajedno s česticom giba mali volumen medija odijeljen od ostalih molekula vode tzv. plohom smicanja. Potencijal na udaljenosti te plohe smicanja zove se elektrokinetički (ζ) zeta-potencijal. ζ-potencijal je važan jer se može relativno lako odrediti iz elektroforetske gibljivosti čestica, a o njemu i naboju na površini dispergirane faze ovisi stabilnost pripremljenih disperzija. (Jalšenjak i sur., 1998.)



Slika 4. Shematski prikaz zeta-potencijala

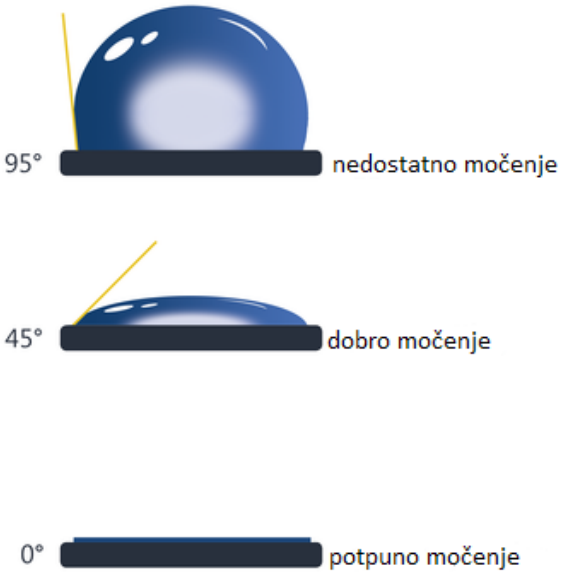
Ako sve čestice u suspenziji imaju veliki negativni ili pozitivni zeta-potencijal, onda će težiti međusobnom odbijanju i neće biti tendencije spajanja čestica. Međutim, ako čestice imaju niske vrijednosti zeta-potencijala, onda neće biti sile koja bi spriječila spajanje čestica i flokulaciju.

Općenito, kao razdjelnica između stabilnih i nestabilnih suspenzija je uzeto +30 ili -30 mV. Čestice s zeta-potencijalom pozitivnijim od +30 mV ili negativnijim od -30 mV obično se smatraju stabilnima. Međutim, ako čestice imaju gustoću veću od disperznog sredstva, iako se dispergiraju, one se istalože te tvore tijesno pakiran talog (tj. tvrdi kolač). (www.malvern.com)

1.5.6. KUT MOČENJA

Močenje čvrstih čestica tekućinama može se izraziti kutom močenja. To je granični kut kojega čini kapljica tekućine s površinom čvrste čestice, a može iznositi od 0 do 180°. Kad je kut dodira Θ=0, tekućina se potpuno rasprostire po površini čvrste čestice. Kod Θ<90° močenje se smatra dobrim, za Θ=90° djelomičnim, a pri Θ>90° nedostatnim. Kada je kut dodira 180°, nema nikakva močenja.

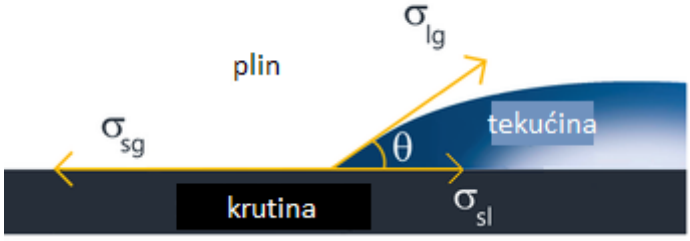
Močenje ponajprije ovisi o kemijskim značajkama čvrste supstancije. (Senjković, 2003.)



Slika 5. Kut močenja različitih materijala

Prema Youngovoj jednadžbi postoji veza između kuta močenja Θ, površinske napetosti tekućine σ_l, napetosti σ_{sl} između tekućine i krutine te površinske slobodne energije krutine σ_s:

$$\sigma_s = \sigma_{sl} + \sigma_l * \cos\Theta$$



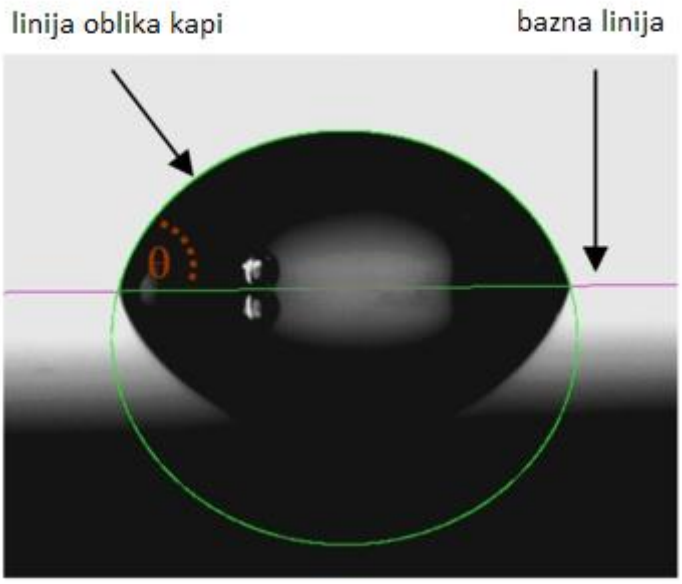
Slika 6. Shematski prikaz komponenata trofaznog sustava koje su značajne za močenje

Jednadžba vrijedi za trofazne sustave u termodinamičkoj ravnoteži, za idealne (s glatkom površinom i kemijski-homogene) krutine i čiste tekućine. Na tome se temelje svi modeli za određivanje površinske slobodne energije krutina pomoću izmjerenog kuta močenja.

DSA (analiza oblika kapi) je analitička metoda za određivanje kuta močenja iz slike sjene sjedeće kapi i površinske napetosti iz slike sjene viseće kapi.

Kap se mjeri na čvrstom uzorku (sjedeća kap) ili na vrhu igle (viseća kap). Slika kapi bilježi se uz pomoć kamere te se oblik kapi analizira softverom. Prepoznavanje kontura najprije se provodi na temelju analize sivih tonova slike. U drugom koraku je na konture postavljen geometrijski model koji opisuje oblik kapi.

Kut močenja je kut između izračunate funkcije oblika kapi i površine uzorka, projekcije, koja je na slici kapi nazvana baznom linijom. (www.kruss.de)



Slika 7. Sjedeća kap s ocrtanim konturama

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Pri izradi suspenzije važno je da čestice aktivne tvari budu ujednačene veličine te da je njihova veličina prikladna; trebaju biti dovoljno male da se sporije talože, ali pritom ne premale kako bi bile sklone aglomeraciji.

Za karakterizaciju aktivne supstancije korištene su sljedeće tehnike: optička mikroskopija, pretražna elektronska mikroskopija (SEM), laserska difrakcija svjetlosti pri niskom kutu (LALLS) i dinamičko raspršenje svjetlosti (DLS).

Glavni problemi koji se javljaju tijekom proizvodnje i čuvanja suspenzija su aglomeracija čestica i rast kristala. Kako bi se minimizirale te promjene veličine čestica, primarne čestice trebaju biti primjereno stabilizirane. Stabilizacija se provodi pomoću ionskih ili neionskih površinski-aktivnih tvari i polimernih stabilizatora, koji elektrostatski onemogućuju ili sterički sprječavaju privlačenje čestica.

U ovom radu ispitan je utjecaj vrste i količine površinski-aktivnih tvari i polimernih pomoćnih supstanci na stabilnost i resuspenzibilnost suspenzije. Od površinski-aktivnih tvari ispitani su natrijev dodecilsulfat (SDS) kao anionska površinski-aktivna tvar, cetiltrimetilamonijev bromid (CTAB) kao kationska površinski-aktivna tvar te polisorbat 80 (Tween 80) i polioksietilen lauril-eter (Brij 35) kao neionske površinski-aktivne tvari. Od polimernih pomoćnih supstancija ispitani su poloksamer 407 i hidroksipropil celuloza (HPC).

Stabilnost suspenzije ispitivana je pomoću zeta-potencijala, a utjecaj površinski-aktivnih tvari i polimernih stabilizatora na disperziju čestica određen je mikroskopskom analizom. Praćen je i utjecaj površinski-aktivnih tvari i polimernih stabilizatora na resuspenzibilnost suspenzija.

Prilikom proizvodnje suspenzije s mikročesticama ključni zahtjev za efikasno mljevenje je odgovarajuće močenje čestica. Močenje čestica također utječe na interakciju s drugim česticama prilikom proizvodnje i čuvanja proizvoda te time i na svojstva gotovog proizvoda. U ovom radu određen je kut močenja između posakonazola i odabranih površinski aktivnih tvari i polimernih stabilizatora.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. MATERIJALI

Instrumenti i pribor:

- Mastersizer 2000 (Malvern, UK)
- Zetasizer nano (Malvern, UK)
- optički mikroskop BX51 s kamerom Linkam 600 (Olympus, SAD)
- pretražni elektronski mikroskop JSM-5800 (Joel, Japan)
- instrument za mjerenje kuta močenja DSA100 (Krüss, Njemačka)
- hidraulična preša (Specac, UK)
- magnetska mješalica RT-15 (Ika, Njemačka)
- analitička vaga (Mettler Toledo, Švicarska)
- štoperica
- automatska pipeta (Eppendorf, Njemačka)
- kiveta za mjerenje veličine čestica Ref. 67.754 (Sarstedt, Njemačka)
- kiveta za mjerenje zeta-potencijala (Malvern, UK)
- filteri 0,8 μm od miješanih celuloznih estera (Merck Millipore, Irska)

Aktivne i pomoćne supstancije:

- posakonazol k.br. 1118/012 (Neuland, Indija)
- posakonazol k.br. 1118/047 (Neuland, Indija)
- posakonazol k.br. 1118/048 (Neuland, Indija)
- posakonazol k.br. 1118/076 (Neuland, Indija)
- natrijev dodecilsulfat, SDS (Merck, Njemačka)
- cetiltrimetilamonijev bromid, CTAB (Sigma, SAD)
- polisorbat 80, Tween 80 (Merck, Njemačka)
- polioksietilen lauril-eter, Brij 35 (Sigma, SAD)
- poloksamer 407 (BASF, Njemačka)
- hidroksipropil celuloza, HPC (Ashland, SAD)
- pročišćena voda

3.2. METODE

3.2.1. MORFOLOŠKA KARAKTERIZACIJA POSAKONAZOLA

3.2.1.1. Optička mikroskopija

Tri su moguća načina pripreme uzoraka za optičku mikroskopiju.

