

Opinnäytetyö (AMK)

Prosessi- ja materiaalitekniikka

2018

Sanni Murto

LÄÄKEAINEEN
VAPAUTUMINEN
KOLMIFLUIDISUUTTIMELLA
VALMISTETUISTA
SILIKAMIKROPARTIKKELEISTA

Sanni Murto

LÄÄKEAINEEN VAPAUTUMINEN KOLMIFLUIDISUUTTIMELLA VALMISTETUISTA SILIKAMIKROPARTIKKELEISTA

Opinnäytetyön tavoitteena oli tutkia lääkeaineen vapautumista ja silikan liukenemista silikamikropartikkeleista, jotka oli valmistettu kolmifluidisuuttimella. Tarkoituksena oli valmistaa lääkeainetta sisältäviä partikkeleita, joiden päällä olisi pelkkää silikaa sisältävä kerros. Lääkeaineen vapautumista pyrittiin kontrolloimaan silikakerroksella partikkelin päällä.

Partikkelit valmistettiin sooli-geeli-menetelmällä hyväksikäyttäen sumukuivainta. Sumukuivauksessa käytettiin kolmifluidisuutinta, joka poikkeaa perinteisestä kaksifluidisuuttimesta. Kolmifluidisuuttimella voi sumukuivata samanaikaisesti kaksi soolia. Tavoitteena on, että sisemmässä osassa mikropartikkeliä on lääkeainelataus ja uloimmassa pelkkää silikaa. Valmiista partikkeleista tehtiin dissoluutiotestit. Testituloksista analysoitiin silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen aikapisteittäin.

Partikkeleita valmistettiin useampi erä. Silikan liukenemista ja lääkeaineen vapautumista verrattiin kontrollipartikkeliin, joka oli valmistettu kaksifluidisuuttimella. Partikkelin päällystymistä puhtaalla silikalla oli näkyvissä yhdessä partikkelierässä. Tuloksien perusteella pystyttiin määrittämään, mitkä parametrit vaikuttavat lääkeaineen vapautumiseen kolmifluidisuuttimella valmistetuista silikamikropartikkeleista.

Tuloksia pystytään hyödyntämään kontrolloidun lääkeaineen vapautumisen kehittämisessä. Nopeasti vapautuvien lääkeaineiden vapautumista voidaan hidastaa käyttämällä kolmifluidisuutinta.

ASIASANAT:

Sumukuivaus, silikamikropartikkelit, lääkeaineen vapautuminen, kolmifluidisuutin

BACHELOR'S THESIS | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Chemical and Materials Engineering

2018 | 42

Sanni Murto

RELEASE OF ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENT FROM SILICA MICROPARTICLES PRODUCED WITH THREE-FLUID NOZZLE

The objective of the thesis was to study the release of an active pharmaceutical ingredient from silica microparticles produced with a three-fluid nozzle. The aim was to prepare silica microparticles containing an API and with a layer of mere silica on top. The release of the API was aimed to control with the silica layer.

The particles were prepared by the sol-gel method using a three-fluid nozzle, which differs from the conventional two-fluid nozzle. With the three-fluid nozzle, it is possible to dry two sols at the same time. Dissolution tests were performed on the particles. Based on the test result, the dissolution of silica and the release of the API were determined.

Several batches were prepared. The release of the API and the dissolution of the silica were compared to a reference particle. The results from one of the particle batches seemed to suggest that the particles were coated with silica only. From the results it was possible to determine which process parameters influence the release of the API.

The results can be utilised in the development of controlled drug release. APIs which are released quickly can be slowed down by using the three-fluid nozzle.

KEYWORDS:

Spray drying, silica microparticles, release of an active pharmaceutical ingredient, three-fluid nozzle

SISÄLTÖ

KÄYTETYT LYHENTEET TAI SANASTO	6
1 JOHDANTO	7
2 BIOMATERIAALIT	8
3 PIIDIOKSIDI	10
3.1 Piidioksidi eli silika	10
3.2 Silikan valmistaminen sooli-geeli-menetelmällä	11
4 SUMUKUIVAUS	14
4.1 Nesteen sumutus	15
4.2 Kolmifluidisuutin	16
4.3 Nesteen ja kuivauskaasun sekoittuminen sekä kuivuminen	18
4.4 Kuivauskaasun ja muodostuneiden partikkelien erotus	19
4.5 Eriolaisten prosessiparametrien vaikutus tuotteeseen	19
5 MATERIAALIT JA MENETELMÄT	21
5.1 Materiaalit	21
5.2 Menetelmät	22
5.2.1 Silikamikropartikkelien valmistus sumukuivaamalla	23
5.2.2 Silikamikropartikkelien dissoluutiotesti	24
5.2.3 Dissoluutiotestien analysointi	25
6 TULOKSET	27
6.1 Kontrollimikropartikkelit	27
6.2 Kolmifluidisuuttimella valmistetut silikamikropartikkelit	28
6.2.1 Etanolilla laimennetut ulkosoolit	28
6.2.2 Vedellä laimennetut ulkosoolit	31
7 POHDINTA JA JOHTOPÄÄTÖKSET	36
7.1 Formulaation vaikutus lääkeaineen liukenemiseen	36
7.2 Laimentimen ja laimennoksen vaikutus lääkeaineen liukenemiseen	37
7.3 Silikan määrän vaikutus lääkeaineen vapautumiseen	37
7.4 Soolien pumppausnopeuksien vaikutus lääkeaineen vapautumiseen	38

KUVAT

Kuva 1 Sumukuivaimen rakenne (Sosnik & Seremeta 2015)	14
Kuva 2 Kolmifluidisuutin verrattuna kaksifluidi- ja nelifluidisuuttimiin (Kondo ym. 2014)	17
Kuva 3 Kolmifluidisuuttimen ja kaksifluidisuuttimen kapseloinnin ero (Kašpar ym. 2013, 31-40)	18
Kuva 4 R15-100-partikkelin silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen.	27
Kuva 5 R15-100/R15-100 partikkelin silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen.	28
Kuva 6 R15-100/R5-100-partikkelin silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen.	29
Kuva 7 R15-100/R35-100-partikkelin silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen.	30
Kuva 8 R15-100/R35-100-partikkelin silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen.	32
Kuva 9 R15-100/R35-50-partikkelin silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen.	33
Kuva 10 R15-100/R35-50-partikkelin silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen.	34

TAULUKOT

Taulukko 1 Silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen verrattuna partikkelin silikan ja lääkeaineen kokonaismääriin.	27
Taulukko 2 Silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen verrattuna R15-100/R15-100-partikkelin silikan ja lääkeaineen kokonaismääriin.	29
Taulukko 3 Silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen verrattuna R15-100/R5-100-partikkelin silikan ja lääkeaineen kokonaismääriin.	30
Taulukko 4 Silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen verrattuna R15-100/R35-100-partikkelin silikan ja lääkeaineen kokonaismääriin.	31
Taulukko 5 Silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen verrattuna R15-100/R35-100-partikkelin silikan ja lääkeaineen kokonaismääriin.	32
Taulukko 6 Silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen verrattuna R15-100/R35-50-partikkelin silikan ja lääkeaineen kokonaismääriin.	33
Taulukko 7 Silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen verrattuna R15-100/R35-50-partikkelin silikan ja lääkeaineen kokonaismääriin.	34

KÄYTETYT LYHENTEET TAI SANASTO

Formulaatio	Silikan valmistuskaava (R-arvo ja mahdollinen laimennoskerroin)
HCl	Suolahappo
NaOH	Natriumhydroksidi
R-arvo	Soolin veden ja TEOS:n ainemäärien suhde
Silika	Piidioksidi (SiO ₂)
TEOS	Tetraetyyliortosilikaatti
Three-fluid nozzle tai 3F	Kolmifluidisuutin, sumukuivauksessa käytettävä suutin

1 JOHDANTO

Opinnäytetyön toimeksiantajana toimi DelSiTech Oy, joka on vuonna 2001 perustettu turkulainen lääkekehitykseen ja -annosteluun keskittyvä yritys. Yritys kehittää lääkeannostelutekniikkaa, joka pohjautuu biohajoavaan piidioksidiin eli silikaan. DelSiTech on johtava asiantuntija piidioksidipohjaisessa lääkeaineiden täsmäannostelussa, jonka avulla voidaan kontrolloidusti vapauttaa pienikokoisia lääkeaineita, biolääkkeitä ja virusvektoreja. Yritys keskittyy lääkkeiden annosteluun parenteraalisesti ja paikallisesti.

Silika eli piidioksidi on piin yleisin esiintymismuoto ja sitä on runsaasti maaperässä. Silika on biohajoavaa ja -yhteensopivaa, eli se hajoaa kehon sisällä eri yhdisteiksi ja on vaaraton kudoksille. Silikaa voidaan käyttää biomateriaalina.

Biomateriaalit ovat materiaaleja, joista valmistettuja tuotteita käytetään mm. lääketieteellisiin tai bioteknologian sovelluksiin. Biomateriaalien tulee olla bioyhteensopivia, sillä ne ovat kosketuksissa kudosten, kudostenesteiden ja veren kanssa. Biomateriaaleja voidaan käyttää tuotteissa, joilla hoidetaan sairauksia tai vaurioita, esimerkiksi lääkeannostelussa vapauttamaan lääkeainetta kontrolloidusti elimistöön tai kudosteknologiassa korvaamaan puuttuvaa kudosta.

Opinnäytetyön tarkoituksena oli tutkia lääkeaineen vapautumista ja silikan liukenemistä erilaisista mikropartikkeleista, jotka on valmistettu käyttäen sumukuivainta. Sumukuivaimisessa hyödynnettiin kolmifluidisuutinta (engl. three-fluid nozzle tai 3F). Lääkeainetta sisältäviä, sooli-geeli-menetelmällä valmistettuja, huokoisia silikamikropartikkeleita voidaan tehokkaasti hyödyntää lääkkeiden täsmäannostelussa. Lääkeaineena käytettiin anti-inflammatorista lääkeainetta. Tarkoituksena oli valmistaa kolmifluidisuuttimella partikkeleita, joissa lääkeainetta sisältävän silikapartikkelin päällä olisi pelkkää silikaa sisältävä kerros. Partikkelin päällä olevalla silikakerroksella pyritään säätämään lääkeaineen vapautumista laajemmin kuin perinteisellä sumukuivaimen suuttimella valmistetulla partikkelilla. Lääkeaineen vapautumista haluttiin kontrolloida niin, että se vapautuisi tasaisesti, eli sen vapautuminen olisi lineaarisempaa. Silikan liukenemisen ja lääkeaineen vapautumisen tulisi olla suurin piirtein samanaikaista ja -pituista. Silikakerroksen muodostumista lääkeainetta sisältävän silikamikropartikkelin päälle pyrittiin optimoimaan muuttamalla erilaisia prosessiparametreja. Valmiit silikamikropartikkelit analysoitiin, jotta saatiin selville, miten lääkeaine on vapautunut partikkelista verrattuna silikan liukenemiseen.

