

LAPPEENRANNAN TEKNILLINEN YLIOPISTO

Matematiikan ja fysiikan laitos

**Nopeasti liukenevien lääkeaineiden liukenemisnopeuden  
mittaaminen optisesti**

Työn tarkastajat:	Professori, FT Professori, FaT	Erik Vartiainen Jarkko Ketolainen
Työn ohjaajat:	Dosentti, FT Tutkija, FM	Pertti Silfsten Riikka Laitinen

Lappeenrannassa 2007

Jani Lahtinen

Linnunrata 10 G1  
53850 Lappeenranta  
040-8214819

## **ALKUSANAT**

Lappeenrannan teknillisessä yliopistossa matematiikan ja fysiikan laitoksessa Kuopion yliopiston farmasian teknologian ja biofarmasian laitoksen kanssa yhteistyössä toteutettavan projektin tarkoituksena on tutkia optisen menetelmän soveltuvuutta liukenemisnopeuden määrittämiseen. Tämän diplomityön päämääränä oli tutkia optisen mittauksen soveltuvuutta nopeasti liukenevien lääkeaineiden liukenemisnopeuden määrittämiseen. Haluan kiittää kaikkia tähän työhön osallistuneita.

## Tiivistelmä

Tekijä:	Lahtinen, Jani Ville Paavali
Työn nimi:	<b>Nopeasti liukenevien lääkeaineiden liukenemisnopeuden mittaaminen optisesti</b>
Osasto:	Matematiikan ja fysiikan laitos
Vuosi:	2007
Paikka:	Lappeenrannan teknillinen yliopisto
Diplomityö:	52 sivua, 26 kuvaa, 7 taulukkoa
Tarkastajat:	Professori Erik Vartiainen Professori Jarkko Ketolainen
Hakusanat:	Liukeneminen, liukenemisnopeus

Työssä perehdytään nopeasti liukenevien lääkeaineiden liukenemisnopeuden mittaamiseen optisesti. Tavoitteena oli kehittää mittausjärjestely, jolla liukenemisen optinen mittaaminen olisi mahdollista. Työn kirjallisessa osiossa perehdytään liukenemisen teoriaan sekä mittauksien kannalta tärkeään valon absorption ja sironnan teoriaan.

Työn kokeellisessa osassa tarkastellaan liukenemisnopeuden mittaamista, sitä varten kehitetyllä mittausjärjestelyllä sekä pohditaan menetelmän soveltuvuutta nopeasti liukenevien lääkeaineiden liukenemisnopeuden mittaamiseen. Liukenemisnopeuden optinen mittaaminen osoittautui vaikeaksi joissakin tapauksissa pienten hiukkasten keveyden johdosta. Kevyet hiukkaset kostuivat liian hitaasti, mikä aiheutti ongelmia mittauksiin. Nopeasti kostuvilla hiukkasilla liukenemisnopeuden määrittäminen mittaus-signaalin perusteella oli huomattavasti helpompaa. Näillä aineilla mittaukset onnistuivat hyvin.

## ABSTRACT

Author: Lahtinen, Jani Ville Paavali

Subject: **Optical method for dissolution rate measurement of fast dissolving drugs**

Department: Institute of Mathematics and Physics

Year: 2007

Place: Lappeenranta University of Technology

Master's thesis: 52 pages, 26 figures, 7 tables

Examiners: Professor Erik Vartiainen  
Professor Jarkko Ketolainen

Keywords: Dissolution, Dissolution rate

This master's thesis describes dissolution rate measurement of fast dissolving drugs by optical method. Aim of this master's thesis was to develop a dissolution rate measurement system for fast dissolving medicine. Literature part describes the theory of dissolution and theory of absorption and scattering of light.

The experimental part describes the measurement of dissolution rate, with the developed optical measuring system. Measuring the dissolution rate turned out to be really difficult on some cases, because of the low density of some particles. Light particles wetted too slowly, which caused problems to dissolution rate measuring. Evaluating the dissolution rate from the measured signal was much easier, with particles that got wet quickly. With those particles measuring succeeded very well.

## SISÄLLYSLUETTELO

<b>1.</b>	<b>JOHDANTO.....</b>	<b>4</b>
<b>2.</b>	<b>KÄYTÖSSÄ OLEVAT MENETELMÄT .....</b>	<b>5</b>
2.1	USP-menetelmät .....	5
2.2	Näytteenotto.....	6
2.3	PAT .....	7
<b>3.</b>	<b>LIUKENEMINEN.....</b>	<b>8</b>
3.1	Liuos.....	8
3.2	Liukemisnopeus .....	8
3.2.1	Liukemisen nopeusyhtälö .....	8
3.2.2	Liukemisnopeuteen vaikuttavat tekijät .....	9
<b>4.</b>	<b>VALON VAIMENEMINEN.....</b>	<b>11</b>
4.1	Yleistä.....	11
4.2	Valon kulku läpäisevän materiaalin yhteydessä .....	11
4.3	Aaltoliikkeen sironta .....	13
4.4	Absorptio .....	14
<b>5.</b>	<b>MITTAUSJÄRJESTELY .....</b>	<b>16</b>
5.1	Mittauksissa käytetty laitteisto.....	16
5.2	Liukemiskuvaaja .....	17
5.3	Mittaustulosten käsittely.....	18
5.3.1	Nollannen kertaluvun kinetiikka .....	19
5.3.2	Ensimmäisen kertaluvun kinetiikka .....	19
5.3.3	Lineaarisen kuvaajan käsittely .....	20
5.3.4	Eksponentiaalisen kuvaajan käsittely .....	22
<b>6.</b>	<b>MITTAUKSET.....</b>	<b>27</b>
6.1	Mittauksissa käytetyt aineet.....	27
6.2	Mittausten toistettavuus ja annoskoon vaikutus .....	27
6.3	Liukemisen mittaamista häiritsevät apuaineet .....	29
6.4	Lioksen pH:n vaikutus liukemisen mittaamiseen.....	33
6.5	Näytteiden analysoinnin ja optisten kokeiden vertailu .....	34
6.5.1	Eksponentiaalinen liukeminen .....	35
6.5.2	Lineaarinen liukeminen .....	39

<b>7.</b>	<b>HAVAITTUJA ONGELMIA .....</b>	<b>42</b>
7.1	Kohina mittaussignaalissa .....	42
7.2	Jauheen annostelu .....	44
7.3	Jauheen kostuminen .....	45
7.4	Partikkelien aggregoituminen.....	47
<b>8.</b>	<b>SOVELLUSALUEET .....</b>	<b>50</b>
<b>9.</b>	<b>YHTEENVETO .....</b>	<b>51</b>

**Käytetyt merkinnät ja lyhenteet:**

## Merkinnät

$A_{bs}$	absorptanssi	
$A$	pinta-ala	$[m^2]$
$C_s$	lääkeaineen liukoisuus	$[g/m^3]$
$C_t$	lääkeaineen pitoisuus hetkellä $t$ .	$[g/m^3]$
$D$	diffuusiokerroin	$[m^2s^{-1}]$
$h$	diffuusiokerroksenpaksuus	$[m]$
$I$	valon intensiteetti	$[Wm^{-2}]$
$I_0$	intensiteetti hetkellä $t = 0$	$[Wm^{-2}]$
$k$	liukenemisen nopeusvakio	$[s^{-1}]$
$m$	lääkeainemäärä	$[g]$
$m_0$	liukenematon ainemäärä hetkellä $t = 0$	$[g]$
$m_t$	liukenematon ainemäärä hetkellä $t$	$[g]$
$R$	reflektanssi	
$T$	transmittanssi	
$t$	aika	$[s]$
$\mu$	absorptiokerroin	$[m^{-1}]$

## Lyhenteet

HPLC	High Performance Liquid Chromatograph
PAT	Process Analytical Technology
USP	The United States Pharmacopoeia

## 1. JOHDANTO

Lääkevalmisteille tehdään liukenemiskokeita kehitettäessä uusia tuotteita, sekä laadun valvonnassa. Liukenemisen mittaamisesta onkin tullut eräs tärkeimmistä menetelmistä tuotteen laadun ja kehityksen kannalta lääketeollisuudessa. Liukenemisnopeuden tunteminen on hyvin tärkeää nopeasti liukenevien lääkeaineiden kohdalla, jotta voidaan suunnitella oikeanlainen valmiste.

Tässä työssä käsitellään lääkeaineiden liukenemisnopeuden mittausta optisella menetelmällä. Tavoitteena on kehittää optinen mittaussjärjestely, jolla voidaan mitata lääkeaineen liukenemisnopeus perinteisiä kemiallisia menetelmiä nopeammin.

Mittaussjärjestelyn avulla on tavoitteena saada enemmän informaatiota liukenemisestä ja päästä tarkempiin mittaustuloksiin kuin perinteisillä näytteiden ottoon ja niiden analysointiin perustuvilla mittaussjärjestelmillä. Perinteisillä kemiallisilla menetelmillä ei saada nopeasti liukenevien lääkeaineiden liukenemisestä tarpeeksi informaatiota, koska menetelmät ovat hitaita ja näytteenottovälit pitkiä.

Tavoitteena on siis saada liukenemisnopeus selville ilman erillistä näytteiden ottoa ja niiden analysointia. Mittaamiseen ja mittaustulosten analysointiin kuluva aika on tavoitteena vähentää. Optisella mittaussmenetelmällä liukenemisnopeuden mittaamisen tulisi onnistua huomattavasti nopeammin, kuin näytteiden ottoon ja niiden analysointiin perustuvilla mittaussmenetelmillä.



## 2. KÄYTÖSSÄ OLEVAT MENETELMÄT

Standardien mukaiset käytössä olevat lääkeaineille käytettävät liukoisuusmittausmenetelmät ovat aikaa vieviä ja vaativat runsaasti työvoimaa. Tyypillisesti mittausprosessiin kuuluu tablettien tai jauheen liuottaminen liuottimeen lasiastioissa lämmittämisen ja sekoittamisen avulla. Sekoitusnopeus ja liuottimen koostumus on vapaasti valittavissa lääkevalmisteelle tyypillisten liukenemisolosuhteiden mukaan, kun taas laitteen fyysisiä ominaisuuksia on tiukasti rajattu. Esim. sekoittavan lavan koko ja asento ovat tiukasti säännöstyjä farmasian ohjesäännöissä (Pharmacopoeia guidelines). Lääketieteessä käytetyt lukuisat säännökset ja standardit vaikeuttavat ja hidastavat huomattavasti uusien mittausjärjestelmien käyttöönottoa./2/

### 2.1 USP-menetelmät

USP:ssa (The United States Pharmacopoeia) on kuvattu suun kautta annosteltavien lääkeaineiden liukoisuuskokeisiin neljä virallista menetelmää: pyöriväkori- (USP I), pyörivälappi- (USP II), bioliukenemis- (USP III) ja läpivirtausmenetelmät (USP IV). USP I ja II menetelmät ovat yleisimmin käytettyjä heti vapautuville lääkeaineille. USP III menetelmä sopii parhaiten, kun liuoksen pH:ta halutaan muuttaa kokeen aikana. USP IV menetelmä soveltuu joissakin tapauksissa liukenemiskokeeksi, kun lääkeaineen vapautuminen ei tapahdu heti. Nopeasti liukeneville lääkeaineille USP:ssa olevista menetelmistä soveltuvat siis USP I ja II menetelmät./8/

Pyöriväkorimenetelmässä (USP I) lääkeaine asetetaan spesifikaatioiden mukaiseen koriin. Kori lasketaan liuottimeen ja käynnistetään sekoitinmoottori. Menetelmässä siis kori pyörii liuottimeessa. Tässä menetelmässä liuotinnestettä ja pyörimisnopeutta vaihtelemalla voidaan luoda erilaisia koeolosuhteita. /8/

Toiminta periaatteeltaan pyörivä lapamenetelmä (USP II) on hyvin paljon saman kaltainen kuin pyöriväkorimenetelmä. Tässä menetelmässä liuotinnesteen sekoitus tapahtuu lavan avulla ja lääkeaine annostellaan liuotin nesteeseen. Tässäkin menetelmässä liuotinnestettä ja pyörimisnopeutta vaihtelemalla voidaan luoda erilaisia koeolosuhteita./8/

## 2.2 Näytteenotto

Näytteenotto ja näytteiden analysointi muodostavat aikaa vievimmän osion yleisesti käytössä olevissa liukenemiskokeissa. Liukenemisnopeutta mitattaessa näytteitä liuksesta otetaan valituin väliajoin, ja ne suodatetaan sekä analysoidaan HPLC:llä (High Performance Liquid Chromatograph) tai spektrofotometrillä. Erillinen näytteenotto ja analysointi kasvattaa mittausprosessin kestoaikaa huomattavasti ja hidastaa merkittävästi myös lääkeaineiden kehitystyötä./2/

Liuksesta voidaan ottaa näytteitä vain tietyin väliajoin, mikä rajoittaa näytteiden määrää. Yleensä näytteenottovälinä käytetään 30s-60s ja nopeimmillaankin näytteitä pystytään ottamaan vain noin 15 sekunnin välein, mikä etenkin nopeasti liukenevien lääkeaineiden liukenemisen määrittämisessä on aivan liian harvoin./2/

Tämä on merkittävä haittapuoli nopeasti liukenevien lääkeaineiden liukenemisen ja liukenemisnopeuden määrittämisessä. Nopeasti liukenevat lääkeaineet kun liukenevat yleensä suurimmaksi osaksi jo alle 15 sekunnissa, jolloin näytteitä ei saada kuin korkeintaan yksi ennen 100 %:n liukoisuusarvoa.

Ongelmana liukoisuuden määrittämisessä on myös otettavien näytteiden määrän rajallisuus. Näytteitä voidaan ottaa liuksesta vain tietty määrä, jotta liuksessa olevan liuenneen aineen ainemäärä ei laskisi liikaa ja näin ollen vaikuttaisi mittaustuloksiin. Lisäksi näytteiden määrää rajoittaa niiden analysointiin kuluva-aika. Tyypillisesti näytteitä otetaan analysoitavaksi kuusi yhden mittauksen aikana, tällöin näytteenotto ei vielä vaikuta liikaa mittaustuloksiin. Tyypillisesti rinnakkaisia mittauksia tehdään kolme. /2/

Käytännössä nykyisin käytössä olevissa liukenemisnopeuden mittausjärjestelmissä tutkitaan, kuinka suuri määrä lääkeainetta liukenee tietyssä ennalta määrätystä ajassa. Teoriassa kuitenkin pitäisi tutkia, kuinka pitkä aika kuluu tietyn ennalta määrätyn lääkeainemäärän liukenemiseen./6/

### 2.3 PAT

Tuotannossa olevien lääkeaineiden laatua testataan tuotantoeristä otettavilla näytteillä. Tämä laadunvalvontatapa ei ole tehokas, koska näytteiden analysointi vie aikaa ja analysoinnin tulokset tulevat usein vasta kun valmistettava tuotantoerä on jo valmis. Tästä syystä tuotannon optimointi on vaikeaa, mikä aiheuttaa ongelmia tuotantoon. Tämä johtaa usein koko tuotantoerän hylkäämiseen, jos näytteiden tulokset eivät vastaa niille annettuja vaatimuksia. /4/

Tavoitteena onkin päästä off-line testauksesta on-line testaukseen. Pyrkimyksiä siirtyä tekniikan avulla off-line testauksesta on-line testaukseen kutsutaan kirjain lyhenteellä PAT (Process Analytical Technology). PAT:ssa tärkeimpänä ajatuksena on tuottaa informaatiota tuotteen laadusta reaaliajassa jo tuotanto linjalla. Erillistä laboratorio analysointia on tavoitteena vähentää huomattavasti uusien menetelmien avulla, koska näytteiden kuljettaminen laboratorioon ja analysointi siellä vievät aikaa. Mikäli laboratorioanalysoinnista ei voida luopua kokonaan, on tavoitteena vähentää sen määrää ja siihen kuluva aikaa. /4/

Tärkeä osa-alue lääkeaineiden tuotannon laadunvalvonnassa ja kehitystyössä ovat liukoisuusmittaukset ja liukenemisnopeusmittaukset, joiden avulla saadaan hyvin tietoa lääkeaineen koostumuksesta ja laadusta. Näiden mittausten nopeuttaminen on yhtenä merkittävänä osa-alueena myös PAT:ssa. Liukenemisnopeuden määrittämiseen on tavoitteena luoda järjestelmä jolla pystyttäisiin mittaamaan liukenemisnopeus ilman kemiallista analysointia. t /4/

### 3. LIUKENEMINEN

Työssä tutkitaan lääkeaineen liukenemisnopeuden mittaamista optisella menetelmällä lääkeaineen liuetessa liuottimeen. Erityisesti tarkoituksena on tutkia nopeasti liukenevien lääkeaineiden liukenemisnopeuden mittaamista optisella menetelmällä. Mittauskohteena on siis nesteen ja lääkeaineen muodostama suspensio, josta muodostuu lopulta nesteen ja lääkeaineen muodostama liuos. Tästä johtuen tarkastellaan liuosta ja liukenemisnopeuteen vaikuttavia tekijöitä.