Jedan od načina je suha priprema, tj. mala količina posakonazola stavi se na predmetno stakalce te se promatra pod mikroskopom.

U drugom slučaju se mala količina posakonazola na stakalcu pomiješa s uljem, pokrije se pokrovnim stakalcem te se promatra uzorak pri različitim povećanjima (10x, 20x i 50x).

Treći način pripreme, koji se može koristiti kod supstancija netopljivih u vodi, jest priprema suspenzije koja se potom mikroskopira. 50 mg posakonazola se pomiješa s dvije kapi surfaktanta (polisorbat 80) te se potom postepeno razrijedi s 10 mL pročišćene vode. 2 μL tako pripremljene suspenzije se stavi na predmetno stakalce, pokrije se pokrovnim stakalcem te se promatra pri različitim povećanjima (10x, 20x i 50x). Suspenzija se po potrebi može razrijediti vodom. Na taj su način pripremljena i snimljena sva četiri uzorka: posakonazol k.br. 1118/012, posakonazol k.br. 1118/047, posakonazol k.br. 1118/048 i posakonazol k.br. 1118/076.

3.2.1.2. Pretražna elektronska mikroskopija (SEM)

Kako bi se pripremio za analizu pretražnim elektronskim mikroskopom, uzorak se pričvrsti na aluminijski stalak pomoću provodljive dvostrano-prijanjajuće vrpce te se obloži zlatom. Oblaganje zlatom vrši se pomoću Edwards S150 obloživača.

Pripremljeni uzorci (posakonazol k.br. 1118/012, posakonazol k.br. 1118/047, posakonazol k.br. 1118/048 i posakonazol k.br. 1118/076) mikroskopirani su pomoću Jeol JSM-5800 pretražnog mikroskopa pri povećanjima: 50x, 100x, 200x, 500x, 1000x, 2000x, 5000x i 10000x.

3.2.1.3. Laserska difrakcija svjetlosti pri niskom kutu (LALLS)

Za lasersku difrakciju posakonazola korištena je mokra metoda; disperzno sredstvo je tekućina. Pripremljena je suspenzija posakonazola miješanjem 50 mg posakonazola s dvije kapi polisorbata 80, što je postepeno razrijeđeno s 10 mL pročišćene vode.

Pri razvoju metode mijenjani su različiti uvjeti analize te je promatran njihov utjecaj na rezultate analize.

Za vrijednost refrakcijskog indeksa uzet je literaturni podatak: 1,657. Kao početna vrijednost apsorpcijskog indeksa izabrana je 0. Disperzno sredstvo je voda s pripadajućim refrakcijskim indeksom: 1,33. Izabran je model za opću namjenu (prikladan za većinu mljevenih uzoraka) s normalnom osjetljivošću i nepravilnim oblikom čestica.

S obzirom da duljina mjerenja ovisi o homogenosti uzorka, za prvo mjerenje zadano je vrijeme mjerenja uzorka 10 s te 10 s za mjerenje pozadinskog šuma. Zadana koncentracija je 10-20%. Mjerenje uzorka se odvija u 6 ciklusa iz kojih se izračuna srednja vrijednost.

Početni broj okretaja pumpe u minuti je 1750 rpm.

Promatran je utjecaj promjene duljine mjerenja (3 s, 5 s i 10 s) na kvalitetu rezultata. Potom je mijenjana brzina okretaja pumpe (1500 rpm, 1750 rpm i 2000 rpm) i promatran njezin utjecaj na rezultate. Mjerenja su ponovljena pri različitim koncentracijama: 2%, 5%, 10%, 20% i 25%. Također je praćen utjecaj različitih vrijednosti apsorpcijskog indeksa (0; 1; 0,1; 0,01; 0,001) na oblik krivulje, čija se vjerodostojnost može provjeriti usporedbom s rezultatima pretražne elektronske mikroskopije.

Metoda je razvijana na uzorku posakonazola k.br. 1118/012, ostali uzorci posakonazola snimljeni su pri uvjetima koji su se pokazali zadovoljavajući:

- duljina mjerenja: 3 s;
- brzina okretaja pumpe: 1750 rpm;
- koncentracija: 10-20%;
- apsorpcijski indeks: 1.



Slika 8. Mastersizer 2000, Malvern

3.2.1.4. Dinamičko raspršenje svjetlosti (DLS)

Za DLS-analizu je pripremljena suspenzija posakonazola analogna suspenziji za lasersku difrakciju te je profiltrirana kroz filter od 0,8 μm u kivetu za mjerenje veličine čestica.



a)



b)

Slika 9.a) jednokratni filter 0,8 μm od mješanih celuloznih estera (Merck Millipore)
b) jednokratna kiveta za mjerenje veličine čestica Ref. 67.754 (Sarstedt)

Zadani su refrakcijski indeks (1,675) i apsorpcijski indeks (1) za posakonazol te temperatura (25°C), viskoznost (0,8875 cP) i refrakcijski indeks (0,330) disperznog sredstva (vode). Viskoznost suspenzije se može izjednačiti s viskoznošću disperznog sredstva. Duljina mjerenja je automatska.

3.2.2. PRIPREMA SUSPENZIJA POSAKONAZOLA

Prije pripreme samih suspenzija posakonazola potrebno je pripremiti otopine površinski-aktivnih tvari i polimernih pomoćnih supstancija. Izvaže se 500 mg pomoćne tvari te se u odmjernoj tikvici od 50 mL nadopuni pročišćenom vodom do oznake. Otopine se miješaju magnetskom mješalicom do potpunog otapanja. Na taj način pripremljene su otopine anionske površinski-aktivne tvari (natrijeva dodecilsulfata), kationske površinski-aktivne tvari (cetiltrimetilamonijeva bromida), neionskih površinski-aktivnih tvari (polisorbata 80 i polioksietilen lauril-etera) te polimera (poloksamera 407 i hidroksipropil celuloze) u koncentracijama 10 mg/mL.

Suspenzije posakonazola pripremane su u omjerima 10:1 i 100:1 aktivne tvari i pomoćne tvari.

Za suspenziju 10:1 odvaže se 400 mg posakonazola te se pomiješa postepenim dodavanjem 4 mL otopine pomoćne tvari (10 mg/mL) te se nadopuni vodom do 10 mL. Na taj način dobiveno je šest suspenzija s koncentracijom posakonazola 40 mg/mL te svaka s različitom pomoćnom tvari u koncentraciji od 4 mg/mL:

- posakonazol : SDS
- posakonazol : CTAB
- posakonazol : Tween 80
- posakonazol : Brij 35
- posakonazol : poloksamer 407
- posakonazol : HPC

Suspenzija 100:1 pripremi se na način da se 80 mg aktivne tvari pomiješa s 0,08 mL otopine pomoćne tvari (10 mg/mL) te se dopuni vodom do 2 mL. Koncentracija posakonazola je 40 mg/mL, a pomoćne tvari 0,4 mg/mL. Dobiveno je šest različitih suspenzija.

Novi niz suspenzija sadržavao je kombinacije posakonazola te površinski-aktivne tvari i polimerne pomoćne supstancije u omjeru 100:1:1. 400 mg posakonazola pomiješa se s 0,4 mL površinski-aktivne tvari (10 mg/mL), čemu se doda 0,4 mL polimerne pomoćne supstancije (10 mg/mL). Na isti način pripremljen je i niz suspenzija s obrnutim redoslijedom dodavanja pomoćnih tvari (polimerna pomoćna supstancija pa površinski-aktivna tvar). Pripremljene se sljedeće kombinacije:

- posakonazol : poloksamer 407 : SDS
- posakonazol : SDS : poloksamer 407
- posakonazol : poloksamer 407: Tween 80
- posakonazol : Tween 80 : poloksamer 407
- posakonazol : poloksamer 407 : Brij 35
- posakonazol : Brij 35 : poloksamer 407
- posakonazol : HPC : SDS
- posakonazol : SDS : HPC
- posakonazol : HPC : Tween 80
- posakonazol : Tween 80 : HPC
- posakonazol : HPC : Brij 35
- posakonazol : Brij 35 : HPC

3.2.3. ISPITIVANJE SUSPENZIJA

3.2.3.1. Zeta-potencijal

Za mjerenje zeta-potencijala pripremljene suspenzije razrijeđene su s vodom (0,5 mL suspenzije s 5 mL vode). S obzirom na nestabilan signal prilikom mjerenja (zbog sedimentacije velikih čestica), razrijeđene suspenzije su profiltrirane kroz 0,8 μm filter te su ponovljena mjerenja.

Zadani su refrakcijski indeks (1,675) i apsorpcijski indeks (1) za posakonazol te temperatura (25°C), viskoznost (0,8875 cP), refrakcijski indeks (0,330) i dielektrična konstanta (78,5) disperznog sredstva (vode). Korišten je Smoluchowskijev model te je viskoznost disperznog sredstva prihvaćena kao viskoznost suspenzije. Za mjerenje zeta-potencijala korištene su kapilarne ćelije DTS1060. Duljina mjerenja je automatska. Svaka suspenzija pripremana je dvaput te su iz svake pripreme mjerena dva uzorka.



Slika 10. Jednokratne kapilarne ćelije za mjerenje zeta-potencijala DTS1061 (Malvern)

3.2.3.2. Mikroskopska analiza

S obzirom da su primarne suspenzije za mikroskopsku analizu bile previše guste te su davale nejasnu sliku, razrijeđene su s vodom u omjeru 1:10 te su potom promatrane i snimljene pri različitim povećanjima (10x, 20x i 50x).

3.2.3.3. Izgled suspenzija

Nakon 48 sati mirovanja promatran je izgled suspenzija: zamućenost, prisutnost taloga te visina kolača.

3.2.3.4. Resuspenzibilnost

Nakon 48 sati mirovanja mjereno je vrijeme potrebno za resuspendiranje. Suspenzije su potresivane brzinom od 150 potresa u minuti te su zabilježena vremena potrebna za homogenizaciju pojedinačnih suspenzija.

3.2.4. KUT MOČENJA

Za mjerenje kuta močenja potrebno je izraditi komprimate aktivne supstancije pomoću hidraulične preše. Komprimati posakonazola izrađeni su pod tlakom od 1,5 bar.