2 BIOMATERIAALIT

Biomateriaalilla tarkoitetaan synteettisesti tai luonnollisesti valmistettuja materiaaleja, joita voidaan käyttää korvaamaan tai kasvattamaan kudoksia, elimiä tai muita organismin toimintoja. Biomateriaalit eivät saa haitata organismin toimintaa millään tavalla ja niiden pitää olla bioyhteensopivia, koska ne ovat kontaktissa mm. kudosten kanssa. (Williams 1999) (Bandyopadhyay & Bose 2013)

Biomateriaalit voidaan jakaa synteettisiin tai luonnonmukaisiin, eli biologista alkuperää oleviin, materiaaleihin. Synteettisiin materiaaleihin kuuluvat erilaiset polymeerit, keraamiset aineet, metallit ja komposiitit, eli aineet, jotka koostuvat useammasta eri aineesta. Luonnonmukaisiin kuuluvat kaikki ihmisestä ja eläimistä peräisin olevat materiaalit. (Williams 1999) Suurimman osan biomateriaaleista muodostavat polymeerit. Niitä voidaan käyttää pehmeän ja kovan kudoksen sovelluksissa, sekä lääkeannosteluteknikassa. Polymeerit voidaan jakaa luontaisiin ja synteettisiin polymeereihin. Luontaisia polymeereja ovat mm. selluloosa tai kollageeni ja synteettisiä mm. silikoni. Metalleja käytetään pääasiassa ortopedisissä ja hammaslääketieteellisissä sovelluksissa. Yleisimmin käytetyt metallit ovat titaania tai sen seoksia, ruostumatonta terästä tai koboltin ja kromin seosta. Keraamisia aineita käytetään lähinnä kovien kudosten korjaamisessa, vahvistamisessa tai uudistamisessa. Niitä voidaan käyttää myös mm. metalli-implanttien päällystyksessä tai lääkeannostelussa. Yleisimmin käytettyjä keraameja ovat kalsiumfosfaatti, alumiinioksidi ja bioaktiiviset lasit. Komposiittimateriaalit koostuvat usein polymeereista ja keraameista. (Bandyopadhyay & Bose 2013)

Biomateriaali aiheuttaa reaktion, kun se on kehon sisällä. Materiaalin ja kudoksen välisen reaktion vasteet voidaan jakaa neljään ryhmään: toksiseen, eli myrkylliseen, bioinertiin, bioaktiiviseen ja bioresorboituvaan. Toksisessa reaktiossa biomateriaali aiheuttaa ympäröiville kudoksille myrkytystilan, joka johtaa kuolemaan. Bioinertin vasteen aiheuttavat materiaalit, jotka eivät ole myrkyllisiä, mutta ovat biologisesti epäaktiivisia. Ne aiheuttavat kudostasteen, jossa keho pyrkii eristämään vieraan materiaalin muusta elimistöstä ja kapseloi sen fibroottisen kudoksen sisälle. Kapseloituminen saattaa häiritä materiaalin toimintaa ja usein materiaali päällystetään bioaktiivisella materiaalilla, jotta sen toiminta ei häiriinny. Bioaktiivinen vaste esiintyy sellaisilla materiaaleilla, jotka ovat myrkyttömiä ja biologisesti aktiivisia. Tällaisia materiaaleja voidaan käyttää muodostamaan rajapintaa kudoksen kanssa, esimerkiksi luun kanssa. Bioaktiivisia materiaaleja

ovat mm. monet polymeerit ja keraamit. Bioresorboituva biomateriaali liukenee osittain tai kokonaan uusiutuvan kudoksen tieltä. Näin kudokseksi voi korvata biomateriaalin elimistössä. Bioresorboituvat materiaalit ovat myrkyttömiä ja ne liukenevat *in vivo*. (Bandyopadhyay & Bose 2013)

Biomateriaalit voidaan suunnitella hajoaviksi tai hajoamattomiksi. Jos materiaali hajoaa elimistössä, sen hajoamistuotteet eivät saa olla vaarallisia elimistössä. Hajoamaton biomateriaali ei saa hajota elimistön olosuhteissa ja sen läsnäolo ei saa vaurioittaa kudosta tai elimistöä. (Williams 1999)

3 PIIDIOKSIDI

3.1 Piidioksidi eli silika

Pii esiintyy runsaana maapallolla ja sen tavallisin esiintymismuoto on piidioksidi, eli silika (SiO_2). Silikaa löytyy mm. maaperästä, vesipohjaisista ympäristöistä, kasveista ja eläimistä. Silika on välttämätön ainesosa luonnossa. Erityisesti meressä elävät lajit, kuten sienieläimet ja piilevät, tarvitsevat silikaa. Monet mereneliöt rakentavat tukirankansa piihaposta. Silikaa voidaan valmistaa synteettisesti myös laboratoriossa. Silikan pinnalla on funktionaalisia ryhmiä, jotka ovat ihanteellisia entsyymien stabilointiin ja proteiinien adsorptioon. (Kobayashi ym. 2012)

Silikaa voidaan valmistaa synteettisesti moneen eri muotoon. Se on monipuolinen materiaali. Silika liukenee kehon nesteisiin ja niitä jäljitteleviin vesipohjaisiin liuoksiin, joiden pH on 7,4 ja lämpötila 37 °C. Se hajoaa harmittomiksi yhdisteiksi, jotka poistuvat kehosta virtsan mukana. Sooli-geeli-menetelmällä valmistetun, huokoisen amorfisen silikan liukenemisnopeutta on pystytty säätämään useista tunneista jopa kuukausiin. Amorfinen ja vesiliukoinen silika on bioyhteensopivaa. Jotkut silikan muodot voivat kuitenkin olla haitallisia elimistölle, mutta niitä ei käytetä biomateriaaleina. (Viitala ym. 2007, 382-390)

Silikaa voidaan valmistaa sooli-geeli-menetelmällä, joka on yksi tunnetuimmista menetelmistä silikan valmistukseen. Sooli-geeli-menetelmässä silikaa valmistetaan nestefaasissa, joka tekee siitä hyvän vaihtoehdon erilaisiin bioteknologian sovelluksiin. (Jokinen ym. 2013) Sooli-geeli-menetelmällä valmistetun amorfisen silikan tiedetään muodostavan huokoisen rakenteen, jossa on vaihteleva määrä vettä ja hydroksyyliyhmiä. Hydroksyyliyhmiä määrään on mahdollista vaikuttaa valmistusmenetelmällä. Mitä enemmän hydroksyyliyhmiä on, sitä nopeammin silika liukenee. Silikan liukenemistuotteet eivät vaikuta silikaan tai ympäröivän liuoksen pH-arvoon. Silika hajoaa kehon sisällä pääasiassa eroosiolla. (DelsiTech Oy 2018) Amorfinen silika liukenee kehon nesteitä jäljittelevässä liuoksessa vapaasti, eli on in sink -olosuhteissa. In sink on alle 20 % silikan liukoisuudesta, joka on 130-150 ppm. In sink-olosuhteissa silikan pitoisuus on siis alle 30 ppm. Jos silikan pitoisuus liuoksessa nousee yli in sink -rajan, alkaa sen liukenemisnopeus hidastua mitä lähemmäs saturaatorajaa mennään. (Jokinen ym. 2008, 195-210)

Amorfista silikaa käytetään paljon erilaisista bioteknologian sovelluksissa. Koska silikan valmistus tapahtuu matalassa lämpötilassa ja nestefaasissa, on silikan sisälle mahdollista kapseloida erilaisia aktiivaineita. Silikan sisälle voidaan kapseloida esimerkiksi proteiineja, viruksia, soluja, lääkaineita ja muita biologisesti aktiivisia aineita. (Viitala ym. 2007, 382-390)

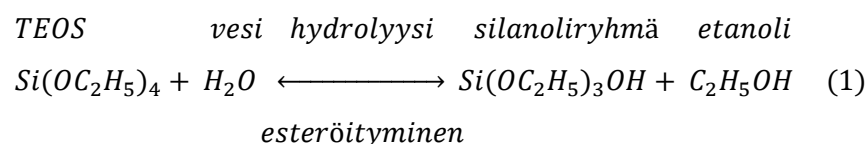
3.2 Silikan valmistaminen sooli-geeli-menetelmällä

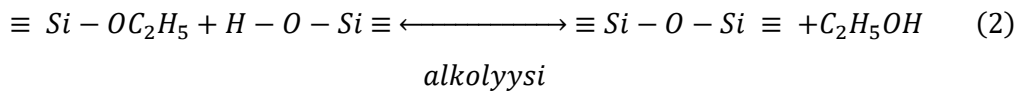
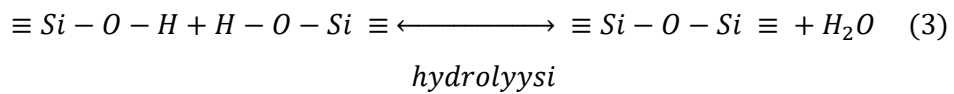
Sooli-geeli-menetelmä viittaa prosessiin, jossa sooli muuttuu geeliksi. (Jokinen ym. 2013) Sooli on homogeeninen seos, joka koostuu vähintään yhdestä nestemäisestä ja kiinteästä faasista. Se on kolloidinen dispersio, jossa on jatkuvana faasina nestefaasi, esimerkiksi vesi, ja dispergoituna faasina kiinteä aine, esimerkiksi silikan partikkelit. Dispergoitu faasi on tasaisesti jakaantuneena jatkuvan faasin sisälle. Geelissä taas jatkuvana faasina kiinteä faasi ja dispergoituneena faasina nestemäinen faasi. Geeliä, jossa dispergoitunut faasi on vesi, kutsutaan hydrogeeliksi. (Jokinen ym. 2013)

Silikaa valmistettaessa sooli-geeli-menetelmän lähtöaineena käytetään usein tetraetyyliortosilikaattia (TEOS), koska se reagoi veden kanssa. Silikan valmistuksessa reaktiotuotteena veden ja TEOS:n sivutuotteena tulee etanolia, jonka elävät organismit kestävät hyvin. Mikäli etanolin tai TEOS:n hajoamistuotteiden epäillään aiheuttavan haittaa kapseloitavalle aineelle, voidaan hajoamistuotteiden määrää pienentää haihuttamalla ja lisäämällä vettä prosessin eri vaiheissa. (Jokinen ym. 2008, 195-210)

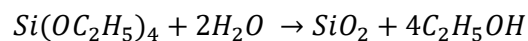
Sooli-geeli-prosessissa TEOS hydrolysoituu veden kanssa, kondensoituu ja muodostaa soolin. Hydrolyysireaktiota voidaan nopeuttaa katalyytillä, joka voi olla esimerkiksi suolahappo. (Brinker 1988, 31-50) Silikasoolissa veden ja TEOS:n ainemäärien suhdetta kuvataan R-arvolla.

Seuraavia reaktioita käytetään kuvaamaan sooli-geeli-prosessissa tapahtuvia vaiheita silikaa valmistettaessa:



etanolin kondensaatio*veden konsensaatio*

Hydrolyysireaktiossa (1) yksi alkoksyyliryhmä, eli etoksiryhmä OC_2H_5 korvautuu hydroksyyliyhdyllä (OH), jolloin syntyy silanoliryhmiä. Alkoksyyliryhmä muodostaa vedyn kanssa etanolia. Etanolin ja veden konsendaatioreaktioissa (2 ja 3) silanoliryhmät muodostavat siloksaanisidoksia (Si-O-Si) ja samalla muodostuu joko etanolia tai vettä. (Brinker 1988, 31-50) Kokonaisreaktio TEOS:n ja veden väliselle reaktiolle on seuraava:



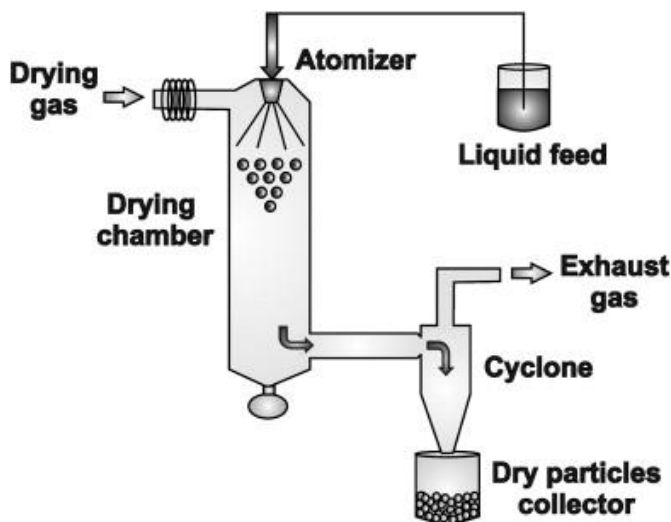
Molekyylit, jotka ovat syntyneet kondensaatioreaktioissa, voivat alkaa muodostamaan isompia molekyylejä polymerisaatioreaktiossa. Ne muodostavat partikkeleita, yhdistyvät ja muodostavat aggregaatteja, jotka leviävät koko nesteeseen, ja lopulta sooli geeliiytyy. Geelin muodostuminen voi tapahtua itsekseen happamissa olosuhteissa, mutta se yleensä hidasta. (Brinker & Scherer 1990) Geelautuminen voidaan pakottaa tai reaktiota voidaan nopeuttaa esimerkiksi sumukuivaamalla. Soolipisaroiden kuivuessa se samalla geelautuu. Stabiileja sooleja voidaan tehdä emäksissä olosuhteissa, joissa partikkelit eivät aggregoidu, vaan kasvavat kokoa. Partikkelien määrää voidaan myös kasvattaa emäksisissä olosuhteissa. Stabiilit soolit voidaan pakottaa geeliksi esimerkiksi lisäämällä suolaa tai toista soolia. Stabiilista soolista syntyvä geeli on usein rakenteeltaan erilaista, koska partikkelit ovat isompia kuin happamissa olosuhteissa valmistetussa soolissa. pH:n säätäminen vaikuttaa geeliiytymiseen, eli stabiilista soolista saa geelin myös muuttamalla sen pH:ta. Happamien soolien geelautumista voidaan nopeuttaa pH:n muutoksella. Sooliin muodostuu kolloidinen silikadispersio, jossa partikkelikoko on alle 1 μm .

