UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

TJAŠA NOVAK

MAGISTRSKA NALOGA

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2026

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

TJAŠA NOVAK

VREDNOTENJE IZBOLJŠANJA HITROSTI RAZTAPLJANJA SLABO TOPNE ZDRAVILNE UČINKOVINE V AMORFNIH TRDNIH DISPERZIJAH S POLIMERNIMI NOSILCI

EVALUATION OF DISSOLUTION-RATE ENHANCEMENT OF A POORLY WATER-SOLUBLE DRUG IN POLYMER-BASED AMORPHOUS SOLID DISPERSIONS

Ljubljana, 2026

Magistrsko nalogo sem opravljala na Univerzi v Ljubljani, Fakulteti za farmacijo, na Katedri za farmacevtsko tehnologijo, pod mentorstvom izr. prof. dr. Roka Šuštarja. Vse meritve, to je pripravo disperzij, diferenčno dinamično kalorimetrijo, rentgensko praškovno difrakcijo, merjenje velikosti delcev, preskuse raztapljanja in analize s tekočinsko kromatografijo, sem opravila v laboratorijih Fakultete za farmacijo.

Zahvala

Zahvaljujem se mentorju za strokovno vodenje in sprotne pripombe, tehničnim sodelavcem katedre za pomoč pri delu z napravami ter družini za podporo med študijem.

Izjava

Izjavljam, da sem magistrsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom izr. prof. dr. Roka Šuštarja.

Tjaša Novak

VSEBINA

1 UVOD....1
1.1 TOPNOST, HITROST RAZTAPLJANJA IN BIOLOŠKA UPORABNOST....1
1.2 AMORFNE TRDNE DISPERZIJE....1
1.3 POLIMERNI NOSILCI IN PRENASIČENJE....2
1.4 SUŠENJE Z RAZPRŠEVANJEM IN TALJENJE Z EKSTRUDIRANJEM....3
1.5 FIZIKALNA STABILNOST IN VREDNOTENJE DISPERZIJ....4

2 NAMEN DELA IN DELOVNE HIPOTEZE....6
2.1 NAMEN DELA....6
2.2 DELOVNE HIPOTEZE....6

3 MATERIALI IN METODE....8
3.1 MATERIALI....8
3.2 PRIPRAVA FORMULACIJ....9
3.3 FIZIKALNA KARAKTERIZACIJA....10
3.4 DOLOČANJE UČINKOVINE S HPLC....11
3.5 TOPNOST IN PRESKUSA RAZTAPLJANJA....11
3.6 ŠTUDIJA STABILNOSTI....13
3.7 STATISTIČNA OBDELAVA....13

4 REZULTATI....14
4.1 PRIPRAVA DISPERZIJ....14
4.2 FIZIKALNO STANJE DISPERZIJ....14
4.3 PRESKUS A: HITROST RAZTAPLJANJA V POGOJIH SINK....17
4.4 PRESKUS B: PRENASIČENJE V POGOJIH NON-SINK....18
4.5 UČINEK POSTOPKA, POLIMERA IN DELEŽA UČINKOVINE....20
4.6 FIZIKALNA STABILNOST....21

5 RAZPRAVA....23
5.1 HITROST RAZTAPLJANJA....23
5.2 PRENASIČENJE IN NJEGOVO VZDRŽEVANJE....24
5.3 STEKLASTI PREHOD IN MEŠLJIVOST....24
5.4 STABILNOST....25
5.5 OMEJITVE DELA....26

6 SKLEP....27

LITERATURA....29

PRILOGE....33
PRILOGA I: UMERITVENA PREMICA METODE HPLC....33
PRILOGA II: PODATKI PRESKUSA A PO ČASOVNIH TOČKAH....34
PRILOGA III: PODATKI PRESKUSA B PO ČASOVNIH TOČKAH....35
PRILOGA IV: PRIMER ZAPISA V LABORATORIJSKEM DNEVNIKU....36

POVZETEK

Slabo topne zdravilne učinkovine se po peroralnem odmerku pogosto slabo absorbirajo, ker jih omejuje raztapljanje. Amorfne trdne disperzije v polimeru hitrost raztapljanja povečajo, vendar je prednost odvisna od polimera, deleža učinkovine, postopka priprave in fizikalne stabilnosti. Namen naloge je bil ovrednotiti vpliv teh dejavnikov na raztapljanje, prenasičenje in stabilnost disperzij felodipina. Pripravili smo osem disperzij s kopovidonom in hipromelozo acetat sukcinatom, z 25 % in 50 % učinkovine, s sušenjem z razprševanjem in s taljenjem z ekstrudiranjem. Fizikalno stanje smo preverili z diferenčno dinamično kalorimetrijo in z rentgensko praškovno difrakcijo, raztapljanje v mediju s površinsko aktivno snovjo in v mediju brez nje, stabilnost pa šest mesecev pri 40 °C in 75 % relativni vlažnosti. Sedem disperzij je bilo amorfnih, ena je vsebovala 3,1 % kristalov. Vse disperzije so se raztapljale hitreje od kristaliničnega felodipina: učinkovitost raztapljanja je bila pri kristalih 42,1 %, pri disperzijah pa od 67,5 do 93,6 %. Posušene disperzije so se raztapljale hitreje kot ekstrudirane, kar je deloma posledica manjših delcev. Hipromeloza acetat sukcinat je prenasičenje vzdrževal dlje kot kopovidon; največje prenasičenje, 4,1-kratnik topnosti kristalov ali 94 % odmerka, je dosegla posušena disperzija s 25 % učinkovine v tem polimeru. Po šestih mesecih sta disperziji s kopovidonom in 50 % učinkovine kristalizirali, merilo ohranjene prednosti pa so izpolnile tri od osmih disperzij, vse s hipromelozo acetat sukcinatom.

Ključne besede: amorfne trdne disperzije, felodipin, raztapljanje, prenasičenje, fizikalna stabilnost

ABSTRACT

Poorly water-soluble drugs are often absorbed poorly after oral administration because dissolution limits their absorption. Amorphous solid dispersions in a polymer increase the dissolution rate, but the benefit depends on the polymer, the drug load, the preparation method and the physical stability. The aim of the thesis was to evaluate the effect of these factors on dissolution, supersaturation and stability of felodipine dispersions. Eight dispersions were prepared with copovidone and hypromellose acetate succinate, at 25% and 50% drug load, by spray drying and by hot-melt extrusion. The physical state was examined by differential scanning calorimetry and X-ray powder diffraction, dissolution was tested in a medium with a surfactant and in a medium without it, and stability was followed for six months at 40 °C and 75% relative humidity. Seven dispersions were amorphous; one contained 3.1% crystalline drug. All dispersions dissolved faster than crystalline felodipine: the dissolution efficiency was 42.1% for the crystals and between 67.5 and 93.6% for the dispersions. Spray-dried dispersions dissolved faster than extruded ones, partly because of their smaller particles. Hypromellose acetate succinate sustained supersaturation longer than copovidone; the highest supersaturation, 4.1 times the solubility of the crystals or 94% of the dose, was reached by the spray-dried dispersion with 25% drug load in this polymer. After six months the dispersions with copovidone and 50% drug load had crystallised, and only three of the eight dispersions met the criterion for a retained advantage, all of them with hypromellose acetate succinate.

Keywords: amorphous solid dispersions, felodipine, dissolution, supersaturation, physical stability

SEZNAM OKRAJŠAV

AUC	ploščina pod krivuljo koncentracije v času
Cmax	največja koncentracija učinkovine v preskusu B
d10, d50, d90	velikost delcev, pod katero je 10 %, 50 % oziroma 90 % delcev (po volumnu)
DE	učinkovitost raztapljanja (DE120: do 120 minut)
DSC	diferenčna dinamična kalorimetrija
EMA	Evropska agencija za zdravila
f2	faktor podobnosti profilov raztapljanja
FDP-K	kristalinični felodipin, kakršen je bil dobavljen (kontrola)
FZ	fizikalna zmes (v oznakah formulacij)
HP	hipromeloza acetat sukcinat (v oznakah formulacij)
HPLC	tekočinska kromatografija visoke ločljivosti
HPMCAS	hipromeloza acetat sukcinat
ICH	Mednarodni svet za harmonizacijo tehničnih zahtev za zdravila za humano uporabo
K	konstanta v enačbi Gordona in Taylorja
KP	kopovidon (v oznakah formulacij)
RV	relativna vlažnost
SR	sušenje z razprševanjem
t50, t85	čas do 50 % oziroma 85 % sproščene učinkovine
TE	taljenje z ekstrudiranjem
Tg	temperatura steklastega prehoda
tmax	čas, v katerem je dosežena Cmax
w	masni delež
XRPD	rentgenska praškovna difrakcija

ZDA	Združene države Amerike

1 UVOD

1.1 TOPNOST, HITROST RAZTAPLJANJA IN BIOLOŠKA UPORABNOST

Po peroralnem odmerku se zdravilna učinkovina absorbira le iz raztopine, zato mora trdna oblika v prebavilih najprej preiti v raztopljeno stanje. Amidon in sod. so absorpcijo opisali z dvema lastnostma, topnostjo in prepustnostjo skozi črevesno steno, in na njuni podlagi učinkovine razvrstili v štiri razrede biofarmacevtske klasifikacije; v razredu II so učinkovine z majhno topnostjo in veliko prepustnostjo (1). Ker je prepustnost teh učinkovin velika, absorpcijo omejuje predvsem raztapljanje, zato lahko vsaka formulacijska rešitev, ki pospeši prehod učinkovine v raztopino, poveča biološko uporabnost. Skupina je številčna: Williams in sod. ocenjujejo, da je približno 40 % trenutno trženih učinkovin in večina razvojnih kandidatov slabo topnih v vodi (2).

Za izboljšanje topnosti in hitrosti raztapljanja so na voljo različni pristopi: nastanek soli, kokristali, sotopila, površinsko aktivne snovi, ciklodekstrini, zmanjšanje velikosti delcev, lipidne formulacije in amorfne trdne disperzije (2). Amorfna oblika ima višjo prosto energijo kot kristalna, zato se topi hitreje in lahko v raztopini doseže koncentracijo nad ravnotežno topnostjo kristalov. Hancock in Parks sta iz toplotnih lastnosti več učinkovin izračunala, da bi bila topnost amorfne oblike od 10- do 1600-krat večja od topnosti kristalne; izmerjena prednost je bila običajno precej manjša od izračunane, ker ravnotežne topnosti amorfnih snovi ni mogoče zanesljivo izmeriti (3). Izračunana vrednost zato kaže zgornjo mejo gonilne sile za raztapljanje, ne pa koncentracije, ki jo lahko pričakujemo v raztopini.

1.2 AMORFNE TRDNE DISPERZIJE

Trdne disperzije kot farmacevtski sistem sta že leta 1971 pregledno obravnavala Chiou in Riegelman (4). Leuner in Dressman sta razločila evtektične zmesi, trdne disperzije in trdne raztopine ter ugotovila, da je po štiridesetih letih raziskav na trgu le nekaj izdelkov, narejenih po tem načelu (5). Serajuddin je kot glavna razloga za omejeno komercialno uporabo navedel težave pri izdelavi in pri stabilnosti (6). V amorfni trdni disperziji je učinkovina razpršena v polimeru v amorfnem stanju, polimer pa kot hidrofilni nosilec amorfno stanje stabilizira in lahko pri raztapljanju pomaga vzdrževati prenasičeno raztopino (7). Idealni cilj, ki ga Janssens in Van den Mooter imenujeta steklasta raztopina,

je popolna odsotnost kristalnosti učinkovine in njena molekularna razpršenost v polimeru (8).

Značilnosti amorfnega stanja in metode za njihovo merjenje pregledno opisujeta Hancock in Zografi (9). Amorfna snov nima urejene kristalne mreže in se pri segrevanju pri temperaturi steklastega prehoda (Tg) iz steklastega stanja spremeni v gumijasto. Amorfne trdne snovi nastanejo s hitrim ohlajanjem taline, z liofilizacijo, s sušenjem z razprševanjem ali z mletjem, vendar so v primerjavi s kristali fizikalnokemijsko nestabilne (10). Formulacija mora zato amorfno stanje ohraniti ves rok uporabnosti izdelka.

Newman in sod. so v pregledu 40 raziskav ocenili, da je amorfna disperzija v približno 82 % primerov izboljšala biološko uporabnost glede na referenčno snov, v približno 8 % jo je zmanjšala, v približno 10 % pa je bila primerljiva (11). Prednost disperzije torej ni samoumevna in je odvisna od formulacije, od pogojev preskušanja in od učinkovine. Huang in Dai poudarjata, da je pri zasnovi in delovanju disperzije odločilna interakcija med učinkovino in polimerom (12).

1.3 POLIMERNI NOSILCI IN PRENASIČENJE

Ko se amorfna disperzija raztaplja, lahko koncentracija učinkovine preseže topnost kristalov. Splošno zasnovo rešitev za slabo topne učinkovine Huang in Dai imenujeta »vzmet in padalo« (angl. spring and parachute): učinkovina se najprej raztopi skupaj s polimerom in ustvari prenasičeno raztopino (vzmet), nato pa se prenasičenje vzdržuje dovolj dolgo, da poteče absorpcija (padalo) (12). Brouwers in sod. take sisteme imenujejo prenasičujoči sistemi za dostavo učinkovin: vsebujejo učinkovino v obliki z visoko energijo, tako da nastanejo koncentracije nad nasičeno topnostjo, nastalo prenasičeno raztopino pa je treba stabilizirati, na primer z zaviralci obarjanja (13). Warren in sod. navajajo, da lahko nekateri polimeri v trdni disperziji vzdržujejo prenasičenje po razpadu oblike in da se med polimeri v splošnem najbolje obnesejo derivati celuloze (14).