Slika 11. Ručna hidraulična preša (Specac)

Otopine površinski-aktivnih tvari i polimernih pomoćnih tvari unesene su u jednokratne plastične injekcije te su pojedinačno pričvršćivane na instrument za mjerenje kuta močenja. Komprimat posakonazola postavljen je na stolić ispod injekcije. Prije mjerenja kuta močenja pomoćnih tvari, izmjeren je kut močenja vode.

Nakon ispuštanja kapljice računalo napravi niz mjerenja od kojih je kao mjerodavno uzeto mjerenje nakon što se kapljica smiri. Korištena je Laplace-Youngova metoda izračuna kuta močenja.

Mjerenja su ponovljena dvaput sa svakom otopinom pomoćnih tvari (natrijevim dodecilsulfatom, cetiltrimetilamonijevim bromidom, polisorbatom 80, polioksietilen lauril-eterom, poloksamerom 407 i hidroksipropil celulozom) u koncentracijama 10mg/mL te je izračunata srednja vrijednost.



Slika 12. Instrument za mjerenje kuta močenja DSA100 (Krüss)

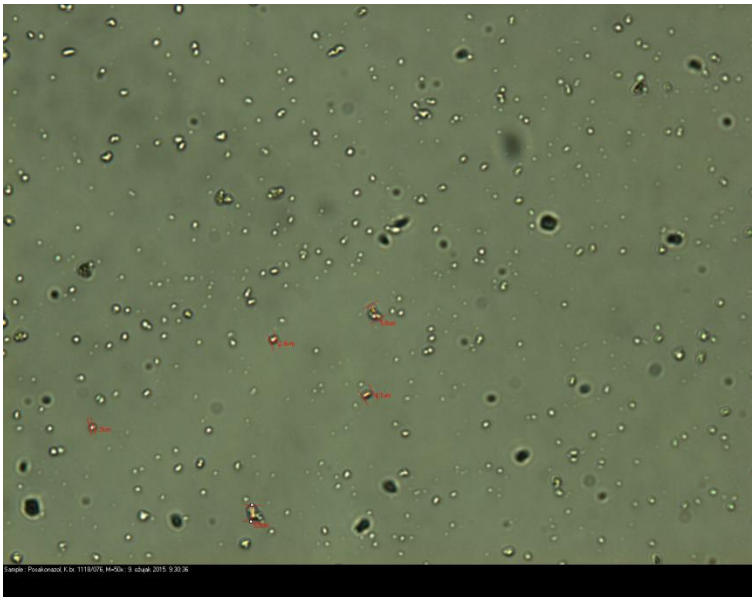
4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. MORFOLOŠKA KARAKTERIZACIJA POSAKONAZOLA

4.1.1. OPTIČKA MIKROSKOPIJA

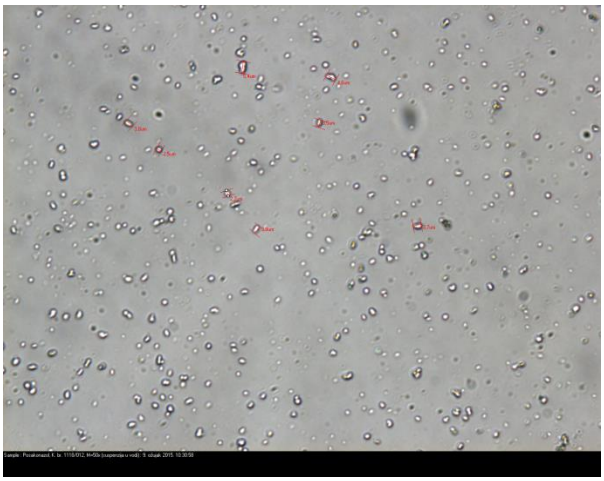
Suha priprema mikroskopskog preparata nije se pokazala dovoljno dobrom, čestice posakonazola su u nakupinama te ih je kao takve teško okarakterizirati.

Uljni preparat je dao jasnu sliku, ali, s obzirom da je posakonazol slabo topljiv u vodi te se za daljnja ispitivanja koriste suspenzije posakonazola, svi uzorci posakonazola mikroskopirani su u obliku suspenzije.

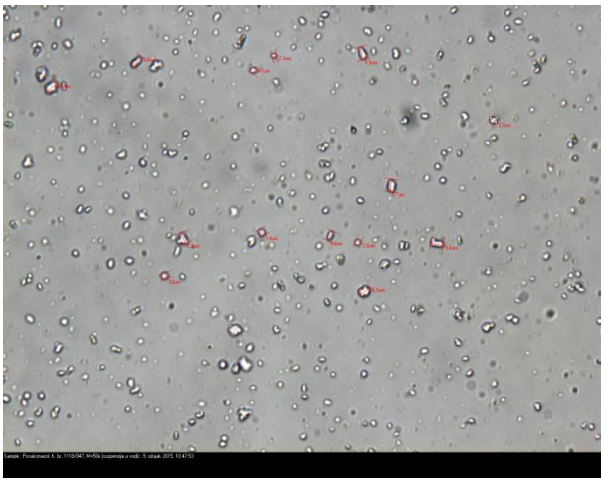


Slika 13. Mikroskopska slika posakonazola k.br. 1118/076 u ulju pri povećanju 50x.

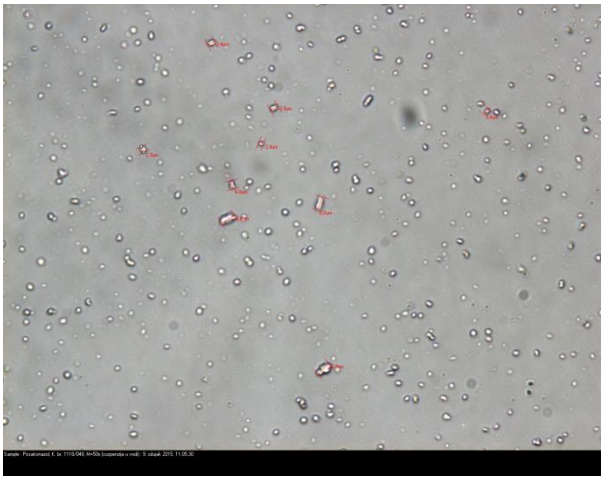
Mikroskopiranjem suspenzija promatrane su veličine čestica različitih uzoraka posakonazola. U svim uzorcima 90% čestica je manje od 5 μm. Uzorak posakonazola k.br. 1118/047 ima nešto veći udio krupnijih čestica (3-5 μm) u odnosu na ostale uzorke. Uzorci k.br. 1118/012, k.br. 1118/048 i k.br. 1118/076 imaju podjednaku raspodjelu veličina čestica.



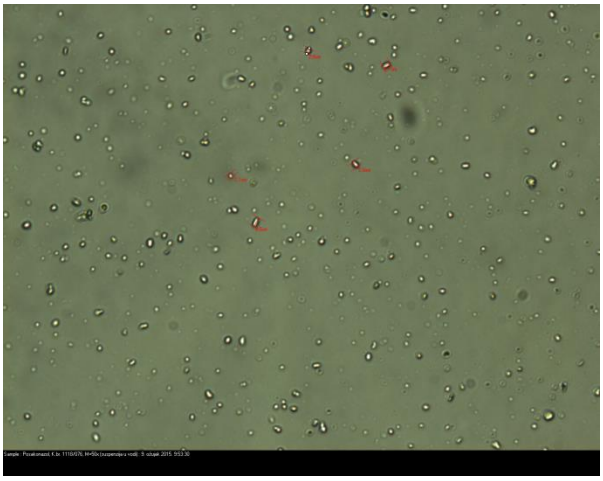
Slika 14. Posakonazol k.br.1118/012, M=50x



Slika 15. Posakonazol k.br.1118/047, M=50x



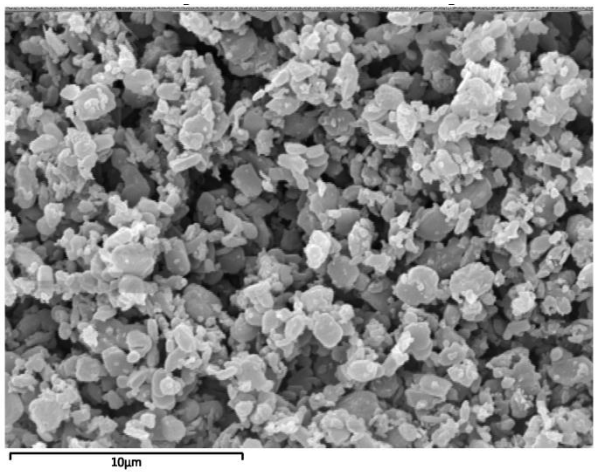
Slika 16. Posakonazol k.br. 1118/048, M=50x



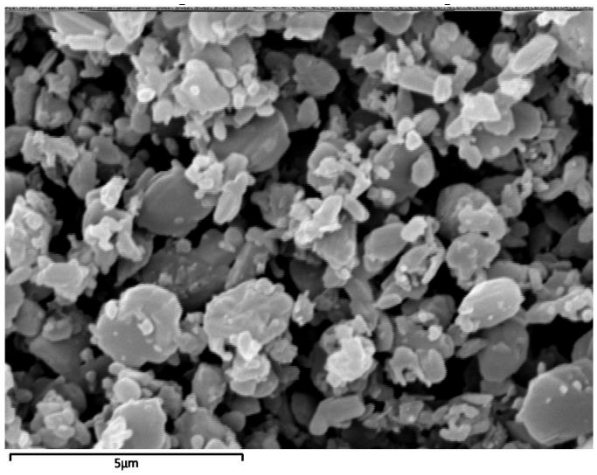
Slika 17. Posakonazol k.br. 1118/076, M=50x

4.1.2. PRETRAŽNA ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA

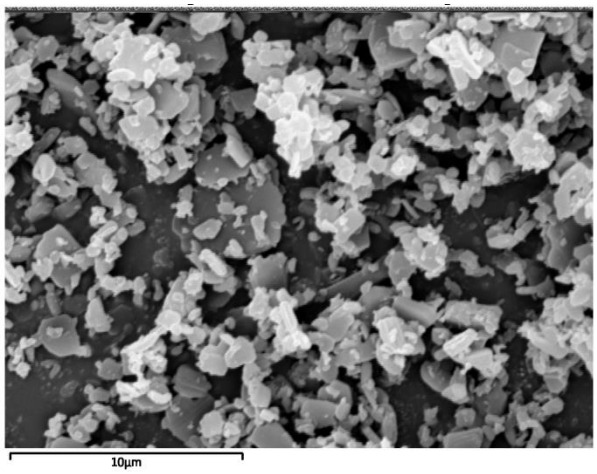
Pretražnim elektronskim mikroskopom promatrana je morfologija i veličina čestica uzoraka posakonazola pri različitim povećanjima. Uočeno je da su čestice nepravilnog oblika te su veličine čestica u rasponu od 0,1 μm do 5 μm.



