

Tiina Eskola

# Laktoosilaadun vaikutus märkärakeisiin, valmiiseen massaan ja tabletteihin

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Insinööri (AMK)

Bio- ja elintarviketekniikka

Insinöörityö

6.2.2017

Tekijä Otsikko  Sivumäärä Aika	Tiina Eskola Laktoosilaadun vaikutus märkärakeisiin, valmiiseen massaan ja tabletteihin 92 sivua + 1 liite 6.2.2017
Tutkinto	Insinööri (AMK)
Koulutusohjelma	Bio- ja elintarviketekniikka
Ohjaajat	Farmaseuttinen asiantuntija Juha Lintunen (Orion Oyj) Dosentti Veli-Matti Taavitsainen (Metropolia Ammattikorkeakoulu)
<p>Opinnäytetyön tavoitteena oli tutkia laboratorio-olosuhteissa partikkelikooltaan kolmen erilaisen laktoosilaadun vaikutusta märkärakeistuksessa valmistettuihin rakeisiin, valmiiseen massaan sekä kahdella eri puristusvoimalla puristettuihin tabletteihin. Opinnäytetyön kirjallisessa osiossa käsitellään muidenkin apuaineiden vaikutusta märkärakeistusprosessissa. Opinnäytetyössä asiantuntija-apuna toimi kehityspäällikkö Susanna Ilmonen Orion Oyj:stä. Opinnäytetyön toimeksiantajana toimi Orion Oyj.</p> <p>Laktoosi on laajalti käytetty apuaine tablettivalmistuksessa. Laktoosilla on hyvä puristuvuus, valuvuus, saatavuus, liukenevuus veteen, erinomainen säilyvyys, mieto maku ja ennustettava hinta. Märkärakeistus on yleisin rakeistusmenetelmä farmaseuttisessa teollisuudessa. Märkärakeistuksessa yhdistetään aktiiviset aineet ja apuaineet rakeistusnesteen ja sideaineen avulla rakeiksi, joilla on hyvät valuvuus- ja tabletointiominaisuudet. High shear- ja fluid bed -rakeistimet ovat yleisimmät märkärakeistuslaitteet.</p> <p>Saadut tulokset osoittivat laktoosilaatujen poikkeavan partikkelikoon perusteella tilastollisesti merkitsevästi toisistaan useimmissa tehdyissä kokeissa ja käytetyissä menetelmissä. Tulokset olivat Euroopan farmakopean standardimonografiamäärittysten rajoissa. Laktoosilaatujen väliset erot eivät olleet merkittäviä opinnäytetyössä tutkitun valmisteen prosessoitavuuden tai käytettävyyden kannalta.</p>	
Avainsanat	laktoosilaatu, partikkelikoko, märkärakeistus

Author Title Number of Pages Date	Tiina Eskola Effect of lactose grade on wet granules, final mass and tablets 92 pages + 1 appendix 6.2.2017
Degree	Bachelor of Engineering
Degree Programme	Biotechnology and Food Engineering
Instructors	Juha Lintunen, Senior Development Pharmacist (Orion Oyj) Veli-Matti Taavitsainen, Docent (Metropolia, University of Applied Sciences)
<p>The aim of this thesis was to examine the effect of three lactose grades made of different particle sizes on manufactured wet granules, final mass and tablets compressed with two different compression forces in laboratory conditions. The theoretical part of the thesis also deals with other excipients and their impact on wet granulation. Development Manager Susanna Ilmonen from Orion Oyj acted as an expert help on this thesis. The thesis was commissioned by Orion Oyj.</p> <p>Lactose is a widely used excipient in tablet manufacturing. Lactose has good flowability and compaction properties, availability, solubility in water, excellent stability, mild taste and predictable price. Wet granulation is the most common granulating method in pharmaceutical industry. In wet granulation, active ingredients and excipients are to be mixed with granulation fluid and bonding excipient and compressed into granules which have good flowability and tableting properties. High shear and fluid bed granulators are the most used wet granulation machines.</p> <p>The results indicated that the differences in particle size between the lactose grades were statistically significant in most performed tests and methods. The results fulfilled the requirements of European Pharmacopoeia standard monographs. The results did not have a notable effect on the processability and manufacturing robustness of this specific product.</p>	
Keywords	lactose grade, particle size, wet granulation

## Sisällys

### Termistö

1	Johdanto	1
2	Rakeiden muodostumisen teoriaa	2
3	Apuaineiden merkitys märkärakeistuksessa ja tabletoinnissa	5
3.1	Sideaineet	6
3.2	Hajotusaineet	9
3.3	Liukuaineet	10
3.4	Täyteaineet	11
3.5	Rakeistusneste	12
4	Laktoosi märkärakeistuksen apuaineena tablettivalmistuksessa	14
4.1	Laktoosilaatujen merkitys märkärakeistuksessa ja tabletoinnissa	14
4.2	Laktoosin partikkelikoon vaikutus märkärakeistuksessa ja tabletoinnissa	16
5	Rakeistusprosessi	18
5.1	High shear -rakeistusprosessiparametrien vaikutus muodostuviin rakeisiin	20
5.2	Raaka-aineen partikkelikoon vaikutus rakeistuksessa	22
6	Märkärakeistus prosessina	23
6.1	Märkärakeistustekniikoita	24
6.1.1	High shear -rakeistus	24
6.1.2	Leijupetirakeistus	29
6.2	High shear- ja leijupeti-rakeistusprosessien erot	32
6.3	Prosessimuuttajat	33
7	Tablettien puristaminen	35
8	Lääkevalmisteiden standardimääryksistä Euroopassa	38
9	Tilastollinen tarkastelu ja käytetyt tilastolliset menetelmät	39
9.1	Tilastollisen tarkastelun termistö	39
9.2	Yksisuuntainen ja kaksisuuntainen varianssianalyysi	40
9.3	Varianssianalyysin tulosten tulkintaa	42

9.4	Tulosten normaalisuuden tarkastelu	45
9.5	Tukeyn testi	47
10	Tutkimussuunnitelma	48
10.1	Laktoosilaadut	49
10.2	Rakeiden valmistus ja tableointi	50
10.3	Havainnot valmistuksesta	51
11	Määritykset rakeista ja valmiista massasta sekä testien suorittaminen	52
11.1	Kaatotilavuus	53
11.2	Partikkelikokojakauma	55
12	Määritykset tableteista ja testien suorittaminen	56
12.1	Lujuus	57
12.2	Hajoamisaika	58
12.3	Kuluvuus	60
12.4	Jakelutarkkuus	60
12.5	Paksuus	61
13	Tulokset ja tulosten tarkastelu	61
13.1	Kaatotilavuus	62
13.2	Partikkelikokojakauma	64
13.3	Lujuus	67
13.4	Hajoamisaika	71
13.5	Kuluvuus	74
13.6	Jakelutarkkuus	76
13.7	Paksuus	80
14	Johtopäätökset	84
	Lähteet	88
	Liite 1. Varianssianalyysien tulosteet	

## Termistö

### Agglomeraatio

Agglomeraatio tarkoittaa adheesioon liittyvää prosessia, jossa yksittäisiä partikkeleita pitää yhdessä heikko fysikaalinen vuorovaikutus johtaen faasin erottumiseen. Agglomeraation aiheuttavat kolloidista kokoa suuremmat saostumat. (IUPAC.)

### Euroopan farmakopea

Euroopan farmakopea (European Pharmacopoeia) eli Ph.Eur. on Euroopan neuvoston julkaisu, joka sisältää sitovat laatuvaatimukset lääkeaineille, apuaineille ja lääkevalmisteille. Euroopan farmakopean monografiat, sekä muu ohjeistus, koskevat lääkevalvontaviranomaisten, lääketukkukauppojen, apteekkien ja lääketeollisuuden toimintaa. (Euroopan farmakopea.)

### Fimea

Fimea (Finnish Medicines Agency) on Suomessa toimiva lääkealan turvallisuus- ja kehittämiskeskus, joka on sosiaali- ja terveysministeriön hallinnonalainen viranomaisena. Se ylläpitää ja parantaa väestön terveyttä valvomalla ja kehittämällä lääkealaa. (Euroopan farmakopea; Fimea.) Fimea toimii Suomessa kansallisena farmakopeaviranomaisena (Fimea).

### Formulaatio

Formulaatio tarkoittaa prosessia, jossa erilaiset kemialliset ainesosat yhdistetään lääkevalmisteen aikaansaamiseksi (valmisteen rakenne), esimerkkinä tablettivalmistus (Hassan 2012).

### GMP

GMP eli Good Manufacturing Practice tarkoittaa lääkkeiden hyviä tuotantotapoja. GMP-ohjeistus sisältää lääkevalmistukseen ja laadunvarmistukseen liittyviä menettelytapoja

ja järjestelyjä, joiden avulla voidaan varmistaa lääkkeiden valmistuksen osalta niiden täyttävän asetetut laatustandardit. (GMP.)

## Rakeet

Euroopan farmakopean rakeiden monografian (Granules) mukaan rakeet koostuvat kiinteistä ja kuivista jauhepartikkeliaggregaateista, jotka kestävät tarvittavan määrän käsittelyä. Rakeita käytetään yhden yleisimmistä lääkemuodoista, tablettien, valmistuksessa, minkä takia rakeistus on yksi tärkeimmistä yksikköoperaatioista farmaseuttisessa valmistuksessa (Patel ym. 2008). Rakeita käytetään myös kapselien valmistuksessa. Tablettien ja kapselien valmistuksessa voidaan käyttää rakeiden lisäksi myös muita apuaineita. Farmaseuttisessa teollisuudessa valmistetaan lääkemuodosta riippuen tyypillisesti 0,2–4,0 mm:n kokoisia rakeita käytettäväksi sellaisenaan tai 0,2–0,5 mm:n kokoisia rakeita käytettäväksi muiden apuaineiden kanssa osana tablettivalmistusta tai kapselien täyttämistä. (Shanmugam 2015: 55.)

Rakeet ovat tarkoitettu suun kautta annosteluun nieltynä kokonaisina, pureskeltuna, liuotettuna tai dispergoituna veteen tai muuhun sopivaan nesteeseen ennen annostelua. Ne sisältävät yhden tai useamman aktiivisen aineen sekä tarvittaessa apuaineita. Rakeita on olemassa yksittäisannoksiin pakattuina tai moniannoksisina. Rakeet voivat olla porerakeita, päällystettyjä, säädellysti lääkeainetta vapauttavia tai mahahapon kestäviä rakeita. (Ph.Eur.) Eri raetyypit ovat tarkemmin määritelty Euroopan farmakopeassa.

## Tabletit

Euroopan farmakopean Tablets-lääkemuotomonografian mukaan tabletit ovat kiinteitä valmisteita, jotka ovat yksittäisannoksissa ja sisältävät yhden tai useamman aktiivisen ainesosan. Tabletit sisältävät tarvittaessa myös apuaineita, kuten laimennosaineita (engl. diluent), täyteaineita, hajotusaineita, sideaineita (engl. binder), liukuaineita ja imeytyvyyteen vaikuttavia aineita. Ne on valmistettu homogeenisten voimien avulla puristamalla partikkeleita tai muulla hyväksyttävällä tekniikalla. Tabletit on tarkoitettu suun kautta annosteltaviksi kokonaan nieltäviksi, pureskeltaviksi, liukeneviksi tai veteen dispergoituviksi ennen annostelua. Ne voivat olla myös suussa pidettäviä limakalvolta imeytyviä lääkeainetta sisältäviä valmisteita. Tabletit ovat yleensä suorina, pyöreitä kiin-

teän sylinterin muotoisia, litteitä tai kuperia ja kulmat saattavat olla kaltevia. Niissä voi olla jakouurre, jokin symboli tai muita merkkejä, sekä ne voidaan päällystää. (Ph.Eur.)

Van der Waals -voimat

Van der Waals -voimat ovat tyypillisiä dipolimolekyyleille. Kahden dipolimolekyylin ollessa vuorovaikutuksessa toistensa kanssa, toinen dipolimolekyyli asettuu negatiivinen pää kohti toisen dipolimolekyylin positiivista päätä. (Podczeck 1998: 4.)



## 1 Johdanto

Laktoosi on käytetyin apuaine tablettivalmistuksessa (Keleb ym. 2004a: 77). Laktoosin suosio apuaineena perustuu moneen eri ominaisuuteen: hyvään puristuvuuteen muiden valmistusaineiden kanssa, erinomaiseen säilyvyyteen, vesiliukoisuuteen, vähäiseen hygroskooppisuuteen, mietoon makuun, helppoon saatavuuteen ja edulliseen hintaan (Chiu ym. 2010: 1552). Laktoosi on helposti veteen liukeneva jauhe (Ilkka ym. 1990: 150). Laktoosia käytetään täyteaineena tuomaan riittävät puristumisominaisuudet, mutta myös parantamaan hajoamisominaisuuksia (Chiu ym. 2010: 1552). Laktoosijauheiden hyvät valuvuus- ja pakkautumisominaisuudet ovat tärkeitä myös kapseli- ja tablettiteknologiassa, tosin riskinä voi olla tablettien liika kovuus ja huono hajoavuus (Bettini ym. 2004: 1; Ilkka ym. 1990: 150). Laktoosin laajaa käyttöä selittää myös sen yhteensopivuus useiden lääkeaineiden kanssa (Ilkka ym. 1990: 150). Markkinoilla on useita erilaisia laktoosilaatuja, joilla on erilaiset fysikaaliset ominaisuudet, kuten partikkelikoko ja valuvuus (Owen ym. 2006: 389). Eri laktoosilaaduilla on myös erilaiset rakeistus- ja puristuvuusominaisuudet (Keleb ym. 2004a: 77).

Märkärakeistus on yleisin rakeistusmenetelmä farmaseuttisessa teollisuudessa (Ilkka ym. 1990: 147). Rakeet valmistetaan märästä massasta, joka koostuu kuivista apuaineista (täyte- ja hajotusaineista) ja vaikuttavasta aineesta rakeistusnesteen sekä sideaineen kanssa (Ilkka ym. 1990: 147; Shanmugam 2015: 55; Hauber & Troy 2006: 896). Märkärakeistuksessa yleisimmät rakeistimet ovat high shear- ja leijupetirakeistimet. High shear -sekoittimet ovat olleet laajalti käytössä sekoituksessa ja rakeistuksessa farmaseuttisessa valmistusteollisuudessa 1970-luvulta lähtien. (Parikh & Swarbrick 1997: 152; Mackaplow ym. 2000: 32.) Leijutekniikkaa alettiin käyttää farmaseuttisessa valmistuksessa vuonna 1964, mutta tekniikka keksittiin jo vuonna 1942 (Parikh & Swarbrick 1997: 228–229). High shear- ja leijupetirakeistusta käsitellään tarkemmin luvussa 6.

Aikaisemmin julkaistuissa tutkimuksissa on saatu selville, että laktoosilaaduilla on suuri vaikutus rakeiden ominaisuuksiin high shear -rakeistuksessa sekä tablettien ominaisuuksiin (Keleb ym. 2004b: 679). Laktoosin partikkelikoolla ja morfologialla on suuri merkitys myös high shear -rakeistuksessa, merkittäviä eroja on havaittu high shear -rakeistuksen jälkeen (Keleb ym. 2004b: 690).

Opinnäytetyön koeasetelma on erilainen verrattuna moniin aikaisempiin tutkimuksiin. Kirjallisessa osiossa esiteltävistä tutkimuksista missään ei ole ollut mukana laktoosia, jonka partikkelikoko olisi ollut yhtä pieni (5,7  $\mu\text{m}$ ) kuin tässä opinnäytetyössä. Kahden erilaisen puristusvoiman (5 kN ja 11 kN) käyttämistä eri laktoosilaatuja sisältävien tablettien valmistuksessa ei ole aikaisemmin tutkittu kirjallisessa osiossa käsittelemiä tutkimusten mukaan.

Opinnäytetyön tavoitteena oli selvittää kokeellisesti laboratorio-olosuhteissa, onko hienolla (5,7  $\mu\text{m}$ ), karkealla (160  $\mu\text{m}$ ) ja standardilaktoosilaadulla (100  $\mu\text{m}$ ) vaikutusta märkärakeisiin, valmiiseen massaan sekä siitä puristettuihin tabletteihin. Tässä opinnäytetyössä käytetty hieno laktoosilaatu on yleisesti käytössä inhalaatiovalmisteissa, karkea laktoosilaatu massasta valmistettavissa suorapuristusvalmisteissa ja standardilaktoosilaatu rakeistettavissa valmisteissa. Tabletit puristettiin kahdella eri puristusvoimalla: yleisesti tabletoinneissa käytettävällä puristusvoimalla 5 kN ja suuremmalla puristusvoimalla 11 kN. Valmistetusta massasta tehtiin kaatotilavuusmääritys sekä partikkelikojakaumamääritys, joka tehtiin lisäksi seulomattomista rakeista (luku 11). Puristetuista tableteista määritettiin kuluvuus, lujuus, jakelutarkkuus, hajoamisaika ja paksuus (luku 12). Opinnäytetyössä käsitellään myös muiden apuaineiden vaikutusta märkärakeistusprosessissa.

Toimeksiantajana insinööriyössä toimi Orion Oyj. Työn ohjaajana Orion Oyj:n puolelta toimi farmaseuttinen asiantuntija Juha Lintunen ja asiantuntija-apuna kehityspäällikkö Susanna Ilmonen. Metropolia Ammattikorkeakoulun puolesta ohjaavana opettajana oli dosentti Veli-Matti Taavitsainen.

## **2 Rakeiden muodostumisen teoriaa**

Rakeistuksessa partikkelikokoa kasvatetaan agglomeraation avulla, minkä takia adheesiovoimat partikkelien välillä ovat tärkeä osa valmistusprosessia myös mekaanisen kestävyden kannalta (Shanmugam 2015: 55; Parikh & Swarbrick 1997: 3). Rakeistuksessa tarkoituksena on saada aikaiseksi tarpeeksi vahvoja sidoksia jauhepartikkeleiden välille, etteivät rakeet hajoaisi rakeistusta seuraavissa käsittelyprosesseissa. Tarvittavien voimien suuruus riippuu partikkelien koosta, rakeiden rakenteesta, kosteussällöstä ja nesteen pintajännityksestä. (Parikh & Swarbrick 1997: 9.)

Jauhepartikkelien agglomeroituminen voi tapahtua partikkelien sisäisillä van der Waalsin voimilla, jolloin ei hyödynnetä ulkopuolista energiaa. Van der Waalsin voimat voivat joko vähentää partikkeleiden pinta-alan vapaata energiaa, tai voidaan muodostaa ulkoisilla voimilla agglomeraatteja käyttäen mekaanista energiaa (kuivarakeistus) tai nestemäistä sideainetta (märkärakeistus). (Podczek 1998: 120.)

Partikkelien väliset vetovoimat agglomeraattien sisällä on jaettu viiteen päämekanismiin, tosin yleensä näistä tekijöistä useampi vaikuttaa samanaikaisesti (Parikh & Swarbrick 1997: 10; Podczek 1998: 120):

1. Adheesiovoimat toimivat sideainesiltona, minkä aiheuttavat liikkumattomat nestepinnat. Kontaktipinta-ala partikkelien välillä suurenee ja välimatka pienenee.
2. Vapaasti liikkuvilla nestepinnoilla vaikuttavat rajapintavoimat ja kapillaaripaine.
3. Kiinteät sillat, jotka johtuvat esimerkiksi hankauksesta, uudelleenkiteytymisprosessista tai nestemäisten sideaineiden kovettamisesta.
4. Kiinteiden partikkelien väliset vetovoimat, esimerkiksi van der Waals -voimat.
5. Muodossa pysyvät sidokset tai yhteen liittyneet sidokset, jotka johtuvat esimerkiksi kontaktissa olevien partikkeleiden epäsäännöllisyydestä. (Parikh & Swarbrick 1997: 10; Podczek 1998: 120.)