Kolloidisen dispersion neste voidaan haihduttaa pois, jolloin saadaan aikaiseksi nanopartikkeleista koostuva tuote. Joissain tilanteissa on tärkeää nostaa soolin pH:ta lähelle neutraalia, sillä soolissa olevat aktiiviaineet saattavat kärsiä soolin liian alhaisesta pH:sta. (Jokinen ym. 2013)

Sooli-geeli-menetelmällä valmistetusta silikasta voidaan valmistaa erilaisia rakenteita kuten kolmiulotteisia kappaleita, kalvoja tai pinnoitteita. Mikrometrikokoluokan partikkeleita valmistetaan tavallisesti sumukuivaamalla. (Jokinen ym. 2013)

4 SUMUKUIVAUS

Sumukuivauksessa sumutetaan neste pieninä pisaroina kuumaan kaasuvirtaan. Nesteessä oleva liuotin haihtuu, jolloin muodostuu pieniä partikkeleita nesteeseen sekoitusta tai liuennesta aineesta. Kuivuneet partikkelit erotetaan kaasuvirrasta. Jäljelle jää hienoa jauhetta, rakeita tai agglomeraatteja. (Patel & Suthar 2009, 44-47) Tuote kulkeutuu ilmavirran mukana joko keräysastiaan tai sumukuivaimen pohjalle. Sumukuivausprosessi koostuu seuraavista vaiheista: nesteen sumutus, eli atomisaatio, atomisoidun nesteen sekoitus kuivauskaasuun, atomisoitujen pisaroiden kuivaus ja kuivauskaasun erottaminen kuivatusta aineesta. (Ameri & Maa 1990, 87-95) Sumukuivain koostuu suuttimesta, kolonnista ja syklonista. (Kuva 1) Suutin atomisoi kuivattavan nesteen pieniksi pisaroiksi. Kolonnissa pisarat on sekoitettu kuivauskaasun kanssa ja neste kuivataan niistä pois. Kuivatut partikkelit ohjataan sykloniin, jossa erotetaan kuivauskaasu partikkeleista. Partikkelit kerääntyvät syklonin pohjalle tai erilliseen keräysastiaan. (Masters 1985)



Kuva 1 Sumukuivaimen rakenne (Sosnik & Seremeta 2015)

Sumukuivaamalla saadaan usein aikaan pyöreitä partikkeleita. (Patel & Suthar 2009, 44-47) Kuivatuttujen partikkelien koko on pieni ja partikkelit ovat usein myös amorfisia. (Vehring 2008, 999-1022) Menetelmän etuna on, että se on nopea ja edullinen tapa tuottaa kuivaa jauhetta nopeasti, esimerkiksi verrattuna kylmäkuivaukseen. Se on jatkuva prosessi ja sitä on helppo skaalata isompaan mittakaavaan sekä partikkelikokojakaumaa

ja muita lopputuotteen ominaisuuksia pystyy kontrolloimaan muuttamalla prosessiparametrejä. (Sosnik & Seremeta 2015) Haasteena on usein alhainen saanto laboratoriomittakaavan kuivaimissa. Isommissa kuivaimissa saanto on yleensä parempi, koska partikkeleita tarttuu laitteistoon prosentuaalisesti vähemmän. (Sosnik & Seremeta 2015)

Sumutetun nesteen pisaroiden pinta-alan suhde tilavuuteen on suuri. Sumukuivauksessa käytetään korkeita lämpötiloja ja pisarat kuivuvat nopeasti johtuen niiden pinta-alan ja tilavuuden välisestä suhteesta. (Sosnik & Seremeta 2015) Koska sumukuivausprosessi on nopea, muodostuneiden partikkelien lämpötila ei ehdi nousta yhtä korkeaksi kuin sisääntulolämpötila (inlet temperature). Nopean prosessin vuoksi herkemmat materiaalit eivät ehdi vahingoittua korkeasta lämpötilasta. Liuottimen haihtuminen pisaroista vie paljon energiaa, mikä suojaa partikkeleita liian korkealta lämpötilalta. (Kolu 2013)

Kun partikkelit ja kuivauskaasu on ohjattu ulos kolonnista, lämpötila on usein paljon matalampi kuin sisääntulolämpötila. Tätä kutsutaan ulosmenolämpötilaksi (outlet temperature). Partikkelit ovat ulosmenolämpötilassa kauemmin kuin sisääntulolämpötilassa. Ulosmenolämpötila saattaa vaikuttaa lopputuotteen ominaisuuksiin, jos se on liian korkea jollekin partikkelin sisältämälle aineelle. (Ameri & Maa 1990, 87-95) Herkät materiaalit yritetään kuivata mahdollisimman nopeasti ja alhaisissa lämpötiloissa. Yleensä sumukuivaus sopii herkillekin materiaaleille. (Masters 1985) Kuivatessa lämpöherkkiä materiaaleja on tärkeää seurata lämpötiloja, jotta partikkelit eivät ole kriittisessä lämpötilassa liian pitkään. Todella lämpöherkille aineille sumukuivaus ei sovi. (Kolu 2013)

Sumukuivaimen koko vaikuttaa lopputuotteeseen. Laboratoriomittakaavan kuivaimissa partikkelikoko jää pieneksi, noin 10 µm kokoiseksi. (Ameri & Maa 1990, 87-95) Partikkelikokoon vaikuttaa myös liuoksen pintajännitys, tiheys, kuiva-ainepitoisuus ja syöttönopeus. (Kolu 2013)

4.1 Nesteen sumutus

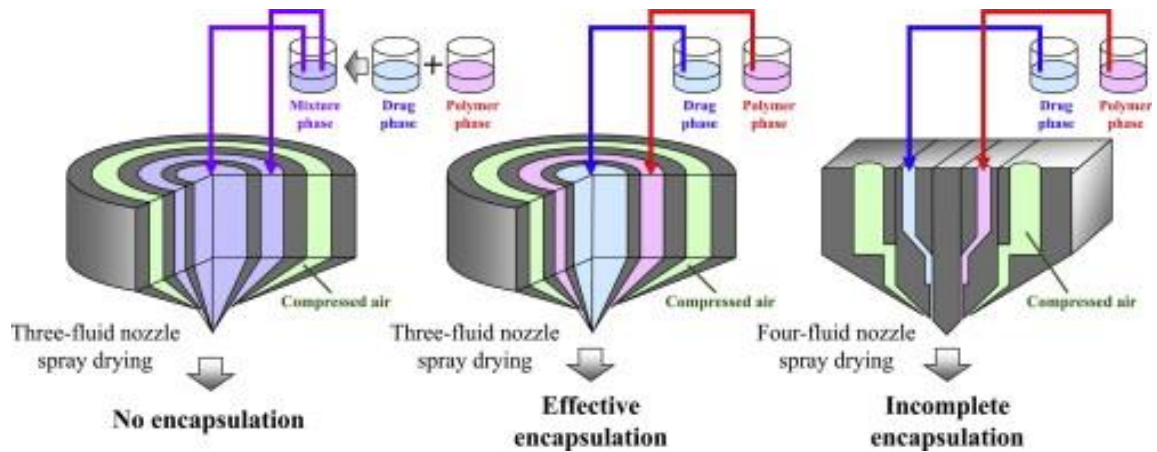
Sumutus tehdään suuttimella. Suutin atomisoi eli hajottaa nesteen pisaroiksi kuivaimen. (Masters 1985) Atomisointi on yksi tärkeimmistä vaiheista sumukuivauksessa. (Filková ym. 2006) Siksi suutin on yksi kriittisimmistä osista sumukuivaimessa. Sen tehtävänä on hajottaa kuivattava materiaali pisaroiksi ja saada ne jakautumaan sekä levittymään tasaisesti. Sumutetut pisarat eivät saa olla liian isoja, sillä ne eivät kuivu oikein, eivätkä liian pieniä, jotta sumutettava aine ei kärsisi korkeasta lämpötilasta. (Kolu

2013) Suutin myös kontrolloi nesteen syöttönopeutta kuivaimeen. Suuttimen valinta vaikuttaa lopputuotteen partikkelikokoon, -jakaumaan ja kuivausnopeuteen. (Filková ym. 2006) Mitä pienempi pisara, sen nopeammin se kuivuu. Pienistä pisaroista tulee myös hienojakoisempaa jauhetta. Suutin on yleensä suunniteltu tietynlaiselle ja kokoiselle kolonnille, jotta nestepisarot täyttävät kolonnin tasaisesti ja kuivaus tehokasta. Siksi on tärkeää katsoa, että kolonni ja suutin ovat toisilleen sopivia. (Kolu 2013) Suuttimen ilmavirran säätely vaikuttaa myös partikkelien kokoon. Ilmavirran lisääminen pienentää pisaroiden kokoa. (Kolu 2013)

Sumutukseen käytettyjä suuttimia on monenlaisia. Jokaisella suuttimella on omat etunsa ja haittansa. Suutintyyppejä ovat mm. kiekkosuutin, paineilmasuutin ja painesuutin. (Ameri & Maa 1990, 87-95) Kiekkosuuttimessa neste johdatetaan pyörivän kiekon keskiosaan, josta liuos kulkeutuu kiekon reunoille. Neste hajoaa pieniksi pisaroiksi. Paineilmasuuttimessa neste hajotetaan pisaroiksi kaasusuihkun avulla. Paineilmasuuttimilla saadaan aikaiseksi pientä partikkelikokoa ja niitä käytetään yleensä laboratoriomittakaavan sumukuivaimissa. Painesuuttimessa neste painetaan suurella paineella suuttimen läpi. Painesuuttimella saadaan aikaiseksi melko yhdenmukaista partikkelikokoa. (Kolu 2013)

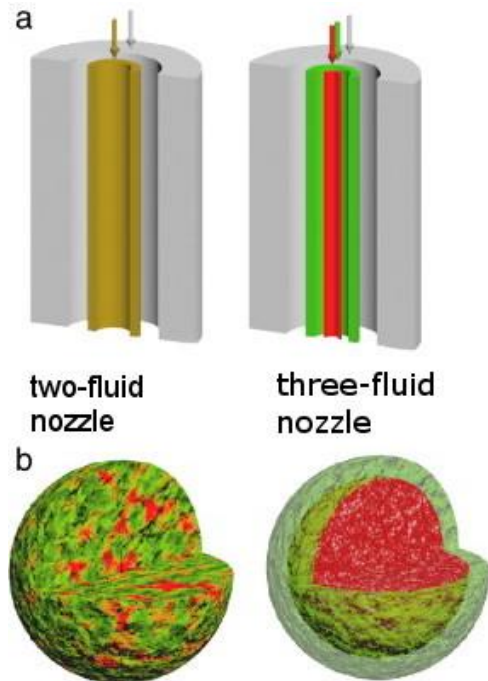
4.2 Kolmifluidisuutin

Kolmifluidisuutin eli three-fluid nozzle (3F) on sumukuivauksessa käytettävä paineilmasuutin. Kolmifluidisuuttimessa on kahdelle nesteelle ja kuivauskaasulle oma kanava (kuva 2). Kaasu kulkee uloimmassa kanavassa ja kuivattavat nesteet kulkevat kahdessa sisimmäisessä kanavassa. Uloimmasta nestekanavasta tulevat pisarat sumuttuvat sisimmästä nestekanavasta tulevien pisaroiden päälle. Pisaroiden kuivuessa sisimpänä sumutettu aine päällystyy uloimpana sumutetulla aineella. (Kondo ym. 2014) Päälle sumutettava aine voi olla valmiissa partikkelissa massaltaan pienempi kuin sisälle tuleva aine. (Wang ym. 2014) Sumutettavien aineiden massa partikkelissa ei siis välttämättä ole sama. Prosessiparametrit saattavat vaikuttaa sisälle sumutettavan aineen päällystymiseen ulkona sumutettavalla aineella. Esimerkiksi aineiden syöttönopeus suuttimeen voi vaikuttaa lopputulokseen. (Kašpar ym. 2013, 31-40) (Wang ym. 2014)



Kuva 2 Kolmifluidisuutin verrattuna kaksifluidi- ja nelifluidisuuttimiin (Kondo ym. 2014)

Kolmifluidisuuttimella etuna on, että aine saadaan kokonaan päällystettyä toisella aineella. Partikkelien päällystämistä voidaan hyödyntää hyvin mm. lääketeknologiassa, sillä lääkeaine voidaan kapseloida kokonaan jonkin toisen aineen sisälle. (Kondo ym. 2014) Kuvassa 2 näytetään kolmifluidisuuttimen rakenne verrattuna kaksifluidi- ja nelifluidisuuttimiin. Kaksifluidisuutin on yleisesti käytetty sumukuivaimen paineilmasuutin, eikä sillä saada päällystettyä partikkelia toisella aineella. (Kondo ym. 2014) Opinnäytetyössä tehdyt partikkelit eroavat kuvasta 2 sillä, että sisäkanavassa oli myös silikaa, eli matriisia sisältävä sooli, johon oli sekoitettuna lääkeainetta. Kolmifluidisuuttimella saadaan myös aikaan pieniä partikkeleita, joita voidaan hyödyntää lääketieteellisyydessä. (Kašpar ym. 2013, 31-40) Esimerkiksi soolin mukana sumutettu lääkeaine tällöin sekoittuu tasaisesti ympäri partikkelia sen sijaan, että sen päällä olisi puhdas silikakerros.