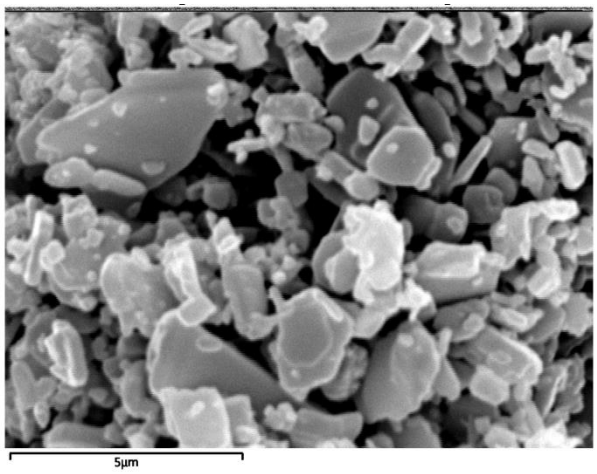
Slika 18. Posakonazol k.br. 1118/012, M=5000x



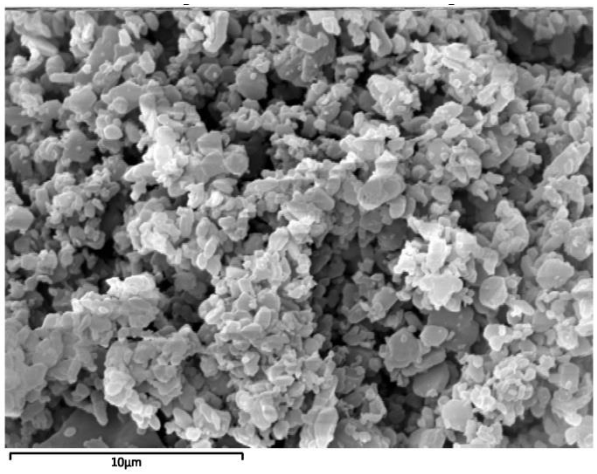
Slika 19. Posakonazol k.br. 1118/012, M=10000x



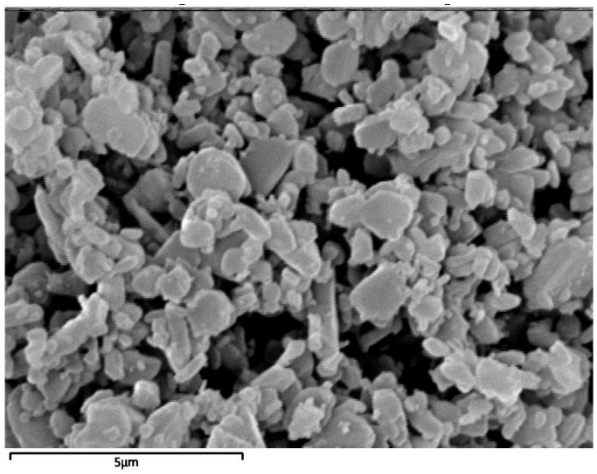
Slika 20. Posakonazol k.br. 1118/047, M=5000



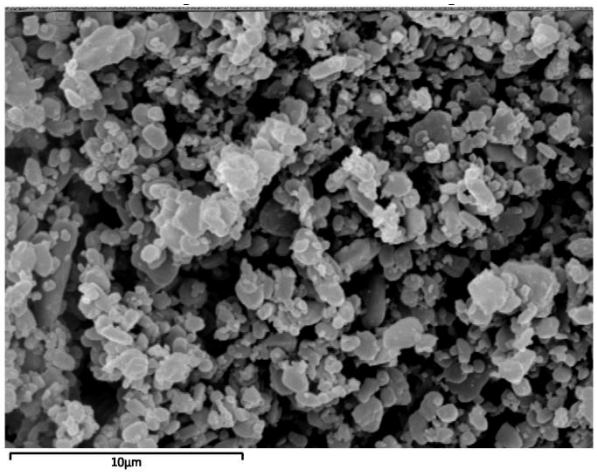
Slika 21. Posakonazol k.br. 1118/047, M=10000x



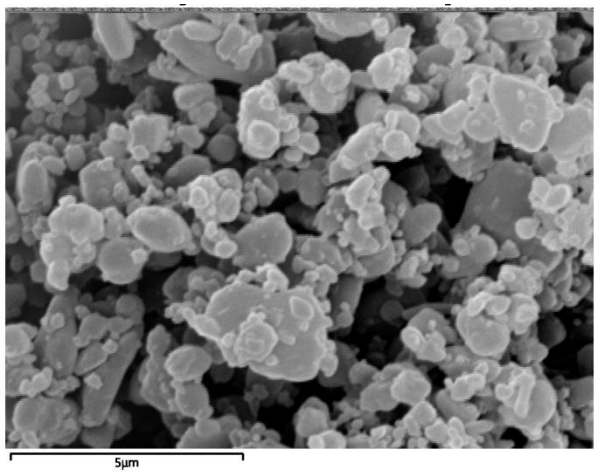
Slika 22. Posakonazol k.br. 1118/048, M=5000x



Slika 23. Posakonazol k.br. 1118/048, M=10000x



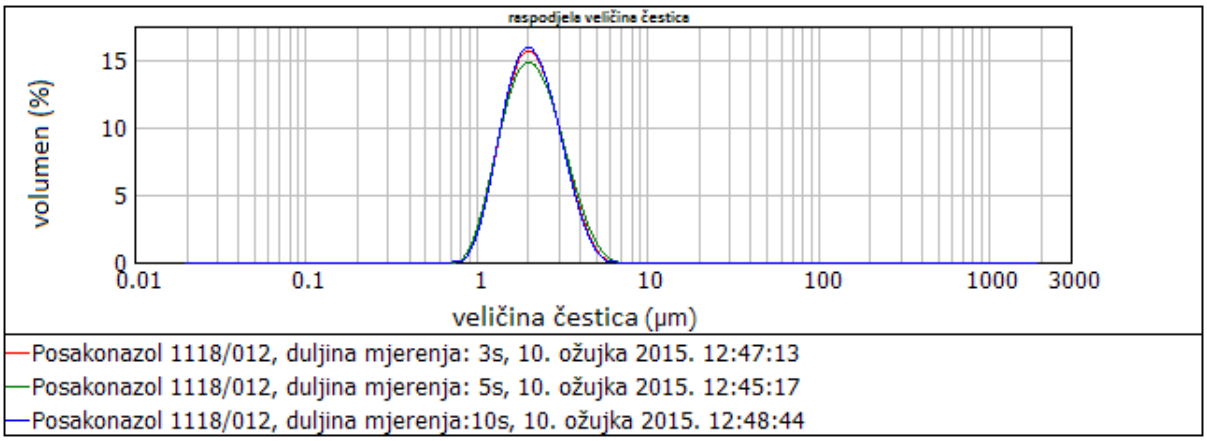
Slika 24. Posakonazol k.br. 1118/076, M=5000x



Slika 25. Posakonazol k.br. 1118/076, M=10000x

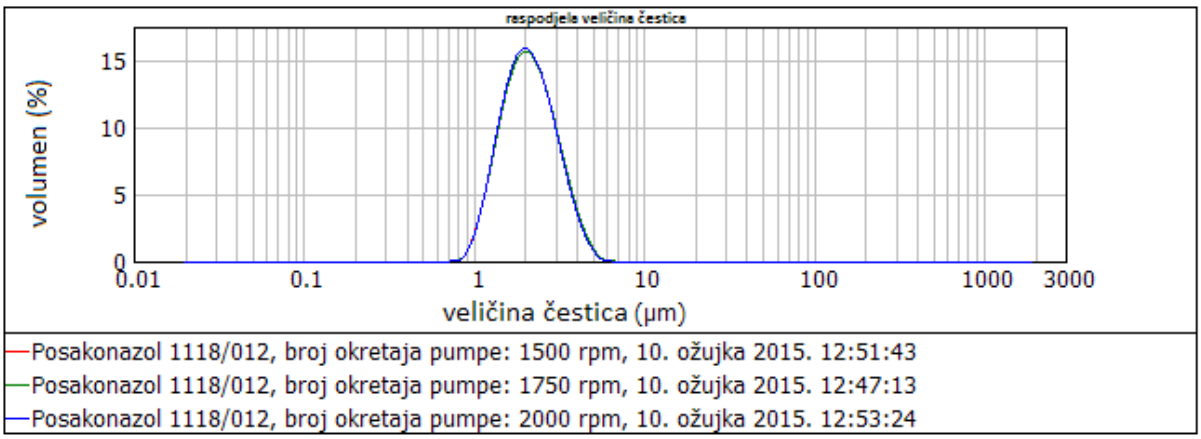
4.1.3. LASERSKA DIFRAKCIJA SVJETLOSTI PRI NISKOM KUTU

Mijenjanjem duljine mjerenja dobiveni su jednako kvalitetni rezultati te je za daljnja mjerenja odabrana duljina od 3s.



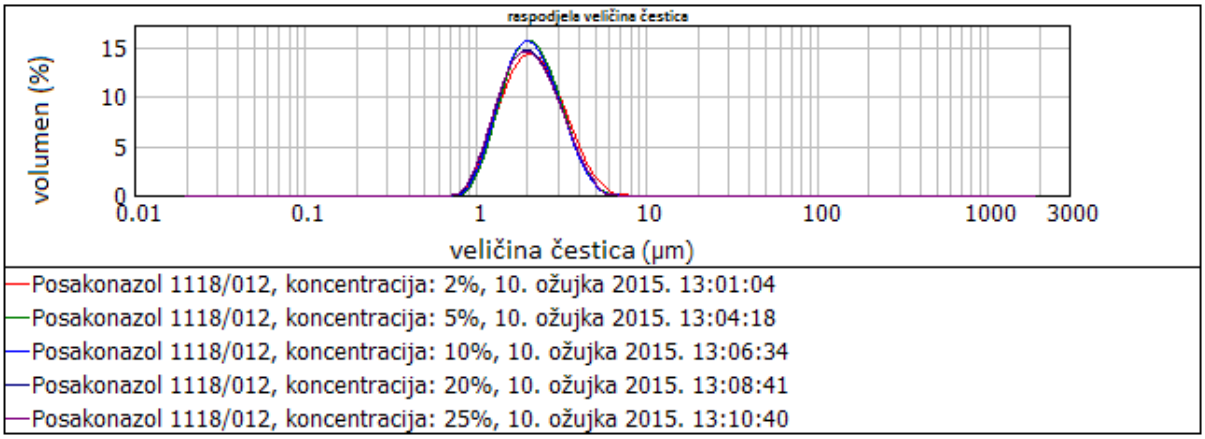
Slika 26. Utjecaj promjene duljine mjerenja na rezultate mjerenja

Promjena broja okretaja pumpe u rasponu od 1500 do 2000 broja okretaja u minuti nije utjecala na rezultat, stoga je za daljnja mjerenja korištena brzina od 1750 rpm.