Rakeiden muodostuminen märkärakeistuksessa

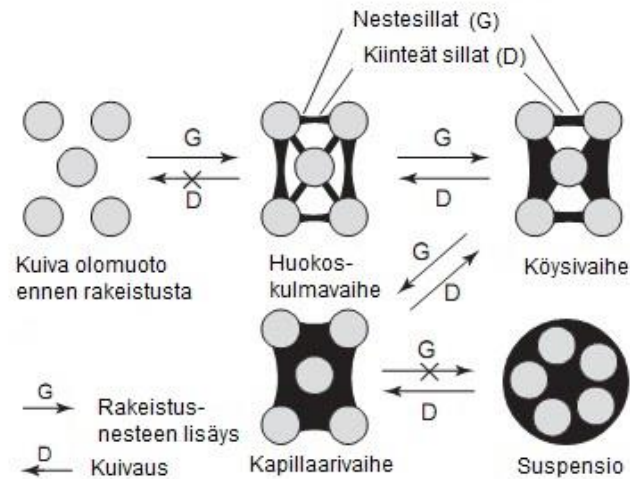
Märkärakeistuksessa partikkeleiden yhteenliittyminen johtuu pääasiassa rakeistusnestestä aiheutuvista kapillaarivoimista (Podczek 1998: 120). Massan sekoittaminen rakeistimessa tuo partikkelit lähemmäksi toisiaan, jolloin rakeiden sisäinen huokoisuus vähenee aggregaateissa ja kosteuspitoisuuden ollessa riittävä huokokset tulevat kyllästetyiksi (Parikh & Swarbrick 1997: 13).

Partikkelien sidosten muodostumiseen vaikuttavat voimat, kuten kosteiden partikkeleiden koheesio ja adheesio (Parikh & Swarbrick 1997: 9). Märkärakeistuksen agglomeraatioprosessissa kiinteiden partikkeleiden välille muodostuvat nestesillat, jotka aikaansaavat koheesiiviset voimat. Koheesiivisten voimien lisäksi molekyyli-sidoksilla, van der

Waals- ja elektrostaattisilla voimilla on myös oma roolinsa agglomeraatioprosessissa. Molekyyliden välisistä vetovoimista van der Waals -voimat ovat tärkeimmät, koska ne pääasiassa vaikuttavat molekyyliden välisten sidosten syntymisessä. (Parikh & Swarbrick 1997: 11.) Sidosten muodostumismekanismiin vaikuttavat myös kapillaariset ja faasien väliset voimat partikkeleiden välillä. Märkärakeistusprosessit ovat usein tasapainottelua agglomeraatiokasvun ja partikkelien rikkoutumisen välillä. (Parikh & Swarbrick 1997: 13.)

Agglomeraattien kasvulle märkärakeistuksen aikana voidaan määritellä kolmesta neljään eri tasoa (Kuva 1). Tasot esiteltynä alla:

1. Huokoskulmavaiheen (engl. pendular) aiheuttaa pieni nestemäärän lisäys. Pieni muodostunut diskreetti kontaktikohta on nesteen ja partikkeleiden välillä. Kapillaarivoimat ovat edelleen hyvin pienet.
2. ”Köysivaihe” (engl. funicular) johtuu kasvaneesta nesteen määrästä. Partikkeleita ympäröivä nesteverkosto ei ole vielä valmis ja ilmataskuja esiintyy. Kapillaarivoimat todennäköisesti saavuttavat maksimiarvonsa.
3. Kapillaarivaihe, jossa partikkeleiden välinen tyhjä tila on täytetty kokonaan nesteellä. Kuperankovera muodostelma on partikkelien välisillä pinnoilla agglomeraatin ulkopuolella. Kapillaarivoimat ovat pudonneet hajottavan paineen kasvun vaikutuksesta.
4. Agglomeraatti on kokonaan ympäröity nesteellä, esimerkiksi jauhemassa sisältää yltäkyläisesti kosteutta. Suuren hajottavan paineen takia kapillaarivoimat ovat merkittävästi vähentyneet. (Podczek 1998: 121.)



Kuva 1. Veden jakautuminen partikkelien välillä rakeiden muodostuksen ja kuivaamisen aikana (Pharma Tips).

Märkärakeistuksen pääasiallisena etuna on, että rakeita voidaan muodostaa ja tiivistää ilman, että kapillaarivoimat heikentyvät. Kuivausprosessin aikana liuenneiden aineiden uudelleenkiteytyminen voi johtaa myös vahvuutta lisääviin kiinteisiin siltoihin. (Podczek 1998: 120.)

### 3 Apuaineiden merkitys märkärakeistuksessa ja tabletoinnissa

Apuaineiden käytön tarkoituksena on esimerkiksi parantaa valmisteen prosessointia, kuten valuvuutta, jauheen puristuvuutta, edesauttaa tunnistamisessa, optimoida valmistetta (esimerkiksi säännöstelty lääkkeen vapautuminen) ja vaikuttaa potilasmyöntyvyyteen (esimerkiksi pahan maun peittäminen). Formulaatiomassa voi sisältää apuaineita 1–99 %, minkä takia apuaineilla on merkittävä rooli formulaation ominaisuuksiin. (Dave ym. 2015: 906.)

Märkärakeistuksessa voidaan käyttää erilaisia rakeiden muodostumisen ja hajoamisen kannalta tärkeitä apuaineita. Raaka-aineiden materiaalien ominaisuuksilla on vaikutusta esimerkiksi rakeiden muodostumiseen ja kasvuun. Raaka-aineilla tulisi olla hyvät vettymisominaisuudet, mikäli neste ei jakaudu täydellisesti massassa. Raaka-aineen vettymisominaisuuksien avulla voidaan kontrolloida rakeiden kasvua. (Patel ym. 2008.)

Apuaineiden funktionaalisuus ei johdu pelkästään niiden luontaisista ominaisuuksista, vaan siihen vaikuttaa myös mihin formulaatioon ja sovelluksiin apuaineita käytetään. Apuaineiden ominaisuuksien parempi ymmärtäminen ja suhteet funktionaalisuuteen voivat helpottaa valmistajia valitsemaan sopivia apuaineita. (Chiu ym. 2010: 1552.) Esimerkkinä sideaineen polyvinyylipyrrolidoni (PVP, povidoni) vaikutus laktoosiin high shear -rakeistuksessa: tehdyn tutkimuksen mukaan astian lämpötila laski polyvinyylipyrrolidonia käytettäessä ja laktoosin partikkelikoko kasvoi, jolloin partikkelin pinta-alan pienenessä partikkelin liukuminen parani (Keleb ym. 2004b: 682).

Apuaineilta vaaditaan turvallisuus-, laatu- ja funktionaalisten kriteereiden täyttämistä viranomais määräysten mukaan ennen kuin ne voidaan ottaa käyttöön osana valmistettua. Apuaineiden kehittäminen on iso prosessi turvallisuuden ja toksikologian kannalta, kuten uuden lääkeaineen kehittäminenkin. (Dave ym. 2015: 906.)

Apuaineiden teoriaa kerrotaan yleisesti tässä luvussa, mutta opinnäytetyön kokeellinen osa perustuu laktoosiin apuaineena märkärakeistuksessa ja tabletoinnissa. Laktoosia käsitellään seuraavassa pääluvussa (luku 4).

### 3.1 Sideaineet

Sideaineet ovat adhesiiveja, joita lisätään tablettiformulaatioon (Ilkka ym. 1990: 151). Sideaine voidaan liuottaa rakeistusnesteeseen, joka lisätään rakeistettavaan jauheseokseen, tai se voidaan sekoittaa kuivana jauheseokseen, minkä jälkeen rakeistusneste lisätään rakeistettavaan massaan (Parikh & Swarbrick 1997: 72). Jauhemassaa kostutetaan sideaineliuoksella kunnes massan koostumus muistuttaa kosteaa lunta tai ruskeaa sokeria (Hauber & Troy 2006: 898).

Sideaineiden tarkoitus on edesauttaa kiinteiden partikkelien välille syntyvien sidosten muodostumista, jolloin saadaan puristettua tabletti (Ilkka ym. 1990: 151). Kestävien sidosten muodostumiseen hiukkasten välille tarvitaan sideaineita, jolloin sideaine muodostaa sisäisen matriisin (Ilkka ym. 1990: 151; Patel ym. 2008). Hiukkasten ja rakeiden puristumisen kannalta olennaista on niiden sisältämä kosteus (Ilkka ym. 1990: 151).

Nestemäisellä sideaineella on suuri rooli rakeistusoperaatiossa, koska se vaikuttaa pääasiassa rakeiden kasvuun ja kasvumekanismiin, minkä takia se vaikuttaa myös lopulliseen partikkelikokojakaumaan (Guigon ym. 2005: 3770; Podczech 1998: 121).

Rakeiden muodostumiseen vaikuttavat kiinteät sillat ovat tärkeitä sitovia tekijöitä, koska ne kontrolloivat lopullista raekokoja (Podczeczek 1998: 121). Rakeiden muodostumiseen ja kasvuun vaikuttavaa sideainenesteen kontaktikulma kiinteisiin aineisiin, partikkeleiden liukoisuus sideainenesteeseen, kiinteiden aineiden partikkelikoon keskiarvo ja kokojakauma, partikkelien muoto ja pinta-alan morfologia sekä kiinteiden aineiden pakautumisominaisuudet (Patel ym. 2008). Kiinteän aineen kostuneisuus riippuu olennaisesti nesteen luonteesta (Guigon ym. 2005: 3770). Sideaineen määrä yleensä määrittää painon eikä tilavuuden mukaan, jolloin voidaan päättää sideaineliuokseen laitettavien kiinteiden aineiden määrä. Seoksesta tulee osa rakeistusmassaa, joka on otettava huomioon puristettavan tabletin painossa. (Hauber & Troy 2006: 892.)

Sitoutumisominaisuuksia voidaan parantaa liuottimen, kuten veden avulla. Liuotin auttaa hiukkasten pintaosien liukenemisessä, minkä jälkeen kuivauksessa ne jälleen kiteytyvät. Märkärakeistuksessa käytetään hyväksi edellä mainittuja ominaisuuksia. (Ilkka ym. 1990: 151.) Sideaineen mekaaniset ominaisuudet määrittävät sideaineen lujuuden ja sideaineen matriisiin käyttäytymismallin. Rakeiden lujuuden lisääntyessä myös sideaineen konsentraatio kasvaa. (Patel ym. 2008.)

Korkeasti viskoosisilla sideaineilla, kuten povidoni ja hydroksipropyylimetyyliselluloosa, (HPMC) jäljelle jäävä kosteus on pääasiassa ei-kovettuneena sideainenesteenä, ja sen takia kapillaarivoimat ovat hyvin tärkeitä lopullisen rakeiden keston kannalta. Kapillaarivoimien laajuus riippuu tässä tilanteessa rakeistusnesteen pintajännityksestä, jauhepinnan pinnalla olevan rakeistusnesteen kontaktikulmasta, partikkeleiden välisestä etäisyydestä, johon voi vaikuttaa rakeistusmenetelmä ja muodostuneiden nestesiltojen tilavuus. (Podczeczek 1998: 121.)

Sideaineella on merkitystä rakeiden kulumisominaisuuksien kannalta. Laktoosimonohydraatista tehdyillä rakeilla sideaine sekä sen konsentraatio vaikuttavat rakeiden kulumisominaisuuksiin. Sideaineen korkeampi konsentraatio on yhteydessä tasaisempaan rakeiden pintaan, vähäisempään kulumiseen ja rakeiden hajoamiseen, mikä myötävaikuttaa kiinteiden siltojen muodostumiseen. (Podczeczek 1998: 125.)

Sideaineen konsentraation kasvattaminen vaikuttaa oletettavasti kapillaarivoimien kasvuun, mikä parantaa rakeiden mekaanista kestävyyttä. Havainto on tehty tutkittaessa sideaineena käytettävää povidonia, HPMC:a ja gelatiinia. Tutkimuksissa on tosin myös todettu, että PVP- ja HPMC-sideaineliuoksen kanssa valmistetuilla laktoosirakeilla on

huonompi lujuus. Rakeiden mekaanisen kestävyuden väheneminen johtui lisääntyneestä halkeamisten etenemisestä, minkä aiheutti kasvanut rakeiden huokoisuus. (Podczeck 1998: 125.) Tutkimuksessa käytettäessä pelkkää polyvinyylipyrrolidonia sideaineena partikkelit olivat hydrofiilisempia ja kosteat pinnat muodostuivat vahvemiksi ja vähemmän hauraiksi rakeiksi kuin partikkelit, joilla on hydrofobinen pinta. Olettavasti sideaineen lujasti sitoutuessa partikkeleiden pinnalle sideaineen ja partikkelin väliset sidokset ovat vahvoja, mutta sideaineverkosto ei ole lujittunut. (Podczeck 1998: 126.)

Sideaine voidaan lisätä kuivana jauheseoksen sekaan, minkä jälkeen rakeistusneste lisätään rakeistettavaan massaan, mutta silloin paikallinen viskositeetti voi olla korkeampi ja vastustaa nesteen tasaista jakautumista. Sideaineen mahdollisen huonon liukenemisen vuoksi on myös asetettava sideaineelle suurempi konsentraatio. (Parikh & Swarbrick 1997: 72.) Nestemäisen sideaineen viskositeetin ollessa korkeampi viskositeetti on tärkeä parametri rakeiden käyttäytymisen kontrolloimisessa (Guigon ym. 2005: 3764). Ghadiri ym. (2011: 517) tutkimuksessaan selvitti, että sideaineen viskositeetin kasvaessa lujuus huomattavasti huononee. Lujuusjakauma on laajempi huonon sideaineen levittymisen takia jauhepedissä. Korkea sideaineen viskositeetti saa aikaan vahvoja partikkelin sisäisiä siltoja, mikä altistaa epämuodostumille ja hankaloittaa partikkelien yhteensovittamista. (Ghadiri ym. 2011: 517.)

#### Sideaineiden luokittelu

Sideaineet luokitellaan kolmeen eri ryhmään: luonnollisiin polymeereihin, synteettisiin polymeereihin ja sokereihin. Luonnollisista polymeereistä tärkkelys on yksi tableteissa eniten käytetyistä sideaineista. Se on yleisesti hyväksytty turvalliseksi materiaaliksi (engl. Generally Recognized as Safe, GRAS). (Parikh & Swarbrick 1997: 60.) Tärkkelyspastaa käytetään 5–25 % konsentraationa tablettirakeistuksessa (Parikh & Swarbrick 1997: 61).

Suurin osa nykyaikaisista liuoksessa käytettävistä sideaineista ovat polymeerejä. Niillä on hyvät valuvuus- ja levittäytymisominaisuudet, mitkä ovat tärkeitä ominaisuuksia sopivaa rakeistuslaitteistoa valittaessa. (Hauber & Troy 2006: 892.)



Synteettisistä polymeereistä polyvinyylipyrrolidoni on monipuolinen ja käytetyin sideaine (Parikh & Swarbrick 1997: 63). Sitä käytetään 0,5–5 % sideainekonsentraationa (Parikh & Swarbrick 1997: 64). Povidonia käytetään sideaineena esimerkiksi vesi- tai alkoholiliuoksessa (Hauber & Troy 2006: 892).

Sideaineena käytetyistä sokereista yksi on glukoosi (dekstroosi), joka siirappina esiintyessään on alle 50 % konsentraatioissa märkärakeistusprosesseissa. Glukoosilla on hyvät sidostenmuodostamisominaisuudet. (Parikh & Swarbrick 1997: 66.)

### Sideaineen valinta

Sideaineen valinta perustuu yleensä empiiriseen tutkimukseen sekä aikaisempiin kokemuksiin valmisteen formulaatiosta. Määrä saadaan myös määritettyä optimointitutkimuksilla, joissa parametreina ovat rakeiden tai tabletin murenevuus, kovuus, hajoamisaika ja lääkkeen dissoluutio eli lääkeaineen vapautuminen valmisteesta. (Parikh & Swarbrick 1997: 60.)

Sideaineen tehokkuuteen vaikuttavia tekijöitä valmisteessa on useita, esimerkiksi konsentraatio, viskositeetti, sideaineen mekaaniset ominaisuudet, lääkeaineen ja muiden apuaineiden ominaisuudet, sideaineen ja vaikuttavan aineen interaktiot sekä sideaineen jakautuminen valmisteessa (Parikh & Swarbrick 1997: 67).

Märkärakeistuksen aikana sideaine muodostaa sisäisen matriisin, joka syntyy nimenomaan rakeiden kuivaamisen aikana. Rakeiden tai tablettien sideaineen konsentraation kasvaessa myös rakeiden tai tablettien vahvuus kasvaa. (Parikh & Swarbrick 1997: 67.) Sideaineen mekaaniset ja kalvonmuodostamisominaisuudet määrittävät sideaineen matriisin vahvuuden ja muodostumiskäyttäytymisen, mikä taas ensisijaisesti määrittää sideaineen tehokkuuden (Parikh & Swarbrick 1997: 68).

### 3.2 Hajotusaineet

Tablettien hajoamisen kannalta myös hajotusaineet ovat tärkeitä, erityisesti silloin kun tablettien tulee hajota ruoansulatuskanavassa ja vapauttaa lääkeaine mahdollisimman nopeasti ja täydellisesti. Hajotusaineet lisätään yleensä ennen rakeistusta, jolloin ne auttavat tabletin hajoamista pienimpiin hiukkasiin asti. Niitä voidaan lisätä myös valmii-

siin rakeisiin ennen tabletin puristusta, mikäli halutaan tabletin hajoavan nopeammin rakeiksi. (Ilkka ym. 1990: 153.)

Hajotusaineena käytetään esimerkiksi tärkkelystä sideaineena käyttämisen lisäksi. Tärkkelys on yksi suosituimmista hajotusaineista. (Ilkka ym. 1990: 150.) Mikrokiteistä selluloosaa käytetään myös hajotusaineena sekä täyte- ja sideaineena. Ristisidottu natriumkarboksimeetyyliselluloosa on todella tehokas hajotusaine, jota tarvitaan vain 0,5 – 1,5 % hajottamaan mekaanisesti luja tabletti vedessä tai ruoansulatusnesteessä jopa alle minuutissa. (Ilkka ym. 1990: 153.)

### 3.3 Liukuaineet

Liukuaineilla on paljon erilaisia funktioita tablettivalmistuksessa (Hauber & Troy 2006: 892). Rakeiden liukuaineet auttavat pieninä konsentraatioina parantamaan jauheiden ja rakeistettujen seosten valumista (Ilkka ym. 1990: 154). Ne estävät tablettimateriaalin adheesiota painimia kohtaan ja vähentävät partikkeleiden välistä kitkaa. Tablettirakeistuksessa liukuaineet saattavat parantaa valuvuusnopeutta. (Hauber & Troy 2006: 892.)