Kuva 3 Kolmifluidisuuttimen ja kaksifluidisuuttimen kapseloinnin ero (Kašpar ym. 2013, 31-40)

Kuvassa 3 on esitetty, miten kolmifluidisuuttimella valmistettu partikkeli eroaa kaksifluidisuuttimella valmistetusta partikkelista. Kuvan esimerkkinä on ollut kaksi eri ainetta nestefaasissa. Opinnäytetyössä valmistetuissa partikkeleissa päällimmäiseksi pyrittiin saamaan kerros puhdasta silikaa ja sisälle silikaa, jonka matriisiin on sekoittuneena lääkeainetta. Kaksifluidisuuttimella valmistettujen partikkelien lääkeaine on sekoittuneena partikkelin matriisiin, esimerkiksi silikaan. (DelsiTech Oy 2018) Lääkeaine alkaa liueta heti kun partikkeli alkaa liueta. Kolmifluidisuuttimella tehdyn partikkelin päällimmäiseksi sumutettu kerros liukenee ensin pois, jolloin lääkeaineen liukeneminen ei ala samaan aikaan biomateriaalin, esimerkiksi silikan, liukenemisen kanssa. Tätä voidaan hyödyntää lääkkeen täsmäannostelussa, sillä lääkeainetta ei vapaudu heti suuria määriä partikkelin liukenemisen alkaessa.

4.3 Nesteen ja kuivauskaasun sekoittuminen sekä kuivuminen

Nestepisaroiden kuivuminen tapahtuu kolonnissa eli kuivauskammiossa. Kolonnin valintaan vaikuttaa suuttimen tyyppi. Pisan pitäisi ehtiä kuivua ennen kuin se saavuttaa kolonnin seinämän. (Filková ym. 2006) Kuivauskaasun virtaus estää pisaroita osumasta

seinämiin tai suuttimeen. Kaasun lämpötila ja virtaus vaikuttavat lopputulokseen. (Kolu 2013)

Kuivauskaasu on mahdollista ohjata laitteistoon myötä- tai vastavirtaan. Myötävirtaan kuivatessa kuivauskaasu ja kuivattava neste sumutetaan säiliön yläosasta. Partikkelit ovat myötävirtasumutuksessa kuivattavana vähemmän aikaa, joten myötävirtakuivaus sopii lämpöherkillekin materiaaleille. Kuiva materiaali on kosketuksissa vain jäähtyneen ilman kanssa. (Masters 1985) Vastavirtakuivauksessa neste sumutetaan myötävirtakuivauksen mukaisesti säiliön yläosasta, mutta kuivauskaasu tulee säiliön alaosaan. Vastavirtakuivauksessa partikkelit ovat kuivauksessa pidempään, joten tämä kuivausmenetelmä sopii paremmin lämpöä kestäville aineille sekä pidemmän kuivausajan vaativille aineille. Lämmön hyödyntäminen on tehokasta vastavirtakuivauksessa. (Masters 1985) Kuivauskaasun virtaus vaikuttaa lopputuotteen ominaisuuksiin. (Filková ym. 2006)

4.4 Kuivauskaasun ja muodostuneiden partikkelien erotus

Sumukuivauksessa viimeinen vaihe on erottaa muodostuneet partikkelit ja kuivauskaasu toisistaan. Tämä tapahtuu syklonissa. (Filková ym. 2006) Aspiraattorin aiheuttama ilmavirta työntää muodostuneet partikkelit alas keräysastiaan, josta lopputuotteen voi ottaa talteen. (Masters 1985) Sykloneita on erilaisia ja niissä käytetty kaasuvirta vaikuttaa siihen, mitkä partikkelit päätyvät syklonista keräysastiaan. (Filková ym. 2006)

4.5 Erilaisten prosessiparametrien vaikutus tuotteeseen

Sumukuivauksessa erilaiset prosessiparametrit vaikuttavat tuotteeseen. Muunneltavia parametrejä ovat sisääntulolämpötila (inlet temperature), nesteen syöttönopeus, suuttimen ilmavirta ja kuivauskaasuvirran nopeus. Eri parametrien yhteisvaikutuksilla on erilaiset vaikutukset lopputuotteeseen. (Masters 1985) Siksi on tärkeää tutkia parametrien yhteisvaikutusta, eikä katsoa vain yhden parametrin vaikutusta lopputuotteeseen. (Kolu 2013)

Veden haihtumiseen partikkeleista vaikuttaa sisääntulolämpötila. (Patel & Suthar 2009, 44-47) Korkeammassa lämpötilassa nesteen haihtuminen on nopeampaa, mutta se samalla altistaa partikkelin korkealle lämpötilalle. Partikkeleissa olevan aineen fysikaaliset ja kemialliset ominaisuudet saattavat lämpötilan johdosta muuttua. Ulosmenolämpötilä

(outlet temperature) on yhteydessä sisäänmenolämpötilaan, mutta sitä ei pysty sellaiseenaan säätelemään. (Broadhead ym. 1994, 458-467)

Liuoksen syöttönopeudella ei ole vaikutusta lopputuotteeseen muuten kuin, että se vaikuttaa ulosmenolämpötilaan. (Broadhead ym. 1994, 458-467) Mitä pienempi syöttönopeus on, sitä korkeampi on ulostulolämpötila. Syöttönopeus vaikuttaa myös sisälämpötilan kanssa lopputuotteeseen. Liuoksen syöttönopeus saattaa myös parantaa saantoa, sillä pisarat ehtivät matalammalla syöttönopeudella kuivua paremmin. (Kolu 2013)

Suuttimen ilmavirta (l/h) vaikuttaa partikkelikokoon. Koska pienet pisarat kuivuvat täydellisemmin, ilmavirta vaikuttaa myös kuivumiseen. (Patel & Suthar 2009, 44-47) Isommalla ilmavirralla saadaan aikaisiksi pienempiä pisaroita ja samalla pienempiä partikkeleita. Liian pienet pisarat kuitenkin saattavat ylikuumentua kuivauksessa tai päätyä kuivaimen suodattimeen, josta niitä ei saada kerättyä. Tavoitteena on siis saada tarpeeksi pieni pisara, mutta ei niin pieni että kuivattava aine vahingoittuu tai partikkeleja ei saada talteen. (Kolu 2013)

Sumukuivaimen läpi menevä kuivaskaasun virta vaikuttaa partikkelien kuivumiseen. Jos ilmavirta on suuri, kohtaavat partikkelit enemmän kuivausilmaa, joka kuljettaa kosteutta pois pisaroista. Isommalla ilmavirralla partikkelit siis kuivuvat paremmin. (Kolu 2013) Kuivauskaasuna voidaan käyttää ilmaa tai esimerkiksi typpeä. Ilmavirran kuivaimen kautta imee aspiraattori. Mitä isompi teho aspiraattorissa on, sen suuremmaksi ilmavirran saa. (Masters 1985)

5 MATERIAALIT JA MENETELMÄT

Opinnäytetyön partikkelien valmistus- ja analysointiprosessi koostui kolme vaiheesta: partikkelien valmistus sumukuivaamalla, dissoluutioteetit ja dissoluutionäytteiden analysointi. Partikkelien valmistuksessa käytettiin aina samoja reagensseja. Dissoluutiotes-teissä ja analysoinnissa osa liuoksista oli itse valmistettuja ja osan oli valmistanut yrityk-sen työntekijä.

5.1 Materiaalit

Soolin valmistamiseen käytettiin tetraetyyliortosilikaattia, TEOS:a (Sigma Aldrich, lot. WXBC3579V), ultrapuhdasta vettä ja katalyyttina 0,1 M suolahappoa (Merck, lot. HC73452260). Soolin pH:n säätämiseen käytettiin 0,1 M natriumhydroksidia (Merck, lot. HC73241741). Sisäsoolien ja osan ulkosoolien laimentamiseen käytettiin etanolia (Altia Oyj, lot.17373). Sisäsooli oli kolmifluidisuuttimen sisimmäistä kanavaa pitkin sumutet-tava sooli ja ulkosooli oli uloimmaista nestekanavaa pitkin sumutettava sooli.

Dissoluutioliuoksena käytettiin etukäteen valmistettua 50 mM TRIS-liuosta, jonka pH oli 37 Celsius-asteessa 7,4.

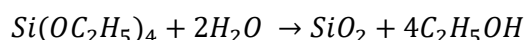
Silikan määrän mittaamista varten mitattiin näytteistä pii, jonka mittaamista varten piti valmistaa kolme liuosta: ammoniumheptamolybdaattiliuos, viinihappoa ja pelkistys-liuosta. Ammoniunheptamolybdaatti oli valmistettu etukäteen. Se sisälsi 50 millilitrassa 3,76 g ammoniumheptamolybdaatti tetrahydraattia, 4,6 ml väkevää rikkihappoa ja ultra-puhdasta vettä. Viinihappo oli myös valmistettu etukäteen. Se sisälsi 5 g L-(+)-viinihap-poa 50 millilitrassa ultrapuhdasta vettä. Pelkistysliuos oli etukäteen valmistettu ja se si-sälsi 400 mg natriumsulfiittia, 80 mg $C_{10}H_9NO_4S$ ja 5 g natriumpyrosulfiittia 50 millilitrassa ultrapuhdasta vettä.

Piistandardi oli valmistettu etukäteen ja se sisälsi 500 μ l 50 millilitrassa 1000 μ l/mg Si-standardia. Kontrolliin käytettävä liuos oli valmistettu 1000 μ g/ml Si-liuoksesta jota oli liuotettu 50 mM TRIS-liuokseen, jossa oli 0,01 % TWEEN® 80:a.

5.2 Menetelmät

Käytetyt silikamikropartikkelit valmistettiin sooli-geeli-menetelmällä käyttäen sumu-kuivainta. Partikkeleille tehtiin dissoluutiotestit, joiden jälkeen ne analysoitiin käyttäen spektrofotometriä ja HPLC:a.

Spektrofotometrillä mitattiin silikan määrää dissoluutionäytteissä. Näytteistä mitattiin pii, jonka ainemäärän avulla saadaan laskettua silikan ainemäärä. Piidioksidinmuodostusreaktiossa silikan ja piin ainemäärät ovat samat:



Näin ollen piin ainemäärän avulla saadaan laskettua silikan määrä partikkelissa.

Spektrofotometrillä mitataan aineen valon intensiteettiä tietyllä aallonpituudella. Spektrofotometrissä menetelmää käytetään usein nesteiden konsentraatioiden mittaamiseen. (Labcompare ei pvm.) Pii muodostaa sinisen kompleksiyhdisteen happamissa olosuhteissa ammoniumheptamolybdaatin ja pelkistysliuoksen kanssa. Mitä enemmän liuoksessa on piitä, sitä voimakkaampi sininen väri liuokseen muodostuu. Sinistä väriä voidaan mitata aallonpituudella 820 nm spektrofotometrin avulla. (Carlson & Banks 1952, 472-477) Standardisuoran avulla saadaan laskettua näytteiden piipitoisuus.