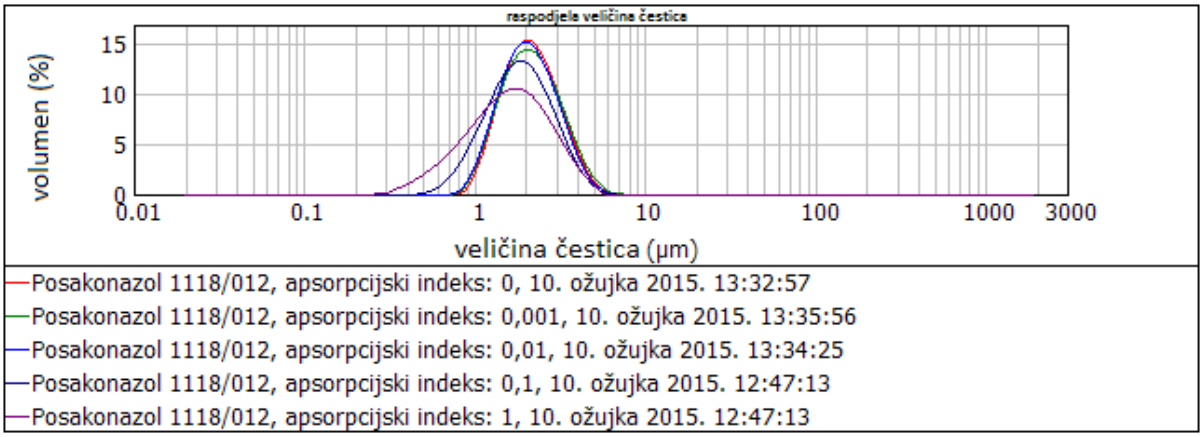
Slika 27. Utjecaj promjene brzine pumpe na rezultate mjerenja

Mjerenjem različitih koncentracija posakonazola (2-25%) nije se bitno mijenjao prosječni rezultat, ali pri koncentraciji od 2% signal je bio nestabilan (velik rasap rezultata) te je veća mogućnost pogreške mjerenjem pri toj koncentraciji. Za metodu će se koristiti koncentracije 10-20%.



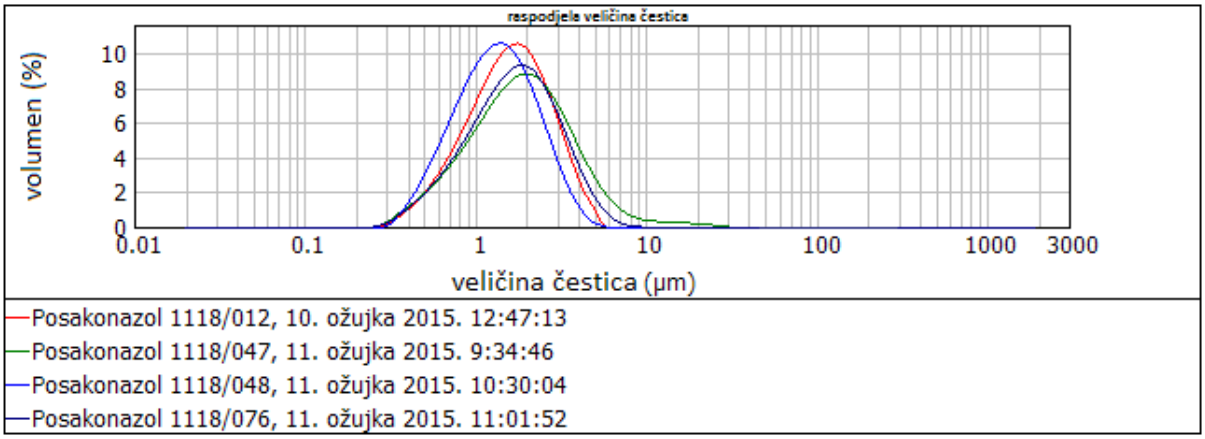
Slika 28. Utjecaj koncentracije na rezultate mjerenja

Mijenjanjem apsorpcijskog indeksa dobiveni su različiti oblici krivulja, tj. različiti udjeli određene veličine čestica. S obzirom da je analizom pretražnim elektronskim mikroskopom utvrđeno da su prisutne i čestice veličine od 0,2 µm, mjerodavnom se smatra krivulja dobivena s apsorpcijskim indeksom 1.



Slika 29. Utjecaj vrijednosti apsorpcijskog indeksa na rezultate mjerenja

Pri optimalnim uvjetima snimljeni su i ostali uzorci te su potvrđeni rezultati mikroskopske analize; uzorak 1118/047 ima najveći udio krupnijih čestica dok uzorak 1118/048 ima najsitnije čestice.

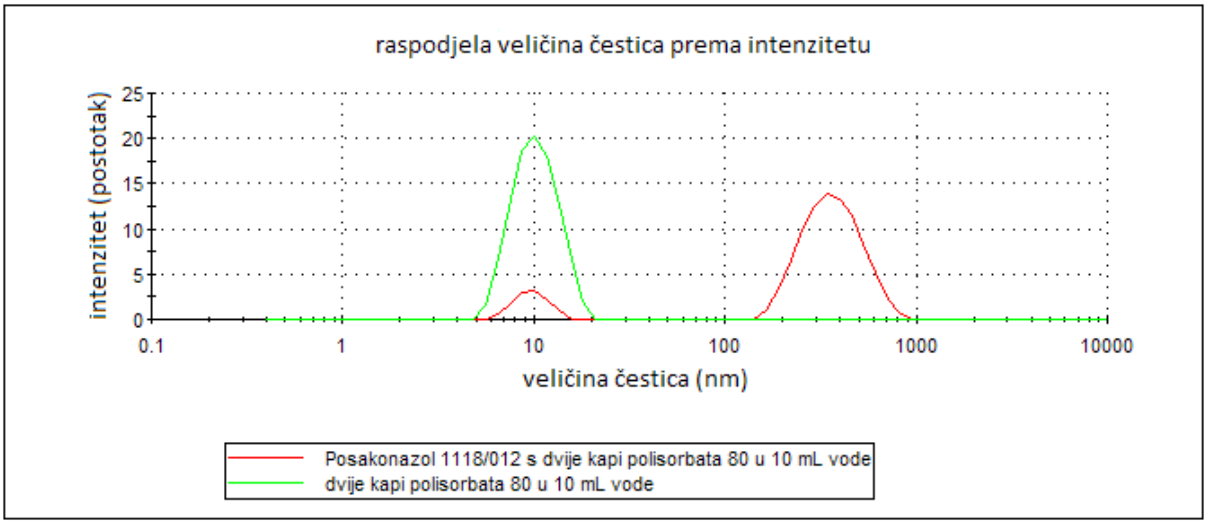


Slika 30. Raspodjela veličina čestica različitih uzoraka posakonazola

4.1.4. DINAMIČKO RASPRŠENJE SVJETLOSTI

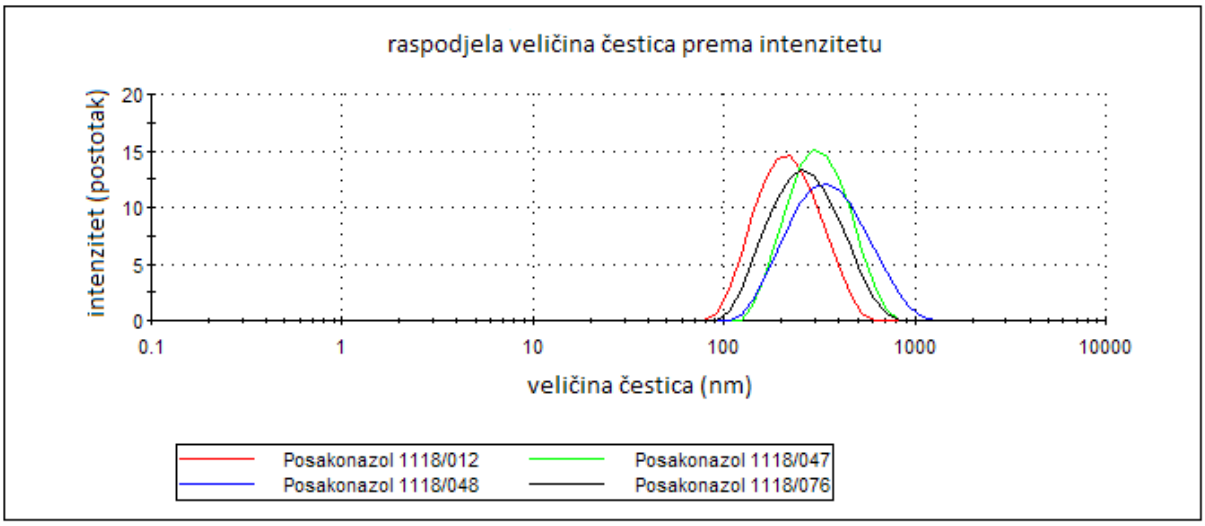
DLS-om su promatrane frakcije uzoraka manje od 0,8 µm.

Pri razvoju metode snimanjem prvog uzorka dobivena su dva pika. Provjerena je mogućnost dosezanja kritične micelarne koncentracije polisorbata 80 mjerenjem njega samog u vodi bez posakonazola. Tim mjerenjem dobiven je jedan pik pri 10 nm na istom mjestu kao i u mjerenju s aktivnom supstancijom te je potvrđena prisutnost micela.