Rakeistuksessa liukuaineen lisäysmenetelmä on tärkeä (Hauber & Troy 2006: 892). Liukuaineet sekoitetaan erittäin hienojakoisina ja varovasti oikeanlaisen seoksen aikaansaamiseksi. Liukuaine olisi tarkoitus saada jakautumaan hiukkasten pinnalle monopartikulaarisena kerroksena, mutta tämä on saavuttamattomissa oleva ideaaltilanne. (Ilkka ym. 1990: 154.) Rakeiden ulkopuolella käytettäessä liukuaine tulisi seuloa hienoksi rakeistusmassaan lisättäessä ja sekoittaa kevyesti, etteivät partikkelit päälysty liikaa liukuaineella tai hajoa hienommiksi partikkeleiksi (Hauber & Troy 2006: 892). Liukuaine sekoitetaan jauheseokseen tai rakeisiin juuri ennen tabletointia, jolloin liukuainehiukkaset tarttuvat rakeiden tai kiteiden pintaan. Liukuaineiden vaikutus on prosessin kannalta silloin tehokkainta ja haitallisten ominaisuuksien (hydrofobisuus) muodostuminen on vähäistä. (Ilkka ym. 1990: 154.) Liukuaine voidaan lisätä myös suspension tai emulsion muodossa rakeistettavaan massa (Hauber & Troy 2006: 892).

Tabletointiprosessin sujumisen kannalta liukuainetta on käytettävä yleensä aina tableteissa. Liukuaineet parantavat tablettien valumisominaisuuksia, pienentävät muotin seinän kitkaa ja estävät seoksen tarttumisen paininten ja muotin seinän pintaan. Liukuaineet jaotellaan kolmeen eri ryhmään: rakeiden liukuaineet, muotin liukuaineet ja adheesioneitoaineet. (Ilkka ym. 1990: 154.)

Tabletoitavan seoksen optimikonsentraatio on riippuvainen sen kokonaispinta-alasta. Seoksen valuvuusominaisuudet huononevat, mikäli liukuainetta käytetään ylimäärin. Liukuaine kulkeutuu tällöin rakeiden välisiin tiloihin, rakeiden vieriminen vaikeutuu ja kitka suurenee. (Ilkka ym. 1990: 154.) Tutkimusten mukaan liukuaineen ja muiden apuaineiden sekoittamisella voi olla myös merkittävä vaikutus lopullisen annosmuodon valmistamiseen tai ulkomuotoon. Ylisekoittuminen voi vaikuttaa muodostuneen tabletin lujuteen, hajoamisaikaan ja dissoluutio-ominaisuuksiin. (Hauber & Troy 2006: 892.)

Liukuainetta valittaessa tulee myös huomioida puristuvuus yhdessä lääkeaineen kanssa (Hauber & Troy 2006: 892). Rakeissa liukuaineiksi sopivat useat orgaaniset ja epäorgaaniset yhdisteet (Ilkka ym. 1990: 154). Liukuaineista eniten käytetty ja tehokkain on magnesiumstearaatti. Magnesiumstearaatin käyttö voi aiheuttaa puristuvuus- ja dissoluutio-ongelmia, minkä takia sen konsentraatio, laatu ja sekoitusparametrit tulee erityisesti huomioida sitä käytettäessä. (Carter: 2001-2006.)

### 3.4 Täyteaineet

Täyteaineita (engl. fillers) käytetään yleensä tabletin tai rakeiden koon täsmäämiseksi sopivaksi. Täyteaineiden tarve on yleensä väistämätön silloin, kun tabletin sisältämä lääkeainemäärä on vähäinen. Täyteaineilla on myös funktio tabletin tai rakeiden kanssa pysymisen tai hajoamisen kannalta. (Ilkka ym. 1990: 150.)

Laktoosi on mahdollisesti käytetyin tablettien täyteaine fysikaalis-kemiallisten ominaisuuksiensa ja edullisen hintansa takia. Laktoosi on valkoinen, hajuton, makeahko ja veteen helposti liukeneva jauhe. Ongelmana tabletoinnin aikana laktoosin prosessoitavuudessa on tiivistyminen murtumalla ja pilkkoutuneiden osasten hyvä sitoutuminen, minkä takia tableteista voi tulla helposti liian kovia ja huonosti hajoavia. (Ilkka ym. 1990: 150.)

Täyteaineina käytetään myös esimerkiksi tärkkelystä, mikrokiteistä selluloosaa ja kalsiumvetyfosfaattia (Ilkka ym. 1990: 150). Tärkkelys saadaan kasvimateriaalista ja mikrokiteinen selluloosa valmistetaan hydrolysoimalla selluloosaa (Ilkka ym. 1990: 150, 151). Kalsiumvetyfosfaatti valmistetaan fosfaattipitoisesta mineraalista (Ilkka ym. 1990: 151). Tärkkelystä käytetään täyteaineen lisäksi sideaineena etenkin rakeistettuna tai rakeistusnesteen osana (Ilkka ym. 1990: 150). Mikrokiteistä selluloosaa pidetään melkein ihanteellisena tablettiapuaineena, koska se kuuluu parhaiten sitoviin apuaineisiin.

Huonona puolena mikrokiteisellä selluloosalla on sen suuri kaatotilavuus ja sitä kautta huono valuminen. Kalsiumvetyfosfaattia käytetään suorapuristusapuaineena sekä etuna sillä on kohtuullisen edullinen hinta. (Ilkka ym. 1990: 151.)

### 3.5 Rakeistusneste

Märkärakeistuksessa käytetään materiaalille soveltuvaa rakeistusnestettä helpottamaan agglomeraatioprosessia (Parikh & Swarbrick 1997: 9). Rakeistusnesteen määrällä ja ominaisuuksilla on merkitystä lopputuotteen kannalta. Rakeistusnesteen ratkaisevia ominaisuuksia ovat pintajännitys, viskositeetti ja adhesiivisuus. Massaan lisättävien aineiden partikkelikoko ja -kokojakauma, ominaispinta-ala sekä liukoisuus rakeistusnesteeseen ovat myös tärkeitä ominaisuuksia lopputuotteen kannalta. Massan kosteus (engl. wettability) ja pakkautumisominaisuudet vaikuttavat lopputuotteeseen. (Parikh & Swarbrick 1997: 172.)

Jauheseoksen rakeistaminen tapahtuu joko sideaineen tai nesteen avulla (Narang & Mahato 2012: 329). Märkärakeistuksessa sideaine on normaalisti sekoitettu liukseen, mutta se voidaan vaihtoehtoisesti myös lisätä kuiva-aineena jauheseokseen, jolloin sideaineen lisäämiselläkin on oma vaikutuksensa valmistettavaan massaan (Adams ym. 1977: 1462; Narang & Mahato 2012: 329). Rakeistusnesteenä eli liuottimena käytetään yleensä vettä (Patel ym. 2008). Etanoli ei enää ole suositeltava vaihtoehto turvallisuuden ja ympäristöystävällisyyden kannalta (Narang & Mahato 2012: 329). Nesteenjakautumisen ensimmäinen vaihe on yleensä suoritettu sumuttamalla tai pirskottamalla neste jauheen joukkoon (Hounslow ym. 1998: 247).

Monissa kaupallisissa märkärakeistusprosesseissa kiinteä aine ja rakeistusneste ovat vuorovaikutuksessa toistensa kanssa. Tärkeitä materiaalin ominaisuuksia ovat koko, kokojakauma, kiinteän aineen muoto, nesteen pintajännitys ja viskositeetti sekä kiinteän aineen kostuminen nesteellä neste-kiinteän aineen kontaktikulmasta ajatellen (Hounslow ym. 1998: 247). Yhteisvaikutukseen kuuluvat kiteytyminen, nesteen imeytyminen ja kemialliset reaktiot. Lääkeaineen liukoisuus tulee ottaa huomioon rakeistusnesteen tilavuutta säädettäessä, kun se on hyvin konsentroitunutta. (Chulia ym. 2009: 146.) Fysikaaliset tai kemialliset yhteisvaikutukset voivat vaikuttaa monimutkaisesti prosessiin, jolloin prosessin lopputulosten tulkinta voi olla haasteellista (Hounslow ym. 1998: 247).

Optimaalinen rakeistusnestekonsentraatio vaihtelee erilaisten rakeistustekniikoiden mukaan. High shear -rakeistuksessa tulee ottaa huomioon formulaatiosta riippuen rakeistusnesteen kapea käyttömarginaali rakeiden kasvun saavuttamisen ja ylivettymisen välillä, minkä takia on kiinnitettävä erityistä huomiota rakeistusnesteen käyttöön rakeistuksen aikana (Patel ym. 2008; Pharmaceutical Manufacturing). Rakeiden kasvamisen tulisi olla optimaalista eikä rakeistettava massa saisi ylikostua, koska silloin rakeista tulee kovia (Hauber & Troy 2006: 898; Pharmaceutical Manufacturing). Rakeiden kovuus taas vaikuttaa tabletoinnissa tarvittavaan puristusvoimaan, jotta saadaan muodostettua tietyn tavoitelujuuden omaavia tabletteja. Ylikostuminen aiheuttaa myös laukkaita tabletteja. Jauheseoksen ollessa liian vähäisesti kostunut rakeista tulee pehmeitä, jolloin ne hajoilevat liukuainetta lisättäessä aiheuttaen vaikeuksia puristuksen aikana. (Hauber & Troy 2006: 898.) High shear -rakeistimen sekoittajan vääntömomentin avulla voidaan tarkkailla pinnan kostuneisuutta. Nesteen suhde kiinteään aineeseen vaatii nesteen suhteen kasvua suhteessa kiinteän aineen koon pienentymiseen. (Hounslow ym. 1998: 257.)

High shear -rakeistuksessa rakeistusnesteen määrä vaihtelee rakeiden koon mukaan, hienot rakeet sisältävät merkittävästi vähemmän nestettä kuin karkeat rakeet, jopa pitkien sekoitusaikojen jälkeen (Hounslow ym. 1998: 257). Rakeistusnesteen lisäysmenetelmä vaikuttaa raekokojakaumaan ja kasvukäytökseen. Kiinteän aineen partikkelikoko on kriittinen parametri. Hounslow ym. (1998: 246) saivat tutkimuksissaan selville, että pienentämällä kiinteän aineen kokoa neste-kiinteän aineen suhde nousi, kaksihuippuinen raekokojakauma tuli ilmeisemmäksi ja rakeiden puristuneisuusaste jäi pienemmäksi. Rakeistusnesteen virtausnopeuteen voidaan vaikuttaa veden painetta (pumpaus) sekä suuttimien kokoa ja asentoa muuttamalla (Adams ym. 1977: 1462).

Isommassa mittakaavassa high shear -rakeistuksessa mekaanisella sekoittamisella on iso rooli ja alkuperäisen nesteen jakautumisella pienempi. Mekaaninen sekoittaminen mahdollistaa massan sekoittamisen pienempään skaalaan ja yksittäisiin partikkeleihin asti. Sekoituksen avulla jauheen sumutuksen kanssa kosketuksessa olevaa pinta-alaa voidaan kasvattaa. (Hounslow ym. 1998: 247.) Intensiivisen massan kostuttamisen ja rakeiden tiivistymisen takia rakeistusnestettä tarvitaan yleensä vähemmän high shear -sekoittajilla kuin pienemmällä kierrosnopeuden sekoittajilla (engl. low shear) (Patel ym. 2008; Pharmaceutical Manufacturing).

Rakeistusnestettä valittaessa tulee huomioida liuoksen haihtuminen. Sekoittajan pyörimisnopeus vaikuttaa nesteen vaatimuksiin, ja varsinkin high shear -rakeistimissa voimakas sekoittaminen nostaa lämpötilaa, mikä näkyy liuottimen haihtumisena (Patel ym. 2008; Pharmaceutical Manufacturing).

#### **4 Laktoosi märkärakeistuksen apuaineena tablettivalmistuksessa**

Laktoosia valmistetaan maidon herasta kiteytys- ja kuivatusprosessein (Ilkka ym. 1990: 150). Laktoosi on käytetyin apuaine tablettivalmistuksessa (Keleb ym. 2004a: 77). Laktoosia käytetään täyte- sekä sideaineena tuomaan riittävät puristuvuusominaisuudet, mutta myös parantamaan hajoamisominaisuuksia. Laktoosin suosio apuaineena perustuu moneen eri asiaan: hyvään puristuvuuteen muiden valmistusaineiden kanssa, erinomaiseen säilyvyyteen, vesiliukoisuuteen, vähäiseen hygroskooppisuuteen, mietoon makuun, helppoon saatavuuteen ja edulliseen hintaan. (Chiu ym. 2010: 1552.) Laktoosijauheiden hyvät valuvuus- ja pakkautumisominaisuudet ovat tärkeitä myös kapseli- ja tablettiteknologiassa (Bettini ym. 2004: 1).

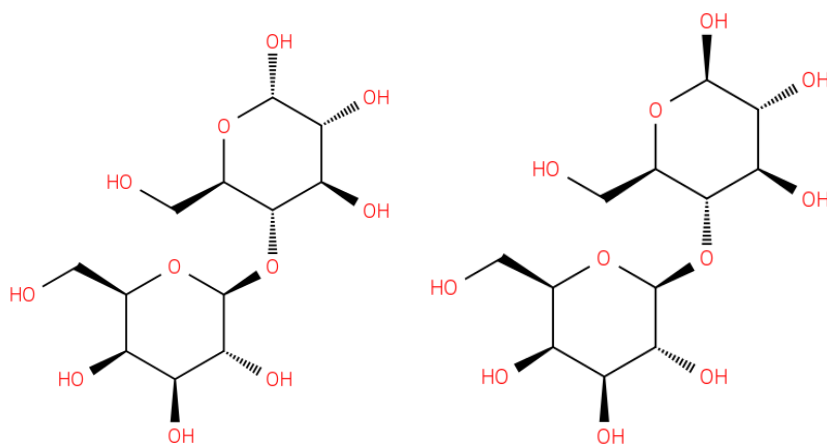
Laktoosia käytetään sideaineena tableteissa ja kapseleissa sekä apuaineena inhalaatioissa, jauheseoksissa ja tableteissa. Laktoosi on laajalti käytetty täyte- ja apuaine tableteissa sekä kapseleissa. (Owen ym. 2006: 389.) Laktoosi on helposti veteen liukeneva jauhe, jolla on suhteellisen edullinen hinta. Laktoosin ominaisuutena on hyvä sitoutuvuus tabletteja puristettaessa, mutta riskinä on tablettien liika kovuus ja huono hajoavuus. Tablettien kovettuminen voi jatkua vielä säilymisenkin aikana, ja sitä voidaan ehkäistä yhdistämällä laktoosi esimerkiksi tärkkelykseen. Laktoosin laajaa käyttöä selittää myös sen yhteen sopiminen useiden lääkeaineiden kanssa. (Ilkka ym. 1990: 150.)

##### **4.1 Laktoosilaatujen merkitys märkärakeistuksessa ja tabletoinnissa**

Markkinoilla on useita erilaisia laktoosilaatuja, joilla on erilaiset fysikaaliset ominaisuudet, esimerkiksi partikkelikoko ja valuvuus (Owen ym. 2006: 389). Laktoosin kahdella eri polymorfisella tyyppillä on erilaiset ominaisuudet, kuten liukenevuus, tiheys, sulamispiste ja kovuus (Keleb ym. 2004a: 77). Laaja laktoosilaatujen valikoima antaa hyvät edellytykset valita kullekin sovellutukselle sopivimman laktoosilaadun. Yleensä hienon partikkelikoon laktoosia käytetään märkärakeistuksessa tablettien valmistukseen. Lak-

toosin jauhamista voi tapahtua myös prosessin aikana. Hienokokoinen jauhe sekoittuu paremmin muihin ainesosiin ja hyödyntää sideainetta tehokkaammin. (Owen ym. 2006: 389.)

Laktoosia on saatavana monissa eri kiteytyneisyysmuodoissa, jotka poikkeavat toisistaan sideaineominaisuuksiltaan (Bolhuis ym. 1985: 186). Eri laktoosilaaduilla on myös erilaiset rakeistus- ja puristuvuusominaisuudet (Keleb ym. 2004a: 77). Laktoosia esiintyy kiinteässä muodossa kahtena eri isomeerina sekä se voi olla kide- tai amorfisessa muodossa:  $\alpha$ -laktoosimonohydraatti, kidevedetön  $\alpha$ -laktoosi, kidevedetön  $\beta$ -laktoosi ja amorfinen laktoosi (Chiu ym. 2010: 1552; Keleb ym. 2004a: 77). Laktoosimonohydraatti on luonnollinen kidevedellinen disakkaridi. Se muodostuu yhdestä galaktoosi- ja yhdestä glukoosiyksiköstä. (Owen ym. 2006: 389.)  $\alpha$ -laktoosin rakennekaava on hyvin samankaltainen  $\beta$ -laktoosin rakennekaavan kanssa (Kuva 2).



Kuva 2.  $\alpha$ -laktoosin rakennekaava vasemmalla ja  $\beta$ -laktoosin rakennekaava oikealla (ChEBIa; ChEBIb).

Kidevedettömällä (anhydraatti)  $\beta$ -laktoosilla on paremmat puristuvuusominaisuudet kuin  $\alpha$ -laktoosimonohydraatilla johtuen pyöreiden partikkeleiden runsaammasta esiintymisestä, karkeammasta pinnasta ja korkeammasta fragmentaatioasteesta eli materiaalin sisäisestä murtumisesta ja uusien sidosten muodostamisesta. Käytännössä  $\beta$ -laktoosin ja  $\alpha$ -laktoosimonohydraatin puristuvuusominaisuudet eivät eroa niin paljon toisistaan, koska markkinoilla oleva  $\beta$ -laktoosi sisältää 85 %  $\beta$ -laktoosia ja 15 %  $\alpha$ -laktoosimonohydraattia tai kidevedetöntä  $\alpha$ -laktoosia. (Chiu ym. 2010: 1552.) Kidevedellinen laktoosi ei valu, joten sen käyttö on rajoittunutta märkärakeistuksen ja tabletti-valmistuksen yhdistelmissä. Kidevedettömällä laktoosilla ja sumukuivatulla (engl. spray-dried) laktoosilla on hyvä valuvuus sekä puristuvuus. (Hauber & Troy 2006: 903.)

Lujuusominaisuudet ovat eri laktoosilaaduilla samanlaiset, mutta hajoamisaika on eri riippuen laktoosilaadusta (Keleb ym. 2004a: 77). Laktoosin hyvät sideaineominaisuudet johtuvat sen morfologisista ominaisuuksista (Bolhuis ym. 1985: 192). Bolhuis ym. (1985: 192) mukaan laktoosin sideaineominaisuudet ovat samat kaikille kiteisille laktoosilaaduille.

Laktoosi lujittuu pääasiassa fragmentoitumalla. Sidosmekanismi näyttää olevan identtinen kaikille käytetyille laktoosikidetyypeille, kun taas tablettien hajoamislujuus riippuu ainoastaan fragmentaatiosta. Fragmentaatioalttius liittyy partikkeleiden morfologiaan puristuvuudessa, mihin taas vaikuttaa laktoosin valmistustapa. (Bolhuis ym. 1985: 192.) Tabletin lujuus määrittyy aktuaalin pinta-alan mukaan, mikä on riippuvainen alku-partikkelikoosta ja puristusvoimasta (Bolhuis ym. 1986: 150).