Hipromeloza acetat sukcinat (HPMCAS) je tak celulozni derivat. Curatolo in sod. so med 41 preskušenimi snovmi kot najučinkovitejšo pri vzdrževanju prenasičenja opredelili HPMCAS; pri njihovih posušenih disperzijah se je dosegljivo prenasičenje večalo z deležem polimera (15). Friesen in sod. poročajo, da disperzije z HPMCAS v preskusih raztapljanja omogočajo prenasičenje pri različnih učinkovinah, v trdnem stanju pa so enofazen amorfni sistem, v katerem se učinkovina v časih, ki so pomembni za izdelek, ni

kristalizirala (16). Kopovidon, kopolimer vinilpirolidona in vinilacetata, je drug pogosto uporabljan hidrofilni nosilec. Konno in sod. so raztapljanje disperzij felodipina s polivinilpirolidonom, hipromelozo in HPMCAS primerjali tudi z raztopinami, v katerih so prenasičenje ustvarili brez disperzije: HPMCAS je prenasičenje vzdrževal najvišje in najdlje, polivinilpirolidon pa je kristalizacijo zaviral najslabše (17). Shi in sod. vzdrževanje prenasičenja štejejo za ključni dejavnik izboljšanega profila raztapljanja in biološke uporabnosti amorfnih sistemov (18), Schittny in sod. pa ločeno opisujejo raztapljanje disperzije, nastanek prenasičene raztopine in dejavnike njene stabilizacije (19).

Schittny in sod. v pregledu mehanizmov razlikujejo sproščanje, ki ga uravnava nosilec, in sproščanje, ki ga uravnava učinkovina: če se polimer v mediju ne raztopi in tvori viskozen gel, je omejujoč korak nosilec, če se raztopi in izpostavi delce učinkovine mediju, pa je raztapljanje odvisno od učinkovine; poleg tega se lahko učinkovina kristalizira, če se polimer raztopi hitreje od nje (19). Isti pregled povzema, da večji delež učinkovine praviloma zmanjša hitrost sproščanja in vpliva na končno stanje raztopljene disperzije; pri felodipinu v kopovidonu so pri 5 % učinkovine opazili sočasno sproščanje učinkovine in polimera brez kristalizacije, pri 50 % pa kristalizacijo po izgubi polimera iz disperzije (19). Pri disperzijah z ostankom kristalinične učinkovine so po istem pregledu iz trdne disperzije nastali koloidi s ločitvijo faz in rastjo velikih kristalov, medtem ko popolnoma amorfne disperzije takih koloidov niso dale (19). Za vrednotenje je pomembna tudi izbira medija: Fotaki in sod. po povzetku Schittnyja in sod. poudarjajo, da je izbira medija pri razvoju disperzij zelo pomembna ter da je kombinacija poskusov v različnih medijih najobetavnejši način razlikovanja formulacij (19).

1.4 SUŠENJE Z RAZPRŠEVANJEM IN TALJENJE Z EKSTRUDIRANJEM

Amorfne trdne disperzije pripravljamo z odstranjevanjem topila ali s taljenjem. Pri sušenju z razprševanjem se učinkovina in polimer raztopita v skupnem topilu, raztopina pa se razprši v vroč tok plina, v katerem topilo hitro izhlapi. Singh in Van den Mooter navajata, da lastnosti posušene disperzije določajo številne medsebojno odvisne formulacijske in procesne spremenljivke (20). Pri taljenju z ekstrudiranjem se zmes učinkovine in polimera segreje in potisne skozi ekstruder; postopek poteka brez topil, z malo koraki, je neprekinjen in omogoča nastanek trdnih disperzij (21). Bhujbal in sod. v pregledu izdelovalnih strategij ugotavljajo, da na fizikalno stabilnost vplivajo formulacija, oprema in procesne spremenljivke (22). Po istem pregledu je odstranjevanje topila primerno tudi za

toplotno občutljive sisteme, ker poteka pri temperaturah, ki so precej pod tališčem učinkovine, najtežji korak pa je izbira topila, ki raztopi učinkovino in polimer ter je združljivo s formulacijo; slaba topnost sestavin lahko vodi v nehomogene disperzije, pomanjkljivosti sušenja z razprševanjem pa so ostanek topila in manjši izkoristek zaradi lepljenja snovi na stene naprave (22). Pri postopkih s taljenjem je prednost izogibanje topilu, slabosti pa so poškodba učinkovine pri visokih temperaturah in potreba po zadostni topnosti ali mešljivosti učinkovine v polimerni talini; pri ekstrudiranju je zadostna plastifikacija bistvena, porabljena energija pa je večja (22).

Neposredne primerjave postopkov ne dajejo enotnih rezultatov. Patterson in sod. so tri slabo topne učinkovine s polivinilpirolidonom v razmerju 1:2 pripravili s taljenjem z ekstrudiranjem, s sušenjem z razprševanjem in z mletjem v krogličnem mlinu; postopek ni vplival na fizikalno stabilnost, je pa vplival na raztapljanje, pri čemer je bilo raztapljanje posušenih vzorcev na splošno slabše, verjetno zaradi hitrega raztapljanja polimera iz majhnih delcev (23). Ugotovitve za en sistem zato ni mogoče samodejno prenesti na drugega, kar utemeljuje primerjavo obeh postopkov na istih učinkovinah in polimerih.

1.5 FIZIKALNA STABILNOST IN VREDNOTENJE DISPERZIJ

Amorfno stanje je termodinamsko nestabilno, zato lahko učinkovina pri shranjevanju kristalizira in disperzija izgubi prednost pri raztapljanju. Baghel in sod. navajajo, da je to glavna pomanjkljivost pristopa in da je za stabilne formulacije potrebno obsežno začetno razvojno delo (7). Qian in sod. stabilnost povezujejo s topnostjo kristalne učinkovine in z mešljivostjo amorfne učinkovine v polimeru ter priporočajo, da se po teh lastnostih izbereta vrsta polimera in delež učinkovine (24). Marsac in sod. so za sisteme felodipina in nifedipina s polivinilpirolidonom mešljivost ocenjevali s Flory-Hugginsovo teorijo in z znižanjem tališča učinkovine v prisotnosti polimera (25).

Vlaga je za stabilnost hidrofilnih polimerov posebej pomembna. Hancock in Zografi sta ugotovila, da voda deluje kot mehčalo in da znižanje Tg z vsebnostjo vode v splošnem opišemo s poenostavljeno obliko enačbe Gordona in Taylorja (26). Rumondor in sod. so pri disperzijah felodipina izmerili, da je hitrost kristalizacije iz disperzij s polivinilpirolidonom zelo odvisna od relativne vlažnosti shranjevanja, iz disperzij s HPMCAS pa ne; pri 75 % relativni vlažnosti ali več je kristalizacija iz polivinilpirolidona potekala precej hitreje, kar sklepajo, da je posledica z vlago povzročene nemešljivosti

učinkovine in polimera (27). Pri disperzijah drugih učinkovin s polivinilpirolidonom so Rumondor in sod. v prisotnosti vlage opazili ločitev na dve amorfni fazi pri nifedipinu, droperidolu in pimozidu, pri indometacinu in ketoprofenu pa ne (28).

Za vrednotenje disperzij uporabljamo več dopolnilnih metod. Baird in Taylor ugotavljata, da z DSC in sorodnimi toplotnimi tehnikami določamo Tg, molekularno gibljivost, mešljivost učinkovine in polimera ter hitrost in obseg kristalizacije (29). Rentgenska praškovna difrakcija (XRPD) loči kristalne uklonske vrhove od amorfnega sevanja. Preskus raztapljanja vrednoti učinkovitost, vendar so rezultati odvisni od njegovih pogojev: Newman in sod. kot dejavnike razlik med raziskavami navajajo opremo, sestavo in količino medija, pogoje sink ali non-sink, hitrost mešanja, pH in velikost delcev disperzije (11).

Model učinkovine v tej nalogi je felodipin, dihidropiridinski zaviralec kalcijevih kanalov, ki je pogosta modelna učinkovina pri raziskavah amorfnih disperzij (17, 25, 27). Njegovo polimorfijo in steklasto stanje so v Ljubljani raziskali Srčič in sod. (30), toplotno analizo steklastih farmacevtskih snovi pa Kerč in Srčič (31).

2 NAMEN DELA IN DELOVNE HIPOTEZE

2.1 NAMEN DELA

Pri amorfnih trdnih disperzijah slabo topnih učinkovin ostajajo odprta vprašanja, ali postopek priprave pri enaki sestavi spremeni raztapljanje in prenasičenje, kako polimer in delež učinkovine skupaj določata obseg in trajanje prenasičenja ter ali disperzije prednost ohranijo pri pospešenem shranjevanju. Primerjave sušenja z razprševanjem in taljenja z ekstrudiranjem so pokazale, da je vpliv postopka na raztapljanje odvisen od sistema (23); za felodipin s kopovidonom in HPMCAS v navedenih virih nismo našli primerjave obeh postopkov v enakih pogojih.

Namen naloge je ovrednotiti, kako vrsta polimera, delež učinkovine in postopek priprave vplivajo na hitrost raztapljanja, na prenasičenje in na fizikalno stabilnost amorfnih trdnih disperzij felodipina. Pripravili bomo osem disperzij: s sušenjem z razprševanjem in s taljenjem z ekstrudiranjem, s kopovidonom in s HPMCAS, z 25 % in 50 % učinkovine (masni delež). Kot primerjavo bomo uporabili kristalinični felodipin in fizikalni zmesi učinkovine s polimerom. Vse formulacije bomo karakterizirali z DSC in XRPD, raztapljanje pa bomo preskušali v dveh pogojih: v mediju s površinsko aktivno snovjo (pogoji sink, preskus A), ki ovrednoti hitrost raztapljanja, in v mediju brez nje pri odmerku, ki presega topnost kristalov (pogoji non-sink, preskus B), ki omogoča prenasičenje. Za primerjavo različnih formulacij bomo uporabili standardne kazalnike profila raztapljanja, in sicer učinkovitost raztapljanja po Khanu (32), ploščino pod krivuljo koncentracije v času in dejavnik podobnosti f2, opisan v smernici EMA (33). Fizikalno stabilnost bomo spremljali pri 40 °C in 75 % relativni vlažnosti, ki ju za pospešeni preskus navaja smernica ICH Q1A(R2) (34).

Naloga ni del večjega projekta ali programa. Dela ne bomo izvajali na ljudeh ali živalih, zato presoje etične komisije ne potrebujemo. Vse eksperimentalno delo bomo opravili na Katedri za farmacevtsko tehnologijo Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani.

2.2 DELOVNE HIPOTEZE

Delo temelji na štirih hipotezah, merila za njihov sprejem ali zavrnitev pa so določena pred poskusi. Preskusa raztapljanja A in B ter kazalniki so opisani v poglavju 3.

H1: Amorfne trdne disperzije bodo imele večjo učinkovitost raztapljanja (DE120) v preskusu A in večjo ploščino pod krivuljo koncentracije v času (AUC) v preskusu B kot kristalinični felodipin. Hipotezo bomo sprejeli, če bo razlika vsake od osmih disperzij od kristaliničnega felodipina po Dunnettovem preskusu značilna pri $p < 0,05$ (35).

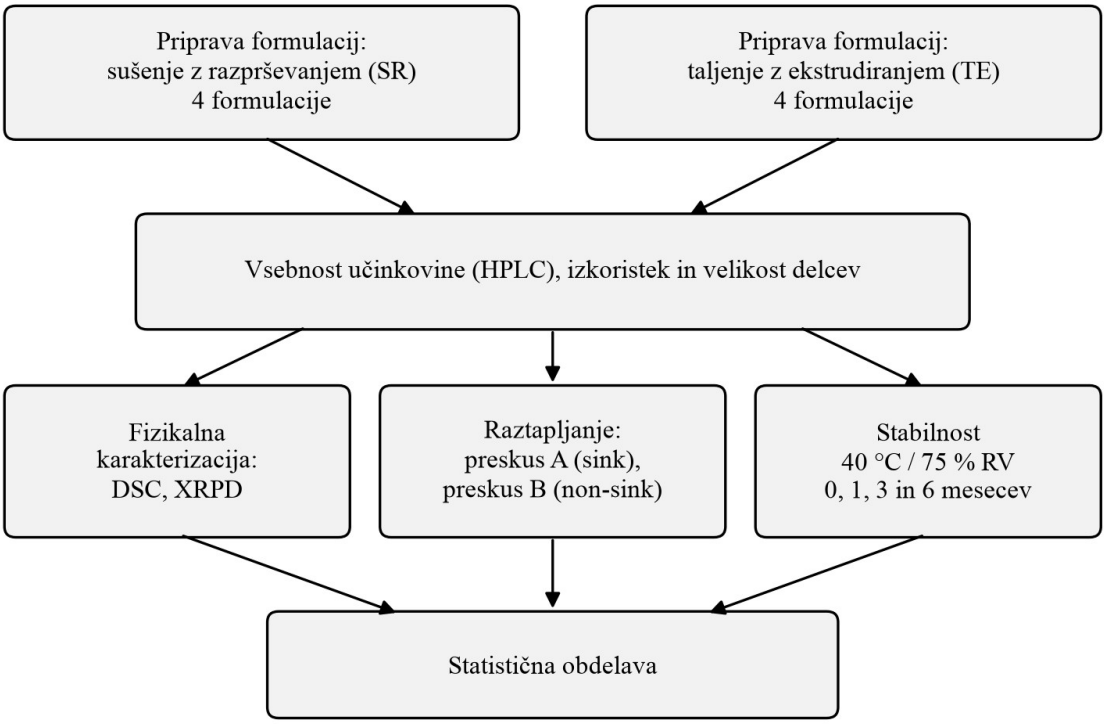
H2: Postopek priprave vpliva na profil raztapljanja. Hipotezo bomo sprejeli, če bo glavni učinek postopka v analizi variance značilen pri $p < 0,05$, par disperzij z isto sestavo iz različnih postopkov pa bo imel vrednost f2 pod 50, kar po smernici EMA pomeni, da profila nista podobna.

H3: Vrsta polimera in delež učinkovine določata obseg prenasičenja. Hipotezo bomo sprejeli, če bosta glavna učinka polimera in deleža na razmerje Cmax proti topnosti kristalov ter na AUC v preskusu B značilna pri $p < 0,05$. Pričakujemo večje prenasičenje s HPMCAS in z manjšim deležem učinkovine.