Slika 31. Identifikacija micela polisorbata 80 dobivena DLS tehnikom

Uzorci su potom mjereni s manjom koncentracijom polisorbata 80 (1 kap u 10 mL vode) koja je očito bila manja od kritične micelarne koncentracije jer se pik pri 10 nm više nije pojavljivao. Potvrđeno je da uzorci sadrže najsitnije čestice od 0,1 µm.



Slika 32. Raspodjela veličina čestica manjih od 0,8 µm različitih uzoraka posakonazola

4.2. KARAKTERIZACIJA SUSPENZIJA

4.2.1. ZETA-POTENCIJAL

Vrijednosti zeta-potencijala suspenzija proporcionalne su naboju površinski-aktivnih tvari i površinskih stabilizatora. Promatrajući ih u različitim omjerima aktivne tvari i pomoćnih tvari vidljivo je da su suspenzije stabilnije (imaju veću vrijednost zeta-potencijala) u omjeru 100:1; izuzevši suspenzije s kationskom i anionskom površinski-aktivnom tvari, što možemo zanemariti jer su i pri omjeru 100:1 vrijednosti zeta-potencijala dovoljno visoke.

Uzevši u obzir samo vrijednosti zeta-potencijala, suspenzije sa natrijevim dodecilsulfatom (SDS-om) kao anionski površinski-aktivnom tvari, cetiltrimetilamonijevim bromidom (CTAB-om) kao kationski površinski-aktivnom tvari, čine se najstabilnije. Zeta-potencijal suspenzija s polimernim pomoćnim tvarima (poloksamerom 407 i hidroksipropil celulozom) su vrlo niske jer one ne stabiliziraju suspenziju elektrostatski već sterički, stoga će se njihova stabilnost moći utvrditi ostalim promatranim parametrima.

Tablica 1. Vrijednosti zeta-potencijala suspenzija posakonazola izrađenih s različitim pomoćnim tvarima u omjerima aktivne i pomoćne tvari 10:1 i 100:1

ime uzorka	zeta-potencijal (mV)	
	10:1	100:1
posakonazol : SDS	-42,00	-32,20
posakonazol : CTAB	71,10	48,80
posakonazol : Tween 80	-14,90	-18,40
posakonazol : Brij 35	-5,70	-14,10
posakonazol : poloksamer 407	-6,05	-9,32
posakonazol : HPC	-3,05	-4,74

Potom su izrađene suspenzije s kombinacijama površinski-aktivnih tvari i polimernih pomoćnih tvari kako bi se sjedinjavanjem elektrostatske i steričke stabilizacije dobile stabilnije suspenzije. Cetiltrimetilamonijev bromid (CTAB) je izuzet iz daljnih ispitvanja jer se paralelnim ispitivanjem resuspenzibilnosti utvrdilo da se njegova suspenzija vrlo teško resuspendira što nije poželjno za farmaceutsku suspenziju. Kombinirane suspenzije su

izrađene miješanjem preostalih površinski-aktivnih tvari (natrijev dodecilsulfat, polisorbat 80 Tween 80 i polioksietilen lauril-eter) s polimerima (poloksamer 407 i hidroksipropil celuloza). Tijekom izrade uočeno je da se, s obzirom na redoslijed dodavanja pomoćnih tvari prilikom miješanja aktivne tvari, dobivaju različite vrijednosti zeta-potencijala te su sve kombinacije pripremljene na dva načina.

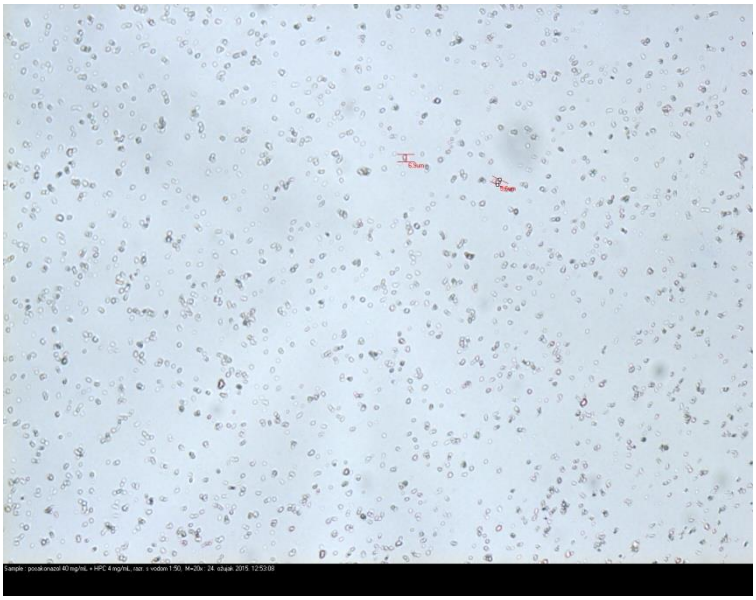
Tablica 2. Vrijednosti zeta-potencijala suspenzija posakonazola izrađenih kombiniranjem površinski-aktivnih tvari i polimernih pomoćnih tvari

ime uzorka 100:1:1	zeta-potencijal (mV)
posakonazol : poloksamer 407 : SDS	-12,30
posakonazol : SDS : poloksamer 407	-14,00
posakonazol : poloksamer 407: Tween 80	-11,80
posakonazol : Tween 80 : poloksamer 407	-14,80
posakonazol : poloksamer 407 : Brij 35	-11,70
posakonazol : Brij 35 : poloksamer 407	-8,10
posakonazol : HPC : SDS	-13,00
posakonazol : SDS : HPC	-10,10
posakonazol : HPC : Tween 80	-4,91
posakonazol : Tween 80 : HPC	-6,90
posakonazol : HPC : Brij 35	-4,91
posakonazol : Brij 35 : HPC	-5,66

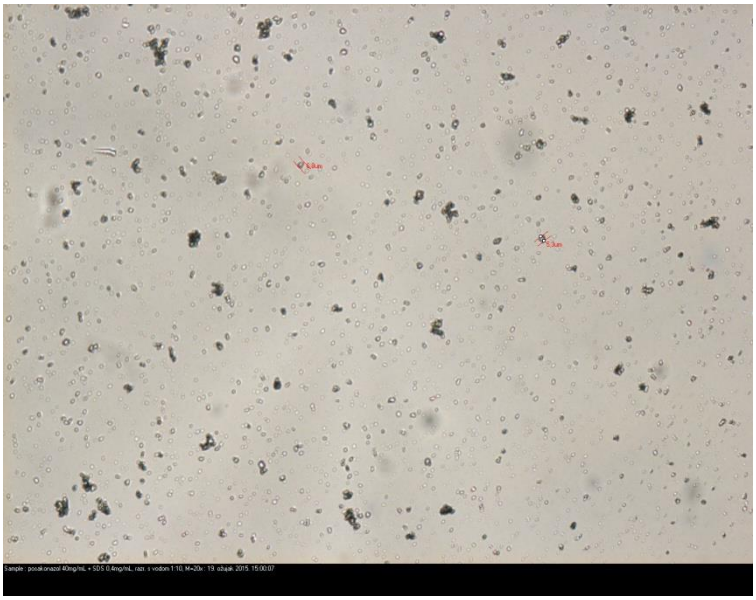
Od kombiniranih suspenzija najprihvatljivije vrijednosti zeta-potencijala imaju posakonazol:Tween 80:poloksamer 407, posakonazol:SDS:poloksamer 407 te posakonazol: HPC:SDS. S obzirom da ni ostale suspenzije nemaju puno manji zeta-potencijal, njihova kvaliteta utvrdit će se daljnim ispitivanjima.

4.2.2. MIKROSKOPSKA ANALIZA

Suspenzije s polimerima su dale vrlo lijepe mikroskopske slike bez prisutnosti aglomerata dok su u većini suspenzija s površinski-aktivnim tvarima prisutni veći ili manji aglomerati.



Slika 33. Primjer suspenzije bez aglomerata (posakonazol:HPC=10:1), M=20x



Slika 34. Primjer suspenzije s aglomeratima (posakonazol:SDS=100:1), M=20x

Tablica 3. Rezultati mikroskopske analize suspenzija posakonazola izrađenih s različitim pomoćnim tvarima u omjerima aktivne i pomoćne tvari 10:1 i 100:1

ime uzorka	izgled	
	10:1	100:1
posakonazol : SDS	sitni aglomerati	sitni aglomerati
posakonazol : CTAB	bez aglomerata	aglomerati
posakonazol : Tween 80	krupni aglomerati	bez aglomerata
posakonazol : Brij 35	sitni aglomerati	aglomerati
posakonazol : poloksamer 407	bez aglomerata	bez aglomerata
posakonazol : HPC	bez aglomerata	bez aglomerata

Kombinirane suspenzije dale su bolje rezultate, većina ih je bez aglomerata. Suspenzije s aglomeratima (posakonazol:SDS:poloksamer 407, posakonazol:poloksamer 407: Brij 35, posakonazol:Brij 35:poloksamer 407, posakonazol:Tween 80:HPC, posakonazol:HPC :Brij 35 te posakonazol:Brij 35:HPC) nisu primjerene za izradu gotovog oblika.

Tablica 4. Rezultati mikroskopske analize suspenzija posakonazola izrađenih kombiniranjem površinski-aktivnih tvari i polimernih pomoćnih tvari

ime uzorka	izgled
100:1:1	
posakonazol : poloksamer 407 : SDS	bez aglomerata
posakonazol : SDS : poloksamer 407	aglomerati
posakonazol : poloksamer 407: Tween 80	bez aglomerata
posakonazol : Tween 80 : poloksamer 407	bez aglomerata
posakonazol : poloksamer 407 : Brij 35	sitni aglomerati
posakonazol : Brij 35 : poloksamer 407	sitni aglomerati
posakonazol : HPC : SDS	bez aglomerata
posakonazol : SDS : HPC	bez aglomerata
posakonazol : HPC : Tween 80	bez aglomerata
posakonazol : Tween 80 : HPC	sitni aglomerati
posakonazol : HPC : Brij 35	aglomerati
posakonazol : Brij 35 : HPC	aglomerati

4.2.3. IZGLED SUSPENZIJA

Nakon 48 sati mirovanja promatran je izgled suspenzija. Poželjno je da je suspenzija ostala zamućena te da je visina taloga što veća, što je dobra predispozicija za brzo resuspendiranje. U tablici 6. oznaka visine taloga 2 opisuje dvostruko veću visinu taloga od visine taloga 1.