#### 4.2 Laktoosin partikkelikoon vaikutus märkärakeistuksessa ja tabletoinnissa

Erityyppiset laktoosit ovat saatavana eri partikkelikokoisina (Keleb ym. 2004a: 77). Ki-devedettömän anhydraatin laktoosin partikkelikoon kasvu on käänteisesti verrattavissa lähtömateriaalin partikkelikokoon. Badawyn & Hussainin tutkimuksessa pienin valmistuksessa käytetty partikkelikoko oli huokoisempaa, ja sillä oli parempi puristuvuus verrattuna muihin laktoosilaatuihin. Mitä huokoisemmat rakeet, sitä matalampi puristusvoiman tarve oletetaan niillä olevan tabletoinnissa. Tuloksena on suurempi fragmentaatioalttius yhdistettynä puristusvoimaan toisin kuin vähemmän huokoisilla rakeilla. (Badawyn & Hussain 2004: 1.)

Kolmen eri laktoosimonohydraattipartikkelikoon (39, 84 ja 127  $\mu\text{m}$ ) rakeistustutkimuksessa Mackaplow tutkimusryhmineen sai selville, että laktoosin märkärakekokojakauma riippuu primääripartikkelikoosta ja rakeistuksen aikana lisätystä vedestä. Kuivaraekokojakauma riippuu myös näistä kahdesta parametrasta (Mackaplow ym. 2000: 42). Mackaplowin ym. mukaan kaikkien laktoosilaatujen rakeista tuli karkeampia nestelisyksen kasvaessa. Rakeistusnesteinä käytetyn veden lisääminen vakionopeudella oli verrattavissa rakeistusaikaan. Hienon ja keskikokoisen partikkelikoon laktoosilaadulla kuivien rakeiden kokojakauma verrattuna suurimmalla nesteen lisäysmäärällä on lähellä märkärakeistuksessa saatua kokojakaumaa. Karkeimmalla laktoosilaadulla kuivien rakeiden koot ovat merkittävästi hienompia kuin märkien rakeiden koot kaikilla rakeis-



tusnesteen lisäysmäärillä. Kuivien rakeiden huokoisuus väheni rakeistusnesteen määrän ja suuremman partikkelikoon mukaan. (Mackaplow ym. 2000: 41.)

Bolhuis ym. on tehnyt tutkimuksen 100–125 µm:n kokoisilla laktoosilaaduilla. Tutkimuksen mukaan huokoisen pinta-alan ja tablettien puristuslujuuden välillä on lineaarinen suhde riippumatta partikkelin erilaisesta alkukoosta (Bolhuis ym. 1986: 147-148). Tutkimuksessa todettiin, ettei  $\alpha$ -/ $\beta$ -laktoosisuhde eikä kiteytymisessä käytetty vesimäärä vaikuta sidosmekanismiin. Fragmentaatioaste vähenee huomattavasti puristusmäärän lisääntyessä. (Bolhuis ym. 1986: 147.)

Bolhuis ym. mukaan puristuslujuus on ainoastaan riippuvainen tiivistymisasteesta tablettien puristuksen aikana. Valmistusolosuhteilla ja tabletointiominaisuuksilla on vaikutusta, jolloin laktoosin hidas kiteytyminen tuottaa yksittäisiä kiteitä sileällä pinnalla. Nopeasti kiteytyvät mikrokiteiden aggregaatit tiivistyvät tehokkaasti tabletteja puristettaessa. (Bolhuis ym. 1985: 192.)

Keleb tutkimusryhmineen on tutkinut laktoosin partikkelikoon vaikutusta rakeiden ominaisuuksiin high shear -rakeistuksessa: *Laktoosilaaduilla on suuri vaikutus rakeiden ominaisuuksiin high shear -rakeistuksessa sekä tablettien ominaisuuksiin* (Keleb ym. 2004b: 679). Partikkelikoolla ja morfologialla on myös suuri merkitys high shear -rakeistuksessa, koska merkittäviä eroja oli havaittavissa high shear -rakeistuksen jälkeen. Rakeistus ison partikkelikoon  $\alpha$ -laktoosimonohydraatilla tekee rakeista heikkoja. Vesi ei silloin anna tarvittavaa voimaa muodostuneille agglomeraateille ja hajoaminen voi seurata matalasta agglomeraatiolujuudesta. *Laktoosin partikkelikoko vaikuttaa myös optimaaliseen vesikonsentraatioon.* (Keleb ym. 2004b: 684.) *Tablettien ominaisuuksiin vaikutti eniten laktoosin partikkelikoko, mikä oli nähtävissä lujuudessa ja hajoamisajassa* (Keleb ym. 2004b: 690).

*Bolhuis tutkimusryhmineen sai selville, että pienemmistä partikkeleista saatiin lujempia tabletteja, koska laktoosilla partikkeleiden väliset sidokset ovat heikkoja. Pienemmillä partikkeleilla oli myös suurempi pinta-ala kuin karkeammasta seulontafraktiosta valmistetuilla* (Bolhuis ym. 1986: 145, 147). Karkeimpien fraktioiden fragmentaatio matalalla puristuvuusalueella on paljon suurempaa kuin pienten partikkelien. Puristuvuuden ja huokoisen pinta-alan välillä oli selkeä lineaarinen riippuvuus, jolloin tabletin pinta-ala on alkupartikkelikoon ja puristusvoiman funktio, mikä vastaa tabletin puristuvuudesta.

Bolhuis ym. teki johtopäätöksen, että alkuperäisten partikkelikokojen erojen vaikutus kohdistuu vain puristuvuuden aikaiseen hauraaseen rakenteeseen. (Bolhuis ym. 1986: 147.)

Laktoosin primääripartikkelikoko vaikuttaa myös high shear -rakeistuksessa sekoittajan vääntömomenttiin ja energiankulutusprofiiliin. Profiileihin vaikuttaa märkäraekokojakauma ja rakeistimen seinälle tarttunut materiaali. Raekokojakaumalle epäsuoria indikaattoreita ovat vääntömomentti ja energiankulutus raekoon vaihdellessa merkittävästi kuivaamisen ja seulonnan takia. (Mackaplow ym. 2000: 44.)

## 5 Rakeistusprosessi

Rakeistus on yksi merkittävimmistä yksikköoperaatioista farmaseuttisten annosmuotojen, kuten tablettien ja kapseleiden, valmistuksessa (Shanmugam 2015: 55). Rakeistuksen tarkoituksena on saada jauheet yhdistettyä isommiksi partikkeleiksi, parantaa jauheen fysikaalisia ja reologisia ominaisuuksia, jolloin jauhetta on helpompi käsitellä ja rakeistuksen jälkeen esimerkiksi puristaa tableteiksi (Chulia ym. 2009: 138; Shanmugam 2015: 55). Rakeistuminen on prosessi, jossa pienet partikkelit muodostavat suuria, fysikaalisesti lujia agglomeraatteja, rakeita, joista voidaan kuitenkin tunnistaa alkuperäiset partikkelit (Parikh & Swarbrick 1997: 7; Pharma Tips).

Rakeistuksen toteuttamisella voi olla erilaisia tavoitteita: lääkeaineen jakautuminen tuotteessa homogeenisemmin, materiaalin tiivistäminen, sitoutumisen parantaminen puristusprosessissa, valuvuuden parantaminen, komponenttien erottumisen estäminen, mittaamisen tai tilavuudellisen annostelun helpottaminen, pölyämisen vähentäminen ja tuotteen esteettisyyden parantaminen (Parikh & Swarbrick 1997: 3; Ilkka ym. 1990: 146). Sopivan rakeistusprosessin valinta farmaseuttisessa teollisuudessa riippuu joskin määrin myös rakeistettavien jauheiden fysikaalisista ominaisuuksista ja lopullisten rakeiden vaatimuksista (Keleb ym. 2004b: 680).

Farmaseuttisessa rakeistusprosessissa on paljon erilaisia haasteita rakeiden korkeaan laatuun liittyvien sisällöllisten ja fysikaalis-kemiallisten vaatimusten takia (Shanmugam 2015: 55). Prosessina sitä on myös vaikea kontrolloida (Knight 2004: 156). Raemassan sisällön yhtenäisyys ja fysikaalis-kemialliset ominaisuudet, kuten raekoko, massan ti-

heys, huokoisuus, kovuus, kosteus, puristuvuus, vaikuttavat yhdessä lääkkeen fyysiseen ja kemialliseen säilyvyyteen (Shanmugam 2015: 55).

Rakeistusmenetelmät jaetaan kolmeen eri pääkategoriaan: märkä-, kuiva- ja muuhun rakeistukseen (Parikh & Swarbrick 1997: 8). Märkärakeistusprosessissa käytetään nesteitä, kun taas kuivarakaisu ei vaadi nesteiden käyttöä. Rakeistusprosessin valinnassa tarvitaan esimerkiksi lääkeaineen ja apuaineiden fysikaalis-kemiallisten ominaisuuksien, valuvuuden ja vapautumisominaisuuksien tietämystä (Shanmugam 2015: 55). Lääkeaineen sekä apuaineiden tulee kemiallisesti sopia yhteen toistensa kanssa.

Rakeistusprosessi voidaan suorittaa pääasiassa kahdella eri tavalla: panos- tai jatkuvatoimisena prosessina. Märkärakeistus on perinteisesti tehty panosprosessina ja kuivarakaisu jatkuvatoimisena prosessina. Nykyään myös märkärakeistusta voidaan tehdä jatkuvatoimisena prosessina. (Beer ym. 2014: 3075.) Puristusrakeistus (engl. extrusion granulation) on panos- ja jatkuvatoimisen prosessin välimuoto. Keleb ym. tutkimuksen mukaan puristusrakeistus on jopa tehokkaampi rakeistusmuoto tietyille laktoosityypille ja koolle kuin perinteinen high shear -rakeistus. (Keleb ym. 2004b: 679.)

Rakeistusprosesseissa käytettäviä laitteita käytetään myös muihinkin käyttötarkoituksiin teollisuudessa, esimerkiksi high shear -rakeistin (luku 6.1.1) on alun perin suunniteltu kestopuovien sekoittamiseen (Parikh & Swarbrick 1997: 152). Leijupetiteknikka (engl. fluidized bed) (luku 6.1.2) on myös alun perin kehitetty katalyyttistä pilkkomista varten kaupalliseen käyttöön vuonna 1942 (Parikh & Swarbrick 1997: 228).

Rakeistuksen suunnittelussa on otettava huomioon monia erilaisia asioita, kuten käytettävät lähtömateriaalit, prosessilaitteisto sekoitusta, rakeistusta ja kuivausta varten sekä prosessiparametrit ja rakeistustekniikka (Keleb 2004b: 680). Tarkemmin eriteltynä on huomioitava esimerkiksi vaikuttavan aineen tai aineiden sekä apuaineiden partikkelikoko, -tyyppi ja konsentraatio, sideaineen määrä ja mahdollinen liuotinaine, rakeistus-aika, rakeistimen tyyppi, kuivausnopeus eli käytettävä lämpötila sekä aika (Shanmugam 2015: 55). Kaikki edellä mainitut asiat vaikuttavat valmistettävien partikkeleiden ominaisuuksiin sekä rakeistuksen onnistumiseen.

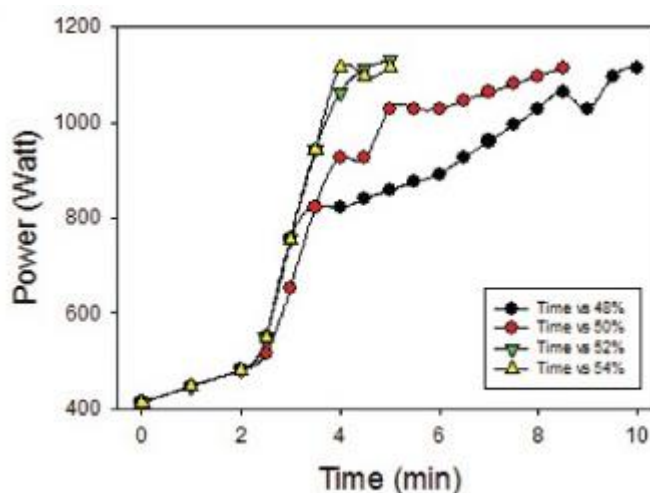
## 5.1 High shear -rakeistusprosessiparametrien vaikutus muodostuviin rakeisiin

Rakeistusprosessiin voidaan vaikuttaa useammalla eri tavalla, kuten energian kulutuksella, sekoittajan vääntömomentilla, vääntömomentin reometrilla ja reaktiovääntömomentilla. Patelin ym. mukaan sekoittajan moottorin energiankulutuksen tarkkaileminen rakeistuksen päätepisteen määrittämiseksi ja siirto pienemmästä mittakaavasta isompaan (engl. scale-up) ovat laajasti käytettyjä tekniikoita, koska ne korreloivat hyvin rakeiden kasvuun ja ovat taloudellisia ratkaisuja. Agglomeraation edetessä hyvin nopeasti energiankulutus ja vääntömomentti eivät välttämättä ole tarpeeksi herkkiä parametreja heijastamaan materiaalin muutoksia. Joidenkin tutkijoiden mielestä sekoittavien lapojen vääntömomentti tai voima voi paremmin sopia agglomeraation havainnoimiseen. (Patel ym. 2008.)

Rakeiden sisäinen huokoisuus on myös yhteydessä energiankulutukseen (Patel ym. 2008). Ghadiri ym. saivat tutkimuksessaan selville, että korkeammilla sekoitusnopeuksilla rakeet saatiin paremmin yhdistymään ja tiivistymään, jolloin rakeista tuli lujempia ja vähemmän huokoisia (Ghadiri ym. 2011: 514). Sekoittajan korkeampi nopeus ei vaikuttanut raekokojakaumaan. Rakeistusajan pidentyminen myös tekee rakeista tiiviimpiä (Ghadiri ym. 2011: 515). Rakeistusajalla on suuri merkitys rakeiden lujuuteen tiettyyn aikapisteeseen asti, kunnes optimaika on saavutettu. Rakeistuksen päätepiste korreloi hyvin rakeiden ominaisuuksiin. (Patel ym. 2008.) Rakeistuksen päätepisteeksi voidaan myös ennalta asettaa rakeistuksessa tavoiteltava raekoko. Rakeistusta jatkettaessa tästä pisteestä eteenpäin nesteen lisäys voi aiheuttaa nestesiltojen sekä siten koko määrän raemassan hajoamisen. (Contractor ym. 2012: 439.)

Standardoidussa rakeistusprosessissa energiaprofiili on yhteydessä aikaan, jolloin siitä voidaan määritellä rakeistuksen päätepiste (Patel ym. 2008). Samanlaiset profiilit johtavat samanlaisiin rakeiden ominaisuuksiin. Bothin & Sprockelin mukaan prosessiin voivat kuitenkin kahden laitteen erilaiset mekaaniset ominaisuudet, esimerkiksi moottorin teho, jolloin laboratoriomittakaavan laite verrattuna tuotantomittakaavan laitteeseen eivät ole suoraan verrattavissa toisiinsa. Prosessiin voivat vaikuttaa myös muutokset materiaalin ominaisuuksissa, kuten jauheella tulisi olla sama volyymifraktio, käytetyn vesimäärän tulisi olla määritetyllä alueella sekä mittausten tulisi olla suoritettu samalla tavalla kuin ennenkin käyttämällä samaa laitteistoa. (Both & Sprockel 2012.)

Moottorin energian kulutusta voidaan märkärakeistuksen aikana määrittää sekoittajan avulla mittaamalla miten märkä massa vaikuttaa laitteeseen. Both & Sprockel (2012) kertovat artikkelissaan tutkimuksesta, jossa veden lisäyksen jälkeen moottorin tarvitsema energia kasvoi rakeiden kasvun myötä (Kuva 3). Kasvanut energian kulutus heijasti rakeiden koon kasvua, tartuntakykyä ja tiheyttä. Moottori käytti kuivasekoituksen aikana noin 400 wattia. Valuvuus- ja tiivistymismittausten avulla rakeistuksen päätepiste määritettiin 1115 wattiin. Tarvittu aika saavuttaakseen kostumisen päätepisteen väheni lisääessä vesimäärää. (Both & Sprockel 2012.)



Kuva 3. Veden lisäyksen vaikutus ja määrän massan muodostumiseen kuluvan ajan vaikutus energiaprofiiliin. Veden lisäys aloitettiin 0 minuutin kohdalla, % kertoo paljonko vettä on lisätty suhteessa massaan. Y-akselilla on esitettyä energiankulutus watteina ja x-akselilla aika minuutteina. (Both ja Sprockel 2012.)

Märkärakeistuksessa farmaseuttisten aineiden fysikaalis-kemiallisiin ominaisuuksiin, kuten liukenevuuteen ja dissoluutio- eli liukenemisnopeuteen, voivat vaikuttaa kiteytyneisyysaste, solvaation tila eli liuennaisuusaste ja kiteenmuodostus (Patel ym. 2008). Patelin ym. mukaan farmaseuttisen valmistuksen aikana esimerkiksi hydraatin muodostuksessa voi kemiallisesti pysyvä kidevedetön polymorfinen aine käydä läpi monta eri muodonmuutosta: kemiallisesti vakaasta kidevedettömästä aineesta hydraatiksi, ja siitä kidevedettömään välitilaan. Polymorfinen muodonmuutos on toinen esimerkki fysikaalis-kemiallisista ominaisuuksista, joka vaikuttaa märkärakeistukseen. (Patel ym. 2008.)

Toiset apuaineet, kuten tärkkelys, vaatii märkärakeistusprosessissa aikaa vettyäkseen veden lisäämisen jälkeen ennen kuin se voi toimia aktiivisena sideaineena. Vesimäärän lisäys jauheseokseen vaikuttaa aktivaatioasteeseen, minkä takia aktivaatioaste sekä massan vettymisaika määrittelevät rakeistusprofiilin vaikuttaen energiankulutukseen. (Both & Sprockel 2012.)

Rakeistuksen rakeistettavan massan mittaamiseen ja rakeistuneen massan määrittämiseen voidaan käyttää myös lähi-infrapunaspektrimenetelmää (engl. near-infrared spectroscopic method, NIR). NIR:n avulla voidaan saada näytteistä sekä kvantitatiivista että kvalitatiivista tietoa, esimerkiksi jauheiden partikkelikoosta. (Matsuda ym. 2003: 1.)

## 5.2 Raaka-aineen partikkelikoon vaikutus rakeistuksessa

Materiaalin partikkelikoolla on merkitystä materiaalin liukoisuuden kannalta. Pienemmillä partikkeleilla ovat suuremmat luontaiset liukoisuusominaisuudet kuin vastaavilla isommilla partikkeleilla. Parikhin & Swarbrickin mukaan pienemmillä partikkeleilla on enemmän rajapintaenergiaa, jolloin systeemistä tulee termodynaamisesti epävakaa. Epävakaisuus voidaan korjata valmistamalla ylikylläistä seosta ja partikkeleiden suuremmalla dissoluutiolla. Luontainen liukoisuus lisääntyy, kun partikkelikoko on pieni, mutta kasvu pysähtyy, kun partikkelien säde on enää hyvin pieni, jolloin se aiheuttaa luontaisen liukoisuuden vähenemisen. (Parikh & Swarbrick 1997: 42.)