#### 3.1 Liuos

Liuokseksi nimitetään kahden tai useamman aineen seosta, joka muodostuu liukenevan aineen liuetessa liuottimeen. Tavallisesti liuos on homogeeninen ja komponentit ovat jakautuneet seoksessa/liuoksessa molekyylitasolla. Liukenemisessä kiinteän aineen molekyyli tai ioni irtoaa kiinteän aineen pinnalta ja kulkeutuu diffuusiokerroksen läpi homogeeniseen liuostilaan./7/

#### 3.2 Liukenemisnopeus

Liukenevan aineen liukenemisnopeus määräytyy diffuusion mukaan. Diffuusiolla tarkoitetaan ilmiötä, jossa molekyylit tai ionit pyrkivät siirtymään väkevämmästä pitoisuudesta laimeampaan. Näin ollen pitoisuuserot tasoittuvat ajan mittaan. Diffuusio on yksittäisten molekyylien satunnaisten ja järjestäytymättömien termisten liikkeiden eli lämpöliikkeiden aiheuttamaa. Tätä ilmiötä kutsutaan myös Brownin liikkeeksi./7/

##### 3.2.1 Liukenemisen nopeusyhtälö

Liukenemiseen vaikuttavat useat asiat, joka tekee liukenemisestä monimutkaisen prosessin. Liukeneminen on kuitenkin tapahtuma, joka noudattaa nopeusyhtälöä. Nopeasti liukenevien aineiden kohdalla liukeneminen on eksponentiaalista ja liukenemisnopeus noudattaa Noyes-Whitneyn nopeusyhtälöä. Noyes-Whitneyn nopeusyhtälö on esitetty yhtälössä 3.1.

$$\frac{dm}{dt} = \frac{DA}{h} (C_s - C_t) \quad (3.1)$$

Yhtälössä 2.1  $D$  on diffuusiokerroin,  $h$  on diffuusiokerroksen paksuus,  $A$  on liukenemattoman aineen efektiivinen pinta-ala,  $C_s$  on kylläisen liuoksen pitoisuus ja  $C_t$  on liuoksen pitoisuus hetkellä  $t$ . /3,6/

### 3.2.2 Liukenemisnopeuteen vaikuttavat tekijät

Yhtälössä 3.1 esitetyt liukenemisnopeuteen vaikuttavat tekijät pyritään yleensä pitämään mahdollisimman muuttumattomina koeolosuhteissa, mutta ne eivät kuitenkaan ole vakioita. /7/

Yhtälön 3.1 diffuusiokertoimen suuruuteen vaikuttaa liuenneen aineen molekyylikoko, ki-deasu, lämpötila sekä liuottimen viskositeetti. Liukenemistapahtumaan efektiivisesti osallistuvan kiinteän aineen pinta-ala vaikuttaa liukenemisnopeuteen. Esimerkiksi tabletilla liukeneva efektiivinen pinta-ala on aluksi pieni liuottimessa, mutta kasvaa ja saavuttaa maksimiarvonsa tabletin hajotessa ja sekoittuessa liuottimeen. Tämän jälkeen efektiivinen pinta-ala pienenee jälleen liukenemisen edistyessä. Jauheella efektiivinen pinta-ala on puolestaan alussa suuri ja pienenee liukenemisen edistyessä. Jauheen efektiiviseen pinta-alaan vaikuttaa oleellisesti jauheen hiukkaskoko. /7/

Tabletin tai jauheen liukeneva pinta-ala eli efektiivinen pinta-ala on koeolosuhteista riippuva suhteellinen suure. Efektiivinen pinta-ala määräytyy liuenneita partikkeleja ympäröivän stationaarisen diffuusiokerroksen pinta-alan mukaan. Stationaarisen pinta-alan suuruuteen vaikuttaa voimakkaasti sekoitusnopeus. Koeolosuhteissa sekoitusnopeutta pyritään pitämään tasolla, joka vastaisi lääkeaineelle tyypillisiä oikeita liukenemisolosuhteita. Jauheen kokonaispinta-ala on puolestaan tarkasti fysikaalisesti määritettävissä oleva suure. /7/

Konsentraatioero  $C_s - C_t$  riippuu käytännössä tutkittavan aineen liukoisuudesta liuottimeen. Mittauksissa liuotintilavuus pyritään yleensä valitsemaan niin suureksi, että konsentraatioero pysyy koko ajan riittävällä tarkkuudella vakiona. Tämä toteutuu, jos liuoksen pitoisuus  $C_t$  kokeen lopussa on enintään 15 - 20 % kylläisen liuoksen pitoisuudesta  $C_s$ . Koe on tällöin tehty alhaisen konsentraation vallitessa ja liukenemisen nopeusyhtälö voidaan supistaa muotoon:

$$\frac{dm}{dt} = \frac{DA}{h} C_s \quad (3.2)$$

Stationaarinen diffuusiokerros ohenee sekoitusnopeuden ja liukenevan pinnan suuntaisen liuotinnestevirtauksen nopeuden kasvaessa. Konsentraatiogradientti  $(C_s - C_l) / h$  tulee tällöin suuremmaksi ja liukeneminen nopeutuu. Diffuusiokerroksen paksuus on siis kääntäen verrannollinen sekoitusnopeuteen. Merkitsemällä nyt  $D/h = k$ , saadaan liukenemisen nopeusyhtälö muotoon:

$$\frac{dm}{dt} = kAC_s \quad (3.3)$$

Yhtälössä 3.3 k on liukenemisen nopeusvakio./6,7/

## 4. VALON VAIMENEMINEN

Tässä työssä käsitellään nestemäistä monifaasisysteemiä, jonka läpi menneen valon säteilytehoa mitataan. Näytteen läpi menneen valon intensiteettiin vaikuttaa sekä sironta että absorptio. Sironta ja absorptio heikentävät näytteen läpi menneen valon intensiteettiä. Liukenemisen edistyessä myös siroavan ja absorboituvan valon osuus pienenee, kunnes näytteen läpi menneen valon intensiteetti palautuu lähtötasolle aineen liuetta. Tarkastellaan nyt valon intensiteettiin vaikuttavia ilmiöitä, joihin mittaukset perustuvat.

### 4.1 Yleistä

Absorptiota ja valon sirontaa hyödynnetään laajasti teollisuuden online-materiaalianalysoinnissa. Tässä työssä tarkasteltava liukenemisnopeusmittaus perustuu valon sironnan ja absorption hyödyntämiseen.

Ekstinktio on sähkömagneettisen aallon vaimenemista absorption ja sironnan vaikutuksesta sen läpäistessä läpäisevän materiaalin. Homogeenisessa materiaalissa vaimenemiseen vaikuttaa tyypillisesti enemmän absorptio kuin sironta./1,5/

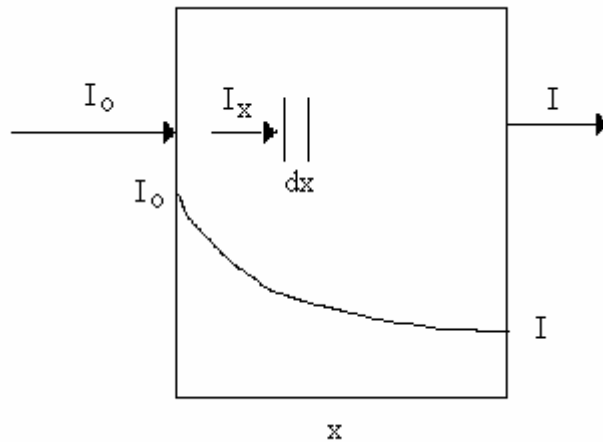
Valon sironnan avulla tutkittavat aineet ovat yleensä nestemäisiä tai kaasumaisia. Erilaiset partikkelit aiheuttavat kyseisissä monifaasisysteemeissä sirontaa. Jos aine on valoa absorboivaa, aiheuttavat partikkelit myös voimakasta absorptiota, koska optinen matka kasvaa sironnojen seurauksena./1/

### 4.2 Valon kulku läpäisevän materiaalin yhteydessä

Tarkastellaan valon kulkua läpäisevän materiaalin tapauksessa. Tarkastelussa ei ole huomioitu heijastusta pinnoilla, vaan tarkastelun kohteena on ainoastaan materiaalin sisäinen vaimeneminen. Merkitään tulevan valon intensiteettiä  $I$ :llä. Kohdatessaan materiaalin tulevan valon intensiteetti jakautuu kolmeen osaan kaavan 4.1 mukaisesti.

$$I = R + A_{bs} + T \quad (4.1)$$

Yhtälössä 4.1  $R$  on reflektanssi eli heijastunut osuus.  $A_{bs}$  on absorptanssi eli absorboitunut osuus ja  $T$  on transmittanssi eli näytteen läpi mennyt osuus. Nyt  $A_{bs}$ ,  $R$ , ja  $T$  ovat suhteellisia osuuksia väliltä  $0 - 1$ . Kuvassa 4.1 on tarkasteltu valon kulkua läpäisevän materiaalin tapauksessa. /5/



Kuva 4.1 Valon kulku läpäisevän materiaalin läpi./5/

Otetaan tarkasteluun  $dx$ :n paksuinen kerros. Kerrosta kohti intensiteetti pienenee kaavan 4.2 mukaisesti.

$$dI = -\mu I_x dx \quad (4.2)$$

Yhtälössä 4.2  $\mu$  on materiaalin absorptiokerroin ja  $I_x$  on kerrokseen tuleva intensiteetti. Absorptiokertoimen yksikköinä käytetään  $[\mu] = \text{m}^{-1}$ ,  $\text{cm}^{-1}$  tai  $\text{mm}^{-1}$ . Tällöin saadaan integroimalla 0:sta  $x$ :ään kaavan 4.3 mukainen yhtälö.

$$I = I_0 e^{-\mu x} \quad (4.3)$$

Yhtälössä 4.3  $I$  on läpi menneen valon intensiteetti,  $I_0$  on tulevan valon intensiteetti,  $x$  on kappaleen leveys ja  $\mu$  on kappaleen lineaarinen absorptiokerroin. Tätä yhtälöä kutsutaan Beer-Lambertin laiksi. Yhtälöstä 4.3 havaitaan, että valo vaimenee eksponentiaalisesti materiaalin sisällä. Laboratorio-oloissa silloin kun tutkimus perustuu absorptioon, sironnan vaikutus säteilyn siirtoon voidaan eliminoida lähes täysin, jolloin yhtälö 4.3 on voimassa valon vaimenemiselle./5/



Monifaasisysteemeissä kuitenkin sironnan vaikutus pitää ottaa huomioon. Tällöin absorptio kertoimeen vaikuttaa sekä sironna että absorptio. Absorptiokertoimelle voidaan nyt kirjoittaa kaavan 4.4 mukainen yhtälö.

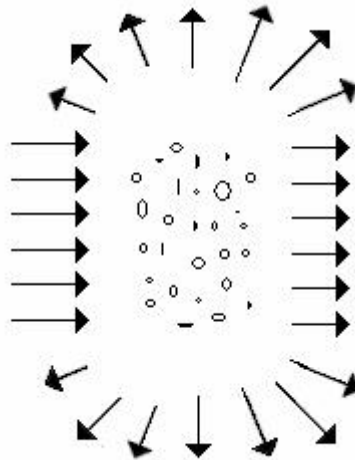
$$\mu = \mu_{\text{abs}} + \mu_{\text{sir}} \quad (4.4)$$

Yhtälössä 4.4  $\mu_{\text{abs}}$  on absorptiosta johtuva vaimennus ja  $\mu_{\text{sir}}$  on sironnasta aiheutuva vaimennus. Eli vaimennukseen vaikuttaa sekä absorptio että sironna. Näytteen läpi menneen valon läpäisyksi eli transmittanssiksi saadaan tällöin./1,5/

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (4.5)$$

### 4.3 Aaltoliikkeen sironna

Sironna on aaltoliikkeen ja aineen vuorovaikutusta, jossa aaltoliike luovuttaa energiaa aineelle, joka puolestaan lähettää energian samanlaisena aaltoliikkeenä eteenpäin yleensä erisuuntaan kuin mitä alkuperäinen aalto eteni. Sironnaa esiintyy lähinnä silloin, kun sironnaan vaikuttavat makroskooppiset hiukkaset, joiden koko on valon aallonpituuden suuruusluokkaa tai sitä suurempi. Kuvassa 4.2 on esitetty periaatekuva valon sironnasta satunnaisesta hiukkasjoukosta. /1/



Kuva 4.2 valonsironna hiukkasjoukosta /1/

Sironnan voidaan katsoa olevan taustamekanismina myös heijastumisessa ja taitumisessa. Edellä mainituissa ilmiöissä sironta tapahtuu kuitenkin erityisen yhtenäisellä tavalla. Yleensä valon sironnasta puhuttaessa kuitenkin tarkoitetaan yksittäisistä hiukkasista satunnaisiin suuntiin tapahtuvaa sirontaa./1/

Valonsironnan voimakkuus riippuu sirottavien hiukkasten koosta sekä siroavan valon aallonpituudesta. Kun hiukkaset ovat hyvin pieniä, aallonpituuden kymmenesosan luokkaa tai vielä pienempiä, hiukkasten muodolla ei ole enää väliä. Valo siroaa hiukkasista tällöin kaikkiin suuntiin lähes yhtä paljon. Kun hiukkasten koko kasvaa, eri suuntiin sironneen valon kulmariippuvuus tulee suuremmaksi. Hiukkasten koon ollessa aallonpituuden luokkaa myös hiukkasten muoto vaikuttaa sirontaan. /1/

Hiukkasten aiheuttaman sironnan teoreettinen käsittely riippuu hiukkaskokoalueesta seuraavalla tavalla. Pallomaisten makroskooppisten hiukkasten aiheuttamaa elastista sirontaa kutsutaan Mie-sironnaksi. Mie-sironnassa hiukkasten koko on valon aallonpituuden luokkaa tai sitä suurempaa. Kun sironta on mikroskooppisten hiukkasten, kuten atomien ja molekyylien aiheuttamaa, sitä kutsutaan Rayleigh-sironnaksi. Näistä makroskooppisten hiukkasten aiheuttama sironta on huomattavasti voimakkaampaa kuin mikroskooppisten hiukkasten aiheuttama sironta. /1/

#### **4.4 Absorptio**

Sameassa tai sakeassa aineessa etenevä valo vaimenee voimakkaasti. Tämä vaimeneminen aiheutuu absorptiosta ja sironnasta. Absorptiossa fotonit absorboituvat valoa osittain läpäiseviin aineisiin, eli fotonin energia siirtyy esimerkiksi aineen atomien elektroneille. Tällöin atomin valenssielektroni siirtyy korkeampaan energiatilaan. Fotoni häviää tässä prosessissa. Absorptiota hallitsee energian säilymlaki. Absorboitunut energia voi emittoitua uudelleen tai muuttua lämpöenergiaksi. Absorptio ei ole rajoittunut vain näkyvään valoon, vaan myös kaikki muut sähkömagneettisen säteilyn aallonpituudet voivat absorboitua aineeseen./1/

Jos kappaleen läpi menneen valon intensiteetin vaimenemiseen vaikuttaa ainoastaan absorptio saadaan absorptanssille kaavan 4.6 mukainen yhtälö.

$$A_{bs} = \log_{10} \frac{I_0}{I} = \frac{\mu x}{2.303} \quad (4.6)$$

Luonnollisen logaritmin avulla lausuttuna saadaan kaavan 4.7 mukainen lauseke.

$$A_{bs} = \ln \frac{I_0}{I} = \mu x \quad (4.7)$$

Tällöin eksponenttimuodossa saadaan

$$\frac{I_0}{I} = e^{\mu x} \quad (4.8)$$

Ainoastaan laboratorio-olosuhteissa voidaan päästä tilanteeseen, jossa käytännössä valon vaimenemiseen vaikuttaa ainoastaan absorptio. Yleensä valon vaimenemiseen siis vaikuttaa sekä absorptio että sironta./5/

## 5. MITTAUSJÄRJESTELY

### 5.1 Mittauksissa käytetty laitteisto

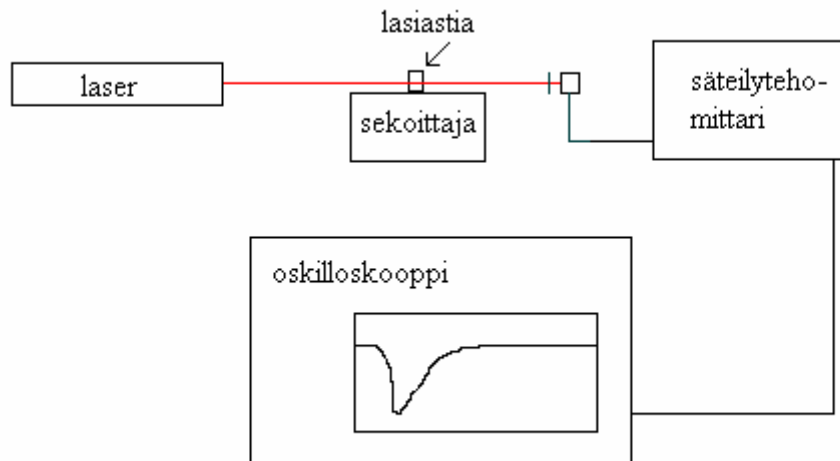
Tässä työssä liukenemisnopeuden mittaamiseen optisella menetelmällä käytetty mittausjärjestely koostuu He-Ne-laserista (Uniphase), magneettisesta sekoittajasta (Heidolph MR 3001), säteilytehomittarista (LaserMate-Q), oskilloskoopista (Tektronix TDS 3052B) sekä lasisesta yhden desilitran näyteastiasta, jonka halkaisija oli 4,5cm. Kuvassa 5.1 on mittauksissa käytetty laitteisto.



Kuva 5.1 Mittauslaitteisto

Mittauksissa käytettiin valonlähteenä HeNe-laseria, jonka tuottaman lasersäteen aallonpituus oli 633nm ja valoteho 6mW. HeNe-laserilta saatava lasersäde ohjattiin näyteastian läpi kuvan 5.2 mukaisesti. Näytteen läpi menneen valon säteilytehoa mitattiin säteilytehomittarin avulla.

Säteilytehomittarilta saatiin ulostulona jännite, joka vaihteli ulostulevassa signaalissa välillä 0 – 1 V. Oskilloskoopilla tallennettiin tehomittarilta ulostuleva signaali, jolloin mittaus tuloksena saatiin lopulta jännitteen funktio ajan suhteen. Kuvassa 5.2 on mittausjärjestelyn periaatekuva.