Tablica 5. Izgled suspenzija posakonazola s različitim pomoćnim tvarima u omjerima aktivne i pomoćne tvari 10:1 i 100:1 nakon 48 sati mirovanja

ime uzorka	izgled	
	10:1	100:1
posakonazol : SDS	mutna	bistra
posakonazol : CTAB	mutna	bistra
posakonazol : Tween 80	bistra	bistra
posakonazol : Brij 35	mutna	bistra
posakonazol : poloksamer 407	bistra	bistra
posakonazol : HPC	bistra	bistra

Poželjan izgled suspenzija ostvaren je samo kod suspenzija s natrijevim dodecilsulfatom, cetiltrimetilamonijevim bromidom i polioksietilen lauril-eterom pri omjeru aktivne tvari i pomoćne tvari 10:1. Veća koncentracija navedenih površinski-aktivnih tvari pridonijela je sprječavanju taloženja čestica posakonazola.

Tablica 6. Izgled i visina taloga suspenzija posakonazola izrađenih kombiniranjem površinski-aktivnih tvari i polimernih pomoćnih tvari nakon 48 sati mirovanja

ime uzorka 100:1:1	izgled	visina taloga
posakonazol : poloksamer 407 : SDS	polumutna	1
posakonazol : SDS : poloksamer 407	polumutna	1
posakonazol : poloksamer 407: Tween 80	polumutna	1
posakonazol : Tween 80 : poloksamer 407	polumutna	1
posakonazol : poloksamer 407 : Brij 35	mutna	1
posakonazol : Brij 35 : poloksamer 407	bistra	1
posakonazol : HPC : SDS	mutna	1
posakonazol : SDS : HPC	mutna	1
posakonazol : HPC : Tween 80	bistra	2
posakonazol : Tween 80 : HPC	bistra	2
posakonazol : HPC : Brij 35	bistra	2
posakonazol : Brij 35 : HPC	bistra	2

4.2.4. RESUSPENZIBILNOST

Poželjno je da se suspenzija laganim protresanjem što brže resuspendira te je stoga praćeno vrijeme potrebno za resuspendiranje pojedinih suspenzija.

Tablica 7. Vrijeme resuspenzibilnosti suspenzija posakonazola s različitim pomoćnim tvarima u omjerima aktivne i pomoćne tvari 10:1 i 100:1 nakon 48 sati mirovanja, brzinom od 150 protresa u 60 sekundi

ime uzorka	vrijeme (s)	
	10:1	100:1
posakonazol : SDS	265	80
posakonazol : CTAB	427	>1800
posakonazol : Tween 80	30	20
posakonazol : Brij 35	100	3
posakonazol : poloksamer 407	7	2
posakonazol : HPC	5	2

Suspenzije s kationskom i anionskom površinski-aktivnom tvari pokazale su tešku resuspenzibilnost dok su suspenzije s neionskim površinski-aktivnim tvarima i s polimerima imale kraće vrijeme resuspendiranja pri omjeru 100:1 aktivne i pomoćne tvari.

Kombinirane suspenzije s HPC-om pokazale su znatno bolju resuspenzibilnost od suspenzija s poloksamerom 407.

Tablica 8. Vrijeme resuspenzibilnosti suspenzija posakonazola izrađenih kombiniranjem površinski-aktivnih tvari i polimernih pomoćnih tvari nakon 48 sati mirovanja, brzinom od 150 protresa u 60 sekundi

ime uzorka 100:1:1	vrijeme (s)
posakonazol : poloksamer 407 : SDS	>1800
posakonazol : SDS : poloksamer 407	>1800
posakonazol : poloksamer 407: Tween 80	3
posakonazol : Tween 80 : poloksamer 407	45
posakonazol : poloksamer 407 : Brij 35	320
posakonazol : Brij 35 : poloksamer 407	7
posakonazol : HPC : SDS	6
posakonazol : SDS : HPC	20
posakonazol : HPC : Tween 80	3
posakonazol : Tween 80 : HPC	3
posakonazol : HPC : Brij 35	3
posakonazol : Brij 35 : HPC	3

4.3. KUT MOČENJA

Kut močenja određen je za vodu, za sve pojedinačne pomoćne tvari te za kombinacije oba polimera sa svim ispitanim površinski-aktivnim tvarima, osim s cetiltrimetilamonijevim bromidom. Sve pomoćne tvari smanjuju kut močenja u odnosu na čistu vodu. Najniži kut močenja pokazuju kombinacije polimera (poloksamera 407 i hidroksipropil celuloze) s natrijevim dodecilsulfatom (SDS-om), što znači da najbolje oblažu čestice posakonazola.

Tablica 9. Kut močenja posakonazola s
različitim pojedinačnim i kombiniranim pomoćnim tvarima

ime uzorka	kut močenja (°)
posakonazol : voda	60,6
posakonazol : SDS	35,1
posakonazol : CTAB	39,3
posakonazol : Tween 80	45,0
posakonazol : Brij 35	43,2
posakonazol : poloksamer 407	44,4
posakonazol : HPC	50,6
posakonazol : poloksamer 407 : SDS	31,8
posakonazol : poloksamer 407 : Tween 80	45,3
posakonazol : poloksamer 407 : Brij 35	41,5
posakonazol : HPC : SDS	32,3
posakonazol : HPC : Tween 80	45,8
posakonazol : HPC : Brij 35	49,7

5. ZAKLJUČCI

Karakterizacijom čestica uzoraka posakonazola (optičkom mikroskopijom, pretražnom elektronskom mikroskopijom, laserskom difrakcijom svjetlosti pri niskom kutu i dinamičkim svjetlosnim raspršenjem) definirana je morfologija čestica aktivne tvari te je utvrđena njihova podobnost za izradu suspenzije.

Pripremanjem suspenzija posakonazola s jednom od površinski-aktivnih tvari (natrijevim dodecilsulfatom, cetiltrimetilamonijevim bromidom, polisorbatom 80 i polioksietilen lauril-eterom) ili s jednim od polimernih stabilizatora (poloksamerom 407 i hidroksipropil celulozom) utvrđen je njihov utjecaj na stabilizaciju suspenzije. Izrađene su suspenzije s omjerima koncentracija aktivne i pomoćne tvari 10:1 i 100:1 te je izmjeren zeta-potencijal, provedena je mikroskopska analiza, promatran je izgled suspenzija i resuspenzibilnost. Bolje rezultate po svim parametrima pokazale su suspenzije u omjeru 100:1. Stoga su izrađene suspenzije posakonazola s kombinacijama jedne površinski-aktivne tvari i jednog polimera u omjeru 100:1:1 (aktivna tvar : površinski-aktivna tvar : polimer) te su i njima utvrđena sva navedena svojstva. Primijećeno je različito ponašanje suspenzija u ovisnosti o redoslijedu dodavanja pomoćnih tvari. Stoga su sve kombinacije priređene na oba načina; prvo dodavanje površinski-aktivne tvari, a zatim polimera i obratno.

Paralelno s ispitivanjem svojstava suspenzija određen je kut močenja na komprimatima posakonazola. Kut močenja određen je za vodu i sve pojedinačne pomoćne tvari te za kombinacije oba polimera sa svim ispitanim površinski-aktivnim tvarima osim s cetiltrimetilamonijevim bromidom. Rezultati pokazuju da sve pomoćne tvari smanjuju kut močenja u odnosu na čistu vodu.

Usprkos visokim vrijednostima zeta-potencijala suspenzija s kationskom i anionskom površinski-aktivnom tvari, čime bi se moglo zaključiti kako iste pomoćne tvari tvore stabilne suspenzije posakonazola, te niskom kutu močenja, ostala njihova ispitana svojstva nisu potvrdila tu činjenicu. Vrijeme potrebno za stvaranje homogene suspenzije je relativno dugo te su pod mikroskopom vidljivi aglomerati. Cetiltrimetilamonijev bromid je izuzet iz daljnjih ispitivanja (nije korišten za kombinirane suspenzije) zbog izuzetno loših samostalnih rezultata (dugog vremena resuspenzibilnosti).

Od suspenzija s neionskim površinski-aktivnim tvarima povoljnija je svojstva pokazala suspenzija s polisorbatom 80 jer ima nešto viši zeta-potencijal od suspenzije s polioksietilen lauril-eterom te mikroskopskom analizom nisu primijećeni aglomerati.

Suspenzije s polimernim stabilizatorima pokazale su dobru resuspenzibilnost te odsutnost aglomerata unatoč malom zeta-potencijalu, što se objašnjava steričkom stabilizacijom suspenzija.

Kod suspenzija posakonazola, priređenih kombiniranjem površinski-aktivnih tvari i polimernih pomoćnih tvari, bolje rezultate su pokazale suspenzije priređene kombiniranjem hidroksipropil celuloze sa svim površinski-aktivnim tvarima u odnosu na suspenzije s poloksamerom 407 i površinski-aktivnim tvarima.

Suspenzije s polioksietilen lauril-eterom su s oba polimera tvorile aglomerirane suspenzije te kao takve nisu primjerene za izradu gotovog proizvoda.

Kod preostalih kombiniranih suspenzija, promatrajući redoslijed dodavanja pomoćnih tvari, kraće vrijeme resuspendiranja i odsutnost aglomerata imaju suspenzije kod kojih je prilikom izrade prvo dodan polimer, potom površinski-aktivna tvar.

Najniži kut močenja pokazale su kombinacije oba polimera s natrijevim dodecilsulfatom. Međutim, suspenzije posakonazola s poloksamerom 407 i natrijevim dodecilsulfatom mogu se eliminirati zbog izuzetno teške resuspenzibilnosti.

Suspenzija posakonazola s hidroksipropil celulozom i natrijevim dodecilsulfatom je suspenzija s najpovoljnijim svojstvima: ima najveći zeta-potencijal, nema aglomerate, ima kratko vrijeme resuspenzibilnosti. Uz to, kombinacija tih dviju pomoćnih tvari daje najniži kut močenja na komprimatima posakonazola. Stoga tako pripremljena suspenzija može poslužiti kao prijedlog za daljnji razvoj formulacije gotovog proizvoda.

6. LITERATURA

Ali Y, Kimura A, Coffey M, and Tyle P. Pharmaceutical Development of Suspension Dosage Form. U: Pharmaceutical Suspensions. Kulshreshtha A, Singh O, Wall G. M, urednici, New York, Springer, 2010.