H4: Fizikalna stabilnost ohrani prednost pri raztapljanju. Disperzijo bomo šteli za ohranjeno, če po šestih mesecih pri 40 °C in 75 % relativni vlažnosti v difraktogramu ne bo uklonskih vrhov in bo AUC v preskusu B najmanj 90 % začetne vrednosti. Hipotezo bomo sprejeli, če bo ta merili izpolnjevalo vseh osem disperzij; sicer jo bomo sprejeli delno, z navedbo formulacij, ki merila ne izpolnjujejo.

3 MATERIALI IN METODE

Potek dela prikazuje slika 1. Poskuse smo opravili na Katedri za farmacevtsko tehnologijo, meritve DSC in XRPD pa na opremi, navedeni v posameznih razdelkih.



Slika 1: Potek eksperimentalnega dela

Vir: lastna raziskava

3.1 MATERIALI

Modelna učinkovina je bil felodipin (kristalinični, kakovost po Evropski farmakopeji, Sigma-Aldrich, Steinheim, Nemčija). Polimera sta bila kopovidon (Kollidon VA 64, BASF, Ludwigshafen, Nemčija) in hipromeloza acetat sukcinat (AQOAT AS-MF, Shin-Etsu Chemical, Tokio, Japonska). Za sušenje z razprševanjem smo uporabili aceton in metanol (oba p.a., Merck, Darmstadt, Nemčija). Za HPLC smo uporabili acetonitril (kakovost za HPLC, Merck), kalijev dihidrogenfosfat in fosforno kislino (oba p.a., Merck). Medija za raztapljanje sta vsebovala natrijev laurilsulfat (kakovost po Evropski farmakopeji, Sigma-Aldrich), kalijev dihidrogenfosfat in natrijev hidroksid (oba p.a., Merck). Vodo smo prečistili s sistemom Milli-Q Direct 8 (Merck Millipore, Molsheim, Francija).

Medij A je bil fosfatni pufer s pH 6,8 (0,05 M kalijev dihidrogenfosfat, pH uravnan z natrijevim hidroksidom), ki je vseboval 0,5 % (m/V) natrijevega laurilsulfata. Medij B je bil enak fosfatni pufer brez površinsko aktivne snovi. Oba medija smo pred uporabo prečistili s filtrom 0,45 μm in ju segreli na 37 °C.

3.2 PRIPRAVA FORMULACIJ

Sestavo formulacij prikazuje preglednica I. Oznake formulacij so določene v preglednici: združujejo postopek (SR sušenje z razprševanjem, TE taljenje z ekstrudiranjem, FZ fizikalna zmes), polimer (KP kopovidon, HP HPMCAS) in masni delež felodipina v odstotkih; delež 25 % ustreza masnemu razmerju učinkovina/polimer 1:3, delež 50 % pa razmerju 1:1.

Preglednica I: Sestava preučevanih formulacij

Oznaka	Postopek	Polimer	Učinkovina/polimer (m/m)	Delež učinkovine (%)
FDP-K	brez	brez	brez	100
FZ-KP	fizikalna zmes	kopovidon	1:3	25
FZ-HP	fizikalna zmes	HPMCAS	1:3	25
SR-KP-25	sušenje z razprševanjem	kopovidon	1:3	25
SR-KP-50	sušenje z razprševanjem	kopovidon	1:1	50
SR-HP-25	sušenje z razprševanjem	HPMCAS	1:3	25
SR-HP-50	sušenje z razprševanjem	HPMCAS	1:1	50
TE-KP-25	taljenje z ekstrudiranjem	kopovidon	1:3	25
TE-KP-50	taljenje z ekstrudiranjem	kopovidon	1:1	50
TE-HP-25	taljenje z ekstrudiranjem	HPMCAS	1:3	25
TE-HP-50	taljenje z ekstrudiranjem	HPMCAS	1:1	50

Opomba: Oznaka je sestavljena iz postopka (SR, TE, FZ), polimera (KP, HP) in deleža učinkovine v odstotkih. FDP-K je kristalinični felodipin, kakršen je bil dobavljen.

Vir: lastna raziskava

Za sušenje z razprševanjem smo učinkovino in polimer raztopili v zmesi acetona in metanola (1:1, V/V) pri skupni koncentraciji trdnih snovi 2 % (m/V) in raztopino posušili v razpršilnem sušilniku Büchi Mini Spray Dryer B-290 (BÜCHI Labortechnik, Flawil, Švica) z dvofluidno šobo s premerom 0,7 mm. Procesni parametri so v preglednici II. Posušeni prašek smo še 24 ur sušili v vakuumski sušilnici pri 40 °C in tlaku pod 10 mbar;

prašek smo šteli za suh, ko se masa med dvema tehtanjema v razmaku štirih ur ni spremenila za več kot 0,5 mg na 100 mg vzorca.

Pri taljenju z ekstrudiranjem smo učinkovino in polimer 10 minut mešali v mešalniku Turbula T2F (Willy A. Bachofen, Muttenz, Švica), nato pa po 5 g zmesi ekstrudirali v mikroekstruderju HAAKE MiniLab II (Thermo Fisher Scientific, Karlsruhe, Nemčija) s sočasno vrtečima se stožčastima vijakoma. Pogoji so v preglednici II. Ekstrudate smo ohladili na zraku pri 22 °C, jih 2 × 60 s mleli v mlinu Retsch MM 400 (Retsch, Haan, Nemčija) pri 25 Hz in presejali skozi sito z odprtinami 250 μm. Fizikalni zmesi smo pripravili z mešanjem kristaliničnega felodipina in polimera (obeh presejanih skozi sito 250 μm) 10 minut v mešalniku Turbula. Vse vzorce smo do uporabe shranili v eksikatorju nad silikagelom pri 22 °C, največ sedem dni.

Preglednica II: Procesni parametri priprave disperzij

Parameter	Sušenje z razprševanjem (SR)	Taljenje z ekstrudiranjem (TE)
Naprava	Büchi B-290	HAAKE MiniLab II
Temperatura	vhodni zrak 85 °C, izhodni zrak od 48 do 52 °C	valj 150 °C (kopovidon), 160 °C (HPMCAS)
Pretok in hitrost	aspirator 100 %, črpalka 4 mL/min, razpršilni zrak 600 L/h	100 min^{-1}, kroženje taline 5 min
Količina	4 g trdnih snovi na serijo	5 g na serijo
Nadaljnja obdelava	sušenje v vakuumu 24 h pri 40 °C	mletje in sejanje (250 μm)

Vir: lastna raziskava

3.3 FIZIKALNA KARAKTERIZACIJA

DSC. Vzorce mase (5,0 ± 0,5) mg smo stehtali v aluminijaste lončke s prostornino 40 μL in preluknjanim pokrovom ter jih merili z napravo DSC 3+ (Mettler Toledo, Greifensee, Švica) v dušiku (50 mL/min); napravo smo umerili z indijem. Program je bil: prvo segrevanje od 25 do 180 °C s 10 K/min, ohlajanje do 0 °C z 20 K/min, drugo segrevanje do 190 °C s 10 K/min. Tg smo odčitali kot sredino prehoda v drugem segrevanju, tališče kot vrh endoterma in talilno entalpijo kot ploščino vrha v prvem segrevanju. Tg amorfnega felodipina smo določili iz taline, ohlajene v napravi, enako kot Tg čistih polimerov. Delež kristalinične učinkovine v vzorcu (kristaliničnost) smo izračunali kot razmerje med izmerjeno talilno entalpijo vzorca, preračunano na maso učinkovine, in entalpijo kristaliničnega felodipina. Vsak vzorec smo izmerili v treh lončkih. Kazalnike (Tg, tališče, kristaliničnost) smo izbrali po pregledu Bairda in Taylorja (29); toplotno analizo opisuje poglavje 2.2.34 Evropske farmakopeje (36).

XRPD. Difraktograme smo posneli z difraktometrom D8 Advance (Bruker, Karlsruhe, Nemčija) s sevanjem Cu Kα (40 kV, 40 mA) v območju 2θ od 5° do 35° s korakom 0,05° in časom 1 s na korak; vzorec je bil na nosilcu z ničelnim ozadjem. Rentgensko praškovno difrakcijo opisuje poglavje 2.9.33 Evropske farmakopeje (36). Uklonske vrhove smo šteli za zaznane, če je njihova intenziteta presegala trikratnik šuma ozadja. Huang in Dai navajata, da z DSC in XRPD običajno zaznamo le od 1 do 5 % kristalov (12); za manjše deleže naši metodi ne zadoščata.

Gostota in velikost delcev. Pravo gostoto komponent smo izmerili s helijevim piknometrom AccuPyc II 1340 (Micromeritics, Norcross, ZDA), porazdelitev velikosti delcev disperzij pa z laserskim uklonom na napravi Mastersizer 3000 z enoto Aero S (Malvern Panalytical, Malvern, Združeno kraljestvo) pri 2 bar suhe disperzije. Vse meritve smo ponovili trikrat.

3.4 DOLOČANJE UČINKOVINE S HPLC

Felodipin smo določali s tekočinskim kromatografom Agilent 1260 Infinity II (Agilent Technologies, Santa Clara, ZDA) s kolono Waters XBridge C18 (150 × 4,6 mm, 3,5 µm; Waters, Milford, ZDA) pri 30 °C. Mobilna faza je bila zmes acetonitrila in 0,02 M kalijevega dihidrogenfosfata s pH 3,0 (uravnan s fosforno kislino) v razmerju 65:35 (V/V), pretok 1,0 mL/min, volumen injiciranja 20 µL, detekcija pri 362 nm; retencijski čas felodipina je bil približno 6 minut. Umeritveno premico smo pripravili iz osnovne raztopine v metanolu (1 mg/mL) z desetimi koncentracijami od 0,05 do 25 µg/mL, vsako s tremi injiciranji. Mejo zaznave in mejo določanja smo izračunali kot 3,3 s/S in 10 s/S, kjer je s standardni odklon ostankov regresije v spodnjem delu območja (do 1 µg/mL, kjer šum določa ozadje) in S naklon premice v tem območju. Podatki umeritve so v prilogi I (preglednica X, slika 7). Vsebnost učinkovine v disperzijah smo določili po raztapljanju 20 mg vzorca v 100 mL metanola in ustreznem redčenju z mobilno fazo.

3.5 TOPNOST IN PRESKUSA RAZTAPLJANJA

Ravnotežno topnost kristaliničnega felodipina smo določili z metodo stresalne bučke: presežek učinkovine (najmanj 5 mg) smo v 10 mL medija A ali B stresali 72 ur pri 37 °C in 100 min^{-1}, nato pa vzorec 10 minut centrifugirali s pospeškom 10 000 g in supernatant po redčenju analizirali s HPLC. Poskus smo ponovili trikrat.

Raztapljanje smo preskušali z napravo za raztapljanje Erweka DT 126 light (Erweka, Langen, Nemčija) z lopatičastim mešalom (aparatura 2 po poglavju 2.9.3 Evropske farmakopeje (36)) pri 37,0 ± 0,5 °C in 75 min^{-1}, v treh posodah na formulacijo. Vzorce smo odvzeli v času od 5 do 120 minut (preskus A) oziroma 180 minut (preskus B) in jih takoj centrifugirali 10 minut pri 10 000 g, da smo ločili neraztopljene delce; filtracije smo se izognili, ker se felodipin lahko adsorbira na filtre.

Preskus A smo opravili v 900 mL medija A z maso vzorca, ki ustreza 10 mg felodipina, kar je koncentracija 11,1 µg/mL in približno 11-krat manj od ravnotežne topnosti v mediju A (120,8 ± 2,3 µg/mL); pogoji so bili torej sink. Odvzeli smo po 5 mL v časih 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 in 120 minut ter volumen vsakič nadomestili s svežim medijem, pri izračunu pa upoštevali redčenje. Preskus A je namenjen primerjavi hitrosti raztapljanja.

Preskus B smo opravili v 500 mL medija B z maso vzorca, ki ustreza 2,0 mg felodipina, kar je koncentracija 4,0 µg/mL oziroma 4,3-kratnik ravnotežne topnosti kristalov v tem mediju (0,93 ± 0,03 µg/mL). Odvzeli smo po 1 mL v časih 5, 10, 15, 30, 60, 90, 120 in 180 minut brez nadomeščanja; supernatant smo takoj razredčili z acetonitrilom v razmerju 1:1, da se učinkovina po vzorčenju ne bi obarjala. Izgubo volumna (skupaj 1,6 %) smo upoštevali pri izračunu. Preskus B ovrednoti prenasičenje in njegovo vzdrževanje. Primer zapisa preskusa v laboratorijskem dnevniku je v prilogi IV.

Iz profilov smo izračunali naslednje kazalnike. V preskusu A: delež sproščene učinkovine po 15 minutah, čas do 50 % (t50) in do 85 % (t85) sproščene učinkovine z linearno interpolacijo med sosednjima točkama ter učinkovitost raztapljanja DE120 po Khanu (32), to je ploščino pod krivuljo sproščanja do 120 minut (trapezno pravilo, začetna točka 0 %), izraženo kot delež ploščine pri 100 % sproščanju skozi enak čas, kot kaže enačba (1). V preskusu B: največjo koncentracijo (Cmax) in čas, v katerem je dosežena (tmax), razmerje Cmax proti ravnotežni topnosti kristalov, ploščino pod krivuljo koncentracije v času do 180 minut (AUC) in razmerje med koncentracijo po 180 minutah in Cmax. Podobnost profilov smo ocenili z dejavnikom f2 po smernici EMA (33), izračunanim po enačbi (2), kjer sta Rt in Tt povprečna deleža sproščene učinkovine referenčnega in preskušanega vzorca ob času t, n pa število časovnih točk.

$$DE_{120} = AUC_{0–120} / (100 \cdot 120) \cdot 100 \qquad (1)$$

$$f_2 = 50 \cdot \log_{10} \{[1 + (1/n) \Sigma (R_t - T_t)^2]^{-0,5} \cdot 100\} \qquad (2)$$

3.6 ŠTUDIJA STABILNOSTI

Po 300 mg vsake disperzije smo shranili v odprtih stekleničkah v komori Binder KBF 240 (Binder, Tuttlingen, Nemčija) pri 40 ± 2 °C in 75 ± 5 % relativne vlažnosti (RV). Pogoji ustrezajo pospešenemu preskusu stabilnosti po smernici ICH Q1A(R2), ki priporoča najmanj tri časovne točke, med njimi začetno in končno (na primer 0, 3 in 6 mesecev) (34). Vzorce smo analizirali ob začetku ter po enem, treh in šestih mesecih z DSC in XRPD, preskus B pa smo ponovili ob začetku in po šestih mesecih.