Kuva 5.2 Mittauksissa käytetyn järjestelmän mittausjärjestelyn periaatekuva

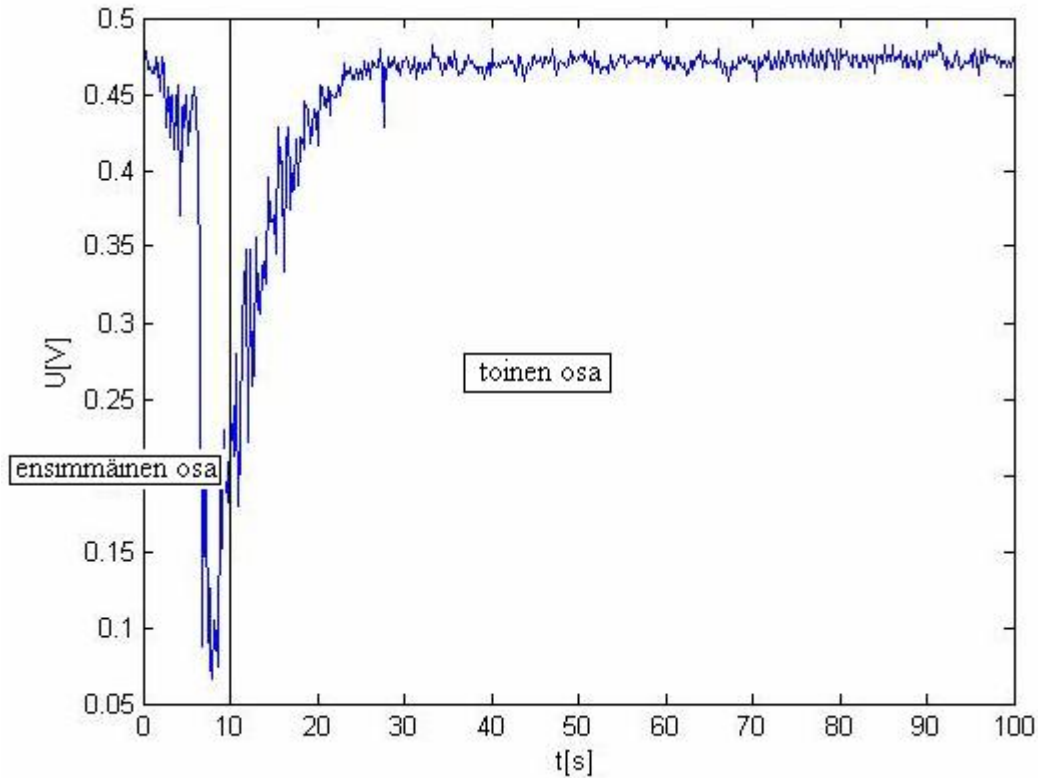
Mittauksissa käytettiin magneettisekoittajaa, jotta mitattava näyte ei painuisi näyteastian pohjalle. Magneettisen sekoittajan avulla näyte saatiin sekoittumaan koko näyteastian tilavuuteen. Näin ollen mittaukset suoritettiin nk. alhaisen konsentraation olosuhteissa. Magneettisekoittajan sekoitusnopeus valittiin siten, että mitattavaa ainetta ei päässyt laskeutumaan näyteastian pohjalle. Sekoitusnopeudeksi valittiin näin ollen 300 r/min. Magneettisekoittajan sekoittavan magneetin pituus oli 2,5cm ja halkaisija 0,6cm.

Nestepatsaan korkeus lasiastiassa oli 5,7cm. Laser-säteen korkeudeksi valittiin 1,4 cm lasiastian pohjalta. Tällöin liukenemiskuvaajasta saadaan selkeä. Voidaan myös olettaa, että intensiteetin minimikohdan jälkeen liuoksessa oleva lääkeainenäyte on tällöin levinnyt tasaisesti koko liuos tilavuuteen. Tällöin liukenemista voidaan seurata reaaliajassa intensiteetin kasvun mukaan.

## 5.2 Liukenemiskuvaaja

Mittaustuloksena saatava käyrä voidaan jakaa tarkasteltaessa kahteen osaan. Osaan, jossa näyte leviää liuottimena olevaan nesteeseen, sekä osaan jossa lääkeaine on sekoittuneena koko liuotin tilavuuteen (100ml).

Ensimmäinen osa alkaa ajan hetkellä nolla, kun näyte pudotetaan näyteastiaan. Magneettisekoittaja sekoitti näytteen koko neste tilavuuteen, jolloin näyte havaittiin laser-säteen avulla. Kuvassa 5.3 on mittaustuloksena saatava käyrä, johon on merkattu tarkastelualueet.



Kuva 5.3 mittaustuloksena saatava käyrä, jossa tarkastelu alueet merkattu

Toinen osa alkaa, kun mitattava aine on levinnyt näyteastiaan. Tämän jälkeen liukenemista pystytään seuraamaan reaaliajassa, kunnes näyte on kokonaan liuennut. Toiseen osaan pyritään sovittamaan liukenemista kuvaava käyrä, jolle saadaan liukenemista kuvaava yhtälö.

### 5.3 Mittaustulosten käsittely

Mittaustulosten käsittelyllä pyrittiin sovittamaan mittaustuloksiin sopiva käyrä, joka kuvaa liukenemista. Käyrän yhtälön avulla pyrittiin laskemaan lääkeaineen liukenemisaika. Mitattujen lääkeaineiden mittaustuloksena saadut käyrät olivat joko lineaarisia tai eksponentiaalisia.

### 5.3.1 Nollannen kertaluvun kinetiikka

Kun liukenemiskokeen kuvaaja on lineaarinen, noudattaa liukeneminen silloin nollannen kertaluvun kinetiikkaa. Tällöin saadaan määritettyä liukenemisen nopeusvakio määrittämällä saatavan suoran kulmakerroin. Nollannen kertaluvun liukenemiselle on voimassa kaavan 5.1 mukainen yhtälö.

$$\frac{dm}{dt} = k_0 \quad (5.1)$$

Yhtälössä 5.1  $dm / dt$  on liukenemisnopeus eli liuenut lääkeainemäärä / aika ja  $k_0$  on nollannen kertaluvun liukenemisen nopeusvakio.

### 5.3.2 Ensimmäisen kertaluvun kinetiikka

Kun liukenemiskokeen kuvaaja on eksponentiaalinen, noudattaa liukeneminen silloin ensimmäisen kertaluokan kinetiikkaa. Mittaustulosten sopivuutta ensimmäisen kertaluvun kineettiseen malliin voidaan testata esittämällä liukenemattoman ainemäärän  $m_t$  logaritmi ajan funktiona. Jos pisteet osuvat samalle suoralle, on suoran kulmakerroin liukenemisen nopeusvakio  $k$ .

$$\ln m_t = \ln m_0 - kt \quad (5.2)$$

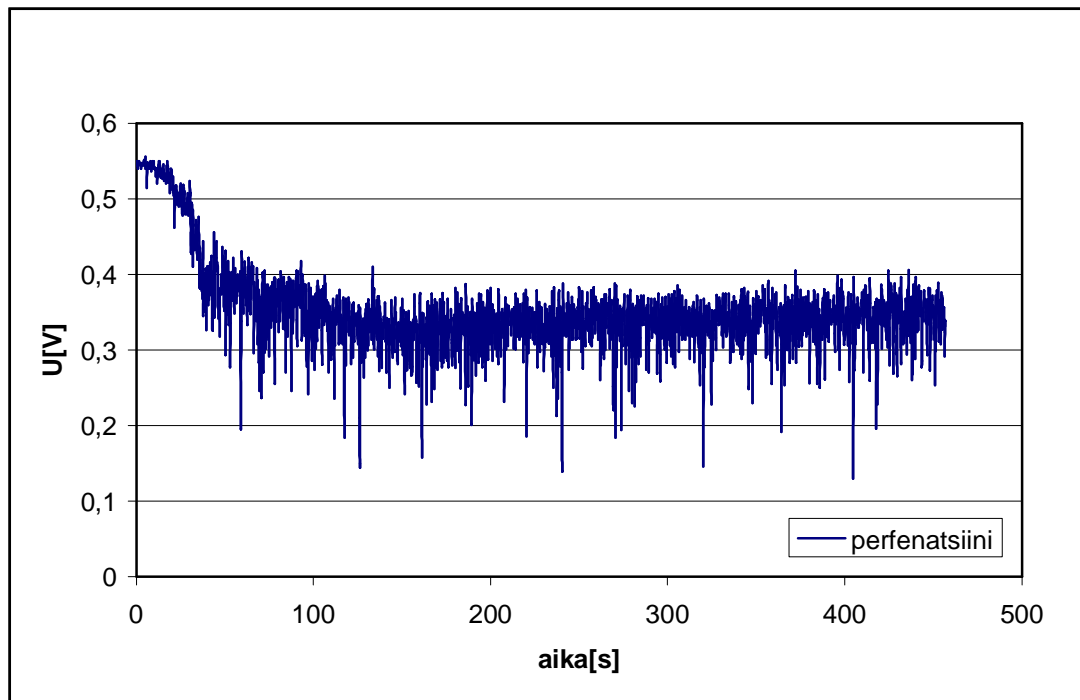
Kaavasta 5.2 saadaan eksponenttimuodossa edelleen liukenemisnopeudelle yhtälö.

$$m_t = m_0 e^{-kt} \quad (5.3)$$

Kaavoissa 5.2 ja 5.3  $m_t$  on liukenematon ainemäärä hetkellä  $t$  ja  $m_0$  on liukenematon ainemäärä ajan hetkellä nolla. Lääkeaineiden liukenemiskokeissa voidaan usein odottaa tulosten noudattavan 1. kertaluvun kinetiikkaa.

### 5.3.3 Lineaarisen kuvaajan käsittely

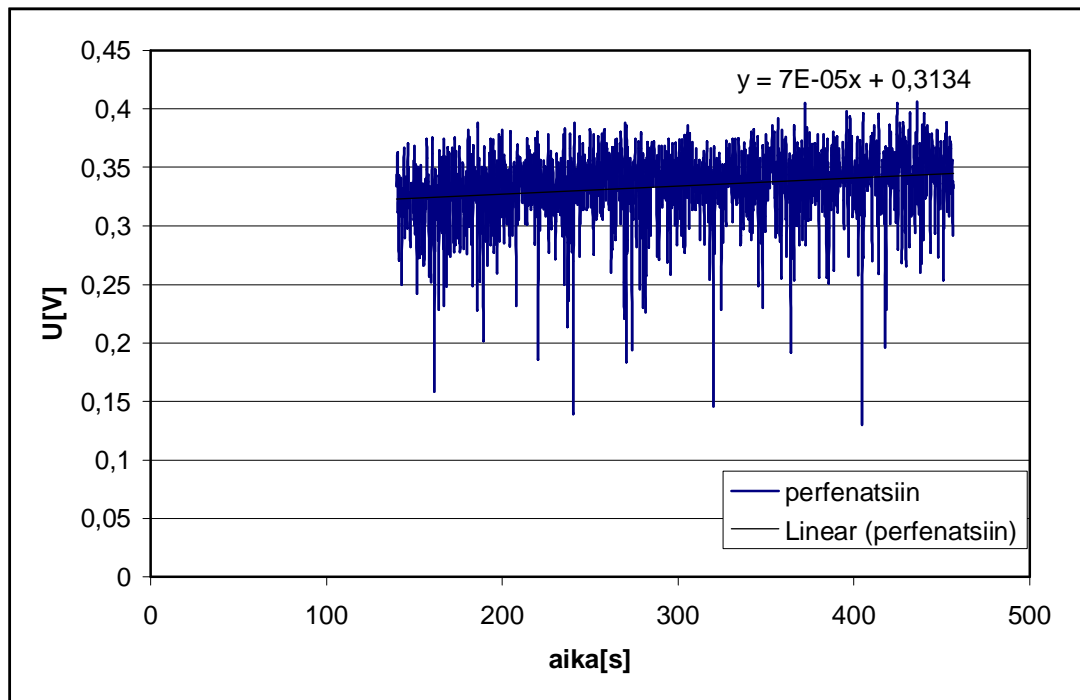
Hitaasti liukenevalla perfenatsiinilla liukeneminen veteen oli lineaarista. Lineariselle liukenemiselle on voimassa yhtälö 5.1. Mittaustuloksena saatiin kuvan 5.4 mukainen käyrä. Mittauspisteisiin pyrittiin sovittamaan käyrä, jonka yhtälö kuvaa liukenemista.



Kuva 5.4 Perfenatsiinin mittauskäyrä

Mittaustuloksena saadusta käyrästä poistettiin alkuosa, joka ei kuvaa liukenemista. Tällöin voitiin sovittaa käyrän jäljelle jäävään osaan lineaarinen suora. Kuvassa 5.5 on mittausdatan lineaariseen osaan sovitettu lineaarinen käyrä.





Kuva 5.5 Mittausdataan sovitettu lineaarinen käyrä.

Sovitetun käyrän yhtälöksi saadaan nyt.  $y = 7 \cdot 10^{-5}x + 0,3134$ . Sovitetun käyrän y-akselin leikkauskohdasta saadaan kohta, jossa ainetta ei ole liennut vielä ollenkaan liuokseen. Muunnetaan mittauspisteiden y-akselin arvot siten, että y-akselille saadaan vaimeneminen prosentteina  $(0,3134 - 0,55) (0 - 100\%)$  Muunnos tapahtuu kaavan 5.5 mukaisesti.

$$y[\%] = \frac{y - y_0}{y_{\max} - y_0} \cdot 100\% \quad (5.5)$$

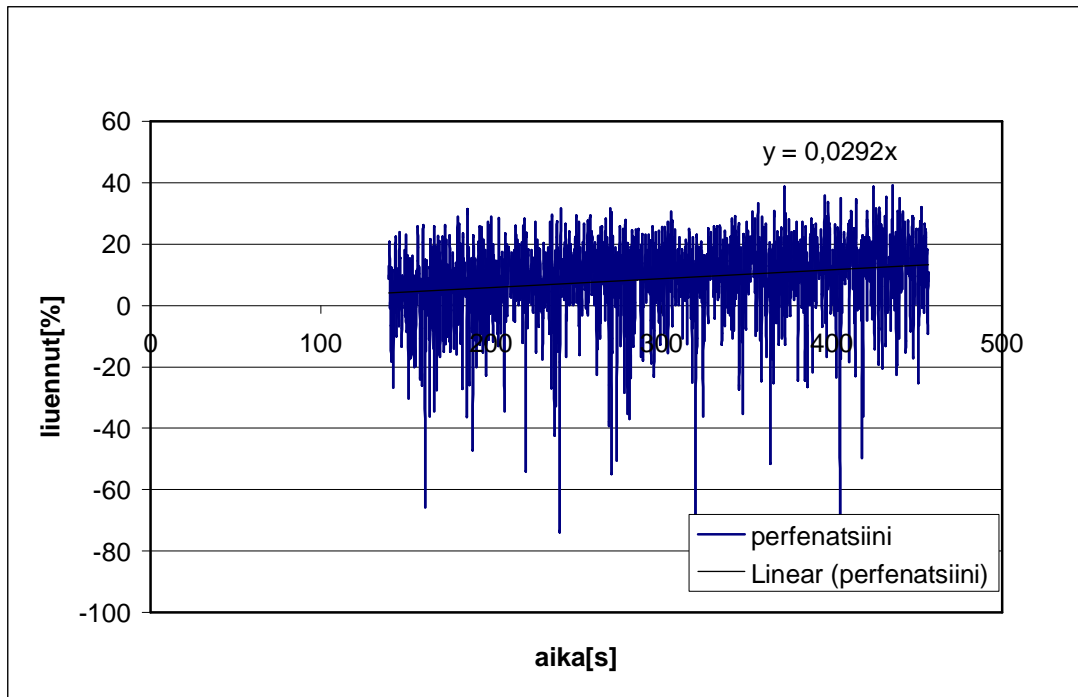
Eli tässä tapauksessa

$$y[\%] = \frac{y - 0,3134}{0,55 - 0,3134} \cdot 100\% \quad (5.6)$$

Yhtälössä 5.6  $y$  on y-akselin arvo ajan hetkellä  $x$ ,  $y_{\max}$  on lähtötaso ja  $y_0$  on y-akselin arvo ajan hetkellä 0. Akselin muunnoksen jälkeen saadaan sovitettua mittauspisteisiin käyrä, josta nähdään liukeneminen prosenteissa. Lineariselle liukenemiselle on voimassa yhtälö 5.1. Nyt integroimalla saadaan

$$m_t = k_0 t \quad (5.7)$$

Yhtälössä 5.7  $m_t$  on liennut ainemäärä hetkellä  $t$ . Nyt voidaan suoran kulmakertoimen  $k$  avulla laskea liennut ainemäärä prosentteina tietyllä ajan hetkellä kaavan 5.7 mukaisesti. Kuvassa 5.6 on skaalattu käyrä.



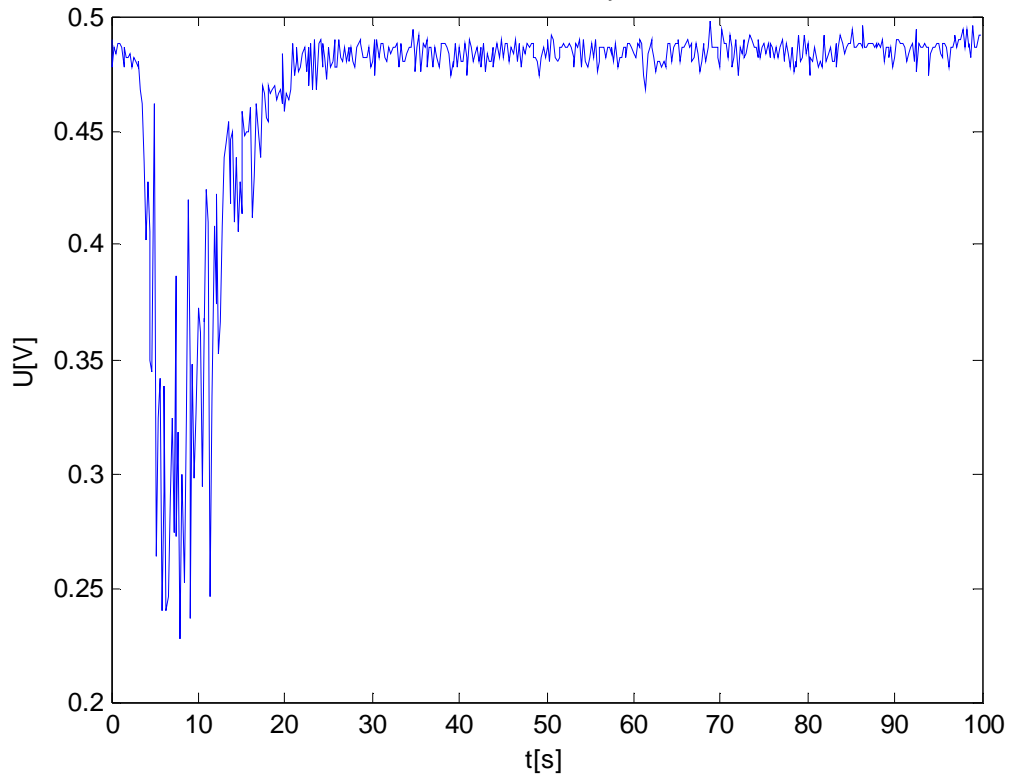
Kuva 5.6 Skaalattu mittaussignaali.