Application note - Determination of the particle absorption for laser diffraction size calculations, 2009., http://www.malvern.com, pristupljeno 6.12.2013.

Borgstahl G. E. O. How to Use Dynamic Light Scattering to Improve the Likelihood of Growing Macromolecular Crystals. U: Macromolecular Crystallography Protocols. Borgstahl G. E. O, Vermont, Humana Press, 2007., str. 109.

Contact angle, 2015., http://www.kruss.de/services/education-theory/glossary/contact-angle/, pristupljeno 15.4.2015.

Drop Shape Analysis, 2015., http://www.kruss.de/services/education-theory/glossary/drop-shape-analysis/, pristupljeno 15.4.2015.

European public assessment report (EPAR) for Noxafil, 2015., http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000610/human_med_000937.jsp&mid=WC0b01ac058001d124, pristupljeno 13.4.2015.

FDA Approvals: Noxafil and Advair HFA, 2006., http://www.medscape.org/viewarticle/544889, pristupljeno 13.4.2015.

Highlights of prescribing information Noxafil, 2014., https://www.merck.com/product/usa/pi_circulars/n/noxafil/noxafil_pi.pdf, pristupljeno 13.4.2015.

Jalšenjak I, Jalšenjak V, Filipović-Grčić J. Farmaceutika. Zagreb, Školska knjiga, 1998., str. 29-30.

Katzung B, Masters S, Trevor A. Temeljna i klinička farmakologija. Zagreb, Medicinska naklada, 2011., str. 835-844.

Kippax P. Systematic Method Development for Laser Diffraction Particle Sizing. *American Laboratory*, 2004.

Nichols G, Luk S, Roberts C. Microscopy. U: Solid State Characterization of Pharmaceuticals. Storey R, Ymén I, urednici, Chichester, Wiley, 2011., str. 289-292, 318-320.

Scanning Electron Microscopy - Technology Overview, 2015., http://www.nanoscience.com/products/sem/technology-overview/, pristupljeno 15.4.2015.

Scientific discussion – Noxafil, 2006., http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Scientific_Discussion_-_Variation/human/000610/WC500037787.pdf, pristupljeno 14.4.2015.

Senjković R. Osnove oblikovanja lijekova. Zagreb, Školska knjiga, 2003., str. 100-104.

Technical note - Dynamic Light Scattering: An Introduction in 30 Minutes, 2014., http://www.malvern.com/en/pdf/secure/TN101104DynamicLightScatteringIntroduction.pdf, pristupljeno 8.4.2015.

Technical note - Zeta potential - An introduction in 30 minutes, 2014., http://www.malvern.com/en/pdf/secure/TN101104ZetaPotentialIntroduction.pdf, pristupljeno 8.4.2015.

7. SAŽETAK / SUMMARY

U okviru ovog diplomskog rada provedena je morfološka karakterizacija čestica uzoraka posakonazola sljedećim tehnikama: optičkom mikroskopijom, pretražnom elektronskom mikroskopijom, laserskom difrakcijom svjetlosti pri niskom kutu i dinamičkim svjetlosnim raspršenjem.

Pripremanjem suspenzija posakonazola s jednom od površinski-aktivnih tvari (natrijevim dodecilsulfatom, cetiltrimetilamonijevim bromidom, polisorbatom 80 i polioksietilen lauril-eterom) ili s jednim od polimernih stabilizatora (poloksamerom 407 i hidroksipropil celulozom) utvrđen je njihov utjecaj na stabilizaciju suspenzije. Izrađene su suspenzije s omjerima koncentracija aktivne i pomoćne tvari 10:1 i 100:1 te je izmjeren zeta-potencijal, provedena je mikroskopska analiza, promatran je izgled suspenzija i resuspenzibilnost. Potom su izrađene suspenzije posakonazola s kombinacijama jedne površinski-aktivne tvari i jednog polimera u omjeru 100:1:1 te su i njima utvrđena sva navedena svojstva.

Paralelno s ispitivanjem svojstava suspenzija određen je kut močenja na komprimatima poskaonazola. Kut močenja određen je za vodu i sve pojedinačne pomoćne tvari te za kombinacije oba polimera sa svim ispitanim površinski-aktivnim tvarima.

Suspenzija posakonazola s hidroksipropil celulozom i natrijevim dodecilsulfatom je suspenzija s najpovoljnijim svojstvima: s najvećim zeta-potencijalom, bez aglomerata te s kratkim vremenom resuspenzibilnosti. Uz to, kombinacija tih dviju pomoćnih tvari daje najniži kut močenja. Stoga tako pripremljena suspenzija može poslužiti kao prijedlog za daljnji razvoj formulacije gotovog proizvoda.

In this thesis morphological characterization of samples of posaconazole was carried out with the following techniques: optical microscopy, scanning electron microscopy, low-angle laser light scattering and dynamic light scattering.

By preparing suspensions of posaconazole with one of the surface-active agents (sodium dodecyl sulfate, cetyltrimethylammonium bromide, polysorbate 80 and polyoxyethylene lauryl ether) either with one of the polymeric stabilizer (poloxamer 407 and hydroxypropyl cellulose), their effect on the stabilization of the suspension was determined. Suspensions were made in the concentration ratios of the active and auxiliary substances 10:1 as well as 100:1. Suspensions were characterized by means of zeta potential determination, optical microscopy, appearance and resuspensibility observation. Afterwards posaconazole suspensions with the combination of one surfactant and the polymer in a ratio of 100:1:1 were prepared and characterized.

Parallel with the examination of the properties of the suspensions, the contact angle of posaconasol comprimates was mesured. The contact angle was determined for water and all of the individual excipients and combinations of both polymers with the tested surfactants.

The posaconazole suspension with hydroxypropyl cellulose and sodium dodecyl sulfate is a suspension with optimal properties: the highest zeta potential, no agglomerates and short time of resuspensibility. Besides it is the combination of two excipients that has the lowest contact angle. Therefore this suspension could be proposed for development of final drug product.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Industrijska farmacija
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

ISPITIVANJE UTJECAJA POMOĆNIH TVARI NA FIZIČKU STABILNOST SUSPENZIJE POSAKONAZOLA

Jelena Orešković

SAŽETAK

U okviru ovog diplomskog rada provedena je morfološka karakterizacija čestica uzoraka posakonazola sljedećim tehnikama: optičkom mikroskopijom, pretražnom elektronskom mikroskopijom, laserskom difrakcijom svjetlosti pri niskom kutu i dinamičkim svjetlosnim raspršenjem.
Pripremanjem suspenzija posakonazola s jednom od površinski-aktivnih tvari (natrijevim dodecilsulfatom, cetiltrimetilamonijevim bromidom, polisorbatom 80 i polioksietilen lauril-eterom) ili s jednim od polimernih stabilizatora (poloksamerom 407 i hidroksipropil celulozom) utvrđen je njihov utjecaj na stabilizaciju suspenzije. Potom su izrađene suspenzije s omjerima koncentracija aktivne i pomoćne tvari 10:1 i 100:1 te je izmjeren zeta-potencijal, provedena je mikroskopska analiza, promatran je izgled suspenzija i resuspenzibilnost. Stoga su izrađene suspenzije posakonazola s kombinacijama jedne površinski-aktivne tvari i jednog polimera u omjeru 100:1:1 te su i njima utvrđena sva navedena svojstva.
Paralelno s ispitivanjem svojstava suspenzija određen je kut močenja na komprimatima posakonazola. Kut močenja određen je za vodu i sve pojedinačne pomoćne tvari te za kombinacije oba polimera sa svim ispitanim površinski-aktivnim tvarima.
Suspenzija posakonazola s hidroksipropil celulozom i natrijevim dodecilsulfatom je suspenzija s najpovoljnijim svojstvima: s najvećim zeta-potencijalom, bez aglomerata te s kratkim vremenom resuspenzibilnosti. Uz to, kombinacija tih dviju pomoćnih tvari daje najniži kut močenja. Stoga tako pripremljena suspenzija može poslužiti kao prijedlog za daljnji razvoj formulacije gotovog proizvoda.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 51 stranicu, 34 grafička prikaza, 9 tablica i 17 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: posakonazol, suspenzija, stabilnost

Mentor: **Dr. sc. Biserka Cetina-Čižmek**, *viši znanstveni savjetnik Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Biserka Cetina-Čižmek**, *viši znanstveni savjetnik Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Jelena Filipović-Grčić, *redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Ivan Pepić, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: lipanj 2015.

Basic documentation card

University of Zagrebu
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Industrial Pharmacy
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

INVESTIGATION OF THE INFLUENCE OF EXCIPIENTS ON THE STABILITY OF THE POSACONAZOLE SUSPENSION

Jelena Orešković

SUMMARY

In this thesis morphological characterization of samples of posaconazole was carried out with the following techniques: optical microscopy, scanning electron microscopy, low-angle laser light scattering and dynamic light scattering.
By preparing suspensions of posaconazole with one of the surface-active agents (sodium dodecyl sulfate, cetyltrimethylammonium bromide, polysorbate 80 and polyoxyethylene lauryl ether) either with one of the polymeric stabilizer (poloxamer 407 and hydroxypropyl cellulose), their effect on the stabilization of the suspension was determined. Suspensions were made in the concentration ratios of the active and auxiliary substances 10:1 as well as 100:1. Suspensions were characterized by means of zeta potential determination, optical microscopy, appearance and resuspensibility observation. Afterwards posaconazole suspensions with the combination of one surfactant and the polymer in a ratio of 100:1:1 were prepared and characterized.
Parallel with the examination of the properties of the suspensions, the contact angle of posaconazole comprimates was mesured. The contact angle was determined for water and all of the individual excipients and combinations of both polymers with the tested surfactants.
The posaconazole suspension with hydroxypropyl cellulose and sodium dodecyl sulfate is a suspension with optimal properties: the highest zeta potential, no agglomerates and short time of resuspensibility. Besides it is the combination of two excipients that has the lowest contact angle. Therefore this suspension could be proposed for development of final drug product.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 51 pages, 34 figures, 9 tables and 17 references. Original is in Croatian language.

Keywords: posaconazole, suspension, stability

Mentor: **Biserka Cetina-Čižmek**, **Ph.D.** *Senior Research Scientist,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Biserka Cetina-Čižmek**, **Ph.D.** *Senior Research Scientist,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Jelena Filipović-Grčić, **Ph.D.** *Full Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Ivan Pepić, **Ph.D.** *Associate Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: June 2015.