HPLC:llä mitattiin lääkeaineen pitoisuus dissoluutionäytteistä. HPLC, eli korkean erotuskyvyn nestekromatografia (high-performance liquid chromatography) on kromatografiamenetelmä, jossa erotetaan nestemäisiä aineita korkeassa paineessa. Kromatografiassa erotetaan aineita toisistaan liikkuvan faasin avulla. HPLC:ssä käytetään liikkuvana faasina nestefaasia. Liikkuva faasi vie kromatografialaitteen kolonnissa erottuneet aineet eri aikoihin detektorille, joka ilmaisee aineen ja antaa sille retentioajan, eli ajan, jonka aikana aine on erottunut näytteestä. Samalla se antaa piikin, joka ilmaisee aineen konsentraatiota mitattavassa näytteessä. (Coskun 2016, 156-160) Standardien avulla pystytään määrittämään kuinka paljon näytteessä on mitattavaa ainetta.

5.2.1 Silikamikropartikkelien valmistus sumukuivaamalla

Silikamikropartikkeleita valmistettiin useita eriä. Partikkeleista valmistettiin kaksifluidisuuttimella kontrolli, joka oli R-arvoltaan (veden ja tetraetyyliortosilikaatin aine-määrien suhde soolissa) ja laimennokseltaan samanlainen kuin kolmifluidisuuttimella tehdyn partikkelin sisäsooli. Partikkelia varten valmistettiin aina kaksi soolia, sisäsooli ja ulkosooli. Partikkelien sisäsooli oli aina samanlainen, R15-100. Ensimmäinen luku tarkoittaa soolin R-arvoa ennen laimennusta ja toinen luku laimennosta, eli soolin lopullista R-arvoa. Sisäsooli sisälsi aina lääkeainetta 10 % silikan painosta. Ulkosooliin tehtiin erilaisia formulaatiota. Ulkosoolit olivat R5-100 (laimennettu etanolilla), R35-100 (laimennettu etanolilla), R35-100 (laimennettu vedellä) ja R35-50 (laimennettu vedellä). Ulkosooleihin ei lisätty lääkeainetta. Erät nimettiin aina formulaatioiden mukaan. Sisäsooli on formulaatioissa mainittu ensimmäisenä ja ulkosooli viimeisenä.

Tetraetyyliortosilikaattia (TEOS) ja milliQ-vettä hydrolysoitiin keskenään soolin aikaansaamiseksi. Liuoksen pH säädettiin 0,1 M suolahapolla pH 2:ksi. Liuosta sekoitettiin voimakkaasti 25 minuutin ajan suljetussa laboratorioastiassa. Sekoituksen jälkeen sooli laimennettiin. Kolmifluidisuuttimessa sisimpänä sumutettava sooli, joka sisälsi lääkeainetta, laimennettiin aina etanolilla. Uloimpana sumutettavat soolit laimennettiin joko etanolilla tai vedellä. Soolin pH mitattiin ja se säädettiin 0,1 M natriumhydroksidilla. Liuoksen pH säädettiin aina 6,0:aan.

Lääkeainetta sisältävän soolin laimennos tehtiin etanolilla. Etanoli lisättiin lääkeaineeseen ja lääkeaine-etanoli-liuosta sekoitettiin kunnes lääkeaine oli liennut etanoliin.

Lääkeaine-sooli-liuoksen pH mitattiin ennen kuin pH säädettiin 6,0:aan. Liuoksen pH:n säätö tehtiin 0,1 M natriumhydroksidilla.

Kun soolien pH oli säädetty, ne olivat valmiit sumutettavaksi. Sumukuivaimen parametreista vain liuoksen syöttönopeutta laitteeseen säädettiin eri erien välillä. Kokonaissyöttönopeus oli aina 6 ml/min. Sisä- ja ulkosoolien syöttönopeudet vaihtelivat. Aluksi molempien syöttönopeutta pidettiin usean erän aikana samana, mutta syöttönopeutta muutettiin muutaman erän ajaksi. Yhdessä erässä, jossa ulkosoolina oli R35-50, käytettiin ulkosoolin syöttönopeutena 5 ml/min ja sisäsoolin syöttönopeutena 1 ml/min.

Sumukuivaimen muut parametrit säädettiin sopiviksi ennen sumutusta. Sisääntulolämpötila oli aina 120 °C. Aspiraattori oli 100 % ja ilmavirta oli säädetty 670 litraan tunnissa. Ulostulolämpötila vaihteli 83-97 °C välillä.

Ennen sumutusta sumukuivauslaitteiston annettiin tasapainottua. Tasapainotuksessa laitteistoon ajettiin ultrapuhdasta vettä. Pumput, joita käytettiin soolien syöttämiseen laitteistoon, kalibroitiin ennen sumutuksen aloittamista.

Soolien syöttö tehtiin niin että niiden sumutus alkoi yhtä aikaa. Soolien sumutus myös lopetettiin samanaikaisesti. Näin erään ei muodostunut pelkästä ulko- tai sisäsoolista koostuvia partikkeleita.

Sumutuksen jälkeen laitteistoon ajettiin uudestaan ultrapuhdasta vettä. Vettä syötettiin laitteistoon linjojen puhdistusta varten. Kun vettä oli ajettu tarpeeksi, ajettiin pumppausletkut tyhjiksi. Sisääntulolämpötilan lämmitin sammutettiin ja laitteiston annettiin jäähtyä. Kun laitteisto oli jäähtynyt tarpeeksi, otettiin aspiraattori pois päältä, säädettiin ilmavirta pois päältä ja sammutettiin laitteisto. Sumukuivaimen keräysastiaan kerääntyneet partikkelit otettiin talteen ja niiden massa punnittiin.

5.2.2 Silikamikropartikkelien dissoluutiotesti

Valmiista silikamikropartikkeleista tehtiin dissoluutiotestit. Testit tehtiin in sink -dissoluutiolle ja totaalidissoluutiolle. In sink -dissoluutiossa mitataan silikan biohajoamisnopeutta ja lääkeaineen vapautumisen nopeutta partikkeleista. Totaalidissoluutiotestissä määritetään silikan kokonaismäärää partikkeleissa. Kokonaismäärä saadaan selville liuottamalla partikkelit emäksisissä olosuhteissa, jotta ne liukenevat kokonaan dissoluutioliuokseen. Partikkeleja punnittiin 10-15 mg in sink -dissoluutiota varten ja niiden joukkoon lisättiin 50 ml dissoluutioliuosta. Partikkelit liuksineen laitettiin lämpöhauteeseen, jossa on sekoitus. Totaalidissoluutioon punnittiin 10-15 mg partikkeleita ja niiden joukkoon lisättiin 50 ml 2 % NaOH-liuosta. Totaalidissoluutio laitettiin myös lämpöhauteeseen, jossa on sekoitus.

In sink -dissoluutiosta otettiin näyte ensimmäisen tunnin jälkeen. Dissoluutionäytteet sentrifugoitiin 5 minuuttia 4500 rpm:ssä, jotta partikkelit saatiin laskeutumaan liuoksen pohjalle. Liuoksesta otettiin kolme rinnakkaista näytettä koeputkiin. Näytteen joukkoon lisättiin dissoluutioliuosta saman verran kuin näytettä oli otettu pois. Seuraava näyte otet-

tiin 24 tunnin kohdalla. Liuksesta otettiin taas kolme rinnakkaista näytettä. Dissoluutioliuosta pipetoitiin pois partikkelin päältä mahdollisimman paljon. Uutta liuosta lisättiin partikkelin päälle 50 ml. Näin liuos saatiin pysymään in sink -tilassa. In sink -dissoluutiosta otettiin 24 tunnin jälkeen joka vuorokausi yksi näyte (48 tunnin, 72 tunnin jne. näyte). Näytteitä otettiin, kunnes partikkelit olivat lienneet kokonaan tai kunnes dissoluutio haluttiin lopettaa. Pisin dissoluutio oli yhdeksän päivää.

Totaalidissoluutioiden annettiin olla lämpöhauteessa, kunnes mikropartikkelit olivat lienneet kokonaan. Sen jälkeen niistä otettiin näytteet analysointia varten.

5.2.3 Dissoluutiotestien analysointi

Dissoluutiotesteistä analysoitiin lienneen silikan ja vapautuneen lääkeaineen määrä eri aikapisteiden näytteistä. Silikan analysointi tehtiin mittaamalla näytteistä pii spektrofotometrillä. Lääkeaine analysoitiin HPLC:llä. Lääkeaineen analysoinnin tekivät yrityksen työntekijät.

Piimittauksessa valmistettiin standardisuora. Standardisuora tehtiin laimentamalla 10 ppm Si-liuksesta yhden millilitran tilavuuden pitoisuudet 0 ppm, 0.1 ppm, 0.5 ppm, 1.0 ppm ja 1.5 ppm. Näytteitä laimennettiin ensin yhden millilitran tilavuuteen. Laimennokset olivat joko 50-, 20-, 10- tai 5-kertaisia. Totaalidissoluutioista tehtiin aina 100-kertainen laimennos. Lisäksi valmistettiin aina samalla laimennoksella kontrolli, jos näytteissä oli 20-, 50- tai 100-kertaisia laimennoksia.

Standardeihin ja näytteisiin lisättiin 10 µl ammoniumheptamolybdaattiliuosta. Näytteitä sekoitettiin ja ammoniumheptamolybdaatin annettiin vaikuttaa viisi minuuttia. Odotusajan jälkeen näytteisiin lisättiin 40 µl viinihappoa pH:n säätöä varten. Näytteitä sekoitettiin uudestaan. Lopuksi näytteisiin lisättiin 10 µl pelkistysliuosta ja näytteitä sekoitettiin. Pelkistysliuoksen lisäämisen jälkeen vaikutusaika oli 20 minuuttia. Dissoluutionäytteistä mitattiin aina kolme rinnakkaista näytettä spektrofotometrillä.

Piimittauksen tulokset tuli muuntaa silikan pitoisuudeksi. Laskemisessa käytettiin apuna tietoa, että piin ja silikan ainemäärät ovat samat reaktioyhtälössä. Näin saatiin laskettua silikan massa ja pitoisuus dissoluutiosta olleessa tilavuudessa (50 ml). Totaalidissoluutioon lienneen silikan määrä oli kokonaismäärä silikaa, jota partikkeleissa oli. In sink -dissoluution tuloksia verrattiin totaalidissoluution tuloksiin. In sink -dissoluution eri aikapisteiden silikan määrää verrattiin prosentuaalisesti totaalidissoluution silikan määrään.

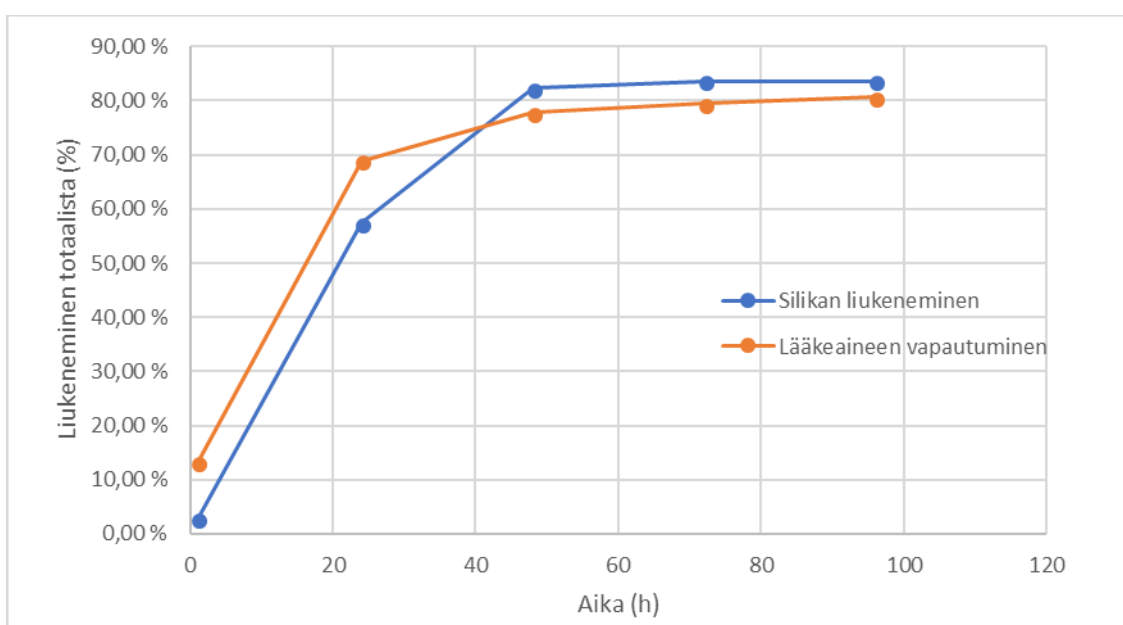
Näin saatiin selville, kuinka monta prosenttia silikasta oli liuennut tiettyyn aikapisteeseen mennessä.