### 5.3.4 Eksponentiaalisen kuvaajan käsittely

Nopeasti liukenevilla aineilla liukeneminen on eksponentiaalista ja noudattaa yhtälöä 5.8.

$$m_t = m_0 e^{-kt} \quad (5.8)$$

Mittaustuloksena saatuun käyrään sovitettiin käyrä, joka kuvaa liukenemista. Näin saadun käyrän yhtälöstä saatiin liukenemisen nopeusvakiolle  $k$  arvo. Kuvassa 5.6 mittaustuloksena saatava käyrä.

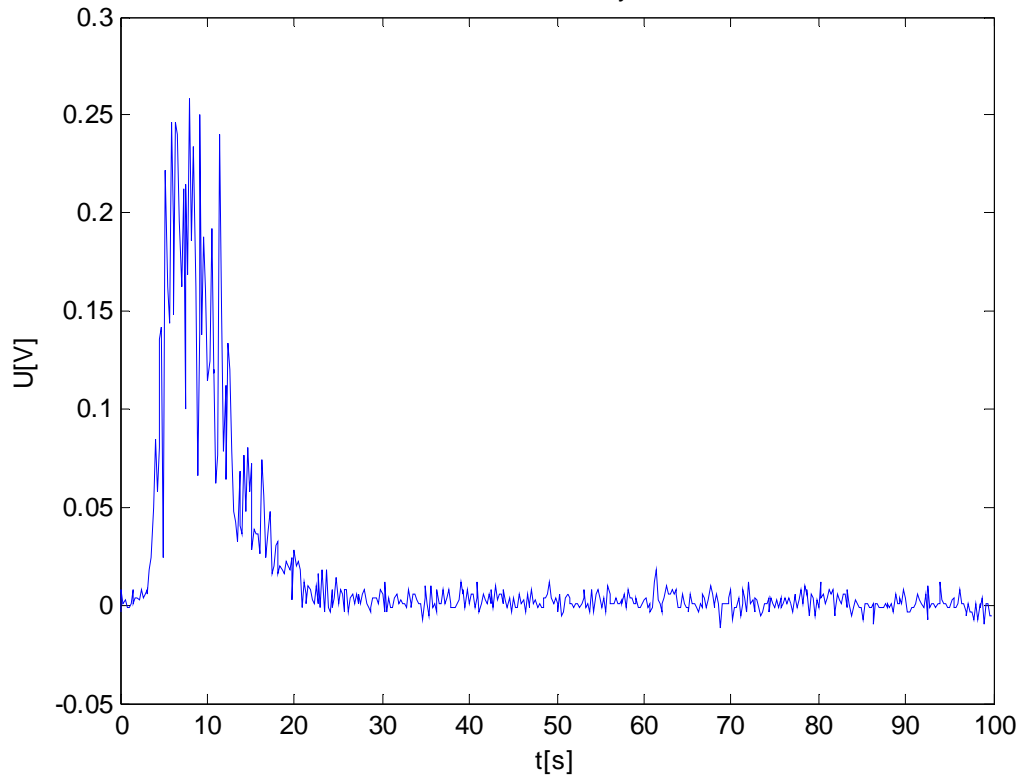


Kuva 5.7 Mittaustuloksena saatava mittauspisteiden mukaan piirretty käyrä.

Liukenumista kuvaavan käyrän sovittamiseksi mittauspisteisiin käännettiin mittauspisteiden muodostama käyrä ylösalaisin. Nollatasoksi otettiin mittaussignaalin lähtötaso. Eli mittauspisteiden muuntaminen tapahtui kaavan 5.9 mukaan.

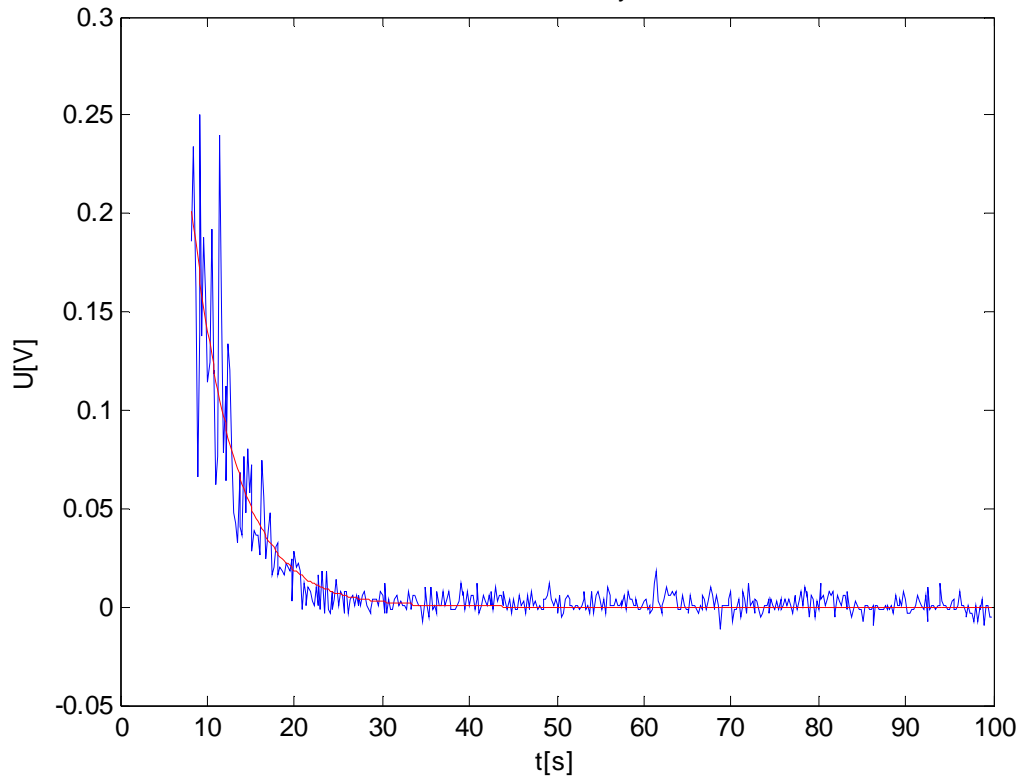
$$y = (y - y_{\max}) \cdot (-1) \quad (5.9)$$

Ylösalaisin käännetty käyrä on esitetty kuvassa 5.8.



Kuva 5.8 Ylösalaisin käännetty käyrä

Käyrän sovittamiseksi mittauspisteiden muodostamaan käyrään poistettiin käyrästä alkuosa, joka ei kuvaa lääkeaineen liukenemista. Tällöin voitiin Matlab-ohjelman avulla sovittaa mittauspisteisiin käyrä, joka on yhtälössä 5.10 esitettyä muotoa. Kuvassa 5.9 on esitetty mittaustuloksena saatava käyrä ja siihen Matlab-ohjelman avulla sovitettu käyrä. Käyrän sovittukseen käytettiin Matlab:in eksponentti funktion sovittukseen löytyvää fitcurvede-moa.



Kuva 5.9 Mittausdataan sovitettu käyrä

Sovitetun käyrän yhtälö on yhtälössä 5.10 esitettyä muotoa.

$$y = Ae^{-kx} \quad (5.10)$$

Sovitetun käyrän  $k$ -arvon avulla voidaan nyt määrittää liukenemisaika  $t$ . Yhtälöstä 5.8 saadaan määritettyä liukenevan aineen liukenemisaika ratkaisemalla yhtälöstä liukenemisaika  $t$ , jolloin saadaan kaavan 5.11 mukainen yhtälö.

$$t = \frac{\ln(m_t / m_0)}{k} \quad (5.11)$$

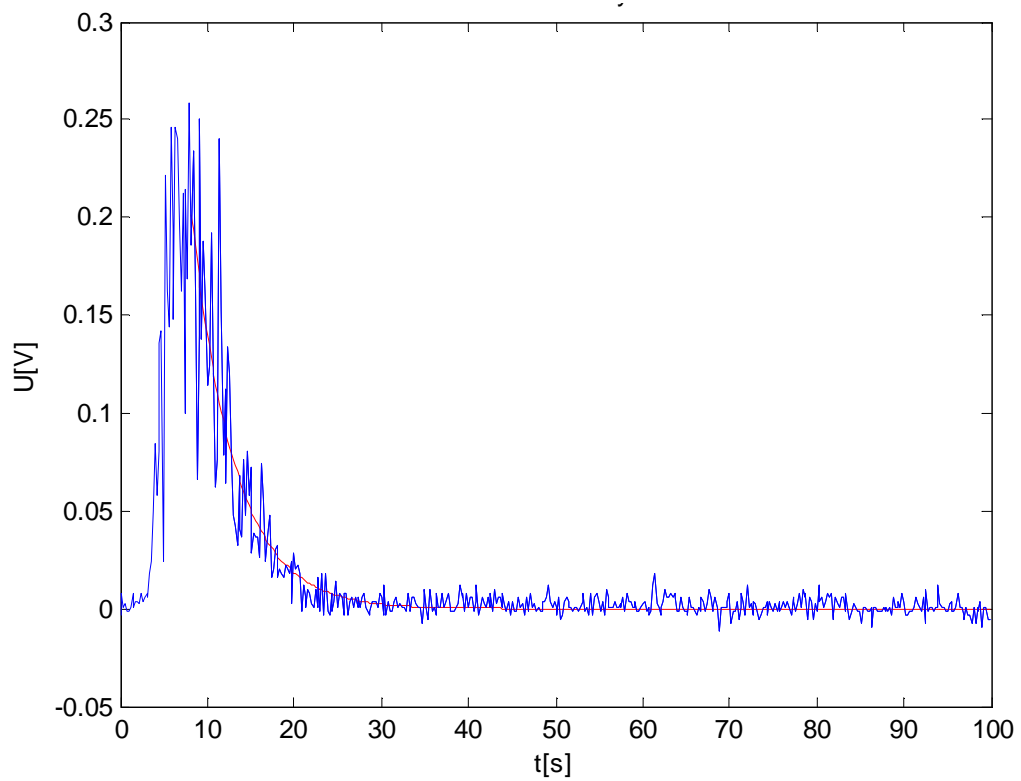
Yhtälössä hetkellinen ainemäärä  $m_t$  on tietty prosenttiosuus hetkellä nolla olevasta  $m_0$ :sta joten laskettaessa suhteellisia osuuksia  $m_t / m_0$  saa arvoja nollan ja ykkösen väliltä. Merkitään  $(m_t / m_0) = p$  jolloin saadaan kaavan 5.12 mukainen yhtälö.

$$t = \frac{\ln(p)}{k} \quad (5.12)$$

Nyt siis voidaan laskea liukenemisaika tietylle määrälle lääkeainetta. Esim. 90% prosentin liuettua saadaan.

$$t = \frac{\ln(0,1)}{k} \quad (5.13)$$

Kuvassa 5.10 Koko mittausdata ja sen toiseen osaan sovitettu käyrä.



Kuva 5.10 Koko mittausdata ja siihen sovitettu käyrä

## **6. MITTAUKSET**

Tässä kappaleessa käsitellään mittauksissa saatuja mittaustuloksia ja mittauksissa havaittuja asioita. Mittauksia tehtiin Kuopiossa ja Lappeenrannassa.

### **6.1 Mittauksissa käytetyt aineet**

Mittausjärjestelyä kehitettäessä alussa testaukseen käytettiin alfa-, beeta- ja gammasyklodekstriiniä. Myöhemmässä vaiheessa, mittausjärjestelyn jo saatua tämän työn kannalta lopullisen kokoonpanonsa, testattiin sitä propranololi-, kofeiini- ja perfenatsiinilääkeaineilla. Järjestelmää testattiin myös perfenatsiinipolymeeri kiinteillä dispersioilla. Kofeiinilla ja propranololilla tehtiin kokeet, joissa seurattiin liukenemistä samaan aikaan myös perinteisellä näytteenottomenetelmällä (15s välein). Tuloksia verrattiin otettujen näytteiden kemiallisen analysoinnin avulla saataviin tuloksiin. Pääkoesarjana mitattiin 32 kokeen 3 mittauksen sarja kofeiinilla ja propranololilla. Liitteessä 1 on taulukko 32 kokeen 3 mittauksen mittausolosuhteista ja mittaustuloksista, sekä taulukko muilla keskeisillä aineilla suoritetuista mittauksista.

Alussa järjestelmän testaamisessa liuotinnesteenä mittauksissa käytettiin vettä. Myöhemmässä vaiheessa liuotinnesteenä käytettiin tislattua vettä sekä tislattuun veteen tehtyjä puskuriliuoksia: fosfaattipuskuri pH 6.8 ja 0,1NHCl puskuri pH 1.2. Puskurit valmistettiin tislattuun veteen 1M NaOH:sta ja  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ :sta ja 39 % HCl:sta. Myös liuoksen lämpötilaa vaihdeltiin (+25/+37).

### **6.2 Mittausten toistettavuus ja annoskoon vaikutus**

Kokeessa mitattiin propranololin liukenemisnopeutta pH 6.8 fosfaattipuskuriin. Mittaustuloksena saatuihin käyriin sovitettiin funktio ja laskettiin liukenemisen nopeusvakion arvo, edellä kuvatulla tavalla. Taulukossa 1 on mittaustuloksista saadut nopeusvakion arvot, sekä niiden avulla lasketut liukenemiseen kuluneet ajat liukenemisen eri vaiheissa. Näissä mittauksissa liukenevan lääkeaineen annoskokona oli 50mg.

Taulukko 1 Propranolille mitatut nopeusvakion arvot ja liukenemisajat.

annoskoko: 50mg		liukenemiseen kulunut aika			
mittaus	$k[s^{-1}]$	t[s] 50%	T[s] 80%	t[s] 95%	t[s] 99%
1	-0,320	2,17	5,03	9,37	14,40
2	-0,284	2,44	5,66	10,54	16,20
3	-0,280	2,47	5,74	10,69	16,43
4	-0,278	2,49	5,78	10,76	16,55
5	-0,326	2,13	4,94	9,20	14,14
6	-0,280	2,48	5,76	10,71	16,47
7	-0,295	2,35	5,46	10,17	15,64
8	-0,298	2,33	5,40	10,06	15,46
9	-0,274	2,53	5,88	10,94	16,82
10	-0,263	2,64	6,13	11,40	17,53
keskiarvo	-0,29	2,39	5,56	10,34	15,90
keskihajonta	0,019	0,152	0,352	0,656	1,008

Taulukosta 1 havaitaan, että liukenemisen nopeusvakioille laskettu keskihajonta on kohtuullisen alhainen ja 99 % liukoisuusarvoon aiheutuu vain  $\pm 1$  sekunnin epävarmuus. Keskihajonnasta voidaan päätellä, että mittaukset ovat suhteellisen hyvin toistettavissa.

Taulukossa 2 on esitetty kokeen tulokset 100 mg:n annoksella mitattuna. Taulukosta nähdään, että liukenemisen nopeusvakion  $k$  keskiarvo pysyi samana kuin 50 mg:n annoksella. Liukeneminen oli siis eksponentiaalista ja annoskoon muuttaminen ei vaikuttanut liukenemisaikaan merkittävästi, jos liukenemisen olosuhteet muuten pysyivät muuttumattomina. Näin ollen voidaan olettaa, että mittaus tapahtui vielä 100 mg:n annoksellakin alhaisen konsentraation olosuhteissa.

Taulukko 2 Propranolin liukenemisajat 100 mg

annoskoko: 100mg		liukenemiseen kulunut aika			
mittaus	$k[s^{-1}]$	t[s] 50%	t[s] 80%	t[s] 95%	t[s] 99%
1	-0,255	2,72	6,32	11,76	18,07
2	-0,349	1,98	4,61	8,58	13,19
3	-0,289	2,40	5,57	10,37	15,94
4	-0,272	2,55	5,91	11,01	16,92
5	-0,273	2,54	5,89	10,97	16,86
keskiarvo	-0,29	2,41	5,59	10,41	16,01
keskihajonta	0,033	0,248	0,576	1,073	1,649

Taulukoista 1 ja 2 havaitaan, että liukenemisen nopeusvakion keskiarvoksi saatiin eri koisilla annoksilla mitattuna sama arvo  $-0,29s^{-1}$ . Taulukoita 1 ja 2 vertaamalla havaitaan,



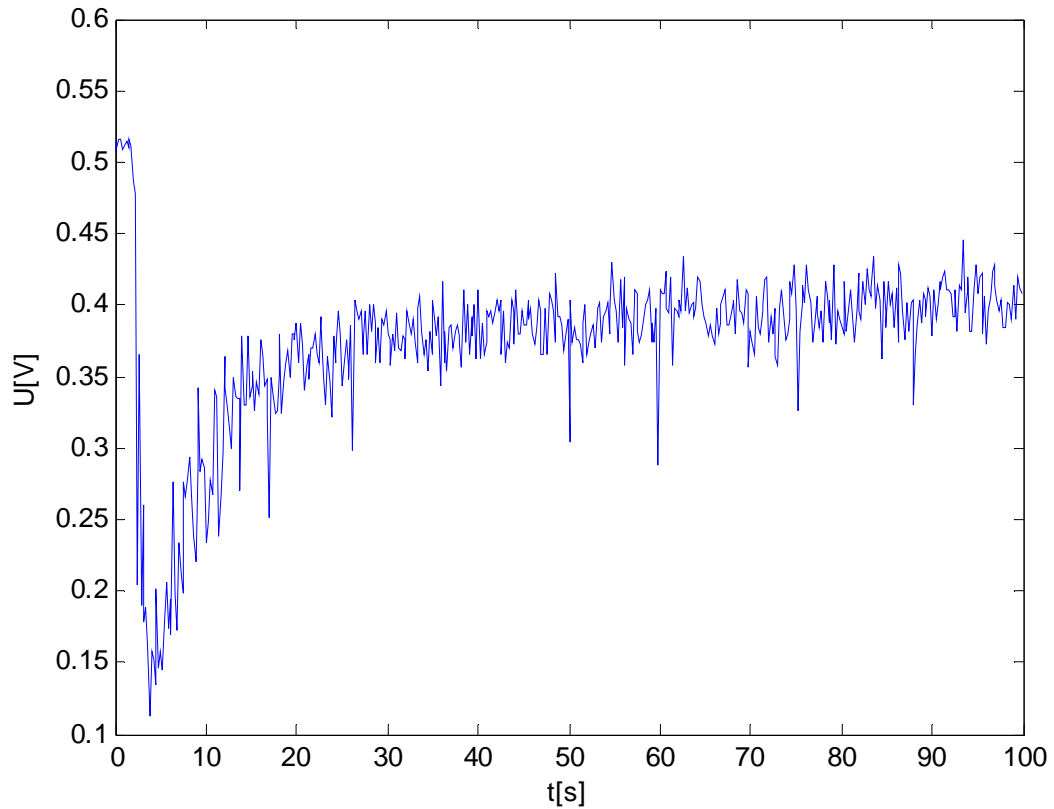
että 100 mg:n annoksella nopeusvakioiden keskihajonta on suurempi. Kuitenkin 100mg:n annoksella tehtyjen mittausten tuloksena saatavien nopeusvakioiden keskihajonta on vielä kohtuullisen pientä. Keskihajonta 99 %:n liuettua on vain puolitoista sekuntia.