Raaka-aineen pieni partikkelikoko kasvattaa tarvittavan sideainemäärää: mitä pienempi partikkelikoko, sitä enemmän tarvitaan sideaineliuosta (Patel ym. 2008). Kosteiden rakeiden muodostuminen riippuu jauheen partikkelikoosta ja nestemäisen sideainemäärästä. Rakeet voivat muodostua nopeasti hienosta jauheesta ja/tai käytettäessä korkean viskositeetin sideaineliuoksia. (Podczek 1998: 121.)

Tehdyn tutkimuksen mukaan laktoosin kasvaneella alkupartikkelikoolta tai kapealla alaisella laktoosijauheen alkupartikkelikokojakaumalla laktoosia rakeistettaessa veden kanssa on rakeiden mekaanista kestävyttä vähentävä vaikutus. Rakeiden huono mekaaninen kestävyys yhdistettynä kasvaneeseen rakeiden huokoisuuteen ja sen takia puutteelliseen kokojakumaan suosii halkeamien laajentumista. Laktoosijauhetta kostutettaessa rakeista tuli myös vahvempia, mikä on oletettavasti dissoluution ja uudelleenkiteytymisen tulos. (Podczek 1998: 125.)

## 6 Märkärakeistus prosessina

Märkärakeistus on yleisin rakeistusmenetelmä (Ilkka ym. 1990: 147). Märkärakeistuksessa kuiva jauheseos kostutetaan nesteellä ja rakeet valmistetaan märästä massasta, joka koostuu apuaineista, esimerkiksi täyteaineesta ja hajotusaineesta, sekä vaikuttavasta aineesta ja sideaineesta rakeistusnesteen kanssa (Hauber & Troy 2006: 896; Ilkka ym. 1990: 147; Shanmugam 2015: 55).

Farmaseuttisessa teollisuudessa märkärakeistusta käytetään yhdistämään aktiiviset aineet ja inertit apuaineet rakeiksi, joilla on hyvät valuvuus- ja tabletointiominaisuudet (Mackaplow ym. 2000: 32). Rakeistus alkaa raaka-aineiden lisäämisestä valmistusastiaan. Raaka-aineet voidaan ensin seuloa ja sitten kuivasekoittaa keskenään. Sideaine liotetaan rakeistusnesteeseen, joka lisätään rakeistettavaan jauheseokseen, tai se voidaan sekoittaa kuivana jauheseokseen, minkä jälkeen rakeistusneste lisätään rakeistettavaan massa (Parikh & Swarbrick 1997: 72). Rakeistuksen jälkeen massa voidaan märkäseuloa, kuivata ja kuivaseuloa. Märkärakeistuksen esimerkkiprosessikaavio (Kuva 4).



Kuva 4. Esimerkkiprosessikaavio märkärakeistuksesta (mukaiillen Hauber & Troy 2006: 896).

Märkärakeistaminen on ensisijainen menetelmä rakeistusprosessia mietittäessä, koska suorapuristustekniikka, jossa rakeistamattomat aineet puristetaan tableteiksi ilman rakeistusnestettä, ei ole teknologisesti paras menetelmä monille vaikuttaville aineille (Patel ym. 2008). Märkärakeistus on myös suositeltavampi vaihtoehto kuin kuivarakeistus, mikäli jauheen puristuvuus on suhteellisen matala eikä ole tarvetta parantaa valuvuutta, koheesiota tai jauheseoksen seggregaatiopotentiaalia (Narang & Mahato 2012: 329).

## 6.1 Märkärakeistustekniikoita

Tässä opinnäytetyössä märkärakeistustekniikoiden osalta keskitytään high shear -rakeistukseen sekä leijupetirakeistukseen.

### 6.1.1 High shear -rakeistus

Sekoitusrakeistimet (engl. mixer granulators) voidaan jakaa kahteen eri pääryhmään, low shear- ja high shear -sekoitusrakeistimiin, riippuen käsiteltävästä massasta ja olosuhdevaatumuksista (Ghadiri ym. 2011: 512). Low shear -rakeistimet poikkeavat kierrosnopeutensa takia high shear -rakeistimista: low shear -rakeistimilla ovat pienemmät kierrosnopeudet kuin high shear -rakeistimilla. High shear -sekoittimet ovat olleet laajalti käytössä sekoituksessa ja rakeistuksessa farmaseuttisessa valmistusteollisuudessa 1970-luvulta lähtien. (Mackaplow ym. 2000: 32; Parikh & Swarbrick 1997: 152.) High shear -sekoittajat ovat farmaseuttisen valmistuksen lisäksi käytössä esimerkiksi kemiallisissa- ja ruoanvalmistusprosesseissa (Knight 2004: 156).

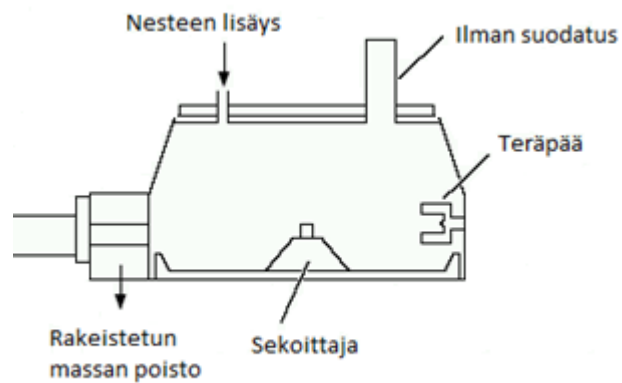
High shear -sekoittimia on käytetty perinteisesti märkärakeistuksessa, koska niiden avulla rakeille saadaan korkea tiheys ja hyvä lujuus lyhyellä rakeistusajalla (Chulia ym. 2009: 138). Ne ovat joustavia ja niillä voidaan rakeistaa paljon eri ominaisuuksia sisältäviä materiaaleja, kuten kohesiivisiä jauheita ja viskooseja sideainenesteitä (Knight 2004: 156). High shear -sekoittimella eri partikkelikokoa olevien kiinteiden aineiden käsiteltävyys on helppoa, hyvin viskoosit nesteet jakautuvat helposti kiinteisiin aineisiin sekä aerosoleja on helppo hallita (Hounslow ym. 1998: 246). Etuna on myös hyvä pölynsitominen, minkä takia high shear -sekoittajalla voidaan käsitellä pölyäviä ja potentteja aineita (Knight 2004: 156). High shear -rakeistimella saadaan muodostettua säännöllisen muotoisia rakeita suurella tiivistymisasteella (Guigon ym. 2005: 3763). High shear -rakeistimia voidaan liittää myös prosessikontrollijärjestelmiin (Parikh & Swarbrick 1997: 152).

High shear -rakeistuksessa sideaine voidaan liuottaa rakeistusnesteeseen, joka lisätään rakeistettavaan jauheseokseen, tai se voidaan sekoittaa kuivana jauheseokseen, minkä jälkeen rakeistusneste lisätään rakeistettavaan massa (Parikh & Swarbrick 1997: 72). Nestemäinen sideaine voidaan myös sumuttaa jauheen sekaan homogeenisen nesteen jakaantumisen aikaansaamiseksi. Sekoittaminen ja märän massan muodostaminen tapahtuvat sekoittajan ja teräpään avulla mekaanisella sekoittamisella kor-



kealla kierrosnopeudella. Märkien materiaalien sekoittaminen, tiivistäminen ja agglomeraatio tapahtuvat sekoituksen ja tiivistys- sekä kompaktiovoimien avulla. (Parikh & Swarbrick 1997: 152.)

High shear -sekoittajissa sekoittajaosa voi liikkua vertikaalisesti tai horisontaalisesti (Hounslow ym. 1998: 246). Vertikaalisessa akselissa sekoittaja liikkuu kiertonopeudella, joka vastaa säteittäisen sekoittajan lavan kärjennopeutta (Kuva 5).



Kuva 5. Esimerkki vertikaalisesta high shear -sekoittajasta (mukaillen Green ym. 1999: 1899).

Vertikaalinen high shear -sekoittaja on käytetyin malli farmaseuttisessa teollisuudessa (Parikh & Swarbrick 1997: 152). Kuva 6 esittää vertikaalista high shear -sekoittajaa ylhäältä ja sisältäpäin kuvattuna, joten kuvassa näkyy vertikaalisesti pyörivä sekoittaja (lisäsiiveke) sekä horisontaalisesti pyörivä teräpää (pieni siiveke).



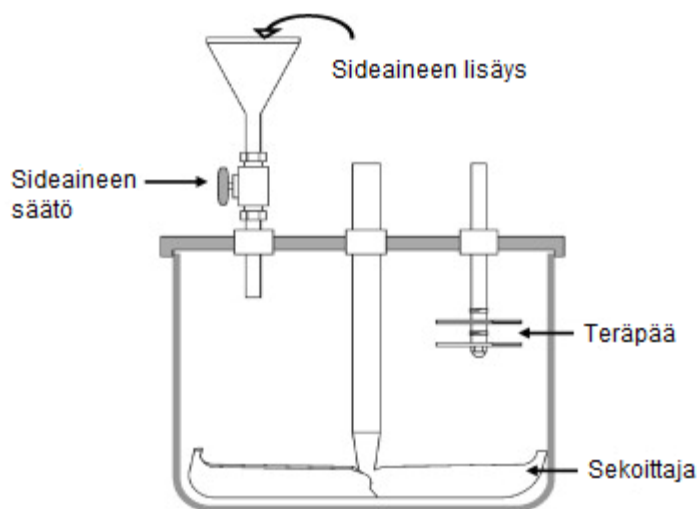
Kuva 6. High shear -sekoittaja sisältä kuvattuna (Roto Mix).

Vertikaalinen sekoittaja voi olla myös päältä ajettava malli (Kuva 7). Päältä ajettavassa mallissa sekoittaja ja teräpää ovat rakeistimen kannessa kiinni ja molemmat pyörivät vertikaalisesti.



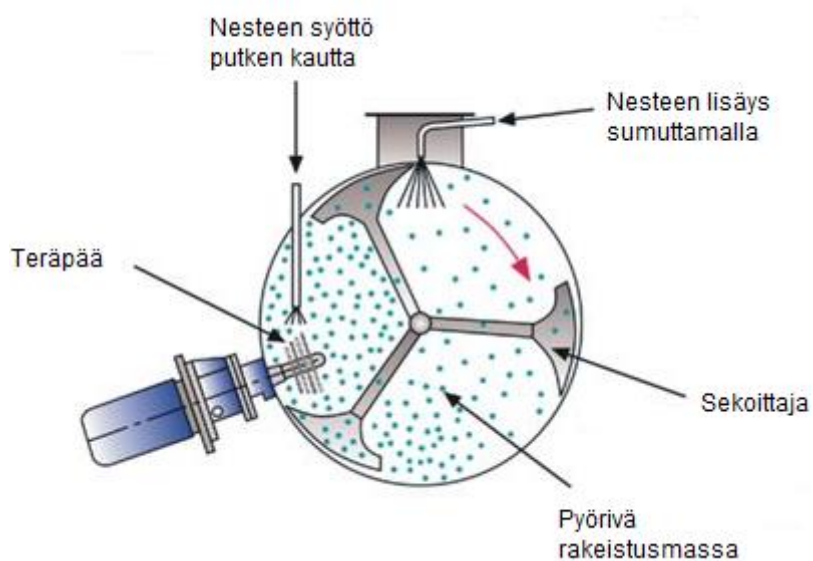
Kuva 7. Päältäajettava high shear -sekoittaja (GMX Granumeist®).

Sideaineen lisäys high shear -sekoittajaan tapahtuu ylhäältä. Sideaineen pumppausnopeutta voidaan säädellä säätimen avulla (Kuva 8).



Kuva 8. Vertikaalinen high shear -sekoittaja (mukaillen Baş ym. 2012: 730).

Horisontaalisessa high shear -sekoittajassa rakeistusnesteen syöttö tapahtuu joko sumuttamalla tai putken kautta. Sekoittaja pyörii horisontaalisessa suunnassa (Kuva 9).



Kuva 9. Esimerkki horisontaalisesta high shear -sekoittajasta (mukaillen Horizontal Lödige Plougshare® Mixer).

Teräpään ensisijainen tehtävä on leikata lohkat pienemmiksi fragmenteiksi ja avustaa nestemäisen sideaineen jakaantumisessa (Parikh & Swarbrick 1997: 152). Teräpäätä tarvitaan rikkomaan karkeat agglomeraatit ja kontrolloimaan rakeiden kokojakaumaa (Chulia ym. 2009: 139). Teräpäätä liikkuu samanlaisella kärkinopeudella kuin sekoittaja,

mutta pienen halkaisijansa takia vastaa hyvin korkeaa liikkumisnopeutta, useita tuhansia kierroksia minuutissa (Hounslow ym. 1998: 246; Parikh & Swarbrick 1997: 152).

Teräpään ja sekoittajan suurien nopeuksien ansiosta high shear -sekoittajaa kutsutaan sekoittajaksi, jolla on korkea kierrosnopeus (Hounslow ym. 1998: 246). Teräpäällä, kuten sekoittajallakin, muotoilu vaihtelee laitteesta toiseen. Teräpään muotoilun vaikutus rakeisiin riippuu rakeistimesta, ja vertikaalisilla high shear -rakeistimilla vaikutus on suhteellisesti pieni, kun taas sekoittajan muotoilulla on merkittävä vaikutus rakeiden kasvuun. Sekoittajan geometria mukautuu astian muodon mukaan parantaakseen jauheen tilavuutta sekoitusvälineen avulla ja vähentääkseen seinän adheesiota ja kuollutta aluetta. Korkea sekoittajan lapakulma kasvattaa kostean massan adheesiota sekoitustilassa ja johtaa isompiin rakeisiin. (Chulia ym. 2009: 139.)

Nopeasti liikkuvan sekoittajan ansiosta high shear -rakeistimessa rakeistusprosessin tavanomainen kesto voidaan laskea minuuteissa (Mackaplow ym. 2000: 32).

High shear -rakeistuksen vaiheet, esimerkki pienestä mittakaavasta, laboratoriorakeistuksesta:

1. Kuivan materiaalin sekoittaminen korkeassa nopeudessa sekoittimella ja teräpäällä muutaman minuutin ajan, tyypillisesti noin 2–5 minuuttia
2. Nestemäisen sideaineen lisäys kaatamalla se jauheeseen, sekoittaja ja teräpää pyörivät matalalla nopeudella, sekoituksen kesto tyypillisesti noin 1–2 minuuttia
3. Massan kostuttaminen, sekoittaja ja teräpää pyörivät korkealla nopeudella, sekoituksen kesto tyypillisesti noin 1–5 minuuttia
4. Rakeiden märkäseulonta
5. Rakeiden kuivaaminen
6. Rakeiden kuivaseulonta (Parikh & Swarbrick 1997: 152.)

### 6.1.2 Leijupetirakeistus

Leijupetirakeistus (engl. fluid bed granulation) on prosessi, jossa rakeet valmistetaan yhdessä laitteessa sumuttamalla sideaineliuos leijutettuun jauhepetiin (Parikh & Swarbrick 1997: 228). Leijupeti tarkoittaa kiinteiden partikkeleiden tiheää muodostelmaa. Partikkelit pysyvät nopeassa liikkeessä ilmavirran tai kaasun nostaessa niitä ylöspäin (Parikh & Swarbrick 1997: 237). Leijupetitekniikkaa alettiin käyttää farmaseuttisessa valmistuksessa vuonna 1964, mutta tekniikka keksittiin jo vuonna 1942 (Parikh & Swarbrick 1997: 228, 229). Leijupetirakeistusta käytetään farmaseuttisessa teollisuudessa parantamaan jauheiden ominaisuuksia, kuten valuvuutta ja puristuvuutta, jälkikäsittelyissä kohti lopullista lääkemuotoa (Burggraeve ym. 2012: 293).

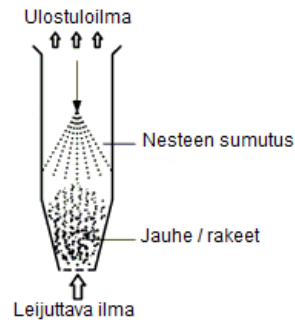
Leijupetirakeistuksen ilmeisenä etuna on eri märkärakeistuksen vaiheiden yhdistämisen mahdollisuus, kuten nopea rakeistus ja erän kuivaus voidaan tehdä samalla laitteistolla (Hauber & Troy 2006: 899; Betz ym. 2011: 227). Leijupetikuivausta on nykyään pidetty standardikuivausmenetelmänä (Hauber & Troy 2006: 898). Se on nopeampi kuin perinteinen tasokuivausmenetelmä (engl. tray drying), jossa raemassa levitetään levyille ja kuivatetaan ilmastoidussa kaapissa. Leijupetikuivauksessa on myös parempi kontrolli kuivauslämpötilaan ja pienemmät käsittelykulut kuin tasokuivausmenetelmässä sekä mahdollisuus sekoittaa liukuaineita ja muita materiaaleja kuivaan rakeistussasaan suoraan leijupetilaitteistossa (Kuva 10). (Hauber & Troy 2006: 898.) Modernin laitteiston avulla leijupetirakeistuksessa voidaan käsitellä myös hydrolyysille eli veden aiheuttamalle kemialliselle hajoamiselle herkkiä aineita (Patel ym. 2008).



Kuva 10. Leijupetikuivain ja -rakeistin (Canaan).

Yleisin tapa toteuttaa leijupetirakeistus on materiaalin partikkeleiden tai vaikuttavan aineen suspensoiminen vertikaaliseen ilmvirtapatsaaseen. Partikkeleiden suspensoitumisen tapahduttua rakeistusneste tai liuotin suihkutetaan pisaroina liikkuvaan patsaaseen. (Hauber & Troy 2006: 899.) Kaksivaiheisen sumutus- ja kuivausprosessin aikana sideainenesteen lisäys aiheuttaa primaaripartikkeleiden aggregoitumisen ja rakeiden muodostumisen (Burggraeve ym. 2012: 293). Prosessissa tapahtuu asteittainen partikkeleiden rakentaminen kontrolloiduissa olosuhteissa muodostaen raemasan, joka on liukuaineen lisäyksen jälkeen valmis puristettavaksi (Hauber & Troy 2006: 899).

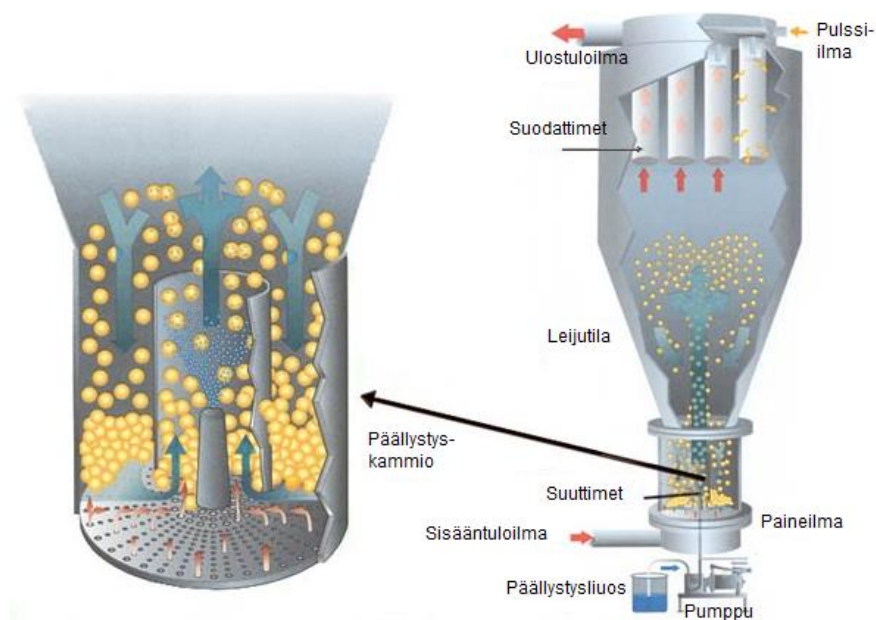
Päältä sumutettavassa leijupetirakeistimessa jauhepartikkelisuspensio on ilmavirrassa ja sideaineneste sumutetaan nestepisaroina ylhäältä alaspäin, päinvastaiseen suuntaan kuin leijutettava ilma, jauhepetiin (Kuva 11). Kostuneet partikkelit törmäilevät toisiinsa, agglomeroituvat ja muodostavat rakeita. Kun rakeistusnestettä on sumutettu sumutusvaiheessa tarvittava määrä, kuivausvaiheessa tuotetta kuivataan leijupetirakeistimessa, kunnes esiasetettu poistoilman lämpötila on saavuttanut vastaavan kosteustason. (Burggraeve ym. 2012: 293.)