Lääkeaineen liukenemisen tulokset laskettiin teoreettisen kokonaislääkeainemäärän mukaan. Aikapistenäytteiden lääkeaineen määrää verrattiin prosentuaalisesti kokonaislääkeaineen määrään.

6 TULOKSET

6.1 Kontrollimikropartikkelit

Kontrollina oli R15-100-partikkeli, joka oli valmistettu jokaisen erän sisäsoolista. Kontrollissa oli 10 prosentin lääkelataus. Partikkelit olivat dissoluutiotestissä 96 tuntia, minkä jälkeen ne olivat silmämääräisesti kokonaan lienneet dissoluutioliuokseen.



Kuva 4 R15-100-partikkelin silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen.

Taulukko 1 Silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen verrattuna partikkelin silikan ja lääkeaineen kokonaismääriin.

Aikapiste	% totaalista (silika)	% totaalista (lääkeaine)
1	2,8 %	13,2 %
24	57,4 %	68,9 %
48	82,3 %	77,8 %
72	83,6 %	79,5 %
96	83,6 %	80,6 %

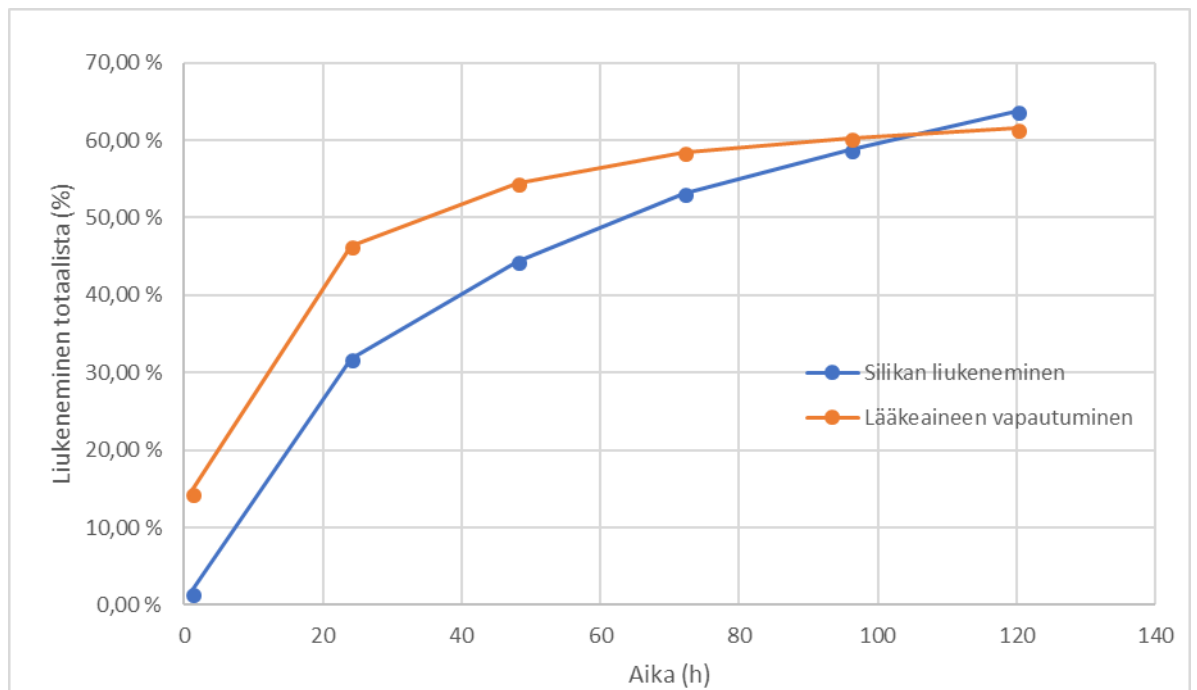
Lääkeaine vapautuu alkuvaiheessa nopeasti (kuva 4 ja taulukko 2). Lääkeaineen liukeneminen saisi olla lineaarisempaa. Lääkeainetta vapautuu yli puolet teoreettisesta määrästä ensimmäisen vuorokauden aikana. Silikaa oli 96 tuntiin mennessä liuennut mitatusta kokonaissilikan määrästä 80,60 %. Silikaa partikkeleissa oli 96,19 %.

6.2 Kolmifluidisuuttimella valmistetut silikamikropartikkelit

6.2.1 Etanolilla laimennetut ulkosoolit

Etanolilla laimennettuja ulkosoolia sisältäviä partikkeleja tehtiin kolme erää ja kaikissa oli eri ulkosooli. Ulkosoolit olivat R15-100, R5-100 ja R35-100. Kaikki laimennettiin etanolilla. Sisäsoolina oli aina sama R15-100, 10 %:n lääkelatauksella.

Ensimmäisenä valmistettiin R15-100/R15-100-partikkeli.



Kuva 5 R15-100/R15-100 partikkelin silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen.

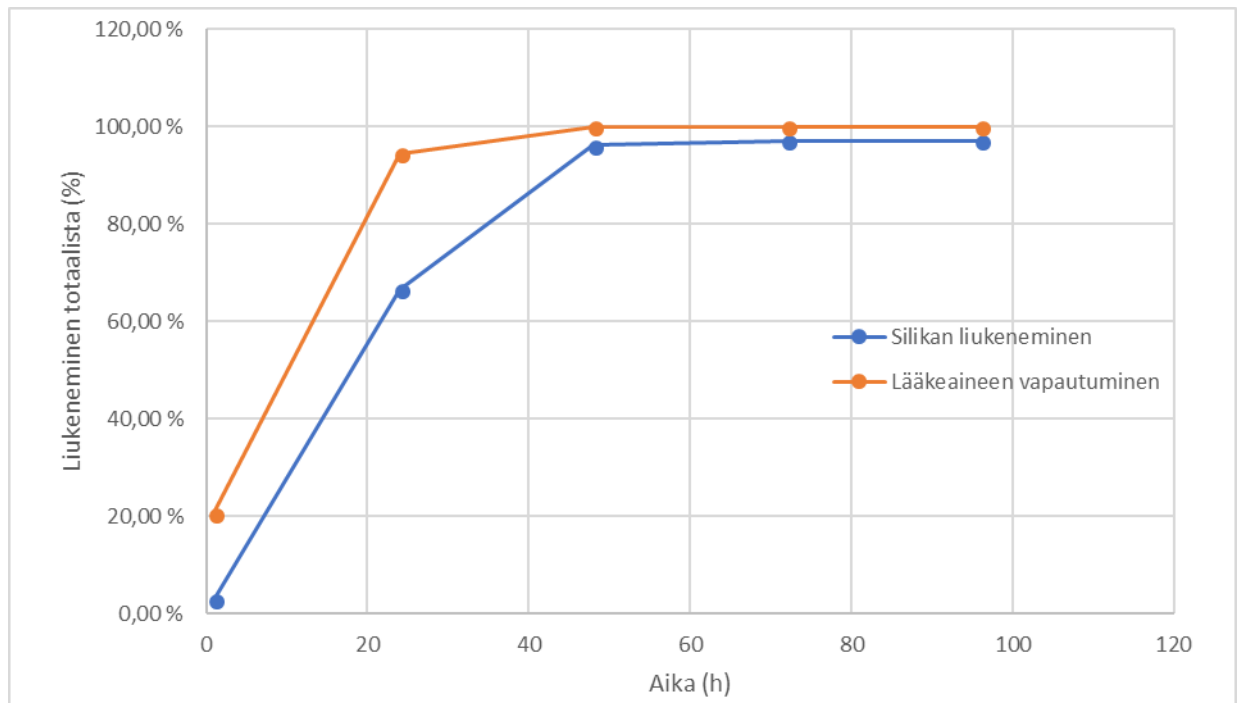
Taulukko 2 Silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen verrattuna R15-100/R15-100-partikkelin silikan ja lääkeaineen kokonaismääriin.

Aikapiste	% totaalista (silika)	% totaalista (lääkeaine)
1	1,6 %	14,5 %
24	31,8 %	46,4 %
48	44,4 %	54,5 %
72	53,2 %	58,5 %
96	58,8 %	60,3 %
120	63,8 %	61,5 %

Lääkeaine vapautuu ja silika liukenee suurin piirtein samaa tahtia, mutta lääkeainetta on liuennut ensimmäisen vuorokauden aikana yli 80 % (kuva 5). Lääkeaineen liukeneminen on aluksi hyvin voimakasta, mutta hidastuu partikkelin dissoluutiotestin edetessä (taulukko 2).

Silika liukenee in sink -olosuhteissa 120 tuntiin asti. Liuennutta silikaa mitatusta silikan kokonaismäärästä oli 86,69 % (taulukko 2). Partikkelissa oli silikaa 76,88 %.

Toinen etanolilla laimennettu ulkosooli oli R5-100. Kyseisessä formulaatiossa (R15-100/R5-100) oli enemmän silikaa kuin R15-100/R15-100-formulaatiossa.



Kuva 6 R15-100/R5-100-partikkelin silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen.

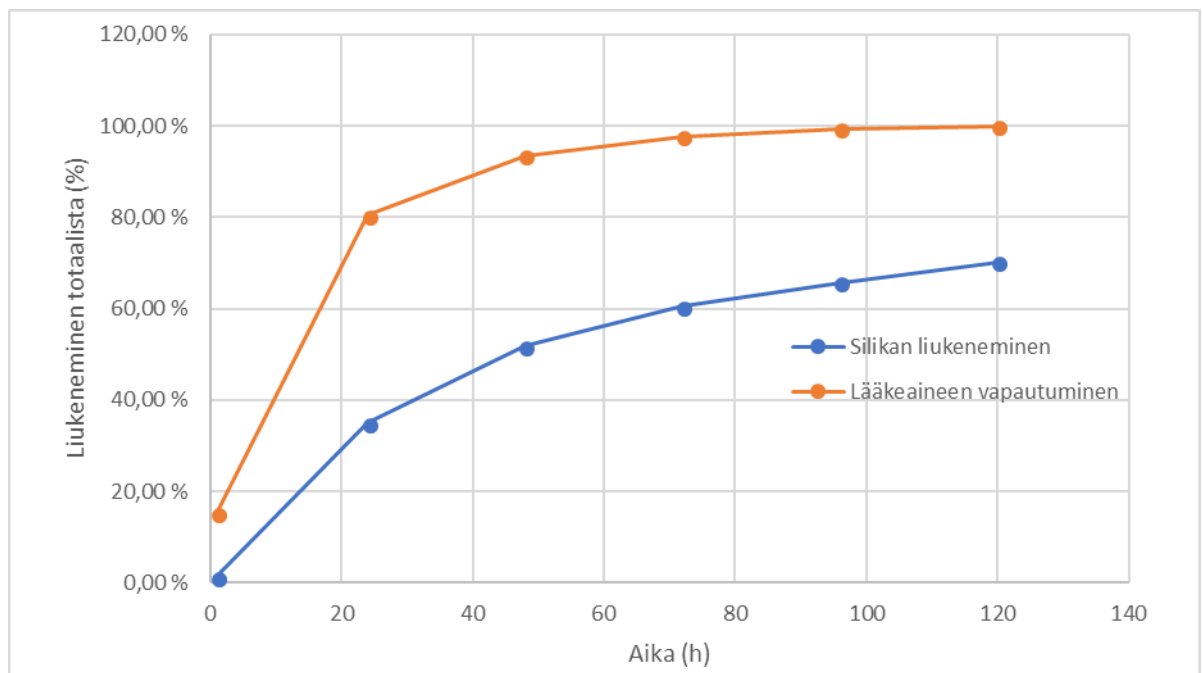
Taulukko 3 Silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen verrattuna R15-100/R5-100-partikkelin silikan ja lääkeaineen kokonaismääriin.