### **6.3 Liukenemisen mittaamista häiritsevät apuaineet**

Lääkkeissä käytetään apuaineita varsinaisen vaikuttavan aineen lisäksi. Apuaineita käytetään sideaineina, täyteaineina, hajotusaineina ja parantamaan liukenemistä. Lisäksi lääkkeet sisältävät aromi-, väri- makeutus ja säilytysaineita. Mittausjärjestelyä haluttiin tästä syystä testata myös yhdistelmällä, jossa on mukana liukenematonta apuainetta.

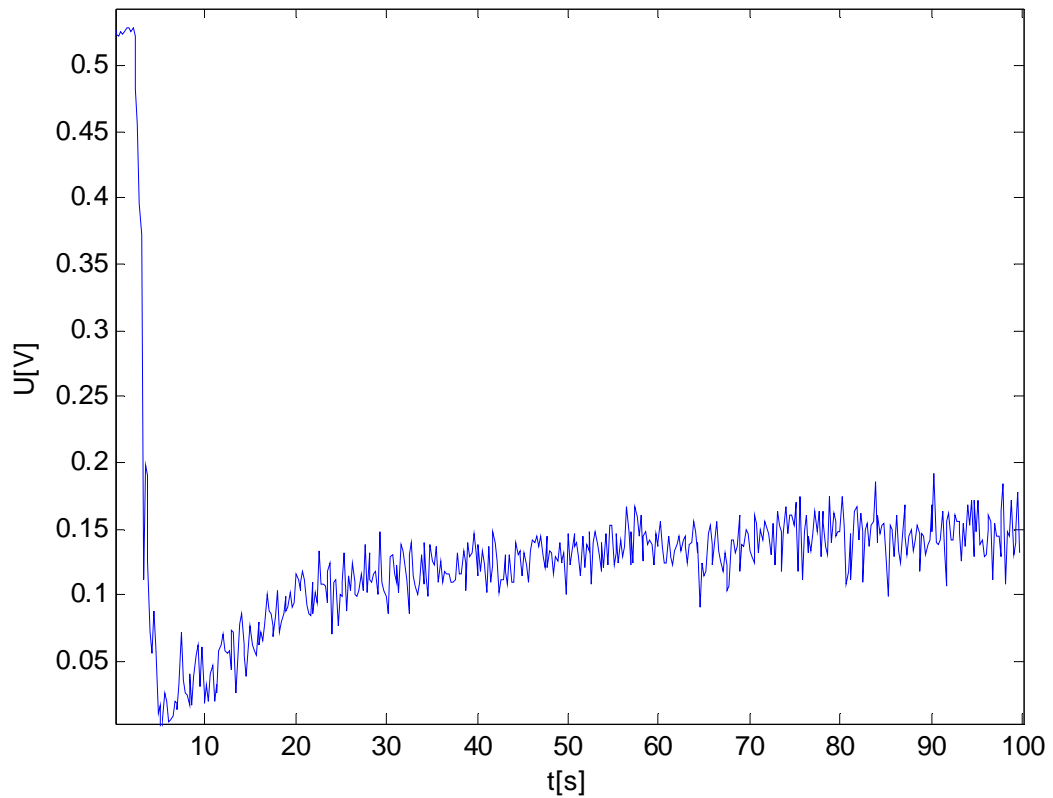
Tarkoituksena oli käyttää tablettiapuaaine tärkkelysasettaattia, mutta mittaukset epäonnistui-  
vat, koska liukenemattoman aineen vaikutuksesta näytteen läpi menneen valon intensiteetti putosi nolnaan. Kokeissa apuaineena käytettiin tärkkelysasettaatin sijasta veteen niukka liu-  
koista perfenatsiinia, joka on lääkeaine eikä apuaine, mutta soveltui mittauksiin hyvin.

Häiritsevän lääkeaineen vaikutusta mittaukseen testattiin kolmella eri lääkeaineiden suh-  
teella. Häiritsevänä lääkeaineena käytettiin siis perfenatsiinia ja liukenevana propranolia.  
Näistä vain liuotettaessa perfenatsiinia ja propranolia veteen suhteella 20/80 näkyy prop-  
ranolilääkeaineen liukeneminen selvästi. Liukenemisnopeudelle voidaan tässä tapauksessa  
määrittää liukenemisen nopeusvakio ja laskea liukenemisaika. Kuvassa 6.1 on edellä mai-  
nitulla suhteella mitattukäyrä.



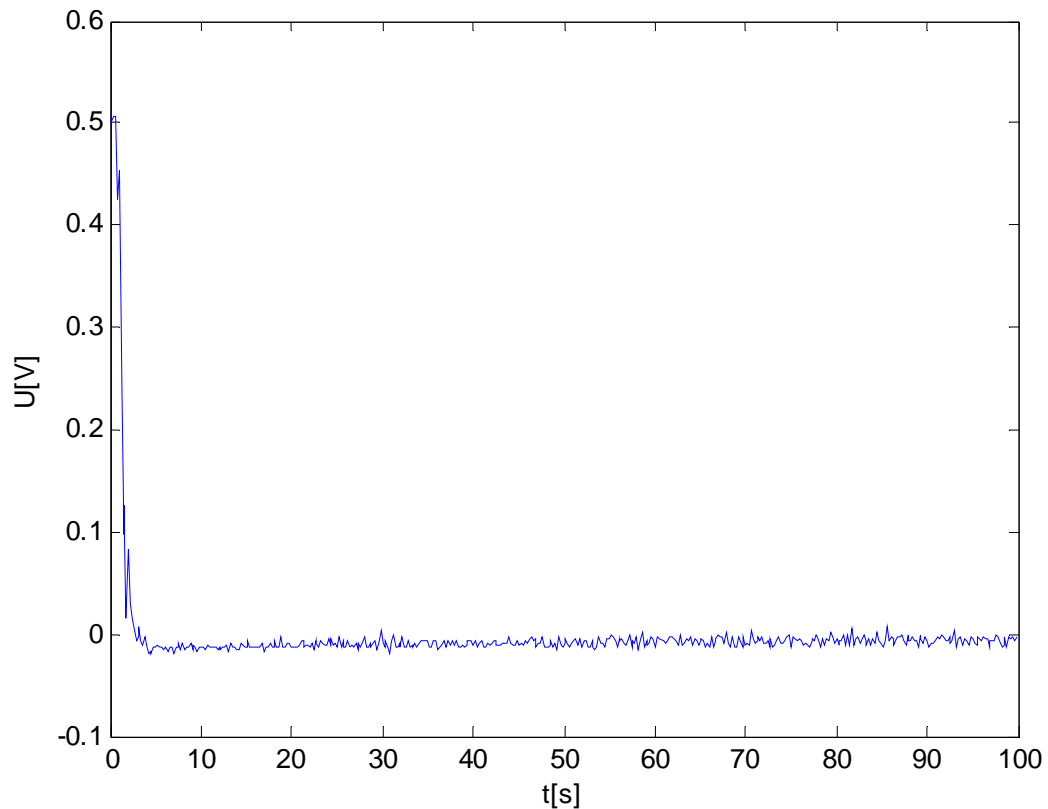
Kuva 6.1 Perfenatsiini\_propanolil 10 / 40mg (20/80%)

Liuettaessa perfenatsiinia ja propranololia veteen suhteella 50/50 liuoksen läpi menneen valon intensiteetti putoaa hyvin matalalle. Tällöin propranol-lääkeaineen liukenemisnopeudelle ei voida määrittää kunnolla funktiota, koska liukenemiskäyrää saadaan niin vähän näkyviin. Näin ollen myöskään tarkkaa liukenemisaikaa ei pystytä määrittämään. Kuvassa 6.2 on tällä suhteella mitattu käyrä.



Kuva 6.2 Pervenatsiini propranoli 40mg /40mg (50/50%)

Liuotettaessa perfenatsiinia ja propranolia veteen suhteella 80/20 liuoksen läpi menneen valon intensiteetti putoaa nolnaan, koska liukenematonta lääkeainetta on tällöin liukenemis tilavuudessa liikaa. Näin ollen propranoli-lääkeaineen liukenemisesta ei saada minkäänlais-ta kuvaa. Kuvassa 6.3 on edellä mainitulla suhteella mitattu liukenemiskäyrä.



Kuva 6.3 Perfenatsiini propranoli 160mg / 40mg (80 / 20)

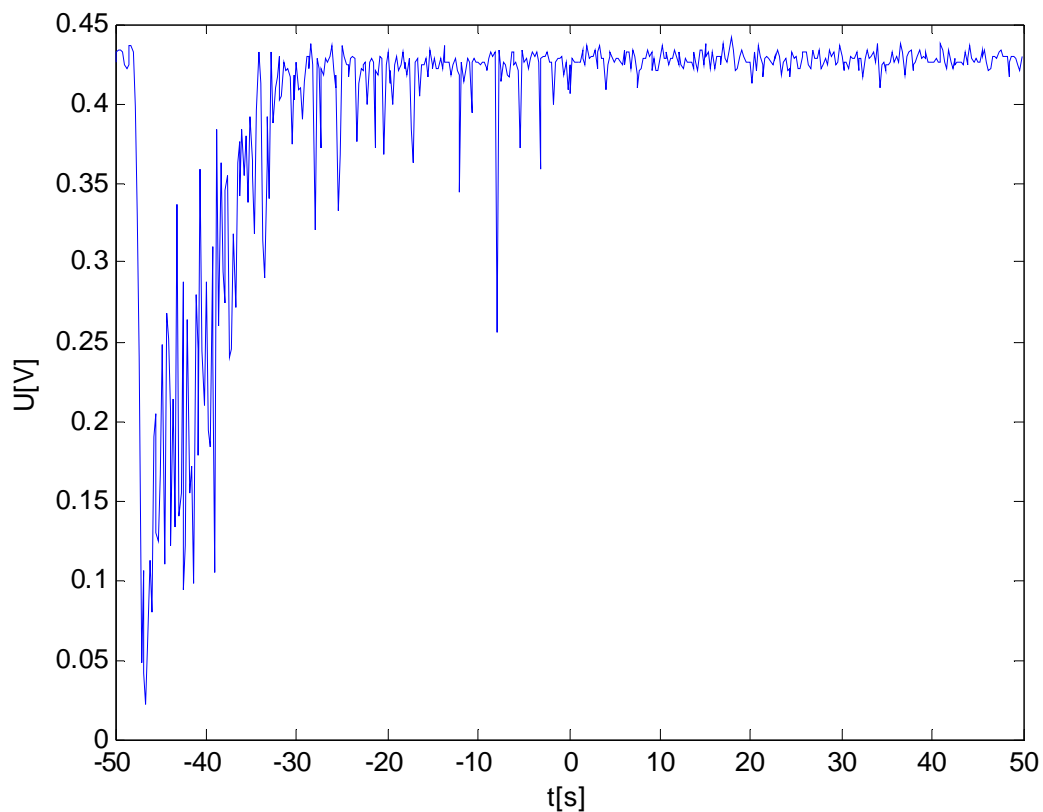
Mittausjärjestelyllä pystytään määrittämään liukenemisaika myös häiritsevien liukenemattomien hiukkasten ollessa mukana häiritsevänä tekijänä. Ongelmana on kuitenkin laserin valoteho, joka täytyy näissä kokeissa olla suurempi kuin ilman häiritsevää liukenematonta jauhetta tehtävissä kokeissa. Laserin valotehon ollessa liian pieni läpimenneen valon intensiteetti putoaa nolnaan jo liukenemattoman aineen vaikutuksesta, eikä liukenevaa lääkeainetta pystytä näin ollen havaitsemaan ollenkaan.

Mitattaessa lääkeaineen liukenemista apuaineiden kanssa tulee liukenemattoman aineen ainemäärä olla pieni, jotta liukenevan lääkeaineen liukeneminen pystyttäisiin havaitsemaan. Valon intensiteetti laskee herkästi näissä mittauksissa nolnaan, koska valon vaimeneminen on eksponentiaalista. Menetelmä ei siis sovellu tableteille, jotka sisältävät liukenemattomia apuaineita.

#### 6.4 Liuksen pH:n vaikutus liukenemisen mittaamiseen

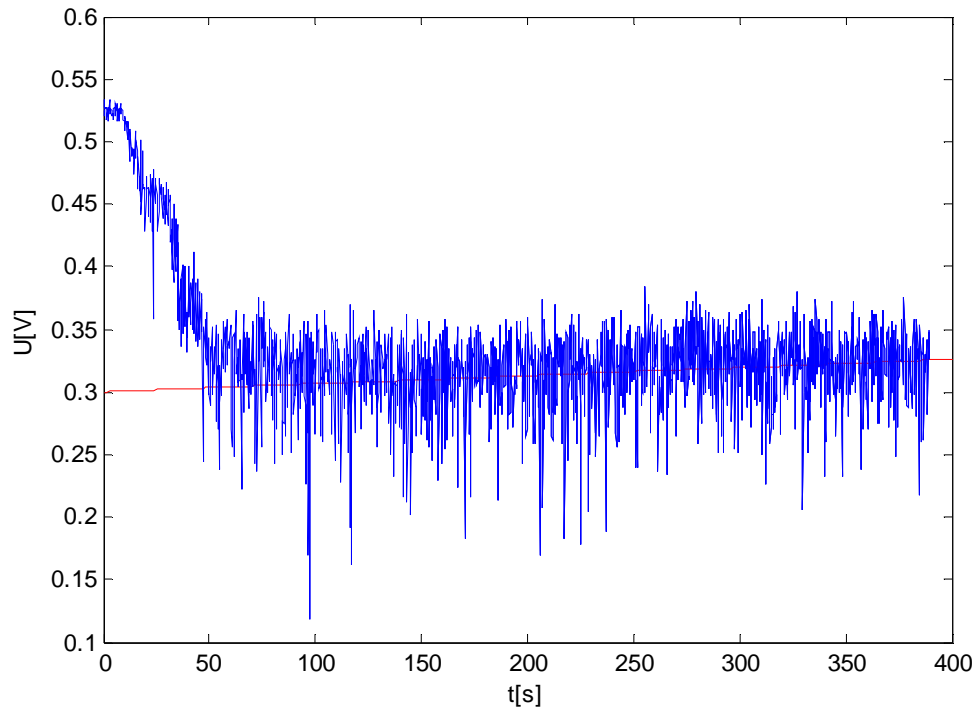
Lääkeaineiden liukenemiseen vaikuttaa myös liuksen pH. Perfenatsiinilla tämä pH riippuvuus näkyy parhaiten. pH:n 1.2 liukseen perfenatsiinin liukeneminen on eksponentiaalista ja nopeaa, kun taas pH:n 6.8 lineaarista ja erittäin hidasta. Lisäksi liuksen pH:n ollessa 6.8 perfenatsiinista liukenee vain murto-osa siitä ainemäärästä mitä pH 1.2:een liukenee.

Liuksen pH:n vaikutusta mittauksiin haluttiin tutkia perfenatsiinilla, jotta nähtäisiin toimiiko mittausjärjestely oikein eli antaako se oikean tuloksen myös lineaarisesti liukenevalle aineelle. Kuvassa 6.4 näkyy perfenatsiinin liukeneminen pH 1.2:n liukseen. Kuvasta 6.4 nähdään, että liukeneminen on eksponentiaalista.



Kuva 6.4 Perfenatsiinin liukenemiskäyrä pH1.2

Kuvassa 6.5 on perfenatsiinilla pH:n 6.8 liuksessa mitattu liukenemiskäyrä. Perfenatsiinilla pH:ssa 6.8 mitattuun käyrään voidaan sovittaa lineaarinen funktio, josta saadaan lasketua perfenatsiinin liukenemisaika. Kuvassa 6.5 on perfenatsiinin liukenemiskäyrä ja sen toiseen osaan sovitettu lineaarinen käyrä.



Kuva 6.5 Perfenatsiinin liukenemiskäyrä pH 6.8

## 6.5 Näytteiden analysoinnin ja optisten kokeiden vertailu

Optisen mittausjärjestelyn toimivuutta testattiin vertaamalla sen antamia tuloksia näytteiden kemiallisesta analysoinnista saataviin tuloksiin. Mittauksia, joissa otettiin vertailu näytteet analysoitavaksi, tehtiin kuusi kolmen rinnakkaisen mittauksen sarjaa osana optisen mittauksen 32 kokeen kolmen rinnakkaisen mittauksen sarjaa. Näissä kokeissa näyteaineina käytettiin kofeiinia sekä propranolia. Näytteitä otettiin analysoitavaksi yhtä aikaa optisen mittauksen kanssa.