Kuva 11. Kaavakuva leijupetirakeistimesta, suuttimen korkeus säädettävissä (mukaillen Dacanal & Menegalli 2008).

Leijupetitekniikka on voimakas kuivausmenetelmä, joka tuottaa suhteellisen pieniä, mutta vahvoja rakeita. Kuivauksen läpikäyneet rakeet ovat vahvoja, koska vain niiden partikkelin sisäiset sillat selviävät prosessista. (Mackaplow ym. 2000: 41.) Kuivien rakeiden koko riippuu lopuksi kuivaamisprosessista ja koon mittausmenetelmästä.

Leijupetitekniikkaa voidaan käyttää myös rakeiden päällystämiseksi hyödyksi, jolloin päällystysneste tulee pumpun avulla partikkeleiden sekaan massan alapuolella olevasta päällystysliuosastasiasta (Kuva 12).



Kuva 12. Rakeiden päällystäminen leijupetirakeistimessa (Ronald T. Dodge Company).

Leijupetiteknikka on siis monikäyttöinen menetelmä, koska leijupetirakeistin on helposti muunneltavissa eri tarkoituksiin. Leijupetirakeistinta voidaan käyttää rakeistukseen liittyvässä monessa eri valmistusvaiheessa: rakeistuksessa, kuivaamisessa sekä päällystämässä.

## 6.2 High shear- ja leijupeti-rakeistusprosessien erot

Rakeistusprosesseissa on hyvin yleisesti käytössä high shear -rakeistimen ja leijupeti-kuivaajan yhdistelmä, jolloin käytetään high shear -rakeistinta ennen märkäseulontaa ja kosteat rakeet kuivataan leijupetilaitteistolla (Chulia ym. 2009: 138; Parikh & Swarbrick 1997: 9). Käytettäessä laitteita yhdistelmänä kummastakin laitteesta saadaan irti parhaimmat hyödyt.

High shear -rakeistuksen yleisinä hyötyinä on lyhyt prosessointiaika ja erityisesti lyhyempi kuivausprosessi kuin leijupetirakeistuksessa, koska nestemäistä sideainetta tarvitaan vähemmän (Parikh & Swarbrick 1997: 152, 154). High shear -rakeistus sopii hyvin myös kohesiivisten materiaalien rakeistamiseen, kun taas leijupetirakeistuksessa niitä on vaikea leijuttaa ja agglomeroida (Parikh & Swarbrick 1997: 154).

Leijupetirakeistuksessa pisarakokoon vaikuttavia tekijöitä, kuten sideaineen konsentraatio ja viskositeetti sekä sekoittajan tyyppi, tulee tarkasti kontrolloida. Siinä raekoko on suoraan verrannollinen pisarakokoon, ja nämä asiat määrittelevät lopullisen raekoon. (Parikh & Swarbrick 1997: 72.) Leijupetirakeistuksessa ei yleensä käytetä märkäseulontaa, toisin kuin high shear -rakeistuksessa.

Tilavuudeltaan isot eli pienen tiheyden materiaalit voidaan tiivistää high shear -rakeistuksen avulla. Rakeiden huokoisuuteen voidaan vaikuttaa massanvalmistusajalla ja sekoittajan sekä teräpään nopeudella high shear -rakeistuksessa. Siinä käytetään suljettua systeemiä, johon voidaan sisällyttää kuivaus, kuten mikroaalto tai vakuumi, tai siirtää massa leijupetilaitteeseen suljetulla systeemillä painovoiman tai vakuumin avulla. (Parikh & Swarbrick 1997: 154.) Suljetussa systeemissä etuna on myös massan käsitteleminen suojassa esimerkiksi ilmasta tulevilta kontaminaatiolähteiltä. Suljettu systeemi suojaa myös työntekijää. (Parikh & Swarbrick 1997: 297.) High shear -rakeistuslaitteiston puhdistaminen on helppo tehdä manuaalisesti tai puhdistusjärjestelmän avulla (Parikh & Swarbrick 1997: 154).



High shear -rakeistuksen haittapuolena ja sitä myöten riskeinä ovat lähtöaineiden hauraiden partikkeleiden ja heikkojen rakeiden mekaaninen pilkkoutuminen sekä lämpöherkkien valmisteiden kemiallinen pilkkoutuminen lämpötilan noustessa, jolloin valmisteiden kokonaislämpötila nousee (Parikh & Swarbrick 1997: 155). Parikhin & Swarbrickin mukaan rakeiden ylikostuminen voi olla myös ongelma, jolloin massa saattaa tiivistyä, huokoisuus vähentyä ja raekoko kasvaa hallitsemattomasti. Rakeiden liian pieni huokoisuus high shear -rakeistuksessa saattaa vaikuttaa valmisteiden tabletointi- ja dissoluutio-ominaisuuksiin eli lääkeaineen vapautumiseen valmisteesta. (Parikh & Swarbrick 1997: 155.)

### 6.3 Prosessimuuttujat

#### High shear -rakeistus

Märkärakeistus on teollisesti tärkeä prosessi, minkä takia sitä on tutkittu paljon. Tutkimuksissa on yritetty selvittää prosessiolosuhteiden vaikutusta sekä kiinteiden että nesteäisten aineiden ominaisuuksien vaikutusta rakeiden ominaisuuksiin. (Mackaplow ym. 2000: 32.) Märkärakeistus on monimutkainen prosessi, jossa toisiinsa yhteisvaikutuksissa olevat parametrit vaikuttavat esimerkiksi rakeiden ominaisuuksiin ja näin ollen valmistuvien tablettien laatuun (Burggraeve ym. 2012: 293). Perustavanlaatuisen ymmärryksen kiinteän ja nesteen välisestä dynamiikasta raeprosessissa on kuitenkin vielä vähäistä, minkä takia märkärakeistusprosessit ovat yleensä empiirisesti suunniteltuja (Mackaplow ym. 2000: 32).

High shear -rakeistuksessa useat muuttujat vaikuttavat rakeistusprosessiin. Muuttujista tärkeimmät ovat sekoittajan ja teräpään pyörimisnopeudet, sekoittajan täyttöaste, nesteen lisäystapa ja valumisnopeus sekä massan märkäkäsittelyaika nesteen lisäysajankohdasta laskettuna. (Parikh & Swarbrick 1997: 165.) Teräpään lapojen muotoilu vaikuttaa myös rakeiden kestävyYTEEN (Johansen ym. 2000: 208).

Teräpään pyörimisnopeus on erittäin tärkeä parametri, koska sillä on vaikutusta jauheen agglomeraatioprosessin kulkuun sekä rakeiden murtumiseen nopeutta kasvatettaessa (Johansen ym. 2000: 204, 208). Rakeiden kasvu suurenee teräpään nopeuden kasvaessa. Rakeiden kasvua voidaan rajoittaa, muttei estää kokonaan energian sääntulon avulla. (Johansen ym. 2000: 208.) Murtumisen esiintyvyyden voidaan olettaa

riippuvan myös teräpään ja sekoitusastian muotoilusta, kiinteän ja nestemäisen materiaalin ominaisuuksista sekä massan reologisista ominaisuuksista (Johansen ym. 2000: 204).

Rakeiden murtuminen on teknologisesti kannalta tärkeä asia, koska sen avulla voidaan parantaa raekoon ja raekokojakauman kontrollointia. Korkea nopeus vaikuttaa myös rakeiden kokojakaumaan ja morfologiaan, jolloin rakeiden koon suurentumista rajoittaa rakeiden murtuminen. Rakeiden murtumista nestemäisen sideaineen jakautumisessa ja koon suurentamismekanismissa ei ole vielä kokonaan selvitetty. (Johansen ym. 2000: 204.)

### Leijupetirakeistus

Leijupetirakeistus on monimutkainen prosessi, johon vaikuttavat monet eri prosessi-  
muuttujat (Baert ym. 2003: 197). Leijupetirakeistusprosessin parametreilla on suuri vaikutus muodostuvien rakeiden ominaisuuksiin, kuten partikkelikokoon, valuvuuteen ja jäännöskosteuteen, minkä takia leijupetirakeistus tulisi tuntea hyvin prosessina valmistettaessa rakeita (Betz ym. 2011: 227). Leijupetirakeistusprosessin kontrolloimiseen perinteisesti sisältyy prosessiparametrien tarkkailemista, esimerkiksi ilmanvirtaus, tilavuus ja kosteus prosessissa (Burggraeve ym. 2012: 293).

Leijupetirakeistuksessa sideainenesteen lisääminen ja jakautuminen vaikuttavat raepedin kosteustasoon rakeistuksen aikana myötävaikuttaen agglomeraatioprosessiin. Lopputuotteen jäännöskosteusprosentti vaikuttaa suoraan rakeiden ominaisuuksiin ja siten seuraaviin rakeistuksen jälkeisiin prosessivaiheisiin, kuten tabletointiin, ja valmisteen säilyvyyteen varastoinnin aikana. (Burggraeve ym. 2012: 294.) Jäännöskosteusprosentilla on samanlainen vaikutus myös high shear -rakeistuksessa valmistettuihin rakeisiin. Baert ym. mukaan sumutusnopeudella ja suuttimien asetuksilla on merkitystä muodostuvaan pisarakokoon. Raekoko taas riippuu pisarakoosta sekä jauhepedin kosteussisällöstä. Jauhepedin kosteussisältö riippuu nesteen haihtumisen ja jakelun välistä tasapainosta. (Baert ym. 2003: 197.)

Kuivauksen eteneminen leijupetirakeistuksessa määräytyy ulostuloilman ja jauhepedin lämpötilan mukaan yhdistettynä kuivausaikaan. Leijupetirakeistuksen päätepiste perinteisesti on saavutettu, kun esiasetettu poistoilman lämpötila on saavutettu. Päätepis-  
teen määrittämisen varmistamiseksi voidaan käyttää myös suoraa valmisteen ominai-

suuksien mittaamista, kuten kosteuden, partikkelikokojakauman ja materiaalin kiinteän olomuodon määrittämisestä. (Burggraeve ym. 2012: 293.) Sideaineen lisäysnopeus, partikkelipedin lämpötila, tilavuus ja ilmankosteus vaikuttavat merkittävästi lopullisen tuotteen laatuun ja olemukseen (Hauber & Troy 2006: 899).

Rakeistimen muotoilulla on merkitystä rakeiden kokojakaumaan, rakeiden tiheyteen ja huokoisuuteen. Tabletoinnissa edellä mainitut ominaisuudet vaikuttavat ulostyöntövoimaan, tablettien kovuuteen ja haurauteen. Rakeistimen muotoilulla on enemmän kuitenkin vaikutusta laboratoriomittakaavassa kuin tuotantomittakaavassa. (Chulia ym. 2009: 139.) Valmistusastialla tai sekoittajan muotoilulla on myös merkitystä prosessoitavuuden kannalta, koska jauheen tai rakeiden valumismalli sekoituksen aikana on riippuvainen niistä. Pallon muotoinen astia parantaa valumismallia ja sen vuoksi myös nesteen sisällön yhtenäisyyttä. (Chulia ym. 2009: 138.)

## **7 Tablettien puristaminen**

Tableteista on tullut suosituin annosmuoto teollisten valmistusmenetelmien kehittyttyä. Tablettien etuina ovat annoksen tarkkuus ja hyvä säilyvyys, niin kemiallinen, mikrobiologinen kuin fysikaalinenkin. Tabletit ovat helppo varastoida, käsitellä ja annostella. (Ilkka ym. 1990: 145.) Tabletointiin sisältyvät kaikki tablettien valmistukseen kuuluvat työvaiheet sekä laitteet ja menetelmät, myös tabletoitavien seosten valmistaminen (Ilkka ym. 1990: 157).

Tablettien valmistuksessa käytetään yleensä apuaineita (Ilkka ym. 1990: 149). Apuaineina toimivat esimerkiksi täyte-, side-, hajotus-, adsorptio- ja liukuaineet. Tablettien ominaisuuksia voidaan parantaa kosteudensäättö- ja hydrofilisointiaineilla sekä liukemista hidastavilla aineilla. Makuun ja väriin voidaan vaikuttaa makeutus- ja maunparannus- sekä väriaineilla. (Ilkka ym. 1990: 150–156.)

Valmistusprosessi jatkuu aikaisemmin kuvatun (Kuva 4) rakeistusprosessin jälkeen liukuaineen lisäyksellä (Kuva 13). Liukuaineen lisäämisen jälkeen tabletoitava massa puristetaan tableteiksi tablettipuristimella.



Kuva 13. Esimerkkiprosessikaavio rakeistuksesta ja tabletoinnista (mukailen Hauber & Troy 2006: 896).

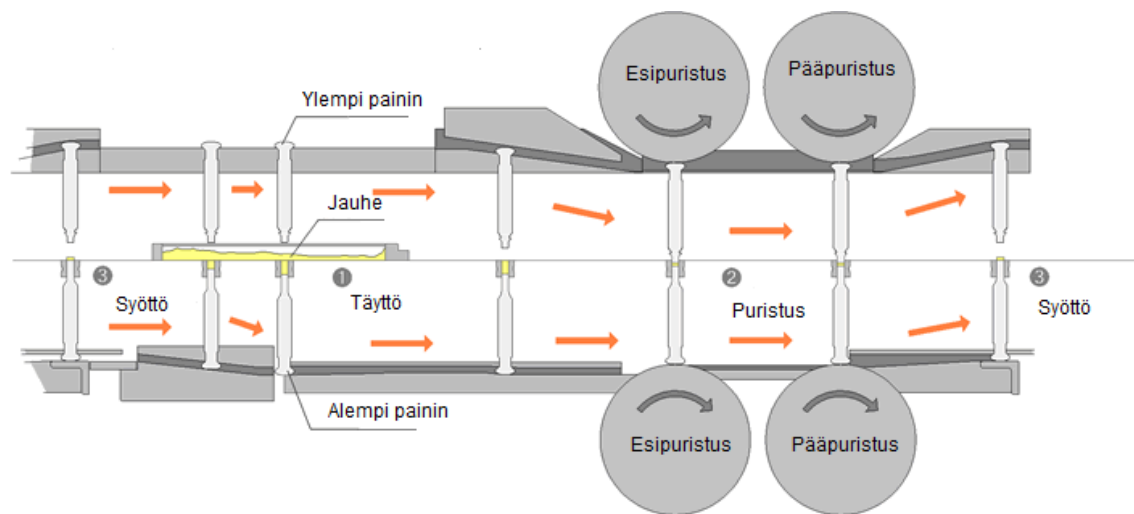
Tuotekehityksessä ja tablettitutkimuksissa käytetään yleensä yhdellä massansyöttöpai-  
kalla varustettua, yhden paininpaikan tablettipuristinta, mikä voi perustua mekaanisen  
puristamisen toimintaperiaatteeltaan joko pyörivän epäkeskon, profiiliohjelmoidun pai-  
neilman tai servomootorin käyttöön. Tablettien puristusnopeus on hitaampi yhdellä  
massansyöttöpai-  
kalla varustetussa tablettipuristimessa kuin teollisessa mittakaavassa  
käytettävässä tablettipuristimessa.

Teollisessa tablettivalmistuksessa käytetään nykyään yleensä monipaikkaista rotaa-  
tiopuristinta, jolloin tabletteja voidaan puristaa jopa yli 500 000 tablettia tunnissa (Ki-  
kushui Seisakusho Ltd. 2005; Gerhardt 2010: 71). Rotaatiopuristimen pyörivällä pöy-  
dällä voi olla useita kymmeniä pistin-/paininpaikkoja. Teollisia tablettipuristimia yleensä  
ohjataan laitteen ulkopuolelta, koska laitetta suojaa muovilasi suojaten valmistetta  
mahdollisilta kontaminaatioilta sekä turvaten operaattorin toimintaa häiriötilanteissa  
(Kuva 14).



Kuva 14. Kaksipuolinen rotaatiopainimilla varustettu tablettipuristin tablettituotantoon (Vegapress II).

Rotaatiopuristimessa tabletoitava massa syötetään pyörivällä tabletointipyöydällä oleviin reikiin ylempään ja alemman painimen väliin (Kuva 15).



Kuva 15. Tabletointiprosessi kuvattuna rotaatiopainimella (mukaillen Kikusui Seisakusho Ltd.).

Esi- ja pääpuristusvoimat puristuspyörillä puristavat massan tabletiksi, jonka alempi painin lopuksi työntää pois reiästä.

## 8 Lääkevalmisteiden standardimäärittämisestä Euroopassa

Euroopan laatustandardimäärittämiset koskien lääkkeellisiä valmisteita ja niiden ainesosia on kuvattu Euroopan farmakopeassa. Standardimäärittämiset koskevat lääkkeiden ja lääkevalmisteiden sisältämien komponenttien, kemiallinen, fysikaalinen ja mikrobiologinen, laatua. Standardien tarkoituksena on taata lääkkeiden turvallisuus, lisäksi tarjota lailliset ja tieteeseen perustuvat periaatteet ja laatukontrollit koskien lääkkeiden kehitystä, valmistusta ja markkinointia. Euroopan farmakopean standardimäärittämiset helpottavat myös lääkevalmisteiden vapaata liikkuvuutta Euroopassa. Euroopan farmakopeaa käytetään viitteenä myös laajalti muualla maailmassa, vaikka useilla mailla on omat standardimäärittämisensä. (Council of Europa.) Amerikassa ohjeistuksia esimerkiksi antaa Ruoka- ja lääkeviranomaisen (The United States Food and Drug Administration, US FDA) (Dave ym. 2015: 906). International Conference for Harmonisation (ICH) on myös taho, joka antaa lääkealalle laatuun ja turvallisuuteen liittyviä ohjeistuksia (ICH Guidelines).

Euroopan farmakopean standardimäärittämysten mukaan tehtävien määrittämysten tulosten tulee olla toistettavia sekä tuloksia kirjattaessa on tärkeää kirjata myös, miten määrittäminen on suoritettu. Euroopan farmakopeassa olevat määrittämiset voivat olla myös suuntaa antavia, sillä erillisille yksittäisille valmisteille ei välttämättä pystytä määrittämään samankaltaisia rajoja, jolloin lääkkeenvalmistajien tulee itse määrittää määrittämysten kohdalla rajat, joissa valmisteen standardimäärittämysten tulosten tulee olla.