3.7 STATISTIČNA OBDELAVA

Podatke smo obdelali v programskem jeziku Python s knjižnico SciPy. Rezultate podajamo kot povprečje ± standardni odklon treh ponovitev (posod ali lončkov). Primerjavo osmih disperzij in dveh fizikalnih zmesi s kristaliničnim felodipinom smo naredili z Dunnettovim preskusom (35). Vpliv postopka, polimera in deleža učinkovine na DE120, AUC in Cmax smo preskusili s trifaktorsko analizo variance za uravnotežen načrt 2 × 2 × 2 s tremi ponovitvami v vsaki celici; velikost učinka podajamo kot delni η^2. Normalnost ostankov smo preverili s preskusom Shapiro-Wilk, enakost varianc pa z Levenovim preskusom (po mediani). Spremembo AUC med shranjevanjem smo za vsako disperzijo primerjali z Welchevim preskusom t, p-vrednosti pa popravili po Holmu. Stopnja značilnosti je bila 0,05.

Napovedano Tg zmesi smo izračunali po enačbi Gordona in Taylorja (3), kjer je w masni delež, Tg,1 in Tg,2 pa temperaturi steklastega prehoda komponent z najnižjo (1, učinkovina) in najvišjo Tg (2, polimer), v kelvinih; konstanto K običajno računamo po pravilu Simhe in Boyerja (4), kjer je ρ prava gostota komponente (37). Pravi gostoti in Tg komponent smo izmerili sami (poglavje 3.3). Odstopanje izmerjene Tg od napovedi smo preskusili z enovzorčnim preskusom t proti ničli.

$$T_g = (w_1 \cdot T_{g,1} + K \cdot w_2 \cdot T_{g,2}) / (w_1 + K \cdot w_2) \quad (3)$$

$$K = \rho_1 \cdot T_{g,1} / (\rho_2 \cdot T_{g,2}) \quad (4)$$

4 REZULTATI

4.1 PRIPRAVA DISPERZIJ

Izkoristek sušenja z razprševanjem je bil od 56 do 65 %, izkoristek taljenja z ekstrudiranjem pa od 92 do 95 % (preglednica III). Vsebnost felodipina v vseh osmih disperzijah je bila od 99,1 do 99,8 % nazivne vrednosti, zato razlike v raztapljanju ne izvirajo iz razlik v odmerku. Postopka sta dala zelo različne delce: mediana velikosti (d50) je bila pri posušenih disperzijah okoli 4 μm, pri zmletih ekstrudatih pa okoli 90 μm.

Preglednica III: Izkoristek, vsebnost učinkovine in velikost delcev disperzij

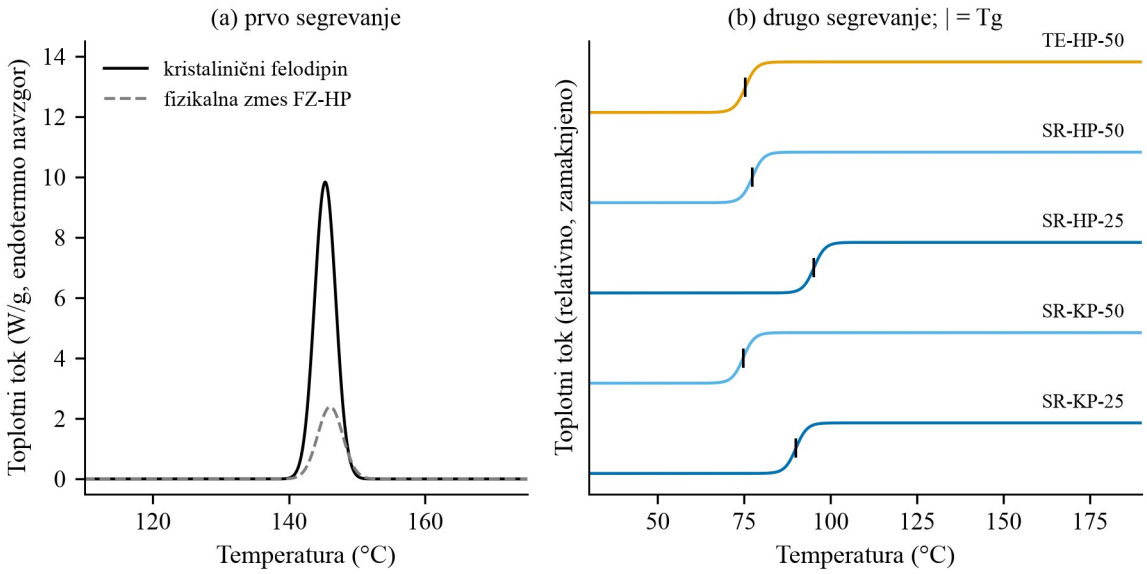
Formulacija	Izkoristek (%)	Vsebnost učinkovine (% nazivne)	d10 (μm)	d50 (μm)	d90 (μm)
SR-KP-25	60	99,7 ± 0,4	1,2 ± 0,1	4,2 ± 0,2	8,6 ± 0,3
SR-KP-50	56	99,8 ± 0,6	1,2 ± 0,1	3,9 ± 0,2	8,6 ± 0,5
SR-HP-25	63	99,4 ± 0,3	1,2 ± 0,1	3,8 ± 0,2	9,0 ± 0,3
SR-HP-50	65	99,1 ± 1,8	1,2 ± 0,1	3,9 ± 0,2	8,5 ± 0,6
TE-KP-25	95	99,6 ± 0,5	14,2 ± 0,3	89,1 ± 6,9	199,1 ± 2,5
TE-KP-50	92	99,7 ± 0,3	13,4 ± 0,4	90,4 ± 4,3	207,8 ± 6,7
TE-HP-25	95	99,6 ± 2,1	14,9 ± 0,3	91,3 ± 6,7	213,6 ± 4,0
TE-HP-50	95	99,8 ± 0,4	13,6 ± 0,7	88,8 ± 4,5	192,6 ± 9,7

Opomba: Vsebnost in velikost delcev sta povprečje ± standardni odklon treh meritev; izkoristek je podan za eno serijo.

Vir: lastna raziskava

4.2 FIZIKALNO STANJE DISPERZIJ

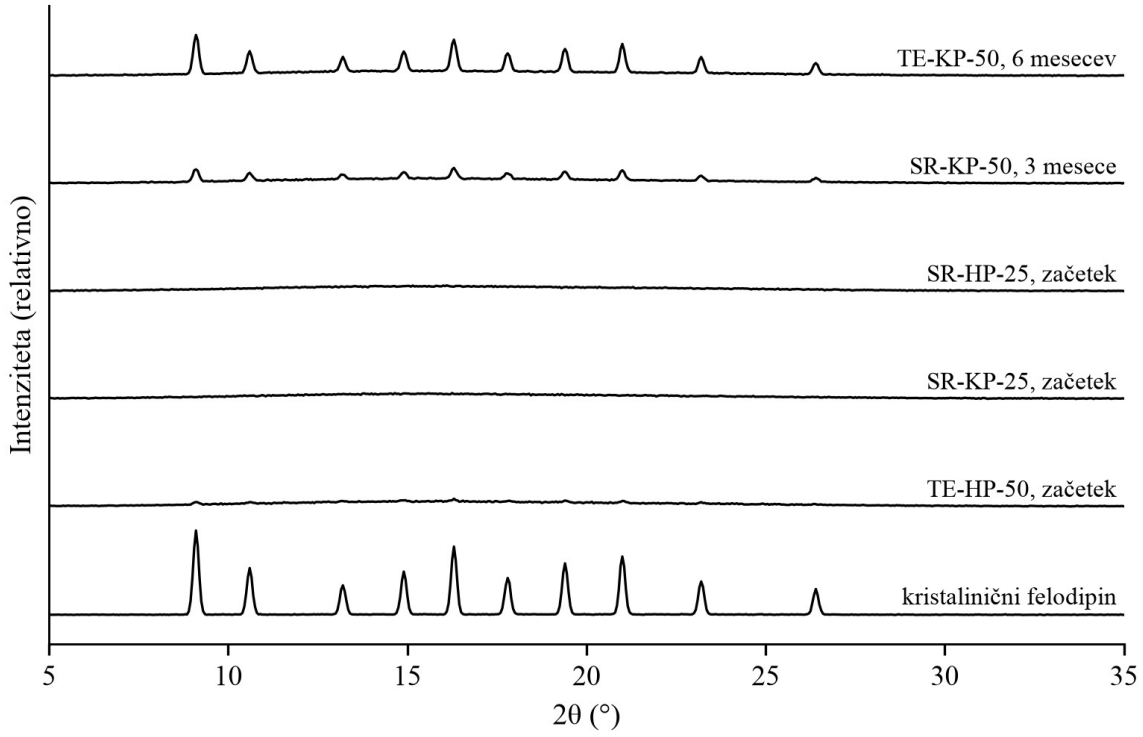
Kristalinični felodipin je v prvem segrevanju pokazal en talilni endoterm pri 145,3 ± 0,4 °C z entalpijo 73,8 ± 1,9 J/g (slika 2, a). Fizikalni zmesi sta pokazali enak endoterm (144,8 ± 0,7 °C pri kopovidonu in 146,1 ± 0,8 °C pri HPMCAS); preračunano na maso učinkovine je ustrezal kristaliničnosti okoli 100 %. Pri sedmih od osmih disperzij ob začetku shranjevanja endoterma ni bilo, v drugem segrevanju pa je bil viden en sam steklasti prehod (slika 2, b). Izjema je bila disperzija TE-HP-50, v kateri je entalpija taljenja ustrezala 3,1 % kristalinične učinkovine.



Slika 2: Termogrami DSC: (a) prvo segrevanje kristaliničnega felodipina in fizikalne zmesi FZ-HP, (b) steklasti prehod izbranih disperzij v drugem segrevanju

Vir: lastna raziskava

Rentgenska praškovna difrakcija je potrdila te ugotovitve (slika 3). Kristalinični felodipin je imel več ostrih uklonskih vrhov, disperzije SR-KP-25 in SR-HP-25 pa samo razširjeno amorfno sevanje. Pri disperziji TE-HP-50 so bili vidni šibki uklonski vrhovi na istih mestih kot pri kristalih, to je skladno z ostankom kristalinične učinkovine, izmerjenim z DSC.



Slika 3: Difraktogrami XRPD kristaliničnega felodipina in izbranih disperzij ob začetku shranjevanja oziroma po navedenem času pri 40 °C in 75 % relativni vlažnosti

Vir: lastna raziskava

Tg amorfnega felodipina je bila 45,3 ± 0,2 °C, kopovidona 101,8 ± 0,5 °C in HPMCAS 119,1 ± 0,6 °C. Izračunana konstanta K je bila 0,93 za kopovidon in 0,83 za HPMCAS. Izmerjene vrednosti Tg disperzij so bile blizu napovedim po enačbi Gordona in Taylorja (preglednica IV): povprečno odstopanje je bilo 0,5 °C ($p = 0,633$), kvadratni koren povprečnega kvadrata odstopanj 2,6 °C, največje absolutno odstopanje 3,4 °C pri disperziji TE-HP-50. Pri kopovidonu je bilo povprečno odstopanje izmerjene Tg od napovedi 2,9 °C, pri HPMCAS pa −1,9 °C (negativna vrednost pomeni, da je izmerjena Tg nižja od napovedane).

Preglednica IV: Izmerjena in z enačbo Gordona in Taylorja napovedana Tg disperzij

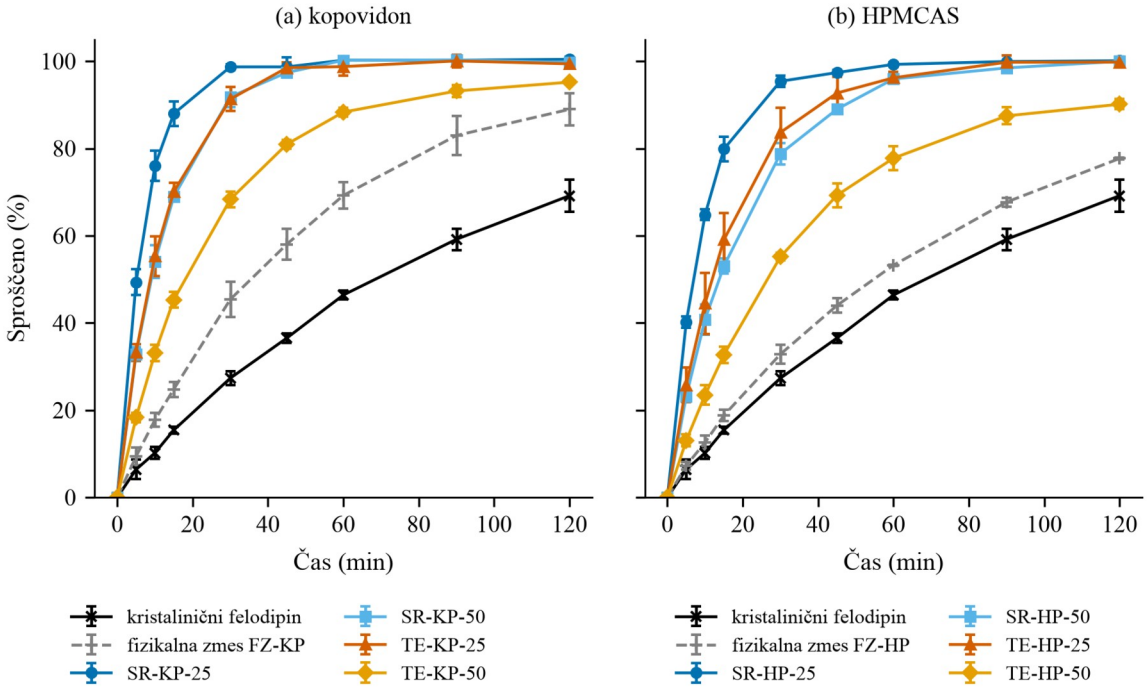
Formulacija	Izmerjena Tg (°C)	Napovedana Tg (°C)	Odstopanje (°C)
SR-KP-25	90,0 ± 0,6	86,9	3,1
SR-KP-50	74,7 ± 1,1	72,5	2,2
SR-HP-25	95,2 ± 0,7	97,9	−2,7
SR-HP-50	77,3 ± 0,9	78,7	−1,4
TE-KP-25	90,2 ± 0,6	86,9	3,3
TE-KP-50	75,5 ± 0,4	72,5	3,0
TE-HP-25	97,7 ± 0,9	97,9	−0,2
TE-HP-50	75,3 ± 0,5	78,7	−3,4

Opomba: Izmerjena Tg je povprečje ± standardni odklon treh lončkov (drugo segrevanje).