Ongelmana testien vertailussa oli analysoitavien näytteiden näytteidenottoväli. Ensimmäinen näytteenottopiste oli viidentoista sekunnin päästä lääkeaineen pudottamisesta liukenemisastiaan. Usein viidentoista sekunnin kohdalla nopeasti liukenevat aineet olivat jo lähes kokonaan liunneet ja heti ensimmäisessä mittauspisteessä saatiin lähes 100%:n liukoisuusarvo näytteitä analysoimalla.

Optisessa mittauksessa mittauspisteitä tallennettiin 0,2s välein, jolloin pysyttiin seuraamaan liukenemistä huomattavasti paremmin kuin näytteitä ottamalla. Liukenemisestä saatiin enemmän informaatiota kuin näytteitä ottamalla.

Myös näytteiden ottoon perustuvissa liukenemiskokeissa ongelmana on kevyiden näytteiden hidas kostuvuus. Otettuja näytteitä analysoimalla saadaan tosin selville liukenemisprosentti halutulla ajan hetkellä, mutta saatava arvo ei kuvaa pelkästään liukenemistä. Saatavaan arvoon vaikuttaa tällöin kostumisnopeus sekä liukenemisnopeus. Kevyillä nopeasti liukenevilla aineilla kostuminen vie näistä yleensä enemmän aikaa, näin ollen näytteiden analysoinnilla saatava liukenemisprosentti kertoo enemmän aineen kostumisnopeudesta kuin liukenemisnopeudesta.

### **6.5.1 Eksponentiaalinen liukeneminen**

Mittauksia tehtiin kolme kullakin variaatiolla. Lääkeaineina näissä mittauksissa käytettiin propranolia ja kofeiinia. Lisäksi muutettavina liukenemisnopeuteen vaikuttavina tekijöinä eri mittausten välillä olivat liuoksen pH, lämpötila, hiukkaskoko, sekä annoskoko. Nämä mittaukset tehtiin siis osana 32 mittauksen sarjaa, jossa mittaolosuhteita varioitiin. Kemialliset kokeet valittiin 32 kokeen koesarjasta Plackett-Burman koesuunnittelumenetelmän avulla. Mittaustuloksista otettiin keskiarvot liukenemiskäyrien piirtämiseksi.

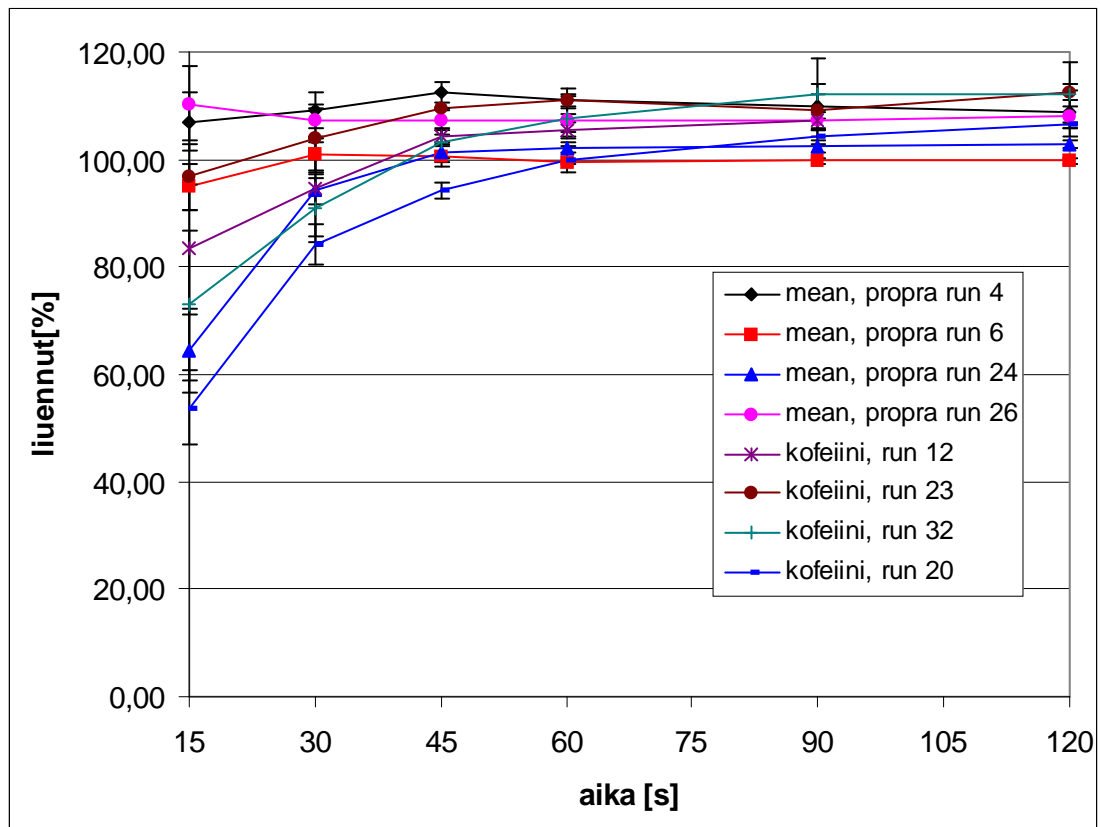
Optisella menetelmällä puolestaan mittaustuloksiin sovitettiin liukenemistä kuvaava käyrä. Käyrän yhtälön avulla laskettiin jokaiselle käyrälle liukenemisen nopeusvakio  $k$ . Näistä lasketuista  $k$ :n arvoista otettiin keskiarvo, jonka avulla laskettiin liukenemisaika  $t$  liukene-  
misen eri vaiheissa.

Kolmen mittauksen sarjoja on merkitty run merkinnällä ja järjestys numerolla. Taulukossa 3 on tiedot mittaolosuhteista eri mittauksissa.

Taulukko 3 Mittausolosuhteet

	Propranoli				Kofeiini			
	run4	run6	run24	run26	run12	run20	run23	run32
PH	6,8	6,8	1,2	1,2	1,2	1,2	6,8	6,8
hiukkaskoko[ $\mu\text{m}$ ]	<15	90-100	<15	90-100	90-100	<15	90-100	<15
annoskoko[mg]	40	100	100	40	40	100	100	40
Lämpötila[ $^{\circ}\text{C}$ ]	37	25	25	37	25	37	37	25

Kuvassa 6.6 on esitetty kemiallisella menetelmällä saadut liukenemisprosentit ajan funktiona.



Kuva 6.6 Kemiallisella menetelmällä saadut liukenemisprosentit eri ajan hetkillä.

Kuvasta 6.6 havaitaan, että näytteiden ottoon perustuva mittaus on herkkä näytteiden otton suhteen. Alussa, kun liukenematonta ainetta on paljon, hiukkasia saattaa tulla pipetoiduksi ensimmäisen näytteen mukana. Vaikka näytteet suodatetaan, liukenemista ehtii tapahtua pipetissä ja ruiskussa, mistä aiheutuu todellista suurempi lääkeaineen konsentraatio. Tällöin jo ensimmäisessä mittauspisteessä saadaan yli sadan prosentin liukoisuusarvoja. Tau-



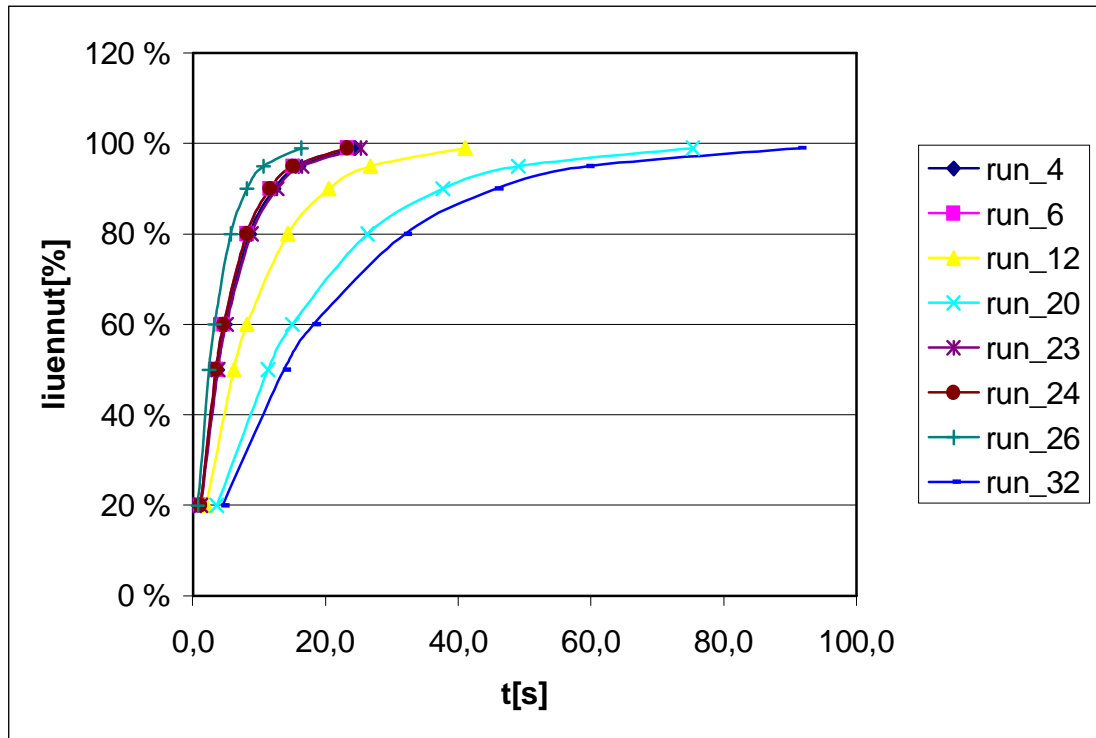
lukossa 4 on otettuja näytteitä analysoimalla saadut liukenemisarvot sekä niille lasketut virherajat.

Taulukko 4 Kemiallisella menetelmällä saadut tulokset.

	Propanoli				Kofeiini			
aika[s]	run 4	run 6	run 24	run 26	run 12	run 20	run 23	run 32
15	107,05	94,91	64,58	110,47	83,32	53,85	96,82	72,97
30	109,28	100,83	94,14	107,22	94,51	84,32	103,79	90,95
45	112,61	100,62	101,25	107,16	104,19	94,19	109,50	103,08
60	110,98	99,44	102,19	107,34	105,58	99,98	111,14	107,87
90	109,89	99,71	102,34	107,22	107,29	104,19	109,19	112,04
120	108,70	99,77	102,83	107,90	107,54	106,41	112,54	112,24
	keskihajonnat							
15	5,43	4,17	7,78	6,84	12,25	7,03	6,10	13,98
30	3,40	3,18	2,52	3,00	8,82	3,78	5,63	6,25
45	1,83	2,04	1,81	2,46	1,23	1,51	0,18	2,81
60	2,39	0,43	0,96	2,13	1,23	2,34	1,03	3,96
90	2,36	0,56	1,11	1,82	1,62	1,18	4,78	6,66
120	4,20	0,61	0,64	2,21	1,13	0,53	1,43	5,72

Taulukosta 4 nähdään, että näytteiden ottoon ja niiden analysointiin perustuva liukenemisnopeuden mittaaminen on herkkä ainemäärän suhteen sekä näytteenoton onnistumisen suhteen. Mitattavat annokset on punnittava tarkasti, jotta liukenemisprosentit pystyttäisiin määrittämään tarkasti. Näytteen annostelu on myös tärkeää, koska annostimeen voi jäädä näytettä. Liukenemattomia hiukkasia saattaa myös päästä näytteenoton yhteydessä näytetilavuuteen, jolloin ne liukenevat vasta näytteenoton jälkeen näytetilavuudessa. Tämä vaikuttaa huomattavasti saataviin tuloksiin ja tällöin saatava mittaustulos on virheellinen.

Optiseen mittaukseen ainemäärä ei vaikuta niin merkittävästi, koska mittaustuloksista lasketaan suhteellinen liukenemisosuus, eikä tarkalla ainemäärällä ole niin suurta väliä. Optisen mittauksen liukenemisnopeusvakioiden arvojen keskihajonnat ovatkin varsin pienet. Kuvassa 6.7 on esitetty liukeneminen prosentteina ajan funktiona optisen mittauksen antamien tuloksien pohjalta laskettuna.



Kuva 6.7 Optisella menetelmällä saadut käyrät.

Taulukossa 5 on optisella menetelmällä mitattuihin käyriin sovitettujen liukenemisen nopeusvakioiden arvot, sekä niistä otetut keskiarvot ja keskihajonnat. Taulukon alaosassa on kolmen mittauksen keskiarvoisella liukenemisen nopeusvakion arvolla lasketut liukenemisajat. Vähän hitaammin liukenevat aineet näyttävät vastaavan hyvin kemiallisella menetelmällä saatuja tuloksia.

Taulukko 5 Optisen menetelmän antamat liukenemisajat

	propranololi				kofeiini			
	run4	run6	run24	run26	run12	run20	run23	run32
k1[s <sup>-1</sup> ]	-0,177	-0,191	-0,208	-0,274	-0,074	-0,067	-0,195	-0,048
k2[s <sup>-1</sup> ]	-0,181	-0,210	-0,180	-0,283	-0,133	-0,057	-0,184	-0,051
k3[s <sup>-1</sup> ]	-0,206	-0,194	-0,206	-0,288	-0,129	-0,059	-0,167	-0,052
k[s <sup>-1</sup> ]	<b>-0,19</b>	<b>-0,20</b>	<b>-0,20</b>	<b>-0,28</b>	<b>-0,11</b>	<b>-0,06</b>	<b>-0,18</b>	<b>-0,05</b>
keskihajonta	<b>0,013</b>	<b>0,008</b>	<b>0,013</b>	<b>0,006</b>	<b>0,027</b>	<b>0,004</b>	<b>0,011</b>	<b>0,001</b>
Liuennot	aika[s]	aika[s]	aika[s]	aika[s]	aika[s]	aika[s]	aika[s]	aika[s]
20 %	1,2	1,1	1,1	0,8	2,0	3,7	1,2	4,4
50 %	3,7	3,5	3,5	2,5	6,2	11,3	3,8	13,8
60 %	4,9	4,6	4,6	3,3	8,2	15,0	5,0	18,2
80 %	8,6	8,1	8,1	5,7	14,4	26,3	8,8	32,0
90 %	12,2	11,6	11,6	8,2	20,5	37,7	12,7	45,7
95 %	15,9	15,1	15,1	10,6	26,7	49,0	16,5	59,5
99 %	24,5	23,2	23,3	16,4	41,1	75,4	25,3	91,4

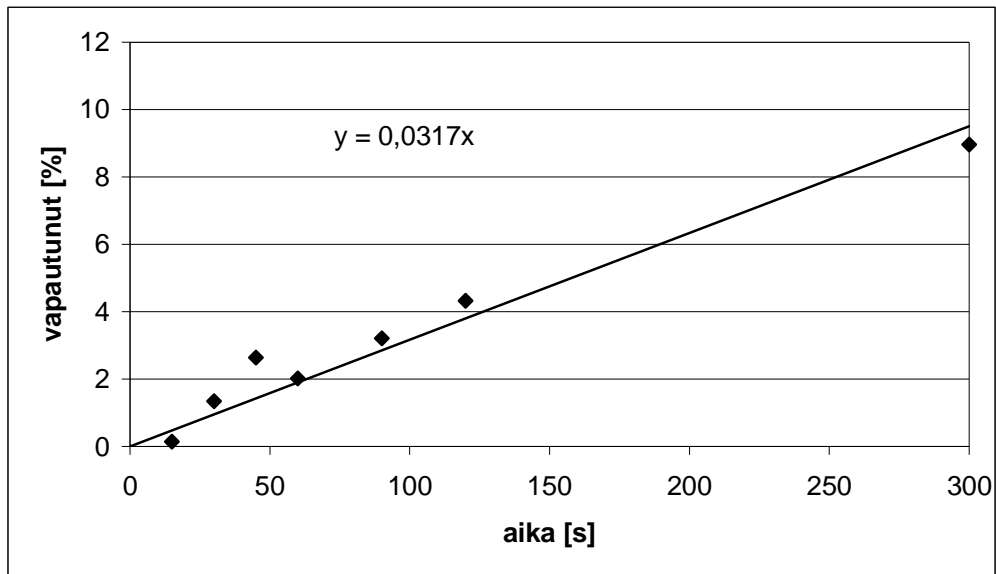
Optisella menetelmällä liukenemista pystytään seuraamaan huomattavasti tarkemmin kuin näytteiden ottoon perustuvalla menetelmällä, mistä johtuen mittaustuloksien vertailu on vaikeaa. Vertailemalla mittaustuloksia havaitaan kuitenkin, ettei niissä ole suuria eroja toisiinsa nähden, vaan ne näyttävät olevan suurimmaksi osaksi yhdenmukaisia. Ainoastaan run20:n tulokset poikkeavat merkittävästi toisistaan. Run20:n kohdalla ongelmana oli jauheen keveydestä johtuva hidas kostuvuus, mikä aiheutti epävarmuutta mittaustuloksiin.

### 6.5.2 Lineaarinen liukeneminen

Hitaasti liukenevia aineita testattiin vähemmän kuin nopeasti liukenevia, koska menetelmällä on tarkoitus mitata nopeasti liukenevien aineiden liukenemistä. Kuitenkin haluttiin testata antaako mittausmenetelmä oikean tuloksen myös hitaasti liukeneville aineille.

Mittausjärjestelyä testattiin edellä mainitusta syystä hitaasti liukenevalla perfenatsiinilla, jonka liukeneminen pH:ssa 6.8 on lineaarista. Kemiallista menetelmää ja optista menetelmää pystyttiin tällöin vertaamaan toisiinsa hyvin, koska nyt analysoitavat näytteet saatiin ennen kuin koko näyte oli liuennot. Kemiallisella menetelmällä tässäkin mittauksessa mitauspisteitä on vähän, vain seitsemän pistettä.

Kuvassa 6.8 on kemiallisella menetelmällä saadut liukenemisarvot perfenatsiinille, sekä niihin sovitettu lineaarinen suora.



Kuva 6.8 Kemiallisella menetelmän antamat liukenemisprosentit eri ajan hetkillä ja niihin sovitettu käyrä.