## 9 Tilastollinen tarkastelu ja käytetyt tilastolliset menetelmät

### 9.1 Tilastollisen tarkastelun termistö

#### Odotusarvo

Satunnaismuuttujien teoreettista keskiarvoa kutsutaan tilastollisessa tarkastelussa odotusarvoksi (engl. mean, expected value):

$$E[X] = \mu$$

$X$  on satunnaismuuttuja ja  $E$  on sen odotusarvo. Tilastollisessa tarkastelussa  $X$  on yleensä odotusarvo, joka voidaan merkitä myös  $\mu$ . Odotusarvo  $X$  on yksi arviointitapa, jolla voidaan mitata satunnaismuuttujien suurimman ryhmittymän sijaintia. Odotusarvoa kutsutaan siksi myös paikallistamisen parametriksi. (Arnold ja Milton 2003: 54.)

#### Varianssi

Varianssin eli muuntelun (engl. variance) avulla pystytään määrittämään odotusarvon ja yksittäisen mitatun arvon välistä muuntelua:

$$Var X = \sigma^2 = E[(X - \mu)^2]$$

Satunnaisten muuttujien varianssi ( $Var X / \sigma^2$ ) on mitattu arvo ( $E$ ) kertaa satunnaisten muuttujien ( $X$ ) varianssi vähennettynä odotusarvolla ( $\mu$ ) potenssiin kaksi. (Arnold ja Milton 2003: 55.)

#### Keskihajonta

Keskihajontaa (engl. standard deviation) käytetään varianssin ohella muuntelun määrittämiseen. Varianssissa negatiiviset arvot eivät poista positiivisia arvoja, toisin kuin keskihajonnassa, jossa otetaan neliöjuuri varianssista.

Etuna keskihajonnassa on verrattuna varianssiin, että keskihajonta yhdistyy samoihin yksiköihin kuin alkuperäiset tulokset. Keskihajontaa kuvaa yhtälö:

$$\sigma = \sqrt{\text{Var}X} = \sqrt{\sigma^2}$$

$X$  kuvaa satunnaista muuttujaa,  $\sigma^2$  muuttujan varianssia ja  $\sigma$  tarkoittaa keskihajontaa. Keskihajonta on positiivinen neliöjuuri satunnaisen muuttujan varianssista. Suuri keskihajonta kuvaa muuttujan  $X$  epäjohdonmukaisuutta ja huonoa ennustettavuutta, pieni keskihajonta taas kertoo hyvästä tasapainosta ja pysyvyydestä. (Arnold ja Milton 2003: 57.)

### Nollahypoteesi ja vaihtoehtoinen hypoteesi

Tilastollisessa testauksessa asetetaan nollahypoteesi ( $H_0$ ) ja vaihtoehtoinen hypoteesi ( $H_1$ ) ennen tulosten tulkittamista. Nollahypoteesilla määritetään tilastollisessa testauksessa tilanne, jossa testattavien määritysten odotusarvot eivät poikkea tilastollisesti merkitsevästi toisistaan. Vaihtoehtoisessa hypoteesissa (tutkimusväittämä) joko yksi tai useampi määrittelyn odotusarvo poikkeaa tilastollisesti merkitsevästi tehtyjen määrittysten odotusarvoista. Tutkimusväittämänä yleensä pidetään vaihtoehtoista hypoteesia, jolloin nollahypoteesin hylkääminen on mahdollista saatujen kattavien tulosten avulla, ja voidaan hyväksyä vaihtoehtoinen hypoteesi. (Arnold ja Milton 2003: 268.)

Tilastollisten tulosten analysoimisessa tehtäviä virheitä ovat nollahypoteesin virheellinen hylkääminen (tyypin 1 virhe) sekä nollahypoteesin hylkäämättä jättäminen, kun vaihtoehtoinen hypoteesi on totta (tyypin 2 virhe). Tilastollista testiä oikein tulkittaessa voidaan hylätä nollahypoteesi, kun vaihtoehtoinen hypoteesi on totta tai olla hylkäämättä nollahypoteesi sen ollessa totta. (Arnold ja Milton 2003: 269.)

## 9.2 Yksisuuntainen ja kaksisuuntainen varianssianalyysi

Varianssianalyysi (engl. Analysis of variance, ANOVA) on tilastollinen menetelmä, jonka avulla voidaan vertailla useampaa eri koeotosta toisiinsa (Arnold ja Milton 2003: 511).



## Yksisuuntainen varianssianalyysi

Yksisuuntaisessa varianssianalyysissä tutkitaan yksittäistä muuttujaa, joka voi vaikuttaa vasteeseen. Yksisuuntaisesta varianssianalyysistä esimerkkinä odotusarvojen vertaaminen toisiinsa otoksessa ( $k$ ). Otoksesta on valittu satunnaisesti yksittäisiä näytteitä ( $n$ ). Havaitut erot näytteiden välillä kuvaavat koko otoksen yhteisiä eroavaisuuksia. Otoksista otetaan mahdollisimman homogeenisia näytteitä ( $M$ ), jotka tutkitaan haluttaessa tietää onko tehdyllä käsittelyllä vaikutusta otokseen. Näytteet voidaan jaotella vielä alaryhmikseen ( $n_1, n_2, \dots, n_k$ ), ja ne saavat jokainen erilaisen käsittelyn. (Arnold ja Milton 2003: 512.)

Varianssianalyysissä testataan nollahypoteesia, jonka mukaan otosten odotusarvot ( $\mu_1, \mu_2 \dots \mu_k$ ) ovat samat (Arnold ja Milton 2003: 511):

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k$$

Vaihtoehtoisessa hypoteesissa vähintään kaksi odotusarvoista eivät ole samoja:

$$H_1: \mu_i \neq \mu_j$$

(Arnold ja Milton 2003: 512.)

Yksisuuntaisessa varianssianalyysissä testataan tulosten odotusarvojen samankaltaisuutta, missä tuloksia kuvaa alla oleva matemaattinen malli:

$$Y_{ij} = \mu_i + E_{ij}$$

$Y_{ij}$  on vaste  $j$ :n kokeen  $i$ :lle käsittelylle,  $\mu_i$  on  $i$ :n otoksen odotusarvo ja  $E$  satunnaisvaikutusten aiheuttama satunnaisvaihtelu  $i$ :n otoksen odotusarvoille. (Arnold ja Milton 2003: 515.)

## Kaksisuuntainen varianssianalyysi

Kaksisuuntaisessa varianssianalyysissä on kaksi tekijää (faktoria), jotka vaikuttavat vasteeseen (Arnold ja Milton 2003: 574). Tekijöillä (A ja B) voi olla useampia tasoja ja havainnot voidaan jakaa osiin:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + E_{ijk}$$

Yllä olevassa matemaattisessa mallissa  $\mu$  kuvaa päävaikutusta,  $\alpha_i$  kuvaa tekijästä A aiheutuvaa vaikutusta,  $\beta_j$  kuvaa tekijästä B aiheutuvaa vaikutusta ja  $E_{ijk}$  kuvaa tuntemattomien syiden aiheuttamaa satunnaisvaihtelua. Otosten tulee olla normaalijakautuneita sekä niillä tulee olla sama varianssi  $\sigma^2$ . (mukaillen Arnold ja Milton 2003: 578.)

### 9.3 Varianssianalyysin tulosten tulkintaa

#### *P*-arvo

*P*-arvon avulla testataan testin merkitsevyyttä. *P*-arvon tarkoituksena on määrittää hylätäänkö nollahypoteesi, jolloin nollahypoteesille ja vaihtoehtoiselle hypoteesille ovat voimassa samat testisäännöt kuin aikaisemmin tekstissä on kuvattu. (Arnold ja Milton 2003: 274.) Testille määritetään merkitsevyytystaso  $\alpha$ , joka useimmiten on 0,05. *P*-arvon ollessa vähemmän tai yhtä paljon kuin määritetty merkitsevyytystaso, tulee nollahypoteesi hylätä merkitsevyytystasolla  $\alpha$ . (Arnold ja Milton 2003: 275.)

#### Jäännösvirhe

Varianssianalyysissä mitattujen vasteiden kokonaismuuntelu jaotellaan alayksiköihin, jotka voidaan määritellä erilaisiin tunnistettaviin tekijöihin. Kokonaismuunteluun vaikuttavat teoreettisten otosten lisäksi muutkin tekijät, jotka on otettava huomioon, minkä takia tarvitaan jäännösvirheen laskemista.

Otoksen odotusarvo ( $\mu_i$ ) voidaan korvata estimaatilla ( $\bar{Y}_i$ ), jonka vaikutus  $j$ :n käsittelyyn:

$$Y_{ij} - \bar{Y}_i$$

Yllä olevaa erotusta kutsutaan jäännösvirheeksi (engl. residual). (Arnold ja Milton 2003: 517.)

Kokonaisneliösumma, käsittelyjen neliösumma ja jäännöseliösumma

Varianssianalyysissä aineiston kokonaisvaihteluun vaikuttavat käsittelyjen sisäiset sekä käsittelyjen väliset vaihtelut. Siinä selvitetään ensin koko aineiston odotusarvo, seuraavaksi kuinka paljon yksittäisen käsittelyn vaikutus poikkeaa muiden käsittelyjen odotusarvojen yleistasosta, ja viimeiseksi kuinka paljon yksittäinen käsittely poikkeaa kaikkien käsittelyjen odotusarvojen yhteisestä tasosta. (Kouki ym. 2012: 227.)

Edellä mainituille neliösummille käytetään nimityksiä: kokonaisneliösumma, käsittelyjen neliösumma ja jäännöseliösumma. Kokonaisneliösummasta (engl. total sum of squares,  $SS_{TOT}$ ) saadaan selville koko aineiston vaihtelu. Käsittelyjen neliösumma (engl. treatment sum of squares,  $SS_{Tr}$ ) ilmaisee käsittelyjen välistä vaihtelua ja jäännöseliösumma (engl. residual or error sum of squares,  $SS_E$ ) käsittelyjen sisäistä vaihtelua. (Kouki ym. 2012: 228, Arnold ja Milton 2003: 518.) Matemaattinen malli neliösummille on siis:

$$SS_{TOT} = SS_{Tr} + SS_E$$

(Arnold ja Milton 2003: 518). Mallissa kokonaisneliösumma muodostuu käsittelyjen neliösummasta sekä jäännöseliösummasta.

## Vapausasteet ja keskineliösummat

Vapausasteiden (engl. degrees of freedom,  $DF$ ) virhetermi kertoo tilastollisessa testauksessa käytettyjen tasojen ( $b$ ) määrään vähennettynä luvulla 1:

$$b - 1$$

(Arnold ja Milton 2003: 540). Neliösummien suuruuteen vaikuttavat jäännösvariانسsi  $\sigma^2$ , käsittelyjen lukumäärä sekä käsittelyistä otettujen otosten lukumäärä, minkä takia neliösummia ei yksinään voida käyttää varianssin  $\sigma$  estimaatteina ja on otettava huomioon vapausasteet (Kouki ym. 2012: 234). Kaikki edellä mainitut tekijät tulee ottaa huomioon, jolloin jaetaan saadut neliösummat vapausasteillaan ja saadaan muodostettua eri vaihtelulähteisiin liittyvät keskineliöt (Kouki ym. 2012: 234-235).

Keskineliöt eli keskineliösummat saadaan laskettua jakamalla kukin keskineliö vapausasteluvullaan (Kouki ym. 2012: 235).

$$MS_{Tr} = SS_{Tr}/(k - 1)$$

Yllä esimerkkinä käsittelyjen keskineliösumman (engl. mean sum of squares,  $MS_{Tr}$ ) laskeminen jakamalla käsittelyjen neliösumma ( $SS_{Tr}$ ) näytteiden ( $k$ ) määrällä, josta on vähennetty luku 1 (Arnold ja Milton 2003: 519).

## $F$ -suhde

$F$ -suhde on odotusarvoja koskevan nollahypoteesin testisuure, ja se saadaan laskemalla saatujen estimaattien ( $MS_{Tr}$  ja  $MS_E$ ) suhde:

$$F = \frac{MS_{Tr}}{MS_E}$$

Testin  $p$ -arvo voidaan laskea  $F$ -suhteen ja  $F$ -jakauman avulla.  $F$ -suhteen saadessa suuria arvoja käsittelyjen välinen vaihtelu on suurta verrattuna käsittelyjen sisäiseen vaihteluun, jolloin ryhmäkeskiarvoilla on eroja. (Kouki ym. 2012: 235.)

## Selitysaste

Selitysaste (engl. R-squared, R-sq,  $R^2$ ) tarkoittaa regressiomallin neliösumman jakamista kokonaisvaihtelua kuvaavalla neliösummalla eli kuinka paljon regressiomallilla pystytään selittämään kokonaisvaihtelua, alla matemaattinen malli:

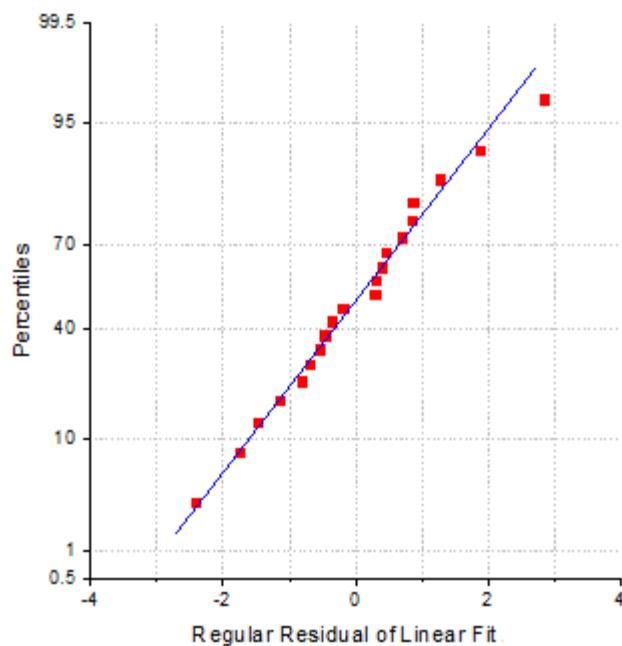
$$R^2 = \frac{SS_{Regression}}{SS_{TOT}}$$

(Kouki ym. 2012: 412). Edellä kuvatussa mallissa  $SS_{Regression} = SS_{TOT} - SS_E$ .  $SS_{TOT}$  ja  $SS_E$  ovat määritelty aikaisemmin luvussa 9.3. Mitä suurempi on selitysaste, sitä suurempi on mallin sopivuus. (Arnold ja Milton 2003: 481.)

### 9.4 Tulosten normalisuuden tarkastelu

#### Havaintojen jäännösvirheiden normaalitodennäköisyyskuvaaja

Havaintojen jäännösvirheiden jakauman piirtäminen mahdollistaa normalisuuden tarkastelun. Tulosten normalisuuden tarkastelussa voidaan käyttää havaintojen jäännösvirheiden normaalitodennäköisyyskuvaajaa, jossa normaalijakaumaa noudattavat havainnot asettuvat suoralle. (Kouki ym. 2012: 425.) Varianssianalyysissä virhetermien oletetaan jakautuvan normaalisti eikä mittaustuloksissa oleteta olevan systemaattista virhettä (Kouki ym. 2012: 233). Havaintojen jäännösvirheiden tulisi olla myös keskenään riippumattomia, mikä voidaan havaita graafisesti esimerkiksi säännöllisenä jäännösvirheiden arvojen vaihteluna (Kouki ym. 2012: 425). Havaintojen jäännösvirheiden normaalitodennäköisyyskuvaajalta voidaan nähdä mahdollisia poikkeavia havaintoja (engl. outliers), jotka voivat johtua esimerkiksi virheellisestä mittaustuloksesta tai tutkittavaan ilmiöön kuulumattomasta, ulkoisesta tekijästä aiheutuvasta poikkeamasta (Kouki ym. 2012: 394). Esimerkki havaintojen jäännösvirheiden normaalitodennäköisyyskuvaajasta, Kuva 16.

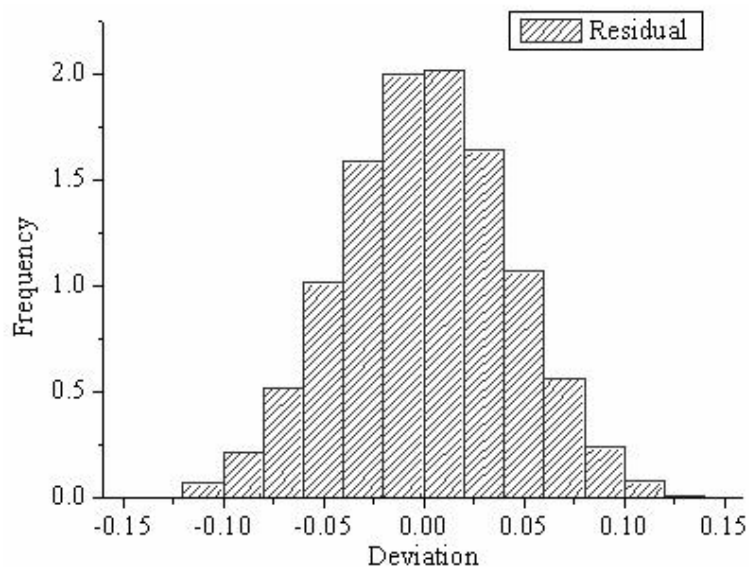


Kuva 16. Havaintojen jäännösvirheiden normaalitodennäköisyyskuvaaja. Y-akselilla ovat persenttiitit ja x-akselilla havaintojen jäännösvirheet sovitettuna suoralle. (Mukaillen Graphic Residual Analysis.)

Kuva 16 esittää havaintojen jäännösvirheiden optimaalista sijoittumista, jolloin ne asetuvat likimain suoralle.

#### Histogrammi havaintojen jäännösvirheistä

Havaintojen jäännösvirheiden normaalitodennäköisyyttä voidaan kuvata myös histogrammin muodossa (Kuva 17). Histogrammin tulisi ideaalitilanteessa olla kellonmuotoinen, yksihuippuinen ja kohtalaisen symmetrinen (Arnold ja Milton 2003: 121, Kouki ym. 2012: 226). Histogrammin korkein kohta tulisi optimaalisessa tilanteessa olla keskimäisessä palkissa ja reunoilla palkkien porrasmaisesti madaltuvia.



Kuva 17. Histogrammi havaintojen jäännösvirheiden jakautumisesta. Y-akselilla frekvenssi ja x-akselilla poikkeamajakauma, havaintojen jäännösvirheet esitettyinä pylväiden muodoissa. (Graphic Residual Analysis.)