Vir: lastna raziskava

4.3 PRESKUS A: HITROST RAZTAPLJANJA V POGOJIH SINK

Vse disperzije so se raztapljale hitreje kot kristalinični felodipin (slika 4, preglednica V). Učinkovitost raztapljanja DE120 kristaliničnega felodipina je bila 42,1 %, fizikalne zmesi s kopovidonom 61,0 % in s HPMCAS 48,6 %, disperzij pa od 67,5 % (TE-HP-50) do 93,6 % (SR-KP-25). Povprečja po časovnih točkah so v prilogi II. Po Dunnettovem preskusu se je vseh osem disperzij od kristaliničnega felodipina značilno razlikovalo ($p < 0,001$ pri najmanj izraziti razliki), prav tako obe fizikalni zmesi ($p < 0,001$).



Slika 4: Profili raztapljanja v preskusu A (medij A, 900 mL, 10 mg felodipina): (a) formulacije s kopovidonom, (b) formulacije s HPMCAS. Točke so povprečja treh posod, črte napake standardni odklon

Vir: lastna raziskava

Preglednica V: Kazalniki raztapljanja v preskusu A

Formulacija	DE_{120} (%)	Sproščeno po 15 min (%)	t_{50} (min)	t_{85} (min)
kristalinični felodipin	42,1 ± 1,3	15,4 ± 0,8	69 ± 3	nad 120
FZ-KP	61,0 ± 3,2	24,8 ± 1,7	35 ± 4	101 ± 17
FZ-HP	48,6 ± 0,7	18,8 ± 1,3	55 ± 1	nad 120
SR-KP-25	93,6 ± 0,6	88,0 ± 2,8	5 ± 1	14 ± 1
SR-KP-50	89,3 ± 0,7	68,9 ± 0,8	9 ± 1	26 ± 1
SR-HP-25	91,2 ± 0,5	79,9 ± 2,8	7 ± 0	20 ± 2
SR-HP-50	83,2 ± 0,7	53,0 ± 1,7	14 ± 1	39 ± 1
TE-KP-25	89,2 ± 0,6	70,1 ± 2,0	9 ± 1	26 ± 2
TE-KP-50	76,3 ± 1,1	45,3 ± 1,8	18 ± 1	53 ± 2
TE-HP-25	85,3 ± 2,3	59,1 ± 6,1	12 ± 2	33 ± 7
TE-HP-50	67,5 ± 1,6	32,7 ± 1,9	27 ± 1	82 ± 6

Opomba: Povprečje ± standardni odklon treh posod. DE120: učinkovitost raztapljanja do 120 min; t50 in t85: čas do 50 % oziroma 85 % sproščene učinkovine; nad 120: vrednost ni bila dosežena v času preskusa.

Vir: lastna raziskava

Po 15 minutah je bilo sproščenih več kot 85 % učinkovine le iz SR-KP-25 (88,0 %). Disperzije z 50 % učinkovine so se raztapljale počasneje od tistih s 25 %, disperzije TE počasneje od disperzij SR, in sicer so t85 narasli od 14 min (SR-KP-25) do 82 min (TE-HP-50). Pri enaki sestavi je bil po obeh polimerih profil SR hitrejši od profila TE; vrednosti f2 za štiri pare so bile med 36 in 40 (preglednica VI). Merila smernice EMA za uporabo f2 (največ ena povprečna vrednost nad 85 %, relativni standardni odklon pod 20 % v prvi in pod 10 % v naslednjih točkah, dvanajst posameznih vrednosti na časovno točko) niso bila izpolnjena, zato je f2 le opisni kazalnik.

Preglednica VI: Faktor podobnosti f2 med disperzijama iste sestave, pripravljenima s sušenjem z razprševanjem in s taljenjem z ekstrudiranjem

Par (SR proti TE)	Časovne točke (n)	f2	Merila EMA izpolnjena
SR-KP-25 / TE-KP-25	4	39	ne
SR-KP-50 / TE-KP-50	6	36	ne
SR-HP-25 / TE-HP-25	5	40	ne
SR-HP-50 / TE-HP-50	7	37	ne

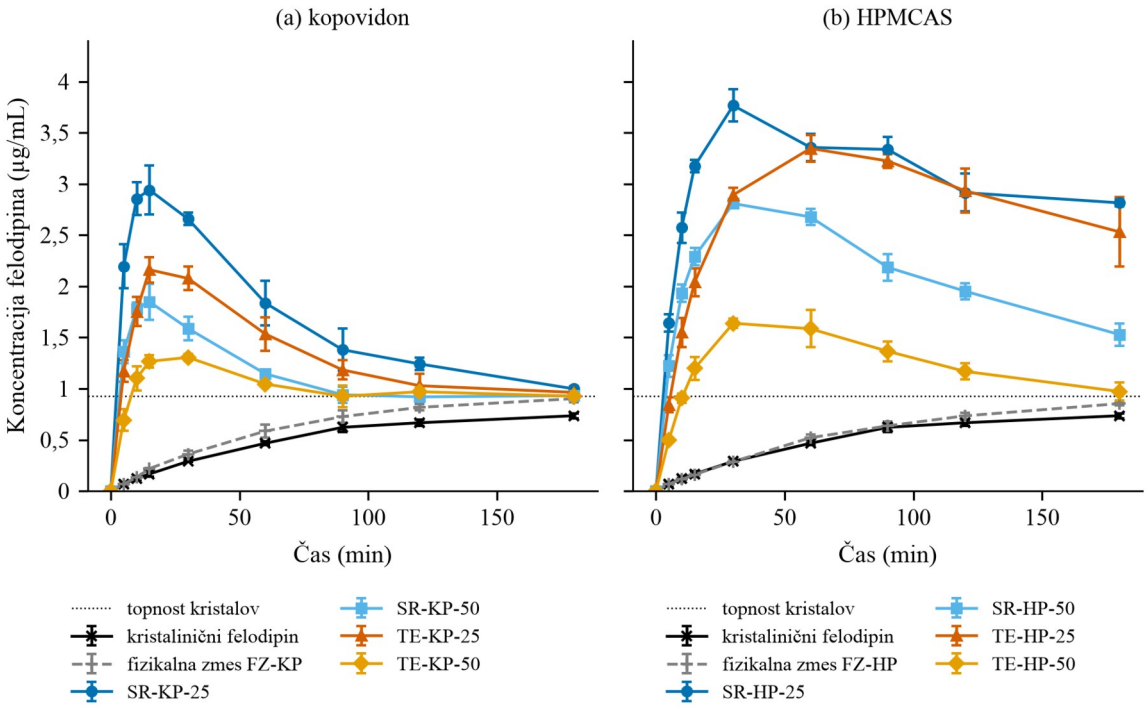
Opomba: Izračunano iz povprečnih profilov preskusa A do prve časovne točke, pri kateri sta obe povprečji najmanj 85 %.

Vir: lastna raziskava

4.4 PRESKUS B: PRENASIČENJE V POGOJIH NON-SINK

Kristalinični felodipin je v preskusu B dosegel koncentracijo največ 0,74 µg/mL, to je pod ravnotežno topnostjo (0,93 µg/mL), in je še naraščal ob koncu preskusa (slika 5, preglednica VII). Vse disperzije so koncentracijo dvignile nad topnost kristalov (povprečja po časovnih točkah so v prilogi III). Največ je bilo prenasičenja pri SR-HP-25: Cmax je

znašal 3,77 µg/mL (4,1-kratnik topnosti kristalov, 94 % odmerka), najmanj pri TE-KP-50 (1,4-kratnik).



Slika 5: Profili raztapljanja v preskusu B (medij B, 500 mL, 2,0 mg felodipina): (a) formulacije s kopovidonom, (b) formulacije s HPMCAS. Črtkana črta je ravnotežna topnost kristalov. Prikazani so povprečja in standardni odkloni treh posod

Vir: lastna raziskava

Preglednica VII: Kazalniki prenasičenja v preskusu B

Formulacija	Cmax (µg/mL)	tmax (min)	Cmax/topnost	AUC_{0-180} (µg·min/mL)	C180/Cmax (%)
kristalinični felodipin	0,74 ± 0,02	180	0,79 ± 0,03	94 ± 1	100
FZ-KP	0,90 ± 0,04	180	0,97 ± 0,04	115 ± 3	100
FZ-HP	0,85 ± 0,02	180	0,92 ± 0,02	102 ± 2	100
SR-KP-25	3,05 ± 0,13	15	3,3 ± 0,1	297 ± 16	33
SR-KP-50	1,87 ± 0,15	15	2,0 ± 0,2	202 ± 9	50
SR-HP-25	3,77 ± 0,16	30	4,1 ± 0,2	554 ± 11	75
SR-HP-50	2,81 ± 0,01	30	3,0 ± 0,0	381 ± 2	54
TE-KP-25	2,22 ± 0,04	15	2,4 ± 0,0	240 ± 11	44
TE-KP-50	1,32 ± 0,03	30	1,4 ± 0,0	182 ± 2	70
TE-HP-25	3,35 ± 0,13	60	3,6 ± 0,1	502 ± 10	75
TE-HP-50	1,70 ± 0,09	30	1,8 ± 0,1	226 ± 14	57

Opomba: Povprečje ± standardni odklon treh posod; tmax je mediana. Cmax/topnost je razmerje do ravnotežne topnosti kristalov v mediju B. C180/Cmax je koncentracija ob koncu preskusa v odstotkih največje.

Vir: lastna raziskava

Pri kopovidonu je bil vrh dosežen po 15 do 30 minutah in je nato koncentracija padala proti topnosti kristalov; koncentracija ob koncu preskusa je bila pri SR-KP-25 le 33 % največje. Pri HPMCAS se je vrh pojavil po 30 do 60 minutah, pri SR-HP-25 in TE-HP-25 pa je bila koncentracija po 180 minutah še 75 % oziroma 75 % največje. Ploščina AUC je bila pri fizikalnih zmeseh v bližini vrednosti kristaliničnega felodipina; razlike po Dunnettovem preskusu niso bile značilne ($p = 0,071$ za kopovidon in $p = 0,846$ za HPMCAS), pri vseh osmih disperzijah pa so bile značilne ($p < 0,001$ pri najmanj izraziti razliki).

4.5 UČINEK POSTOPKA, POLIMERA IN DELEŽA UČINKOVINE

Predpostavki analize variance sta bili izpolnjeni: ostanki so bili normalno porazdeljeni (preskus Shapiro-Wilk, $p = 0,68$ za DE120, 0,18 za AUC in 0,53 za Cmax), variance pa so bile enake (Levenov preskus, $p = 0,61$, 0,85 in 0,75). Vsi trije glavni učinki so bili značilni pri vseh treh kazalnikih (preglednica VIII).

Preglednica VIII: Trifaktorska analiza variance za DE120 (preskus A) in AUC (preskus B)

Člen modela	DE (preskus A): F	p	η^2	AUC (preskus B): F	p	η^2
metoda priprave	406,9	< 0,001	0,96	271,4	< 0,001	0,94
polimer	121,2	< 0,001	0,88	1863,6	< 0,001	0,99
delež učinkovine	497,7	< 0,001	0,97	1218,3	< 0,001	0,99
metoda × polimer	4,5	0,050	0,22	56,4	< 0,001	0,78
metoda × delež	90,2	< 0,001	0,85	15,1	0,001	0,49
polimer × delež	20,5	< 0,001	0,56	294,4	< 0,001	0,95
metoda × polimer × delež	0,4	0,556	0,02	66,6	< 0,001	0,81

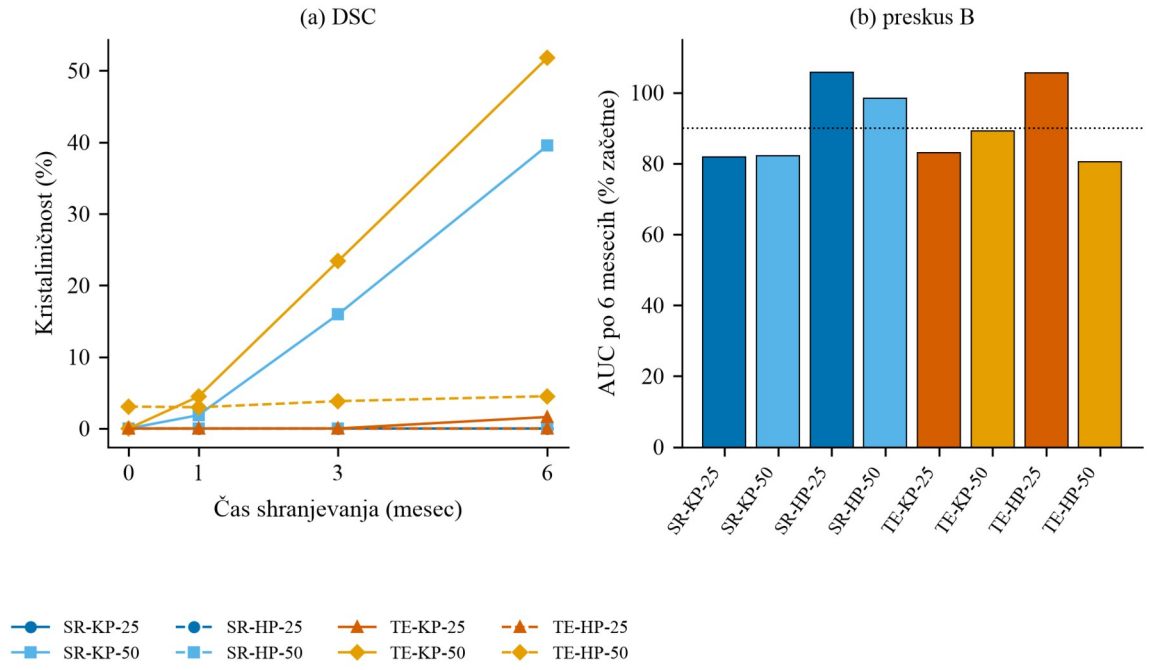
Opomba: Stopinje prostosti: 1 in 16. η^2: delni η^2.