Mittauspisteiden kautta piirretyn suoran kulmakertoimeksi saadaan tässä tapauksessa 0,0317. Taulukossa 6 on Kemiallisella menetelmällä saadut liukenemisarvot sekä niiden keskihajonnat. Taulukosta nähdään, ettei näytteitä analysoimalla saada kovin tarkkoja tuloksia liukenemisestä. Hajonta rinnakkaisten mittauksien välillä on aika suurta.

Taulukko 6 Kemiallisen menetelmän antamat liukenemisarvot.

aika [s]	liuennut[%]	keskihajonta
15	0,15	0,147
30	1,34	0,867
45	2,64	1,453
60	2,02	0,605
90	3,21	0,872
120	4,32	0,746
300	8,96	0,938

Optisella menetelmällä mitattaessa liukenemissuoran kulmakertoimien arvoiksi saadaan 0,0292; 0,0282 ja 0,026. Otetaan näistä keskiarvo, jolloin saadaan kulmakertoimen arvoksi  $0,0278 \pm 0,0013$ . Tällöin voidaan laskea optisen menetelmän antamat arvot liukenemisprosentteille näytteidenotto hetkillä.

Taulukossa 7 on optisella menetelmällä mitattuihin ja kemiallisella menetelmällä saatuihin pisteisiin sovitettujen suorien kulmakertoimien avulla lasketut liukenemisarvot. Taulukosta nähdään, että molemmat menetelmät antavat lähes saman tuloksen.

Taulukko 7 Optisella ja kemiallisella menetelmällä saadut tulokset.

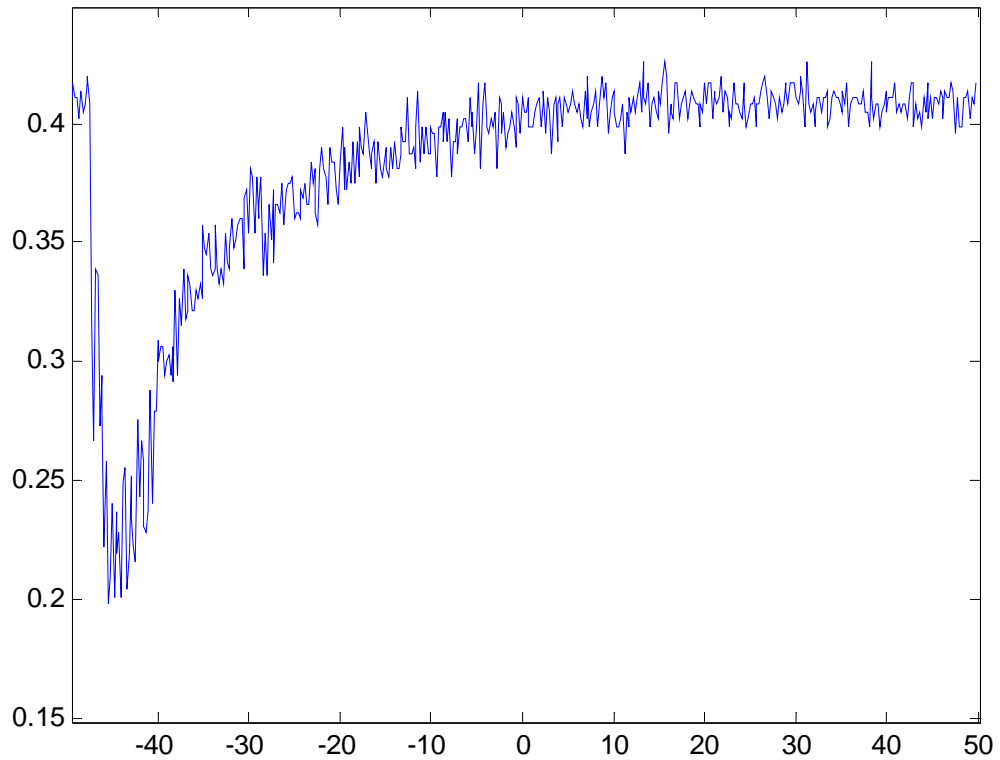
	k = 0,0278	k = 0,0317
aika[s]	liuennut[%]	liuennut[%]
15	0,417	0,4755
30	0,834	0,951
45	1,251	1,4265
60	1,668	1,902
90	2,502	2,853
120	3,336	3,804
300	8,34	9,51

## **7. HAVAITTUJA ONGELMIA**

Tässä kappaleessa on käsitelty suurimpia havaittuja ongelmia liukenemisnopeuden optisen mittaamisen kannalta. Koska mittauksissa mitataan intensiteetin vaihtelua, eli suhteellista suuretta, ei mittalaitteiden kalibroinnilla ole suurta merkitystä liukenemisnopeuden määrittämisen kannalta. Mittalaitteiden tarkkuudesta ei näin ollen aiheudu merkittävää virhettä mittaustuloksiin.

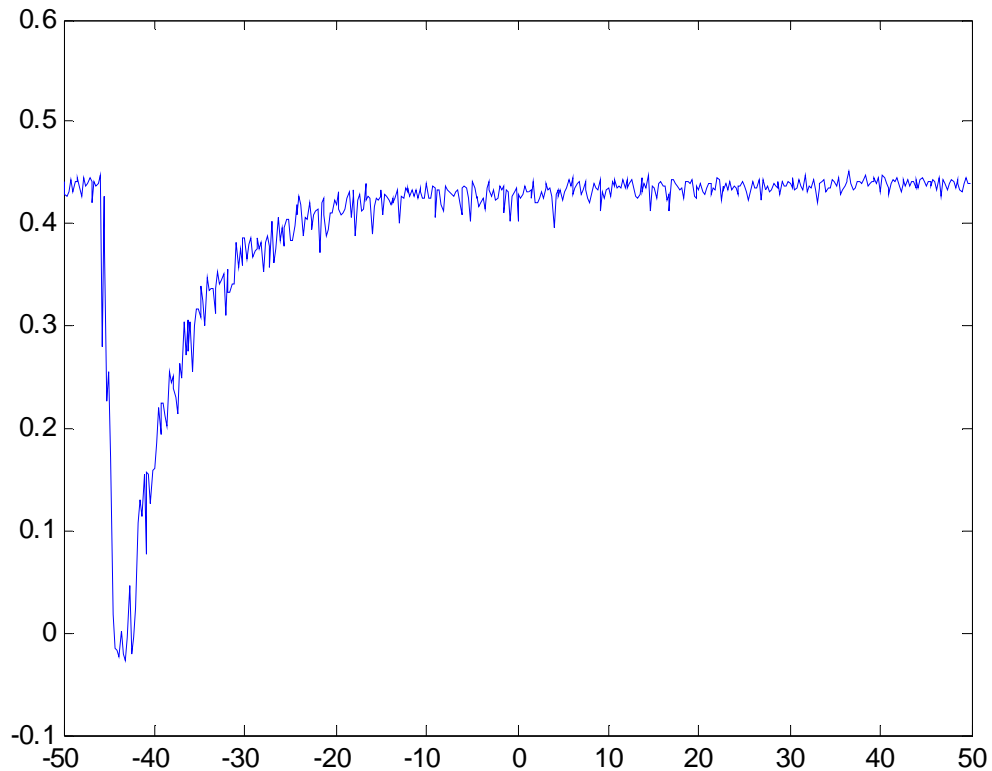
### **7.1 Kohina mittaussignaaliin**

Huonepöly ja vedessä olevat epäpuhtaudet aiheuttavat kohinaa mittaussignaaliin. Kuvassa 7.1 näkyy selkeästi pölyn ja vedessä olevien epäpuhtauksien vaikutus mittaussignaaliin. Pölyn ja vedessä olevien epäpuhtauksien vaikutusta kohinaan voidaan ehkäistä tekemällä mittaukset puhtaissa laboratorio-olosuhteissa, jolloin laser-säteen kulku reitillä oleva ilma on puhtaampaa ja liuottimena voidaan käyttää tislattua ja suodatettua vettä.



Kuva 7.1 Mittaustuloksena saatava käyrä beetasyklodekstriinille.

Kuvassa 7.2 on vähäpölyisissä olosuhteissa ja liuottimen ollessa tislattua vettä mitattu signaali. Kuvasta 7.2 nähdään, että mittaussignaalin oleva häiriö on paljon vähäisempää kuin kuvassa 7.1. Mittaussignaalin olevaa häiriötä pystyttiin pienentämään käyttämällä mittauksissa tislattua vettä ja tekemällä mittaukset vähäpölyisissä laboratorio-olosuhteissa. Valon kulkureitillä ilma oli huomattavasti puhtaampaa, jolloin pölyhiukkasista tapahtuva Mie-sironna väheni.



Kuva 7.2 Mittaustuloksena saatava käyrä alfasyklodekstriinille.

## 7.2 Jauheen annostelu

Jauheen annostelu näyteastiaan on merkittävä virhelähde etenkin huonon kostuvuuden omaavilla aineilla. Tässä työssä kokeiltiin jauheen annostelua kiväärinruudin annostelijalla, sekä punnitusalustalta pudottaen. Jauheen annostelussa olisi hyvä käyttää esim. jauheelle soveltuvaa pipettiä. Pipettiä käytettäessä jauhe voitaisiin pudottaa näyteastiaan tasaisemmin kuin punnitusalustalta. Näin jauhe leviäisi tasaisemmin näyteastiaan. Sellaista ei kuitenkaan näihin kokeisiin ollut käytettävissä.

Kiväärinruudin annostelijan käytöstä jauheen annostelijana luovuttiin, koska pienet hiukaset tukkivat sen. Tukkeutumisesta johtuen annostelumäärät eivät enää olleet tarkkoja. Lisäksi joitakin näytteitä oli niin pieni määrä, ettei annostelijaa kannattanut käyttää, koska osa annosteltavasta aineesta olisi jäänyt annostelijaan ja näin ollen mennyt hukkaan. Yleensäkin uusia koostumuksia valmistetaan niin vähäisiä määriä, että annostelijan käyttö veisi turhaan osan testattavista aineista.

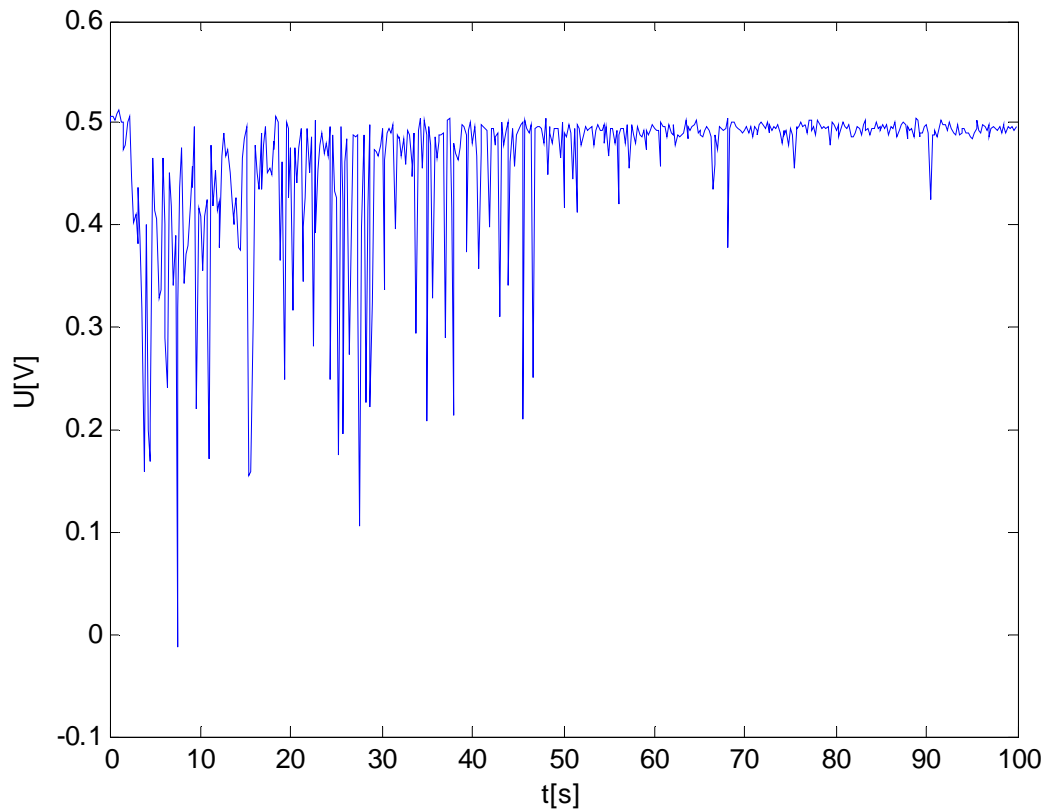


### 7.3 Jauheen kostuminen

Jauheen kostuminen on optisen mittausjärjestelyn kannalta tärkeää. Olisi tärkeää, että koko näyteannos kostuisi nopeasti, jotta se myös leviäsi näyteastiaan. Saatavasta mittauskäyrästä tulee epäselvä, jos jauhetta kostuu ja leviää vähitellen lisää näyteastiaan. Tällöin siitä ei pysty määrittämään funktiota pelkälle liukenemisnopeudelle.

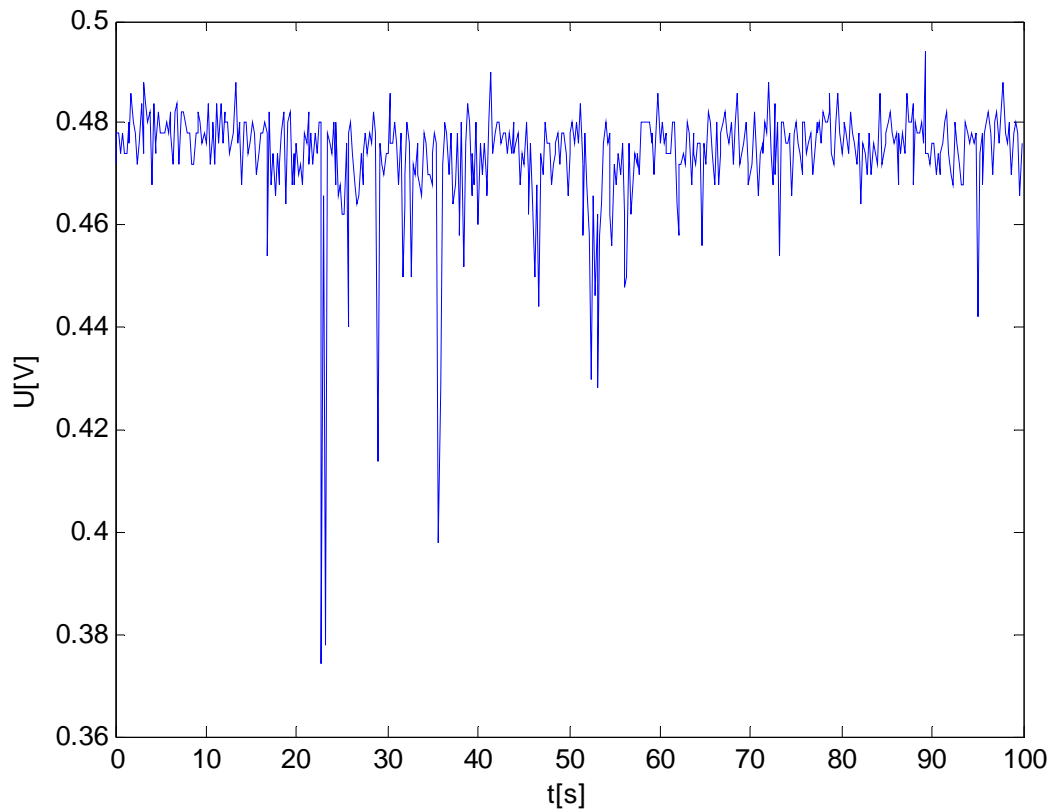
Mittaustuloksena saataviin mittauspisteisiin liukenemista kuvaavan käyrän sovittaminen on tällöin vaikeaa ja sovitettu käyrä kuvaa huonosti liukenemisnopeutta. Mittauspisteisiin sovitettu käyrä, kuvaa tässä tapauksessa kahta erillistä tapahtumaa näyteastian kostumista ja liukenemista, joita ei tässä tapauksessa pysty erottamaan toisistaan. Kuitenkin tässäkin tapauksessa mittauksena saatavasta käyrästä voidaan katsoa milloin aine on suurimmaksi osaksi liuennut. Mittauksena perusteella ei kuitenkaan voida laskea prosentuaalista liukenemista ajan suhteen tarkasti.

Jauheen kostuminen ja näin ollen myös leviäminen näyteastiaan on erityisesti pienillä hiukkasilla kevytensä johdosta hidasta. Pienet ja kevyet hiukkaset jäävät kellumaan näyteastiassa olevan nesteiden pinnalle, eivätkä näin ollen kostu nopeasti. Tämä vaikeuttaa liukenemisnopeuden optista määrittämistä, koska optisen mittauksen kannalta on tärkeää jauheen nopea kostuminen, kuten jo edellä mainittiin. Kuvassa 7.3 on kofeiinin pH:ssa 1,2 mitattu liukenemiskäyrä. Annoskokona mittauksessa oli 100mg ja hiukkaskokona <math><15\mu\text{m}</math>. Kuvasta nähdään, että lääkeainetta kostui vähitellen lisää mittauksen edistyessä. Tämä näkyy mittaus-signaalin värinä.



Kuva 7.3 Kofeiinille pH:ssa 1.2 ja hiukkaskoolla  $< 15\mu\text{m}$  (run20) mitattu liukenemiskäyrä.