Aikapiste	% totaalista (silika)	% totaalista (lääkeaine)
1	3,0 %	20,6 %
24	66,6 %	94,5 %
48	96,3 %	100,0 %
72	97,1 %	100,0 %
96	97,2 %	100,0 %

Lääkeaine liukeni R15-100/R5-100-partikkelissa ensimmäisen tunnin aikana nopeammin kuin R15-100/R15-100-partikkelissa. Ensimmäisen tunnin aikana lääkeainetta vapautui 20,64 % (kuva 6 ja taulukko 3). Partikkeli liukeni nopeasti, sillä silmillä nähtäviä partikkeleita ei enää ollut jäljellä 96 tunnin näytettä otettaessa.

Silika liukenee nopeasti. 24 tunnin kohdalla siitä on liuenut jo yli puolet (taulukko 3). Partikkelin liukeneminen on hyvin nopeaa. Silikaa partikkelissa oli 77,20 %.

Kolmas etanolilla laimennettu ulkosooli oli R35-100.



Kuva 7 R15-100/R35-100-partikkelin silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen.

Taulukko 4 Silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen verrattuna R15-100/R35-100-partikkelin silikan ja lääkeaineen kokonaismääriin.

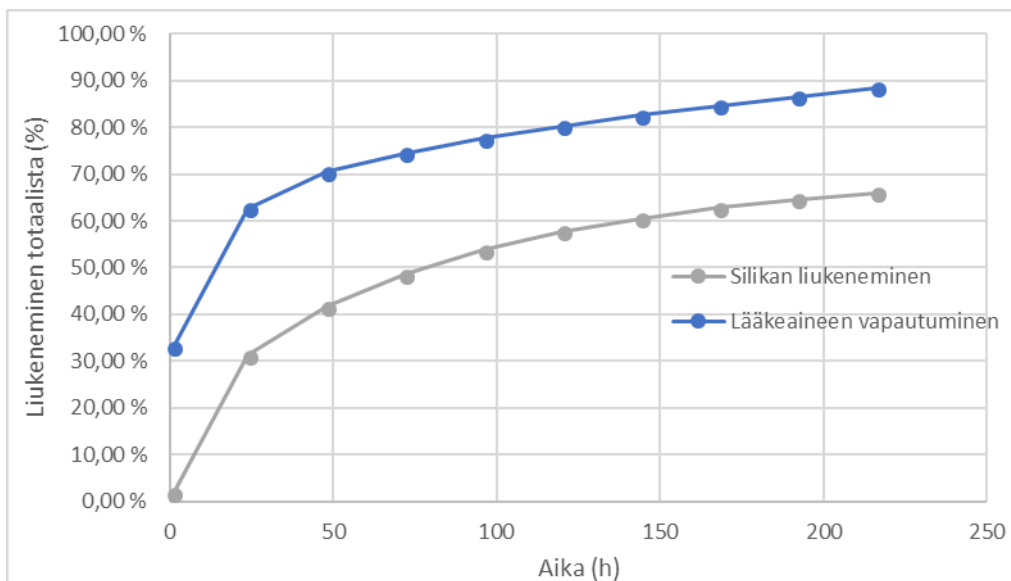
Aikapiste	% totaalista (silika)	% totaalista (lääkeaine)
1	1,4 %	15,2 %
24	35,0 %	80,5 %
48	51,9 %	93,5 %
72	60,5 %	97,7 %
96	65,8 %	99,4 %
120	70,2 %	100,0 %

R15-100/R35-100-partikkelissa lääkeaineen vapautuminen on jo lineaarisempi kuin kahdessa muussa partikkelissa (kuva 7). Lääkeainetta vapautuu myös ensimmäisen tunnin aikana vähemmän kuin muissa etanolilla laimennetuissa partikkeleissa (taulukko 4). Lääkeaineen vapautuminen hidastuu loppua kohden ja silikan liukeneminen kasvaa verrattuna lääkeaineen liukenemiseen.

Silika liukenee hitaammin kuin aikaisempien partikkelien silika (taulukko 4). 120 tuntiin mennessä kokonaissilikasta on liuennut vähän yli 60 %. Silikaa partikkelissa oli 78,17 % ja se oli suurin määrä silikaa etanolilla laimennettujen ulkosoolien partikkeleista.

6.2.2 Vedellä laimennetut ulkosoolit

Vedellä laimennettuja ulkosoojeja sisältäviä partikkeleita tehtiin kolme erää. Koska etanolilla laimennettujen partikkelien lineaarisin liukeneminen oli R15-100/R35-100-partikkelilla, päätettiin, että kokeillaan jatkaa kyseisellä ulkosoolilla. Ulkosooliin tehtiin muutoksia laimennoksen suhteen. Laimennos muutettiin vedeksi ja sitä muutettiin kahteen erään.



Kuva 8 R15-100/R35-100-partikkelin silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen.

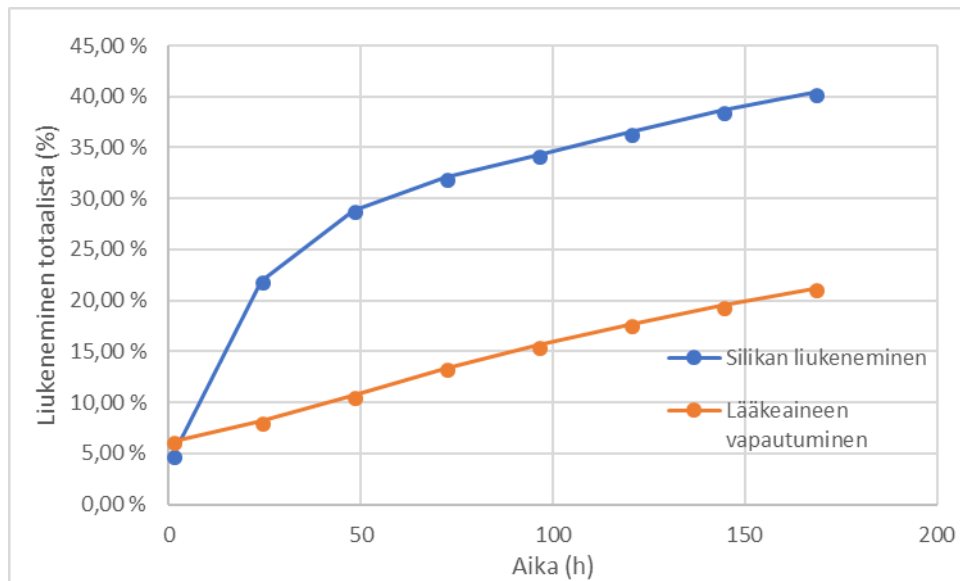
Taulukko 5 Silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen verrattuna R15-100/R35-100-partikkelin silikan ja lääkeaineen kokonaismääriin.

Aikapiste	% totaalista (silika)	% totaalista (lääkeaine)
1	1,76 %	33,03 %
24	31,31 %	62,68 %
48	41,73 %	70,51 %
72	48,53 %	74,48 %
96	53,83 %	77,62 %
120	57,78 %	80,25 %
144	60,52 %	82,56 %
168	62,79 %	84,63 %
192	64,57 %	86,63 %
216	65,93 %	88,52 %

R15-100/R35-100-partikkelissa, jonka ulkosooli on laimennettu vedellä, lääkeaineen vapautuminen on voimakkainta verrattuna muihin partikkeleihin ensimmäisen tunnin aikana (kuva 8). Lääkeaineesta yli 60 % vapautuu ensimmäisen vuorokauden aikana (taulukko 5). Lääkeaineen vapautuminen hidastuu silloin huomattavasti ja vapautuminen jatkuu koko dissoluutiotestin ajan.

Silikan liukeneminen on todella hidasta. Yhdeksän päivän dissoluutiotestissä silikaa on liuennut vasta 61,50 % (taulukko 9). Silikaa partikkelissa oli 71,91 %.

Silikaa lisättiin ulkosooliin myös muuttamalla ulkosoolin laimennusta. R35-50-ulkosoolissa on enemmän silikaa kuin R35-100-ulkosoolissa.



Kuva 9 R15-100/R35-50-partikkelin silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen.

Taulukko 6 Silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen verrattuna R15-100/R35-50-partikkelin silikan ja lääkeaineen kokonaismääriin.

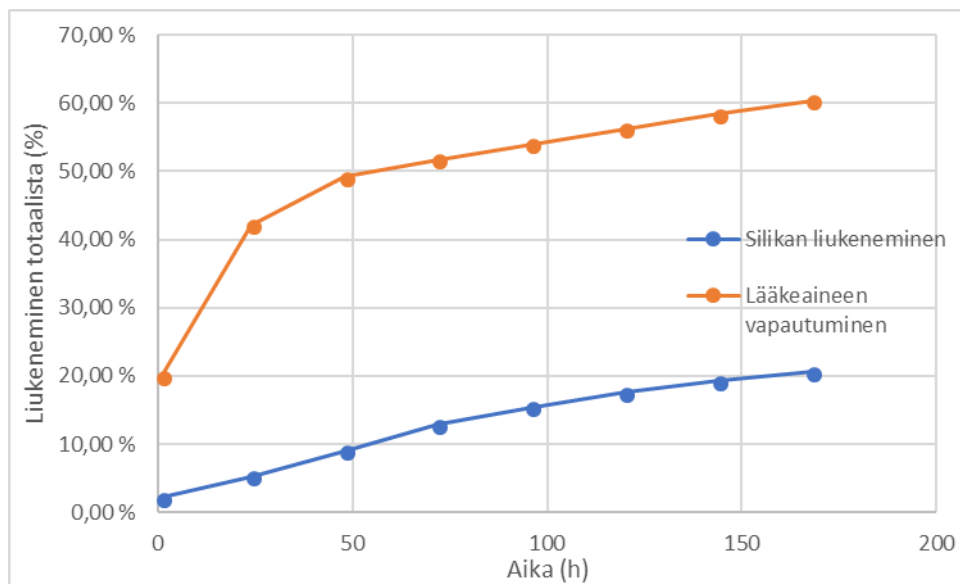
Aikapiste	% totaalista (silika)	% totaalista (lääkeaine)
1	4,8 %	6,2 %
24	21,9 %	8,2 %
48	28,9 %	10,7 %
72	32,1 %	13,4 %
96	34,3 %	15,6 %
120	36,5 %	17,7 %
144	38,6 %	19,5 %
168	40,4 %	21,2 %

Lineaarisin lääkeaineen vapautuminen oli R15-100/R35-50-partikkelilla (kuva 9). Silikaa liukeni alkuvaiheen dissoluutiassa enemmän, mikä kertoo siitä, että partikkelin päällä on jonkinlainen kerros ulkosoolia. Kuvaajassa (kuva 9) nähdään kolmifluidisuuttimen vaikutus ja siitä voidaan päätellä, että partikkelin päällystys on onnistunut kokonaan tai osittain.

Silika liukenee hyvin hitaasti (taulukko 6). Siitä on viikon dissoluution aikana liuennut alle 40 % silikan kokonaismäärästä. Silikaa partikkelissa oli 86,86 % ja se oli suurin määrä silikaa kaikista kolmifluidisuuttimella valmistetuista partikkeleista.

Lääkeaine vapautuu hyvin tasaisesti verrattuna muihin partikkeleihin (taulukko 6). Ensimmäisen tunnin ja ensimmäisen vuorokauden aikana lääkeainetta ei vapaudu isoja määriä.

Silikan määrän lisäämisen lisäksi kokeiltiin vaikuttaako soolien pumppausnopeus lääkeaineen vapautumiseen ja partikkelin päällistymiseen ulkosoolilla. Seuraava erä tehtiin samalla reseptillä kuin R15-100/R35-50, mutta sisäsoolin pumppausnopeus oli 1 ml/min ja ulkosoolin 5 ml/min.



Kuva 10 R15-100/R35-50-partikkelin silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen.

Taulukko 7 Silikan liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen verrattuna R15-100/R35-50-partikkelin silikan ja lääkeaineen kokonaismääriin.

Aikapiste	% totaalista (silika)	% totaalista (lääkeaine)
1	2,1 %	19,9 %
24	5,3 %	42,1 %
48	9,1 %	49,1 %
72	12,9 %	51,7 %
96	15,5 %	54,0 %
120	17,6 %	56,3 %
144	19,3 %	58,4 %
168	20,6 %	60,4 %

Lineaarisuus häviää pumppausnopeuden muutoksella lääkeaineen vapautumisessa (kuva 10). Alun nopea vapautuminen tulee taas esille (taulukko 7). Se hidastuu, kun dissoluutio etenee, mutta on silti huomattavasti nopeampaa kuin silikan liukeneminen.