Vir: lastna raziskava

Posušene disperzije so imele v povprečju večjo učinkovitost raztapljanja kot ekstrudirane (89,3 in 79,6 %), večjo ploščino AUC (358 in 287 µg·min/mL) in višji Cmax (2,87 in 2,14 µg/mL). Disperzije s 25 % učinkovine so bile boljše od disperzij s 50 % pri DE120 (89,9 in 79,1 %), AUC (398 in 248 µg·min/mL) in Cmax (3,09 in 1,92 µg/mL). Učinek polimera je bil v obeh preskusih nasproten: v preskusu A je bil DE120 pri kopovidonu večji kot pri HPMCAS (87,1 in 81,8 %), v preskusu B pa je bila AUC pri HPMCAS skoraj dvakrat večja kot pri kopovidonu (416 in 230 µg·min/mL), Cmax pa 2,90 in 2,11 µg/mL. Pri AUC so bile značilne tudi vse interakcije vključno s trojno; med interakcijami je najizrazitejša polimer × delež ($F = 294,4$), zato učinka deleža ni mogoče obravnavati ločeno od polimera.

4.6 FIZIKALNA STABILNOST

Pri pospešenem shranjevanju so se disperzije obnašale zelo različno (slika 6, preglednica IX). Disperziji SR-KP-50 in TE-KP-50 sta začeli kristalizirati že v prvem do tretjem mesecu: po šestih mesecih je bila kristaliničnost 39,5 oziroma 51,8 %, v difraktogramu pa so bili ob vsaki kontroli od tretjega oziroma prvega meseca vidni uklonski vrhovi. Pri TE-KP-25 je bila po šestih mesecih zaznana kristaliničnost 1,6 %, brez uklonskih vrhov. Disperzije SR-KP-25, SR-HP-25, SR-HP-50 in TE-HP-25 so ostale amorfne, TE-HP-50 pa je imela že ob začetku ostanek kristalov (3,1 %), ki se je po šestih mesecih povečal na 4,5 %.



Slika 6: Stabilnost disperzij pri 40 °C in 75 % relativni vlažnosti: (a) kristaliničnost po DSC, (b) AUC preskusa B po šestih mesecih v odstotkih začetne vrednosti (črtkana črta: merilo 90 %)

Vir: lastna raziskava

Preglednica IX: Fizikalna stabilnost disperzij po šestih mesecih pri 40 °C in 75 % relativni vlažnosti

Formulacija	Kristaliničnost po 6 mesecih (%)	Uklonski vrhovi (XRPD) po 0 / 1 / 3 / 6 mesecih	AUC po 6 mesecih (% začetne)	p (Holm)	Prednost ohranjena
SR-KP-25	0	ne / ne / ne / ne	82	0,101	ne
SR-KP-50	39,5 ± 7,3	ne / ne / da / da	82	0,060	ne
SR-HP-25	0	ne / ne / ne / ne	106	0,101	da
SR-HP-50	0	ne / ne / ne / ne	98	0,591	da
TE-KP-25	1,6 ± 0,2	ne / ne / ne / ne	83	0,060	ne
TE-KP-50	51,8 ± 6,3	ne / da / da / da	89	0,060	ne
TE-HP-25	0	ne / ne / ne / ne	106	0,101	da
TE-HP-50	4,5 ± 0,6	da / da / da / da	81	0,101	ne

Opomba: Kristaliničnost je povprečje ± standardni odklon treh lončkov DSC; 0 pomeni, da endoterma ni bilo. p je Welchev preskus t za AUC ob začetku in po šestih mesecih, popravljen po Holmu. Prednost je ohranjena, če po šestih mesecih ni uklonskih vrhov, jih ni bilo tudi ob začetku in je AUC najmanj 90 % začetne.

Vir: lastna raziskava

Po šestih mesecih je AUC v preskusu B padla na 82 % začetne vrednosti pri SR-KP-25, na 82 % pri SR-KP-50, na 83 % pri TE-KP-25 in na 81 % pri TE-HP-50, pri SR-HP-25 in TE-HP-25 pa je ostala v okviru ponovljivosti nespremenjena ali večja (106 % pri obeh). Nobena od teh razlik ni bila po popravku po Holmu značilna pri $p < 0,05$, najmanjša popravljena vrednost je bila $p = 0,060$; pri $n = 3$ je moč preskusa majhna. Merilo, določeno pred poskusom, so izpolnile tri disperzije: SR-HP-25, SR-HP-50, TE-HP-25.

5 RAZPRAVA

5.1 HITROST RAZTAPLJANJA

Vse disperzije so se raztapljale hitreje od kristaliničnega felodipina in od fizikalnih zmesi. Fizikalni zmesi sta imeli enako kristaliničnost kot čisti felodipin, kar potrjujejo talilni endotermi, zato pospešitve ne moremo pripisati sami bližini polimera. Odločilni sta amorfno stanje in razpršenost učinkovine v polimeru, kar se ujema s pričakovanjem, da amorfna oblika zaradi višje proste energije raztaplja hitreje (3).

Disperzije, pripravljene s sušenjem z razprševanjem, so se raztapljale hitreje od ekstrudiranih. Pri tem je treba upoštevati, da sta se med seboj razlikovali tudi velikosti delcev: mediana je bila pri posušenih disperzijah več kot dvajsetkrat manjša kot pri zmletih ekstrudatih, večja površina pa raztapljanje pospeši. Učinek postopka v tej nalogi zato vključuje učinek velikosti delcev in ju nismo ločili; za to bi morali ekstrudate zmleti na velikost posušenih delcev, česar nismo načrtovali. Patterson in sod. so pri polivinilpirolidonu opazili obratno razmerje: raztapljanje posušenih vzorcev je bilo slabše kot ekstrudiranih, kar pripisujejo hitremu raztapljanju polimera iz majhnih delcev (23). Naše meritve so bile opravljene z drugima polimeroma, v mediju s površinsko aktivno snovjo in pri drugih deležih učinkovine, zato se rezultata ne izključujeta. Pri raztapljanju je pomembna tudi izbira medija: po povzetku Schittnyja in sod. je ta pri razvoju disperzij zelo pomembna (19).

Disperzije s 50 % učinkovine so se raztapljale počasneje od tistih s 25 %. To se ujema s povzetkom Schittnyja in sod., da večji delež učinkovine praviloma zmanjša hitrost sproščanja (19); mehanizma (sproščanje, ki ga uravnava nosilec ali učinkovina) v nalogi nismo preiskovali. Nepričakovan je bil učinek polimera: v mediju s površinsko aktivno snovjo so bile disperzije s kopovidonom hitrejše od disperzij s HPMCAS. Možna razlaga, ki bi jo bilo treba preveriti, je počasnejše raztapljanje samega polimera. Vrednosti f2 pod 50 pri vseh štirih parih kažejo na različna profila, vendar merila smernice EMA (33) niso bila izpolnjena, zato je f2 pri treh posodah opisni kazalnik in ne podlaga za formalno odločitev.

5.2 PRENASIČENJE IN NJEGOVO VZDRŽEVANJE

Preskus B je pokazal, da hitro raztapljanje še ne zagotavlja vzdrževanja prenasičenja. Vse disperzije so koncentracijo dvignile nad topnost kristalov, vendar je koncentracija pri disperzijah s kopovidonom do konca preskusa padla na topnost kristalov, pri HPMCAS pa je ostala nad njo pri treh od štirih formulacij. Takšen potek ustreza zasnovi »vzmet in padalo«: najprej nastane prenasičena raztopina, nato je odločilno, kako dolgo se prenasičenje vzdržuje (12); Brouwers in sod. poudarjajo, da je nastalo prenasičeno raztopino treba stabilizirati, na primer z zaviralci obarjanja (13). Vloga polimera se ujema z opažanji Konna in sod. za felodipin: HPMCAS je vzdrževal prenasičenje najdlje, polivinilpirolidon pa je kristalizacijo zaviral najslabše (17). Mi smo namesto polivinilpirolidona uporabili kopovidon, zato primerjava velja za vrstni red polimerov, ne za številčne vrednosti. Warren in sod. celulozne derivate omenjajo kot polimere, ki v splošnem najbolj pomagajo (14), Curatolo in sod. pa HPMCAS kot najučinkovitejši med 41 preskušenimi snovmi (15); naši rezultati s tem niso v nasprotju.

Curatolo in sod. so poleg tega ugotovili, da se dosegljivo prenasičenje veča z deležem polimera v disperziji (15). V naših podatkih je bil Cmax pri 25 % učinkovine (75 % polimera) večji kot pri 50 %, in sicer pri obeh polimerih in obeh postopkih. Statistično je bil učinek deleža močan, vendar so bile interakcije s polimerom in postopkom značilne, zato njegove velikosti ni mogoče posplošiti na vse kombinacije.

Razmerje Cmax proti topnosti kristalov (4,1 pri SR-HP-25) je navzgor omejeno z odmerkom: ob popolni raztopitvi bi koncentracija dosegla 4,3-kratnik topnosti. Pri SR-HP-25 je bilo doseženih 94 % odmerka, zato je izmerjeno razmerje spodnja ocena zmožnosti te formulacije. Hancock in Parks sta iz toplotnih podatkov izračunala od 10- do 1600-kratno amorfno prednost (3); z odmerkom, ki smo ga izbrali, te napovedi ni mogoče preveriti in velikosti amorfne topnosti felodipina iz naših podatkov ne moremo oceniti. Huang in Dai navajata, da lahko nanodelci ubežijo filtraciji ali centrifugiranju (12); izmerjena koncentracija lahko zato vsebuje tudi koloidno učinkovino, ločevanja raztopljene učinkovine od koloidnih delcev pa nismo preverjali.

5.3 STEKLASTI PREHOD IN MEŠLJIVOST

Vsaka disperzija je v drugem segrevanju pokazala en steklasti prehod, kar kaže, da sta učinkovina in polimer v merilu, ki ga zaznava DSC, mešljiva; enak kazalnik homogenosti

navajajo tudi Medarević in sod. (37), vendar opozarjajo, da DSC ne loči domen, manjših od približno 30 nm, in da lahko učinkovina pri segrevanju prvega cikla zaradi raztapljanja v polimerni talini napačno kaže na mešljivost (37); odsotnost endoterma smo zato potrdili z XRPD. Izmerjene Tg so se od napovedi po enačbi Gordona in Taylorja razlikovale za največ nekaj stopinj, povprečno odstopanje pa se od nič ni značilno razlikovalo. Pri kopovidonu so bile Tg v vseh štirih disperzijah nad napovedjo, pri HPMCAS pa pod njo ali blizu nje. Po Medareviću in sod. pozitivno odstopanje izmerjene Tg od napovedi pomeni, da so interakcije učinkovine s polimerom močnejše od interakcij med enakimi molekulami, negativno odstopanje pa nasprotno (37); spektroskopskih meritev nismo opravili, zato interakcij ne moremo potrditi, odstopanja pa so majhna. Konstanto K smo ocenili iz gostot in Tg, ne pa prilagodili meritvam, zato napoved ni optimizirana na naše podatke. Huang in Dai poudarjata, da en sam Tg ne izključuje ločenih amorfnih domen, ki so premajhne za zaznavo (12). Največje negativno odstopanje je imela disperzija TE-HP-50; vzroka nismo preiskovali.

5.4 STABILNOST

Pri pospešenem shranjevanju so kristalizirale predvsem disperzije s 50 % učinkovine v kopovidonu. Schittny in sod. povzemajo opažanje, da pri felodipinu v kopovidonu kristalizacijo opazimo pri 50 % učinkovine in ne pri 5 % (19), kar kaže v isto smer, čeprav gre za raztapljanje tablet in ne za shranjevanje prahov. Rumondor in sod. so pri disperzijah felodipina s polivinilpirolidonom izmerili veliko občutljivost kristalizacije na relativno vlažnost in precej hitrejšo kristalizacijo pri 75 % in več, pri HPMCAS pa te občutljivosti niso opazili (27). Naši rezultati so s tem vzorcem skladni: pri 75 % relativni vlažnosti so kristalizirale disperzije s kopovidonom in 50 % učinkovine, disperzije s HPMCAS pa ne, razen z začetnim ostankom kristalov pri TE-HP-50. Po Huangu in Daiu je voda učinkovito mehčalo, polimeri, ki so odporni proti vpijanju vode, kot HPMCAS, katerega Tg po shranjevanju pri 75 % relativni vlažnosti ostane nad 70 °C, pa so prva izbira za stabilne disperzije (12). Vsebnosti vode med shranjevanjem nismo merili, zato vloge vlage ne moremo dokazati; z vlago povzročena ločitev amorfnih faz, ki jo za druge učinkovine v polivinilpirolidonu opisujejo Rumondor in sod. (28), v naši raziskavi ni bila preverjena. Qian in sod. stabilnost povezujejo s topnostjo učinkovine v polimeru in z deležem učinkovine (24); razlika med disperzijami s 25 % in s 50 % učinkovine je s tem skladna, topnosti felodipina v polimeru pa nismo izmerili.