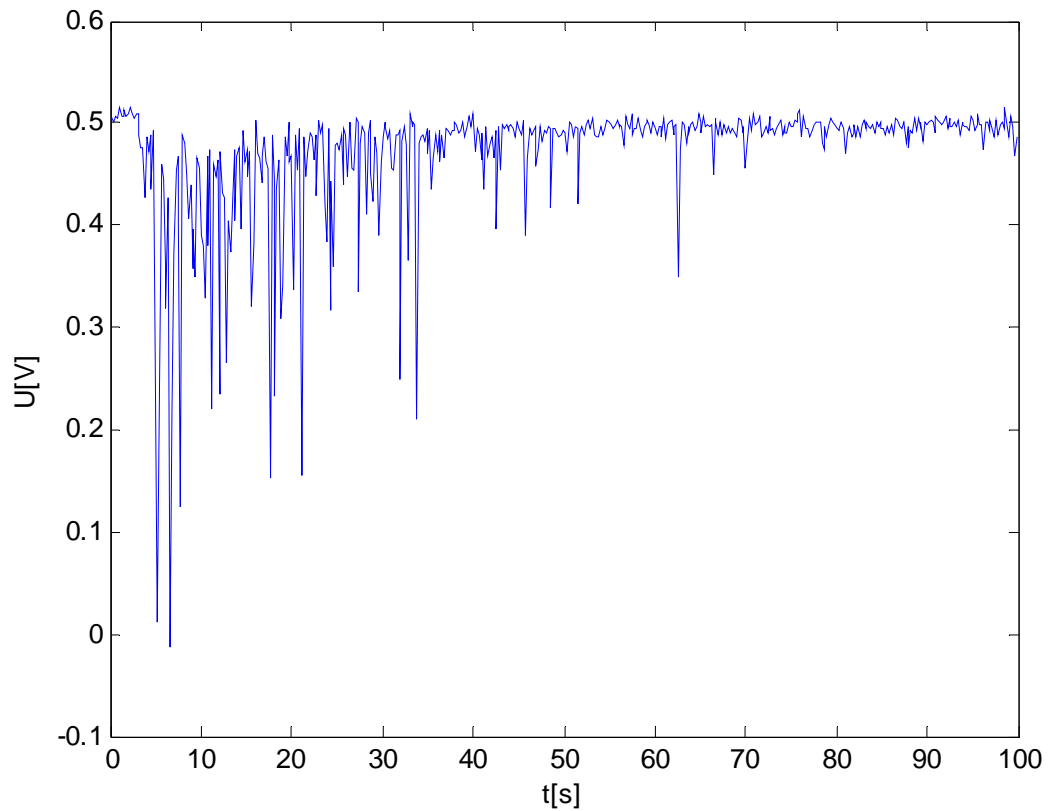
Joillakin kevyillä hiukkasilla liukenemista ei pystytä havainnoimaan tarpeeksi hyvin, jotta liukenemisaika pystyttäisiin määrittämään edes mittaustuloksena saadusta kuvasta, koska aine kostuu niin hitaasti, ettei sitä ole liuotin nesteessä tarpeeksi liukenemisen havainnointia varten. Esim. perfenatsiinipolymeeridispersion (perfenatsiiniPVP) havainnointi lasersäteen avulla ei onnistunut. Tässä tapauksessa aineen liukenemisnopeus oli nopea, mutta kostuminen erityisen hidasta, jolloin lääkeainetta ei ollut nesteessä riittävästi liukenemisen kunnolliseen havaitsemiseen missään vaiheessa mittauksen aikana. Lääkeaine siis jäi kellumaan nesteen pinnalle liian pitkäksi aikaa. Tässä tapauksessa perinteinen kemiallinen menetelmä on huomattavasti parempi, koska liukenemista voidaan sen avulla havainnoida myös tässä tapauksessa. Perfenatsiinipolymeeridispersion liukenemisnopeuden mittaustulos on kuvassa 7.4.



Kuva 7.4 Perfenatsiinipolymeeridisersioli (perfenatsiiniPVP) mitattu liukenemiskäyrä

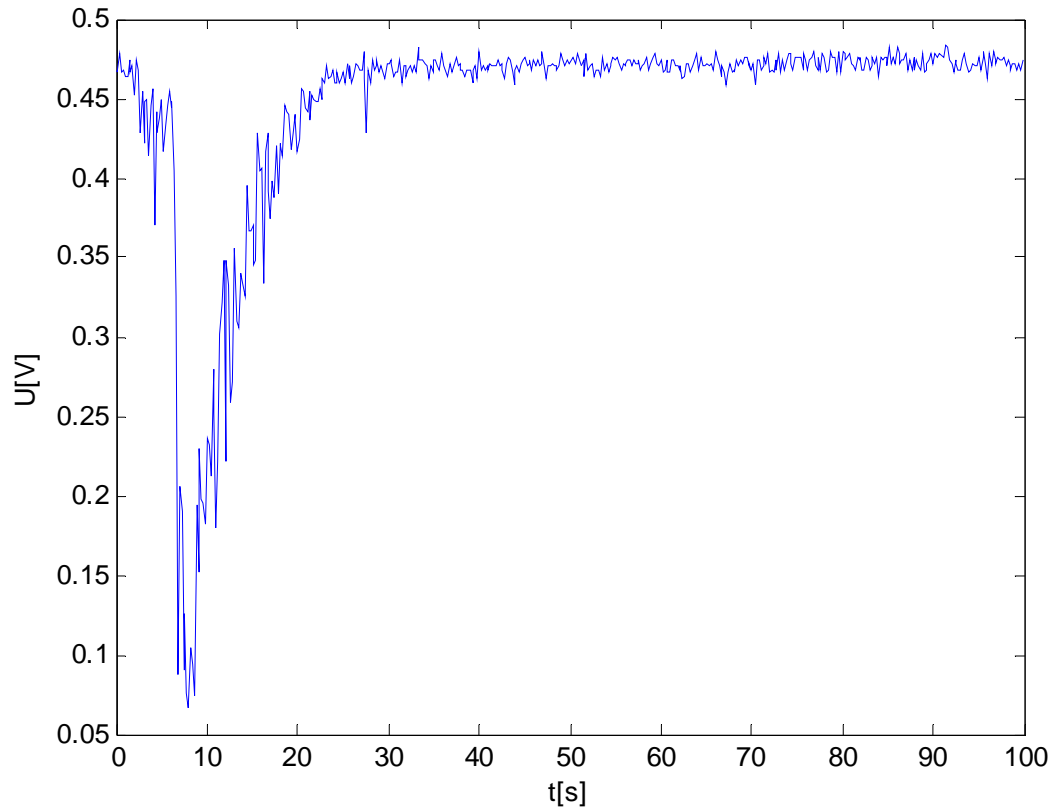
#### 7.4 Partikkelien aggregoituminen

Aggregoituminen oli joillakin pienillä hiukkasilla ongelma mittausten kannalta. Pienten hiukkasten ollessa kyseessä ne yhdistyvät kostumisvaiheessa, jolloin niistä tulee isompia ja näin ollen hitaammin liukenevia. Hiukkaskoko kasvaa merkittävästi ja isommat hiukkaset aiheuttavat enemmän valon sirontaa, jolloin mittaustuloksena saatavasta kuvaajasta tulee hyvin säröinen. Tämä haittaa merkittävästi tarkan liukenemisajan määrittämistä kuvaajasta. Kuitenkin kuvasta voidaan havaita milloin näyte on kokonaan liennut, mutta tarkkaa liukenemisaikaa ei pystytä määrittämään. Alle  $15\mu\text{m}$ :n kokoisilla hiukkasilla tämä ilmiö näkyy selkeästi. Kuvasta 7.5 nähdään, että näyte on lähes kokonaan liennut neljäkymmenen sekunnin kohdalla. Mittaus-signaalin värinään vaikuttaa suuresti myös tässä tapauksessa aineen hidas kostuvuus. Yksittäisiä piikkejä mittaussignaaliin tulee suurista hiukkasista tapahtuneista sironnoista.



Kuva 7.5 Kofeiinin liukoisuuskäyrä hiukkaskoon ollessa  $<15\mu\text{m}$  (run13)

Kun olosuhteet pidetään muuten samoina ja ainoastaan hiukkaskokoa kasvatetaan, saadaan hiukkaskoon ollessa  $90\mu\text{m}$  -  $100\mu\text{m}$  liukenemiskäyräksi kuvan 7.6 mukainen käyrä. Tähän käyrään voidaan sovittaa hyvin funktio ja määrittää liukenemisen nopeusvakio. tällöin pystytään määrittämään liukenemisaika liukenemisen eri vaiheissa.



Kuva 7.6 Kofeiinin liukoisuuskäyrä hiukkaskoon ollessa (90-100) $\mu\text{m}$  (run23)

Kuvia 7.5 ja 7.6 vertaamalla nähdään, että isot hiukkaset kostuvat nopeammin kuin pienet. Nopea kostuminen on optisen mittauksen kannalta tärkeää.

## **8. SOVELLUSALUEET**

Optisella mittausmenetelmällä on tarkoitus mitata nopeasti liukenevien jauheena annosteltavien lääkeaineiden liukenemisnopeutta. Menetelmällä siis pyritään ennen kaikkea nopeasti suussa liukenevien partikkeleiden liukenemisnopeuden määrittämiseen, mutta menetelmällä voidaan mitata myös muiden nopeasti liukenevien lääkeaineiden liukenemisnopeutta. Näillä nopeasti liukenevilla partikkeleilla voidaan huomattavasti parantaa suunkautta annosteluun liittyvää lääkeaineen huonoa biologista hyötyosuutta, aikaansaada nopea lääkeaineen vaikutus, sekä parantaa erityisesti lasten ja vanhusten lääkehoitoa; lasten ja vanhusten lääkehoidossa ongelmana on usein tablettien nielemisen vaikeus tai lääkevalmisteiden paha maku.

## 9. YHTEENVETO

Optisessa mittausjärjestelyssä on vielä paljon kehittämiskohteita. Tässä työssä kehitetyn ja testatun kaltainen optinen mittausjärjestely antaa jo tällä kokoonpanolla paljon tietoa liukenemisestä. Usein tietoa saadaan nopeasti liukenevista lääkeaineista, jopa enemmän kuin näytteitä ottamalla ja niitä analysoimalla.

Lääkeaineen hiukkaskoolla on suuri vaikutus mittauksen onnistumisen kannalta, koska kevyet hiukkaset kostuvat hitaasti. Suurimmat ongelmat mittauksissa olivatkin juuri näytteen annosteluun sekä lääkeaineen kostumiseen liittyviä.

Optisen mittauksen kannalta olisi tärkeää saada aine kostumaan nopeasti, jotta sen liukenemisnopeutta voitaisiin kunnolla mitata. Jos lääkeaine kostuu hitaasti tulee liukenemätonta lääkeainetta näytetilavuuteen lisää aiemmin kostuneen osan aineesta jo liuettua. Tämä vaikeuttaa optista havainnointia huomattavasti. Varsinkin kooltaan pienillä ja keveillä hiukkasilla kostuminen oli merkittävä virhelähde mittauksissa.

Hyvin kostuvilla lääkeaineella liukenemistä pystytään seuraamaan tarkasti ja liukenemisnopeudelle saadaan määritettyä hyvin sitä kuvaava funktio. Optinen mittaus ei ole herkkä ainemäärän suhteen, jos koe tehdään alhaisen konsentraation vallitessa.

## Lähteet:

1. Bohren G., Huffman D., Absorption and Scattering of Light by Small Particles. John Wiley & Sons, Inc. (1998), 530s.
2. Johansson J., Cauchi M., Sundgren M., Multiple fiber-optic dual-beam UV/Vis system with application to dissolution testing. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 29 (2002) s.469-476
3. Dokoumetzidis A., Macheras P., A century of dissolution research: From Noyes and Whitney to the Biopharmaceutics Classification System. *Journal of Pharmaceutics* 321 (2006) s.1-11
4. Scott P, Process analytical technology: Applications to the Pharmaceutical Industry. Saatavissa: [http://www.dissolutiontech.com/Dtresour/0802art/Article\\_1.htm](http://www.dissolutiontech.com/Dtresour/0802art/Article_1.htm) 2s, vierailtu: (3.10.2006)
5. Silfsten Pertti, Luentomoniste: Sovellettu optiikka, Digipaino (2004) 115s.
6. Marvola M, Lääkeaineen liukenemisen ja vapautumisen kinetiikka, Saatavissa: [www.helsinki.fi/farmasia/biofarmasia/biofjatkok/BiofJATKO.10.ppt](http://www.helsinki.fi/farmasia/biofarmasia/biofjatkok/BiofJATKO.10.ppt), vierailtu: 12.5.2007
7. Kalliomäki N., Liukenemisnopeus, Saatavissa: <http://www.pharmtech.helsinki.fi/kurssit/590016/phantom2000/liukenemisnopeus.pdf>, vierailtu (12.5.2007)
8. Dressman J., Oral Drug Absorption : Prediction and Assessment., Marcel Dekker Incorporated (2000) s.155-181



Taulukko1 Mittausolosuhteet ja liukenemisen nopeusvakion arvoja kofeiinille ja propranolille.

run	aine	Lämpötila [°C]	Annoskoko [mg]	Hiukkaskoko [µm]	pH	k[s <sup>-1</sup> ]	std	k1[s <sup>-1</sup> ]	k2[s <sup>-1</sup> ]	k3[s <sup>-1</sup> ]
1	Kofeiini	37	40	<15	6,8	<b>-0,07</b>	<b>0,008</b>	-0,079	-0,060	-0,061
2	Kofeiini	25	100	<15	1,2	<b>-0,03</b>	<b>0,003</b>	-0,032	-0,026	-0,029
3	Kofeiini	25	100	90-100	1,2	<b>-0,13</b>	<b>0,002</b>	-0,135	-0,138	-0,132
4	Propranololi	37	40	<15	6,8	<b>-0,19</b>	<b>0,013</b>	-0,177	-0,181	-0,206
5	Kofeiini	25	40	90-100	6,8	<b>-0,10</b>	<b>0,018</b>	-0,116	-0,112	-0,076
6	Propranololi	25	100	90-100	6,8	<b>-0,20</b>	<b>0,008</b>	-0,191	-0,210	-0,194
7	Propranololi	37	100	<15	6,8	<b>-0,31</b>	<b>0,037</b>	-0,365	-0,291	-0,282
8	Propranololi	25	40	90-100	1,2	<b>-0,09</b>	<b>0,002</b>	-0,086	-0,090	-0,086
9	Kofeiini	37	40	90-100	6,8	<b>-0,21</b>	<b>0,023</b>	-0,209	-0,180	-0,238
10	Kofeiini	37	40	<15	1,2	-	-	-	-	-
11	Kofeiini	37	100	90-100	1,2	<b>-0,20</b>	<b>0,008</b>	-0,195	-0,215	-0,203
12	Kofeiini	25	40	90-100	1,2	<b>-0,11</b>	<b>0,027</b>	-0,074	-0,133	-0,129
13	Kofeiini	37	100	<15	6,8	<b>-0,06</b>	<b>0,004</b>	-0,060	-0,064	-0,053
14	Kofeiini	25	100	90-100	6,8	<b>-0,10</b>	<b>0,012</b>	-0,093	-0,095	-0,119
15	Propranololi	37	100	90-100	6,8	<b>-0,31</b>	<b>0,074</b>	-0,410	-0,245	-0,261
16	Propranololi	37	40	<15	1,2	-	-	-	-	-
17	Kofeiini	25	100	<15	6,8	<b>-0,03</b>	<b>0,005</b>	-0,029	-0,040	-0,031
18	Propranololi	37	100	<15	1,2	<b>-0,10</b>	<b>0,012</b>	-0,086	-0,115	-0,096
19	Propranololi	25	40	90-100	6,8	<b>-0,21</b>	<b>0,002</b>	-0,205	-0,209	-0,206
20	Kofeiini	37	100	<15	1,2	<b>-0,06</b>	<b>0,004</b>	-0,067	-0,057	-0,059
21	Propranololi	25	40	<15	6,8	<b>-0,23</b>	<b>0,033</b>	-0,187	-0,268	-0,223
22	Kofeiini	25	40	<15	1,2	-	-	-	-	-
23	Kofeiini	37	100	90-100	6,8	<b>-0,18</b>	<b>0,011</b>	-0,195	-0,184	-0,167
24	Propranololi	25	100	<15	1,2	<b>-0,20</b>	<b>0,013</b>	-0,208	-0,180	-0,206
25	Propranololi	37	40	90-100	6,8	<b>-0,45</b>	<b>0,008</b>	-0,459	-0,439	-0,453
26	Propranololi	37	40	90-100	1,2	<b>-0,28</b>	<b>0,006</b>	-0,274	-0,283	-0,288
27	Kofeiini	37	40	90-100	1,2	<b>-0,18</b>	<b>0,010</b>	-0,193	-0,190	-0,171
28	Propranololi	25	100	90-100	1,2	<b>-0,08</b>	<b>0,003</b>	-0,082	-0,076	-0,076
29	Propranololi	37	100	90-100	1,2	<b>-0,25</b>	<b>0,007</b>	-0,240	-0,257	-0,252
30	Propranololi	25	100	<15	6,8	<b>-0,14</b>	<b>0,005</b>	-0,139	-0,138	-0,149
31	Propranololi	25	40	<15	1,2	<b>-0,11</b>	<b>0,005</b>	-0,098	-0,108	-0,110
32	Kofeiini	25	40	<15	6,8	<b>-0,05</b>	<b>0,001</b>	-0,048	-0,051	-0,052

Taulukko2 Mittausolosuhteet ja liukenemisen nopeusvakion arvoja keskeisille aineille.

Aine	Lämpötila [°C]	Annoskoko [mg]	pH	k[s <sup>-1</sup> ]	std	k1[s <sup>-1</sup> ]	k2[s <sup>-1</sup> ]	k3[s <sup>-1</sup> ]	k4[s <sup>-1</sup> ]	k5[s <sup>-1</sup> ]
a-CD	20	30	-	<b>-0,19</b>	<b>0,020</b>	-0,219	-0,210	-0,199	-0,168	-0,171
b-CD	20	30	-	<b>-0,08</b>	<b>0,004</b>	-0,082	-0,081	-0,092	-0,086	-0,085
c-CD	20	30	-	<b>-0,40</b>	<b>0,006</b>	-0,406	-0,409	-0,398	-0,393	-0,394
perfenatsiini										
PVP	25	40	6,8	-	-	-	-	-	-	-
PEG	25	40	6,8	-	-	-	-	-	-	-
b-CD	25	40	6,8	<b>-0,03</b>	<b>0,005</b>	-0,030	-0,024	-0,037	-	-
perfenatsiini/propranololi										
20/80	25	10/40	6,8	<b>-0,18</b>	<b>0,017</b>	-0,158	-0,196	-0,189	-	-
50/50	25	40/40	6,8	<b>-0,14</b>	<b>0,017</b>	-0,122	-0,137	-0,163	-	-
80/20	25	160/40	6,8	-	-	-	-	-	-	-