Silikan liukeneminen on hidasta (taulukko 13). Viikon dissoluutiassa silikaa on liennut vain vähän yli 20 %. Silikaa partikkelissa oli 85,43 %.

7 POHDINTA JA JOHTOPÄÄTÖKSET

Tulosten tulkitsemisessä ongelmaksi muodostui hitaasti liukenevat partikkelit, sillä niistä ei saatu vapautumaan kaikkea lääkeainetta dissoluutiotestin aikana. Koska kahden eri soolin (sisä- ja ulkosoolin) massasuhdetta ei tutkittu, oli vaikeaa määrittää tarkasti kuinka paljon lääkeainetta olisi teoreettisesti pitänyt liueta partikkelista. Kirjallisuuslähteiden nojalla partikkeleissa sisäsoolia saattaisi olla enemmän kuin ulkosoolia (Kašpar ym. 2013, 31-40) (Wang ym. 2014). Koska tarkkaa määritystä ei ollut saatavilla, päätettiin soolien suhteiksi laittaa 1:3, jossa sisäsoolin osuus on suurempi.

Parhaiten tavoitteeseen päästiin partikkelilla R15-100/R35-50, jossa pumppausnopeus oli molemmilla pumpuilla sama. Partikkelin ulkosooli oli laimennettu vedellä. Lääkeaineen vapautuminen oli tällöin kaikkein lineaarisin ja tasaisin. Silikan vapautuminen kyseisessä partikkelissa tukee teoriaa, että lääkeainetta sisältävän soolin päällä on kerros puhdasta soolia. Silikaa nimittäin liukenee alkuvaiheessa enemmän kuin lääkeainetta. Partikkeli liukenee huomattavasti pidempään kuin kontrolli. Lääkeainetta voi myös vapautua enemmän kuin silikaa sen liukenemisen lopussa. Silloin lääkeainetta voi liueta haluttua isompi määrä, eli lääkeaineen voimakkain vapautuminen voi alun sijaan ollakin liukenemisen lopussa. Tämän pystyy selvittämään vain tekemällä dissoluutiotestiä niin kauan, että partikkeli on kokonaan liuennut.

Kirjallisuuslähteiden (Kašpar ym. 2013, 31-40) (Kondo ym. 2014) (Wang ym. 2014) perusteella silikaa, jonka matriisissa on lääkeainetta, on vaikeaa päällystää puhtaalla silikalla käyttäen kolmifluidisuutinta. Lähteissä on käytetty aina kahta eri ainetta, joiden ominaisuudet ovat erilaisia. Niiden ominaisuudet erosivat esimerkiksi viskositeetin osalta.

7.1 Formulaation vaikutus lääkeaineen liukenemiseen

Sisäsoolilla oli aina sama formulaatio ja lääkelataus, eli se ei vaikuta tässä työssä lääkeaineen vapautumiseen muuten kuin mahdollisesti sekoittumalla joissain erissä ulkosooliin. Ulkosoolin formulaatio vaikuttaa lääkeaineen vapautumiseen.

Mitä pienempi ensimmäinen R-arvo (ennen laimennosta) ulkosoolilla on, sitä nopeammin lääkeaine vapautuu ensimmäisten vuorokausien, varsinkin 24 tunnin ajanjakson, aikana. Kun R-arvoa nostettiin, lääkeaine vapautui hitaammin 24 tunnin ajanjaksolla.

Pienen R-arvon ulkosoolissa omaavat partikkelit myös liukenivat nopeammin silikan osalta kuin isomman R-arvon ulkosoolissa omaavat partikkelit. Partikkelia, jossa oli käytetty ulkosoolina R5-100-formulaatiota, liukeni kaikkein nopeimmin kaikista partikkeleista. Hitaimmin liukenivat R35-100 etanolilla laimennettuna, R35-100 vedellä laimennettuna ja molemmat R35-50-formulaatioista. R15-100 ulkosoolin omaavan partikkelin liukenemisaika oli jotain R5-100- ja R35-100-formulaatioiden väliltä.

7.2 Laimentimen ja laimennoksen vaikutus lääkeaineen liukenemiseen

Lääkeaine liukenee etanoliin. On mahdollista, että kahta nestettä sumutettaessa lääkeaine voi liueta myös ulkosooliin. Tällöin lääkeainetta pääsee partikkelin pinnalle. Koska ulkosoolia voi massaltaan olla vähemmän partikkelissa kuin sisäsoolia, ulkosooliin päätynyt lääkeaine ei kapseloidu silikan matriisiin kunnolla, vaan vapautuu dissoluutiossa nopeasti. Teorian perusteella tämä voi olla mahdollista, mutta tulosten mukaan hyvin epätodennäköistä, sillä kaikissa partikkeleissa, lukuun ottamatta vedellä laimennettua R15-100/R35-50-partikkelia, lääkeainetta vapautui ensimmäisen 24 tunnin aikana noin 20 %.

Vedellä laimennettuja ulkosoooleja sisältävät partikkelit liukenivat huomattavasti pidempään kuin etanolilla laimennetut partikkelit. Silika liukeneminen ja lääkeaineen vapautuminen hidastuivat. Tämä voi hankaloittaa haluttua lääkkeen vapautumisaikaa, mikäli sen halutaan olla lyhyempi.

Silikan määrä oli suurin vedellä laimennetussa R15-100/R35-50-partikkelissa, jossa syöttönopeudet olivat 3 ml/min. Kyseinen partikkeli oli tulosten perusteella onnistunein

Laimentimen vaikutusta lääkeaineen vapautumiseen voisi testata sumuttamalla uudelleen R15-100/R35-50-partikkelin, jossa olisi ulkosoolin laimentimena veden sijaan etanoli.

7.3 Silikan määrän vaikutus lääkeaineen vapautumiseen

Tulosten perusteella silikan määrällä on iso vaikutus lääkeaineen vapautumiseen. Kun ulkosoolin silikan määrää lisättiin laimentamalla soolia vähemmän, sisäsoolin päällystyminen ulkosoolilla näytti tulosten perusteella paranevan. Silikaa liukeni aikapisteittäin

aina isompi määrä kuin lääkeainetta vapautui ja lääkeaineen vapautuminen oli lineaarisempi, mikä kertoo siitä, että partikkelissa on päällä kerros lääkeaineetonta silikaa.

Silikan määrä ulkosoolissa on tulosten perusteella yksi ratkaisevista tekijöistä, jos halutaan saada partikkelin päälle kerros lääkeaineetonta silikaa. Parempi päällystys voi johtua soolien viskositeettieroista. Silikaa enemmän sisältävällä ulkosoolilla on eri viskositeetti kuin sisäsoolilla, mikä saattaa auttaa ulkosoolin asettumista sisäsoolin ympärille.

Silikan määrän lisääminen kuitenkin lisää lääkeaineen vapautumisaikaa entisestään. R15-100/R35-50-partikkelissa, jossa molempien soolien pumppausnopeudet kuivaimeen olivat samat, lääkeainetta oli vapautunut viikon dissoluution aikana kaikkein vähiten verrattuna muihin partikkeleihin.

7.4 Soolien pumppausnopeuksien vaikutus lääkeaineen vapautumiseen

Soolien pumppausnopeuksia testattiin yhdessä erässä. Pumppujen yhteisnopeus pidettiin samassa kuin muidenkin erien yhteisnopeus. Ulkosoolin pumppausnopeus oli viisinkertainen sisäsooliin verrattuna ja partikkelin formulaationa oli R15-100/R35-50, eli sama kuin partikkelissa, jossa oli lineaarisin lääkeaineen vapautuminen. Teoriassa pumppausnopeuksilla voi olla vaikutusta parempaan päällystymiseen. Tulosten perusteella soolien kanssa pumppausnopeudella on vaikutusta, mutta se ei paranna partikkelin päällystymistä ulkosoolilla. Lääkeaineen vapautuminen kasvoi heti ensimmäisen vuorokauden aikana ja lineaarisuus huononi huomattavasti. Huomattavasti nopeampi ulkosoolin pumppausnopeus ei siis ole lääkeaineen vapautumisen tai sen lineaarisuuden kannalta järkevää.

Pumppausnopeuksia kannattaisi testata myös toisinpäin, eli nopeammalla sisäsoolin pumppausnopeudella. Koska pumppausnopeuksilla saattaa olla vaikutusta päällystymiseen, tulisi erinä tehdä eri pumppausnopeuksilla ja tutkia mikä niistä on paras. Pumppausnopeuksien muuttaminen tulosten perusteella vaikeuttaa päällystymistä. Asiaa tulisi kuitenkin tutkia lisää, jotta voidaan vetää lopullinen johtopäätös pumppausnopeuden muuttamisen vaikutuksesta silikamikropartikkeliin kapseloidun lääkeaineen vapautumiseen.

LÄHTEET

Ameri, M. & Maa, Y.-F. 1990. The molecular basis of moisture effects on the physical and chemical stability of drug in the solid state. *International journal of pharmaceutics* 62, 87-95.

Bandyopadhyay, A. & Bose, S. 2013. *Characterization of Biomaterials*. Elsevier Science.

Brinker, C.J. & Scherer, G.W. 1990. *Sol-gel Science - The physics and chemistry of sol-gel processing*. Academic Press Inc.

Brinker, C.J. 1988. Hydrolysis and condensation of silicates: Effects on structure. *Journal of Non-Crystalline Solids*, Vol. 100, 31-50.

Broadhead, J.; Rouan, E.; Hau, I. & Rhodes, C. 1994. The effect of process and formulation variables on the properties of spray-dried β -galactosidase. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, Vol. 46, 458-467.

Carlson, A.B. & Banks, C.V. 1952. Spectrophotometric Determination of Silicon. *Analytical chemistry*, Vol. 24, 472-477.

Coskun, O. 2016. Separation techniques: Chromatography. *Northern clinics of Istanbul*, 156-160.

DelsiTech Oy 2018. Silica - The Natural Solution for Drug Delivery. Viitattu 7. March 2018 http://www.delsitech.com/eng/technology/silica_drug_delivery_matrix/.

Filková, I.; Huang, L. & Mujumbar, A. 2006. *Handbook of industrial drying*. Taylor & Francis Group LLC.

Jokinen, M.; Jalonen, H.; Forsback, A. & Koskinen, M. 2013. Method for preparing silica compositions. Patent nro EP2118006 B9.

Jokinen, M.; Koskinen, M. & Areva, S. 2008. Rationale of Using Conventional Sol-Gel Derived SiO₂ for Delivery of Biologically Active Agents. *Key Engineering Materials*, Vol. 377, 195-210.

Kašpar, O.; Jakubec, M. & Štěpánek, F. 2013. Characterization of spray dried chitosan-TPP microparticles formed by two- and three-fluid nozzles. *Powder Technology*, Vol. 240, 31-40.

Kobayashi, H.; Tiwari, A. & Kobayashi, H. 2012. Biomedical Materials and Diagnostic Devices. Wiley.

Kolu, A.-M. 2013. Proteiinien sumukuivaus ja stabilointi. Helsingin yliopisto.

Kondo, K.; Niwa, T. & Danjo, K. 2014. Preparation of sustained-release coated particles by novel microencapsulation method using three-fluid nozzle spray drying technique. European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics,.

Labcompare ei pvm. The buyer's guide to for laboratory equipment. Viitattu 18. toukokuu 2018 <https://www.labcompare.com/Spectroscopy/105-Spectrophotometers/>.

Masters, K. 1985. Spray drying handbook. 4th ed. Halsted Press.

Patel, R. & Suthar, R. 2009. Spray drying technology: an overview. Indian J Sci and Tech, 44-47.

Sosnik, A. & Seremeta, K.P. 2015. Advantages and challenges of the spray-drying technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers. Science direct, Vol. 223,.

Wang, F. ym. 2014. One-Step Production of Protein-Loaded PLGA Microparticles via Spray Drying Using 3-Fluid Nozzle. Pharmaceutical research,.

Vehring, R. 2008. Pharmaceutical Particle Engineering via Spray Drying. Pharmaceutical research, 999-1022.

Viitala, R.; Jokinen, M. & Rosenholm, J.B. 2007. Mechanistic studies on release of large and small molecules from biodegradable SiO₂. International Journal of Pharmaceutics, Vol. 336 No 2, 382-390.

Williams, D.F. 1999. Williams dictionary of biomaterials. Liverpool University Press.