Disperzija TE-HP-50 je ostanek kristalov vsebovala že ob začetku. Pri postopkih s taljenjem je po Bhujbalu in sod. potrebna zadostna topnost ali mešljivost učinkovine v polimerni talini in zadostna plastifikacija (22); razlaga, ki je nismo preverjali, je da se pri 160 °C in kratkem času zadrževanja v ekstruderju pri 50 % učinkovine v viskozni talini HPMCAS ni raztopila vsa učinkovina. Schittny in sod. povzemajo, da ostanek kristalinične učinkovine v disperziji pri raztapljanju vodi v koloide s ločitvijo faz in rastjo velikih kristalov (19), kar se ujema s slabšim prenasičenjem te disperzije v primerjavi s SR-HP-50. Po šestih mesecih je bila kristaliničnost te disperzije 4,5 %, AUC preskusa B pa 81 % začetne vrednosti.

Merilo AUC se je pokazalo kot občutljivo tudi tam, kjer kristalov nismo zaznali. Pri SR-KP-25 in TE-KP-25 je AUC padla za okoli petino, čeprav v difraktogramu ni bilo uklonskih vrhov, pri SR-KP-50, ki je bila po šestih mesecih več kot tretjino kristalinična, pa za podoben delež. Preskus B morda zaznava spremembe, ki jih XRPD in DSC ne zaznata, vendar tega nismo preverili. Bhujbal in sod. opozarjajo, da na fizikalno stabilnost vplivajo formulacija, oprema in procesne spremenljivke (22); naši rezultati kažejo, da je to pomembno tudi pri disperzijah z enako sestavo in različnim postopkom.

5.5 OMEJITVE DELA

Vsako formulacijo smo pripravili v eni seriji; tri posode ali lončki so tehnične ponovitve iste serije, ne neodvisne serije. Vrednosti p v analizi variance zato opisujejo ponovljivost meritev znotraj serije, ne razlik med serijami. Raziskali smo eno učinkovino, dva polimera, dva deleža in dva postopka, zato ugotovitve ne veljajo za druge sisteme. Postopek priprave in velikost delcev sta v poskusu povezana. Infrardeče spektroskopije in vrstične elektronske mikroskopije nismo uporabili, vsebnosti vode med shranjevanjem nismo merili. Preskusa raztapljanja sta bila izvedena v enem mediju s pH 6,8; v kislem in v biorelevantnih medijih se lahko vrstni red polimerov spremeni, zlasti pri HPMCAS, zato je po Fotaki in sod. (po povzetku Schittnyja in sod. (19)) smiselna kombinacija več medijev. Shi in sod. poudarjajo vlogo stabilizirajočih snovi pri vzdrževanju prenasičenja (18), ki je v naši raziskavi opisana le z dvema polimeroma. Pospešeno shranjevanje v odprtih stekleničkah je strožje od shranjevanja v embalaži izdelka. Rezultatov in vitro ni mogoče neposredno prenesti na biološko uporabnost; Newman in sod. so med 40 preučenimi raziskavami našli tudi primere, v katerih je bila biološka uporabnost disperzije slabša od referenčne snovi (11).

6 SKLEP

Pripravili smo osem amorfnih trdnih disperzij felodipina s kopovidonom in HPMCAS, z 25 % in 50 % učinkovine, s sušenjem z razprševanjem in s taljenjem z ekstrudiranjem, ter jih primerjali s kristaliničnim felodipinom in s fizikalnima zmesema v dveh preskusih raztapljanja in v šestmesečnem pospešenem preskusu stabilnosti. Sedem disperzij je bilo takoj po pripravi amorfnih, v osmi (TE-HP-50) je bil ostanek kristalov, ki je ustrezal 3,1 % učinkovine.

Hipoteza H1 je sprejeta. Vseh osem disperzij je imelo večjo učinkovitost raztapljanja in večjo ploščino AUC kot kristalinični felodipin (Dunnettov preskus, $p < 0,001$ za najmanj izrazito razliko pri AUC). Fizikalni zmesi se v preskusu B od kristaliničnega felodipina nista značilno razlikovali.

Hipoteza H2 je sprejeta po merilih, določenih pred poskusi: glavni učinek postopka je bil značilen pri DE120, AUC in Cmax ($p < 0,001$), vrednost f2 pa je bila pri vseh štirih parih pod 50. Disperzije, pripravljene s sušenjem z razprševanjem, so se raztapljale hitreje in dosegle večje prenasičenje. Hkrati je bil postopek povezan z velikostjo delcev, zato učinka ni mogoče pripisati samo postopku, merila za uporabo f2 pa niso bila izpolnjena.

Hipoteza H3 je sprejeta. Polimer in delež učinkovine sta značilno vplivala na AUC in na razmerje Cmax proti topnosti kristalov ($p < 0,001$). Največ prenasičenja je dosegla disperzija SR-HP-25, in sicer 94 % odmerka, HPMCAS pa je prenasičenje vzdrževal dlje kot kopovidon. V pogojih sink je bil vrstni red polimerov obraten, disperzije s kopovidonom so se raztapljale hitreje.

Hipoteza H4 je sprejeta le delno. Po šestih mesecih pri 40 °C in 75 % relativni vlažnosti so merilo, določeno pred poskusom (brez uklonskih vrhov ob začetku in na koncu ter AUC najmanj 90 % začetne), izpolnile treh od osmih disperzij: SR-HP-25, SR-HP-50, TE-HP-25. Disperziji s kopovidonom in 50 % učinkovine sta kristalizirali, TE-HP-50 je imela ostanek kristalov že ob začetku, disperziji SR-KP-25 in TE-KP-25 pa sta izgubili okoli petino AUC brez zaznanih kristalov.

Najpomembnejša ugotovitev za oblikovanje izdelka je, da je pri felodipinu najboljši kompromis med hitrim raztapljanjem, vzdrževanjem prenasičenja in stabilnostjo disperzija s HPMCAS in 25 % učinkovine, pripravljena s sušenjem z razprševanjem ali s taljenjem z ekstrudiranjem. Omejitve naloge so: ena serija vsake formulacije, en medij s pH 6,8,

odsotnost meritev vode in spektroskopije ter povezanost postopka z velikostjo delcev. Nadaljnje delo naj zato vključi ponovitev serij, ekstrudate, zmlete na velikost posušenih delcev, meritve vsebnosti vode med shranjevanjem, infrardečo spektroskopijo za potrditev interakcij učinkovine s polimerom ter preskušanje v več medijih.

LITERATURA

1. Amidon GL, Lennernäs H, Shah VP, Crison JR. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. Pharm Res. 1995;12(3):413-20. https://doi.org/10.1023/A:1016212804288

2. Williams HD, Trevaskis NL, Charman SA, Shanker RM, Charman WN, Pouton CW, in sod. Strategies to address low drug solubility in discovery and development. Pharmacol Rev. 2013;65(1):315-499. https://doi.org/10.1124/pr.112.005660

3. Hancock BC, Parks M. What is the true solubility advantage for amorphous pharmaceuticals? Pharm Res. 2000;17(4):397-404. https://doi.org/10.1023/A:1007516718048

4. Chiou WL, Riegelman S. Pharmaceutical applications of solid dispersion systems. J Pharm Sci. 1971;60(9):1281-302. https://doi.org/10.1002/jps.2600600902

5. Leuner C, Dressman J. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. Eur J Pharm Biopharm. 2000;50(1):47-60. https://doi.org/10.1016/S0939-6411(00)00076-X

6. Serajuddin AT. Solid dispersion of poorly water-soluble drugs: early promises, subsequent problems, and recent breakthroughs. J Pharm Sci. 1999;88(10):1058-66. https://doi.org/10.1021/js9804031

7. Baghel S, Cathcart H, O'Reilly NJ. Polymeric Amorphous Solid Dispersions: A Review of Amorphization, Crystallization, Stabilization, Solid-State Characterization, and Aqueous Solubilization of Biopharmaceutical Classification System Class II Drugs. J Pharm Sci. 2016;105(9):2527-44. https://doi.org/10.1016/j.xphs.2015.10.008

8. Janssens S, Van den Mooter G. Review: physical chemistry of solid dispersions. J Pharm Pharmacol. 2009;61(12):1571-86. https://doi.org/10.1211/jpp.61.12.0001

9. Hancock BC, Zografi G. Characteristics and significance of the amorphous state in pharmaceutical systems. J Pharm Sci. 1997;86(1):1-12. https://doi.org/10.1021/js9601896

10. Yu L. Amorphous pharmaceutical solids: preparation, characterization and stabilization. Adv Drug Deliv Rev. 2001;48(1):27-42. https://doi.org/10.1016/S0169-409X(01)00098-9

11. Newman A, Knipp G, Zografi G. Assessing the performance of amorphous solid dispersions. J Pharm Sci. 2012;101(4):1355-77. https://doi.org/10.1002/jps.23031

12. Huang Y, Dai WG. Fundamental aspects of solid dispersion technology for poorly soluble drugs. Acta Pharm Sin B. 2014;4(1):18-25. https://doi.org/10.1016/j.apsb.2013.11.001

13. Brouwers J, Brewster ME, Augustijns P. Supersaturating drug delivery systems: the answer to solubility-limited oral bioavailability? J Pharm Sci. 2009;98(8):2549-72. https://doi.org/10.1002/jps.21650

14. Warren DB, Benameur H, Porter CJH, Pouton CW. Using polymeric precipitation inhibitors to improve the absorption of poorly water-soluble drugs: A mechanistic basis for utility. J Drug Target. 2010;18(10):704-31. https://doi.org/10.3109/1061186X.2010.525652

15. Curatolo W, Nightingale JA, Herbig SM. Utility of hydroxypropylmethylcellulose acetate succinate (HPMCAS) for initiation and maintenance of drug supersaturation in the GI milieu. Pharm Res. 2009;26(6):1419-31. https://doi.org/10.1007/s11095-009-9852-z

16. Friesen DT, Shanker R, Crew M, Smithey DT, Curatolo WJ, Nightingale JAS. Hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate-based spray-dried dispersions: an overview. Mol Pharm. 2008;5(6):1003-19. https://doi.org/10.1021/mp8000793

17. Konno H, Handa T, Alonzo DE, Taylor LS. Effect of polymer type on the dissolution profile of amorphous solid dispersions containing felodipine. Eur J Pharm Biopharm. 2008;70(2):493-9. https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2008.05.023

18. Shi Q, Li F, Yeh S, Moinuddin SM, Xin J, Xu J, in sod. Recent Advances in Enhancement of Dissolution and Supersaturation of Poorly Water-Soluble Drug in Amorphous Pharmaceutical Solids: A Review. AAPS PharmSciTech. 2021;23(1):16. https://doi.org/10.1208/s12249-021-02137-0

19. Schittny A, Huwyler J, Puchkov M. Mechanisms of increased bioavailability through amorphous solid dispersions: a review. Drug Deliv. 2020;27(1):110-27. https://doi.org/10.1080/10717544.2019.1704940

20. Singh A, Van den Mooter G. Spray drying formulation of amorphous solid dispersions. Adv Drug Deliv Rev. 2016;100:27-50. https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.12.010

21. Crowley MM, Zhang F, Repka MA, Thumma S, Upadhye SB, Battu SK, in sod. Pharmaceutical applications of hot-melt extrusion: part I. Drug Dev Ind Pharm. 2007;33(9):909-26. https://doi.org/10.1080/03639040701498759

22. Bhujbal SV, Mitra B, Jain U, Gong Y, Agrawal A, Karki S, in sod. Pharmaceutical amorphous solid dispersion: A review of manufacturing strategies. Acta Pharm Sin B. 2021;11(8):2505-36. https://doi.org/10.1016/j.apsb.2021.05.014

23. Patterson JE, James MB, Forster AH, Lancaster RW, Butler JM, Rades T. Preparation of glass solutions of three poorly water soluble drugs by spray drying, melt extrusion and ball milling. Int J Pharm. 2007;336(1):22-34. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.11.030

24. Qian F, Huang J, Hussain MA. Drug-polymer solubility and miscibility: Stability consideration and practical challenges in amorphous solid dispersion development. J Pharm Sci. 2010;99(7):2941-7. https://doi.org/10.1002/jps.22074

25. Marsac PJ, Shamblin SL, Taylor LS. Theoretical and practical approaches for prediction of drug-polymer miscibility and solubility. Pharm Res. 2006;23(10):2417-26. https://doi.org/10.1007/s11095-006-9063-9

26. Hancock BC, Zografi G. The relationship between the glass transition temperature and the water content of amorphous pharmaceutical solids. Pharm Res. 1994;11(4):471-7. https://doi.org/10.1023/a:1018941810744

27. Rumondor ACF, Stanford LA, Taylor LS. Effects of polymer type and storage relative humidity on the kinetics of felodipine crystallization from amorphous solid dispersions. Pharm Res. 2009;26(12):2599-606. https://doi.org/10.1007/s11095-009-9974-3

28. Rumondor ACF, Marsac PJ, Stanford LA, Taylor LS. Phase behavior of poly(vinylpyrrolidone) containing amorphous solid dispersions in the presence of moisture. Mol Pharm. 2009;6(5):1492-505. https://doi.org/10.1021/mp900050c

29. Baird JA, Taylor LS. Evaluation of amorphous solid dispersion properties using thermal analysis techniques. Adv Drug Deliv Rev. 2012;64(5):396-421. https://doi.org/10.1016/j.addr.2011.07.009

30. Srčič S, Kerč J, Urleb U, Zupančič I, Lahajnar G, Kofler B, in sod. Investigation of felodipine polymorphism and its glassy state. Int J Pharm. 1992;87(1-3):1-10. https://doi.org/10.1016/0378-5173(92)90221-M

31. Kerč J, Srčič S. Thermal analysis of glassy pharmaceuticals. Thermochim Acta. 1995;248:81-95. https://doi.org/10.1016/0040-6031(94)01949-H

32. Khan KA. The concept of dissolution efficiency. J Pharm Pharmacol. 1975;27(1):48-9. https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1975.tb09378.x

33. European Medicines Agency. Guideline on the investigation of bioequivalence. CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1/Corr **. European Medicines Agency. 2010 [pridobljeno 23. 10. 2026]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-investigation-bioequivalence-rev1_en.pdf

34. International Conference on Harmonisation. ICH harmonised tripartite guideline: stability testing of new drug substances and products Q1A(R2). Current Step 4 version dated 6 February 2003. ICH. 2003 [pridobljeno 23. 10. 2026]. https://database.ich.org/sites/default/files/Q1A%28R2%29%20Guideline.pdf

35. Dunnett CW. A Multiple Comparison Procedure for Comparing Several Treatments with a Control. J Am Stat Assoc. 1955;50(272):1096-121. https://doi.org/10.1080/01621459.1955.10501294

36. European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare. European Pharmacopoeia. 11. izd. Strasbourg: Council of Europe; 2022.

37. Medarević D, Djuriš J, Barmpalexis P, Kachrimanis K, Ibrić S. Analytical and computational methods for the estimation of drug-polymer solubility and miscibility in

solid dispersions development. Pharmaceutics. 2019;11(8):372. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11080372

PRILOGE

PRILOGA I: UMERITVENA PREMICA METODE HPLC

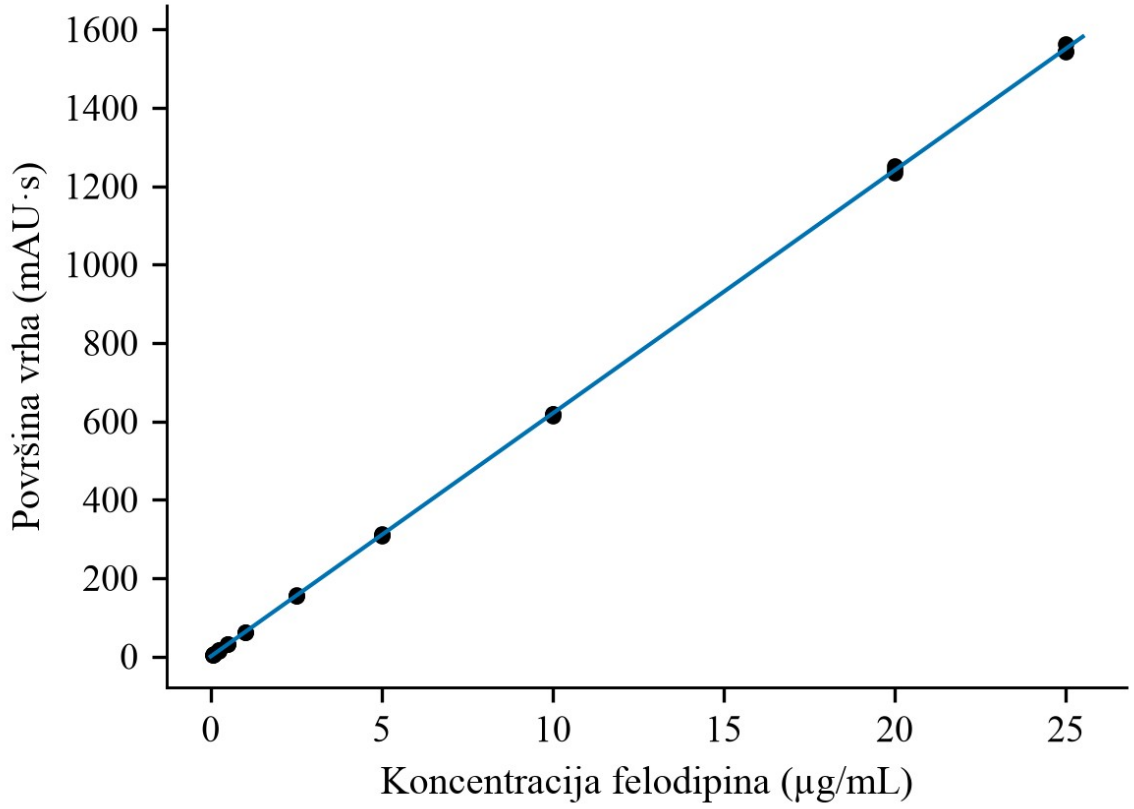
Umeritveno premico smo pripravili z desetimi koncentracijami felodipina od 0,05 do 25 µg/mL, vsako s tremi injiciranji (30 meritev). Enačba regresijske premice je $y = 62{,}02 \cdot x + 0{,}06$ (y: površina vrha v mAU·s, x: koncentracija v µg/mL), koeficient determinacije 0,99995. Meja zaznave je 0,015 µg/mL, meja določanja 0,047 µg/mL. Najmanjša koncentracija, izmerjena v preskusu B, je bila nad mejo določanja. Podatke prikazujeta preglednica X in slika 7.

Preglednica X: Podatki umeritve metode HPLC

Koncentracija (µg/mL)	Površina vrha (mAU·s)	Izračunana koncentracija (µg/mL)	Povratek (%)
0,05	3,5 ± 0,3	0,056	112,4
0,10	6,5 ± 0,3	0,104	104,3
0,25	15,6 ± 0,5	0,251	100,5
0,50	31,2 ± 0,2	0,502	100,5
1,00	62,4 ± 0,1	1,006	100,6
2,50	155,0 ± 1,1	2,499	100,0
5,00	310,4 ± 2,1	5,003	100,1
10,00	617,4 ± 2,9	9,953	99,5
20,00	1242,7 ± 8,2	20,035	100,2
25,00	1550,0 ± 10,8	24,990	100,0

Opomba: Površina vrha je povprečje ± standardni odklon treh injiciranj; povratek je razmerje med izračunano in pripravljeno koncentracijo.

Vir: lastna raziskava



Slika 7: Umeritvena premica metode HPLC (točke so posamezna injiciranja)

Vir: lastna raziskava

PRILOGA II: PODATKI PRESKUSA A PO ČASOVNIH TOČKAH

Preglednici XI in XII vsebujeta povprečja ± standardne odklone treh posod za vse formulacije.

Preglednica XI: Delež sproščenega felodipina v preskusu A (%), od 5 do 30 minut

Formulacija	5 min	10 min	15 min	30 min
FDP-K	6,4 ± 2,3	10,2 ± 1,4	15,4 ± 0,8	27,3 ± 1,6
FZ-KP	9,4 ± 2,0	17,8 ± 1,6	24,8 ± 1,7	45,4 ± 4,0
FZ-HP	7,3 ± 0,9	12,6 ± 1,6	18,8 ± 1,3	32,8 ± 2,2
SR-KP-25	49,3 ± 3,0	76,0 ± 3,5	88,0 ± 2,8	98,7 ± 0,7
SR-KP-50	32,8 ± 1,6	54,1 ± 3,7	68,9 ± 0,8	91,8 ± 2,3
SR-HP-25	40,2 ± 1,3	64,8 ± 1,2	79,9 ± 2,8	95,4 ± 1,3
SR-HP-50	23,1 ± 1,2	40,8 ± 3,5	53,0 ± 1,7	78,8 ± 2,5
TE-KP-25	33,3 ± 1,8	55,3 ± 4,6	70,1 ± 2,0	91,3 ± 2,8
TE-KP-50	18,3 ± 1,0	33,1 ± 1,9	45,3 ± 1,8	68,3 ± 1,8
TE-HP-25	25,8 ± 4,0	44,5 ± 7,0	59,1 ± 6,1	83,7 ± 5,7
TE-HP-50	13,0 ± 1,4	23,5 ± 2,2	32,7 ± 1,9	55,2 ± 0,9

Vir: lastna raziskava

Preglednica XII: Delež sproščenega felodipina v preskusu A (%), od 45 do 120 minut

Formulacija	45 min	60 min	90 min	120 min
FDP-K	36,5 ± 1,1	46,4 ± 1,0	59,2 ± 2,5	69,2 ± 3,6
FZ-KP	58,0 ± 3,5	69,2 ± 3,1	83,0 ± 4,5	89,0 ± 3,8
FZ-HP	44,0 ± 1,6	53,2 ± 0,2	67,7 ± 1,0	77,7 ± 0,3
SR-KP-25	98,7 ± 2,2	100,2 ± 0,2	100,2 ± 0,9	100,4 ± 0,6
SR-KP-50	97,4 ± 1,1	100,2 ± 0,7	100,3 ± 1,2	99,7 ± 0,9
SR-HP-25	97,4 ± 0,6	99,3 ± 0,5	99,9 ± 1,4	100,1 ± 0,8
SR-HP-50	89,0 ± 0,4	95,9 ± 1,0	98,5 ± 0,9	100,0 ± 1,0
TE-KP-25	98,5 ± 1,3	98,8 ± 2,0	100,1 ± 1,5	99,4 ± 0,2
TE-KP-50	81,0 ± 1,0	88,3 ± 1,0	93,2 ± 1,4	95,2 ± 0,3
TE-HP-25	92,7 ± 3,8	96,2 ± 1,3	99,8 ± 1,5	99,8 ± 1,2
TE-HP-50	69,3 ± 2,7	77,8 ± 2,7	87,5 ± 1,9	90,1 ± 1,2

Vir: lastna raziskava

PRILOGA III: PODATKI PRESKUSA B PO ČASOVNIH TOČKAH

Preglednici XIII in XIV vsebujeta povprečja ± standardne odklone treh posod za vse formulacije ob začetku shranjevanja.

Preglednica XIII: Koncentracija felodipina v preskusu B (µg/mL), od 5 do 30 minut

Formulacija	5 min	10 min	15 min	30 min
FDP-K	0,07 ± 0,02	0,12 ± 0,01	0,17 ± 0,03	0,29 ± 0,01
FZ-KP	0,07 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,36 ± 0,04
FZ-HP	0,07 ± 0,01	0,11 ± 0,03	0,16 ± 0,01	0,29 ± 0,02
SR-KP-25	2,20 ± 0,21	2,86 ± 0,16	2,94 ± 0,24	2,66 ± 0,06
SR-KP-50	1,36 ± 0,11	1,78 ± 0,06	1,85 ± 0,17	1,59 ± 0,11
SR-HP-25	1,64 ± 0,08	2,57 ± 0,15	3,17 ± 0,06	3,77 ± 0,16
SR-HP-50	1,22 ± 0,11	1,93 ± 0,08	2,29 ± 0,08	2,81 ± 0,01
TE-KP-25	1,17 ± 0,11	1,75 ± 0,14	2,16 ± 0,13	2,08 ± 0,12
TE-KP-50	0,69 ± 0,10	1,10 ± 0,12	1,27 ± 0,06	1,31 ± 0,03
TE-HP-25	0,84 ± 0,07	1,55 ± 0,14	2,04 ± 0,14	2,89 ± 0,07
TE-HP-50	0,50 ± 0,02	0,91 ± 0,05	1,20 ± 0,11	1,64 ± 0,05

Vir: lastna raziskava

Preglednica XIV: Koncentracija felodipina v preskusu B (µg/mL), od 60 do 180 minut

Formulacija	60 min	90 min	120 min	180 min
FDP-K	0,47 ± 0,02	0,62 ± 0,05	0,67 ± 0,03	0,74 ± 0,02
FZ-KP	0,59 ± 0,06	0,73 ± 0,06	0,82 ± 0,03	0,90 ± 0,04
FZ-HP	0,52 ± 0,03	0,64 ± 0,04	0,73 ± 0,03	0,85 ± 0,02
SR-KP-25	1,84 ± 0,22	1,38 ± 0,20	1,24 ± 0,06	1,00 ± 0,03
SR-KP-50	1,14 ± 0,04	0,94 ± 0,08	0,92 ± 0,01	0,93 ± 0,02
SR-HP-25	3,36 ± 0,13	3,34 ± 0,12	2,91 ± 0,19	2,81 ± 0,03
SR-HP-50	2,68 ± 0,08	2,19 ± 0,13	1,95 ± 0,08	1,53 ± 0,11
TE-KP-25	1,53 ± 0,16	1,18 ± 0,09	1,03 ± 0,12	0,96 ± 0,05
TE-KP-50	1,05 ± 0,03	0,93 ± 0,11	0,97 ± 0,04	0,93 ± 0,01
TE-HP-25	3,35 ± 0,13	3,22 ± 0,07	2,93 ± 0,22	2,53 ± 0,34
TE-HP-50	1,58 ± 0,18	1,36 ± 0,10	1,17 ± 0,08	0,97 ± 0,09

Vir: lastna raziskava

PRILOGA IV: PRIMER ZAPISA V LABORATORIJSKEM DNEVNIKU

Zapis je oblikovan po vzorcu laboratorijskega dnevnika, ki ga navodila fakultete za dnevnik z meritvami predvidevajo (materiali, priprava vzorca, pogoji, opis dela, rezultati, komentar). Zapis je v preglednici XV.

Preglednica XV: Zapis preskusa B za disperzijo SR-HP-25 v laboratorijskem dnevniku

Postavka	Vnos
Datum	10. 3. 2026
Vrsta poskusa	preskus B (non-sink), tri posode
Materiali	disperzija SR-HP-25 (felodipin/HPMCAS 1:3, sušenje z razprševanjem); medij B (fosfatni pufer pH 6,8); acetonitril za HPLC (Merck)
Priprava vzorca	po 8,0 mg disperzije (ustreza 2,0 mg felodipina), stehtano na analitski tehtnici, v posodo z 500 mL medija
Naprava in pogoji	Erweka DT 126 light, lopatica 75 min^{-1}, 37,0 ± 0,5 °C; centrifuga 10 000 g, 10 min
Odvzem	po 1 mL v 5, 10, 15, 30, 60, 90, 120 in 180 min; supernatant 1:1 z acetonitrilom
Analiza	HPLC, kolona C18, acetonitril/fosfatni pufer pH 3,0 (65:35), 1,0 mL/min, 362 nm
Rezultat	Cmax 3,77 ± 0,16 µg/mL, AUC 554 ± 11 µg·min/mL (povprečje treh posod)
Komentar	posebnosti med preskusom niso bile opažene