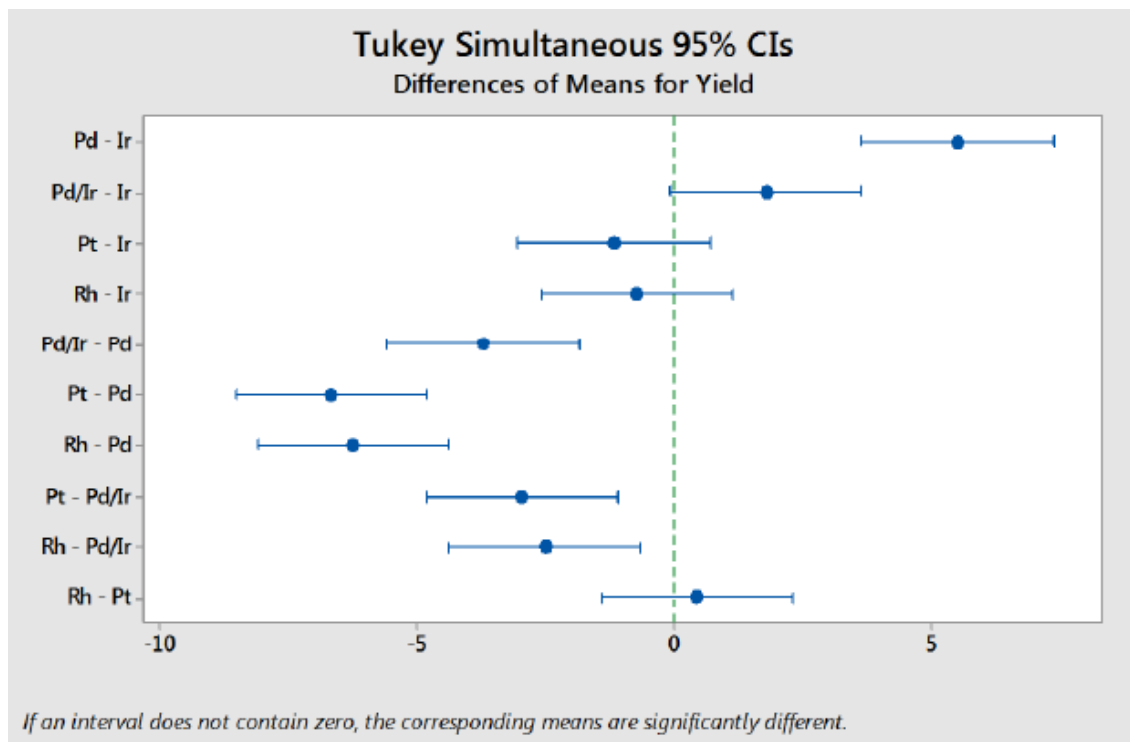
Histogrammista voidaan määrittää, vinoutuuko data tiettyyn suuntaan tai sisältääkö se yksittäisiä poikkeavia havaintoja. Pitkä ”häntä” tiettyyn suuntaan voi kertoa datan vinoudesta.

### 9.5 Tukeyn testi

Tukeyn testi on parivertailutesti, jossa on tarkoituksena vertailla varianssianalysissä käytettyjen otosten odotusarvoja toisiinsa. Varianssianalysissä hylättäessä nollahypoteesi otoksista ainakin kaksi poikkeaa odotusarvoiltaan tilastollisesti merkitsevästi toisistaan. Parivertailutestin tarkoitus on yksilöidä nämä toisistaan poikkeavat otokset. (Arnold ja Milton 2003: 524.)

Tukeyn testi on paras tilastollinen parivertailumenetelmä, kun näytekoot ovat erilaiset (Multiple-Comparison Procedures). Tukeyn testissä parittaisten erojen hakeminen perustuu kaikkiin mahdollisiin pareihin, jotka ovat mukana samassa määrittämisessä, eivätkä ennalta määrättyihin keskiarvopareihin (Kouki ym. 2012: 242).

Parivertailussa olevien määritysten janojen ollessa pystysuuntaisella katkoviivalla, eli kun eron luottamusväli sisältää nollan, määritysten välillä ei ole merkitsevää eroa (Kuva 18). Jos janat eivät ole pystysuuntaisella katkoviivalla, on kahdella määrittelyllä tilastollisesti merkitsevä ero.



Kuva 18. Esimerkki Tukeyn testin tulostuksesta. Vasemmalla verrattavat määrittelyt pareittain luokiteltuina. (Instructions for carrying out statistical procedures and tests using Minitab.)

Esimerkkikuvan Tukeyn testissä Pd/Ir – Ir, Pt – Ir, Rh – Ir sekä Rh – Pt –tulokset eivät eroa tilastollisesti merkitsevästi toisistaan (Kuva 18). Muilla määritysten tuloksilla on tilastollisesti merkitseviä eroja toisiinsa nähden.

## 10 Tutkimussuunnitelma

Opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää hienon, standardin ja karkean laktoosilaadun partikkelikoon vaikutusta märkärakeisiin, valmiiseen massaun, ja siitä valmistettuihin tabletteihin. Märkärakeistuksessa käytettiin kolmea eri muuttujaa, joista kaksi oli suunnittelumuuttujia ja yksi vastemuuttuja. Suunnittelumuuttujina, eli riippumattomina muuttujina, olivat laktoosilaadut ja tablettien valmistuksessa käytetty puristuslujuus. Riippu-



vana muuttujana oli rakeistusnesteen määrä. Rakeistuksessa, massanvalmistuksessa ja tabletoinnissa käytettävät muut apuaineet pidettiin vakioina eivätkä vaikuttaneet rakeistus- tai tabletointiominaisuuksiin. Eriä valmistettiin yhteensä neljä, joista standardilaktoosilaadulla valmistettiin kaksi erää, toinen toistokokeena (Taulukko 1).

Taulukko 1. Valmistettujen massaerien eränumerot, laktoosilaadut ja valmistusjärjestys.

Valmistettujen erien tietoja		
Laktoosilaatu	Laktoosin määrä (g)	Valmistusjärjestys
Standardi 1	1202,8	1
Karkea	1202,8	2
Hieno	1202,8	3
Standardi 2	1202,8	4

Standardilaktoosilaadulla tarkoitetaan tutkimuksessa laktoosilaatua, jonka partikkelikoko on hienon ja karkean laktoosilaadun partikkelikokojen välissä, tarkemmin määriteltynä luvussa 10.1. Kaikissa valmistetuissa erissä laktoosin määrä oli sama.

### 10.1 Laktoosilaadut

Märkärakeistuksessa käytettiin partikkelikoon suhteen kolmea eri kaupallista laktoosilaatua. Tutkimuksessa käytetty hieno laktoosilaatu on yleisesti inhalaatiovalmisteeissa käytettävä laktoosilaatu, karkeaa laktoosilaatua käytetään massan suorapuristuksissa ja standardilaktoosilaatua rakeistuksissa. Standardilaktoosilaatua käytettiin verrokkina hienommalle ja karkeammalle laadulle. Standardilaktoosilaadun partikkeleista 97 % oli kooltaan alle 160 µm. Hienona laktoosilaatuna koeasetelmassa käytettiin laktoosilaatua, jonka partikkelikoko oli keskimäärin 5,7 µm (1,3 µm, 5,7 µm ja 13,2 µm vastaavat 10 %:n, 50 %:n ja 90 %:n fraktiileja). Keskimääräinen partikkelikoko karkealla laktoosilaadulla oli 100 µm (45 µm, 100 µm ja 250 µm vastaavat 11 %:n, 44 %:n ja 99 %:n fraktiileja).

Hienolaatuinen laktoosi poikkesi raaka-aineena visuaalisesti sävynsä sekä valuvuutensa puolesta muista laktoosilaaduista. Hieno laatu oli kellertävän väristä ja jauhe oli herkästi paakkuuntuvaa. Hienolla laktoosilaadulla oli selkeästi suurin pinta-ala samaa painoyksikköä kohden verrattuna standardi- sekä karkeaan laktoosilaatuun. Pinta-alaero oli silmin erotettavissa, koska hieno laktoosi vei paljon enemmän tilaa kuin muut laktoosilaadut. Karkea laktoosilaatu näytti visuaalisesti tarkasteltuna hienojakoisemmalta laktoosilaadulta verrattuna standardi- ja hienoon laatuun, mikä oli mielenkiintoinen ha-

vainto. Hienon laktoosilaadun olisi olettanut olevan hienojakoisemman näköistä myös silmämääräisesti. Väriltään karkea laktoosi oli valkoisin käytetyistä laktoosilaaduista. Badawyn & Hussainin tutkimus (2004: 1; luku 4.2) tukee hienosta laktoosilaadusta tehtyä havaintoa, jolloin karkea laktoosilaatu poikkeaa pinta-alansa vuoksi hienosta. Heidän käyttämänsä laktoosin pienin partikkelikoko oli huokoisempaa verrattuna isomman partikkelikoon laktoosiin. Huokoisempana hieno laktoosilaatu vie enemmän pinta-alaa kuin karkea laktoosilaatu.

## 10.2 Rakeiden valmistus ja tabletointi

Kuiva-aineet sekoitettiin ja märkärakeistettiin laboratoriomittakaavan vertikaalisessa high shear -rakeistimessa. Märkärakeistuksen jälkeen rakeet kuivattiin tyypillisessä leijupetikuivaimessa. Kuivattuihin rakeisiin sekoitettiin hajotus- ja liukuaine, minkä jälkeen ne sekoitettiin. Valmiista massasta otettiin 500 g:n näyte tabletointia varten. Tabletointilaitteena käytettiin pneumaattista yksipaikkaista Manesty Flexitab -tablettipuristinta. Tabletit puristettiin tabletointilaitteella tasaisen pyöreiksi (10 mm:n halkaisija) ja painoltaan 400 milligramman tableteiksi. Jokaisesta neljästä massaerästä puristettiin 140 tablettia normaalilla (5 kN) ja suurella (11 kN) asetetulla vakiopuristusvoimalla ja -puristuksen profiililla (Taulukko 2).

Taulukko 2. Valmistetut erät laktoosilaadun ja puristusvoiman mukaan.

<b>Valmistetut erät ja puristusvoimat</b>	
<b>Laktoosilaatu</b>	<b>Puristusvoima (kN)</b>
Standardi 1	5
Standardi 1	11
Karkea	5
Karkea	11
Hieno	5
Hieno	11
Standardi 2	5
Standardi 2	11

### 10.3 Havainnot valmistuksesta

#### Rakeistusnesteen määrä high shear -märkärakeistuksessa

Rakeistusnesteen määrälle oli ennen valmistuksen aloittamista asetettu tietyt raja-arvot, joiden sisällä lisätyn rakeistusnesteen määrän oli pysyttävä (Taulukko 3). Lisättävän rakeistusnesteen määrän tarvetta arvioitiin empiirisesti rakeistuksen aikana. Tavoitteena oli saavuttaa jokaisen erän valmistuksessa toisiin eriin verrattavissa oleva samankaltainen rakeistuksen päätepiste. Jauhemassan käyttäytyminen siis määritteli lisättävän rakeistusnesteen määrän.

Taulukko 3. Rakeistusnesteen raja-arvot ja käytetyt määrät erissä.

Rakeistusnesteen määrät			
Laktoosilaatu	Raja-arvo, min (g)	Raja-arvo, max (g)	Käytetty määrä (g)
Standardi 1	1015	1115	1115
Karkea	835	1115	1015
Hieno	835	1295	1109
Standardi 2	1015	1115	1115

Märkärakeistuksissa havaittiin, että käytetyn rakeistusnesteen määrässä oli eroja hienolla, karkealla ja standardilaktoosilaadulla. Standardilaktoosierillä lisätyn rakeistusnesteen määrä toisiinsa verrattuna oli odotetusti sama. Karkeaa laktoosilaatua sisältävällä erällä rakeistusnesteen määrä märkärakeistuksessa oli 100 g pienempi kuin standardilaktoosilaatua sisältävillä erillä. Hienoa laktoosilaadun erällä oli lisätyn veden määrä karkean ja standardilaadun välistä. Se oli 6 g vähemmän kuin standardilaktoosilaaduilla ja 94 g enemmän kuin karkean laktoosilaadun erällä. Hienon laktoosilaatumassan vaatima vesimäärä oli siis hieman pienempi kuin standardilaktoosilaaduilla, vaikka hienon laktoosin partikkelikoko oli pienempi ja näin ollen sen ominaispinta-ala oli suurempi. Pinta-alan ollessa suurempi yleensä massa vaatii myös enemmän kosteutta vettyäkseen.

Huomioitava on, että rakeistusnesteen määrä arvioitiin empiirisesti, jolloin rakeistuksen loppupisteen määrittely oli subjektiivista. Operaattorina toimi kuitenkin sama henkilö koko tutkimusjakson ajan, jolloin erien keskinäinen vertailtavuus on luotettavampaa kuin useamman henkilön toimiessa operaattoreina.

## Poikkeamat valmistuksessa

Prosessin aikana ilmenneiden ongelmien vuoksi hienoa laktoosilaatua sisältävän erän massaa ei saatu valmistuksen aikana kuivattua leijupetikuvaimessa samassa lämpötilassa eikä ajassa kuin muita massoja. Kuivauslämpötila oli 30 °C alhaisempi sekä kuivausaika 30 minuuttia pidempi kuin muiden erien valmistuksessa. Massa oli erittäin pölyävää ja hienoa kuivauksen jälkeen verrattuna muiden erien massoihin. Massan pölyävyyteen vaikutti todennäköisesti sekä massan pidemmän kuivausajan että hienomman laktoosilaadun yhteisvaikutus, joten erikseen kummankin tekijän vaikutusta pölyävyyteen on vaikea arvioida. Hienon laktoosilaadun sisältävää massaa oli alun perinkin huomattavasti enemmän pinta-alaltaan visuaalisesti arvioituna kuin muissa erissä, minkä takia pidemmän kuivausajan vaikutusta massan partikkelikokoon silmämääräisesti oli vielä vaikeampi arvioida.

## Havainnot massanvalmistuksesta ja tabletoinnista

Valmiit massat näyttivät silmämääräisesti samanvärisiltä, samannäköisiltä sekä suurin piirtein massojen olevan samaa raekokoa. Massoja ei pystynyt visuaalisesti erottamaan toisistaan ilman niistä tehtäviä määrytyksiä.

Tabletoinnin aikana havaittiin, että kaikki massat puristuivat hyvin. Hienoa laktoosia sisältävän erän massa erottui muita eriä helpommin tabletoituvaksi. Massanvalmistuksen aikainen kuivausajan lisäys ei siis estänyt massan tabletoimista, mutta muuten pitkän kuivauksen vaikutusta massaan on vaikea arvioida.

## 11 Määrytykset rakeista ja valmiista massasta sekä testien suorittaminen

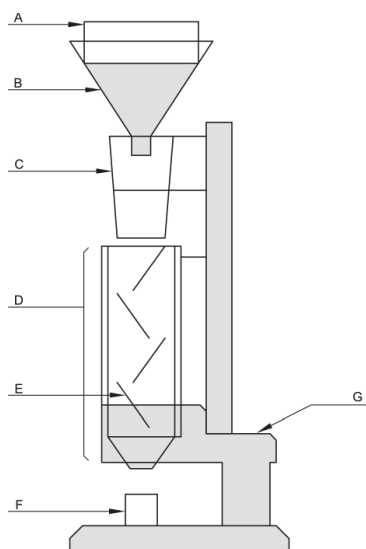
Rakeista voidaan tehdä useampia määrytyksiä Euroopan farmakopean testimonografioiden mukaan. Tutkimuksesta riippuen määrytykset, ja niiden painopiste, saattavat vaihdella. Tärkeimpiin rakeiden ominaisuuksiin kuuluvat niiden partikkelikokojakauma, partikkelikoon keskiarvo, keskimääräinen muoto, kaatotilavuus, ominaispinta-ala, huokoisuus, valuvuusominaisuudet, vahvuus, hankauskestävyys, puristuvuus, kosteus ja dispergoituvuus (Podczek 1998: 123). Tutkimuksista toiset keskittyvät tutkimaan partikkelikokojakaumaa ja lääkevalmisteen dissoluutiota eli liukenemistä, kun taas toiset partikkelikokojakaumaa ja valuvuutta. Tutkimuksissa on osoitettu, että partikkelikokoja-

kauman määrittäminen ei yksinään ole tarpeeksi herkkä menetelmä kuvaamaan märkärakeistusprosessia eikä muita tärkeitä rakeiden ominaisuuksia, kuten huokoskokojakaumaa. Tabletoitavuus voi myös vaihdella ilman merkittäviä muutoksia partikkelikokojakaumassa (Bindra ym. 2015: 2323). Rakeiden hauraus ja huokoisuus vaikuttavat myös rakeiden jatkoprosessoitavuuteen (Keleb ym. 2004b: 680).

Valmiille massalle tehtiin tässä opinnäytetyössä Euroopan farmakopean monografian mukainen standardimääritys, kaatotilavuus. Partikkelikokojakauman volumetrinen määrittäminen suoritettiin laserdiffraktiolla vakionäytemäärästä seulomattomia rakeita sekä valmista massaa.

### 11.1 Kaatotilavuus

Kaatotilavuusmäärittämisessä (engl. Bulk density, free bulk density) Euroopan farmakopean mukaan (testimonografia 2.9.34) on tarkoitus selvittää pakkautumattoman jauheen massan suhdetta sen tilavuuteen (g/ml). Kaatotilavuus riippuu jauheen partikkeleiden tiheydestä sekä partikkeleiden järjestäytymisestä jauhepedissä tilavuuteen nähden. Jauheen kaato-ominaisuudet ovat riippuvaisia näytteen esivalmisteluista, käsitteystä ja varastoinnista. Partikkelit voidaan pakkauttaa, jolloin saadaan aikaiseksi eri kaatotilavuuksien vaihteluväli. Pienikin häiriötekijä jauhepedissä voi aiheuttaa kaatotilavuuden tuloksen muutoksen, minkä takia kaatotilavuutta on usein hyvin vaikea mitata toistettavasti. Kaatotilavuuden mittaamiseen voidaan käyttää kolmea eri metodia, joista volumetrinen mittausmenetelmä kuvattuna alla (Kuva 19). (Ph.Eur.)



Kuva 19. Kaatotilavuuden esimerkkimittauslaitteisto. Kirjainten selitykset: A) 1,0 mm seula, B) jauhesuppilo, C) lastaussuppilo, D) suojakotelo, E) suojalasi, F) mittakuppi, G) pidike (mukaillen Ph.Eur.)

Rakeita voidaan arvioida myös Carr'n indeksin sekä tärytilavuusmäärityksen avulla Euroopan farmakopean mukaisesti valuvuusominaisuuksien osalta, mutta tässä opin-  
näytetyössä ei määritetty Carr'n indeksiä eikä tärytilavuutta.

#### Testin suorittaminen

Tässä oppinäytetyössä kaatotilavuusmääritys tehtiin mittalasin avulla. Kaatotilavuuden määrittystä varten otettua valmista massaa punnittiin 0,1 % tarkkuudella 50 g, poiketen Euroopan farmakopean monografiasta, jossa kaatotilavuus määritetään 100 gramman massasta. Määrittämisessä käytettiin 250 ml:n mittalasia (2 ml:n välein merkattu mitta-asteikko). Punnittu massa seulottiin pienemmän seulan läpi kuin mitä monografian suositus (suosituksena seulan koko  $\geq 1,0$  mm). Koe toistettiin kaksi kertaa jokaisesta erästä satunnaisesti poimitulle massan määrälle (50 g), määrittämiä tehtiin siis yhteensä 3 kertaa ja jokainen määrittäminen tehtiin erikseen poimitulle määrälle. Punnitut massojen määrät grammoina kerrottiin kahdella sekä jaettiin 100 millilitralla tulosten saamiseksi monografian vaatimaan tiheyden muotoon (g/ml):

$$\frac{x \text{ (g)} \times 2}{100 \text{ ml}} = x \left( \frac{\text{g}}{\text{ml}} \right)$$

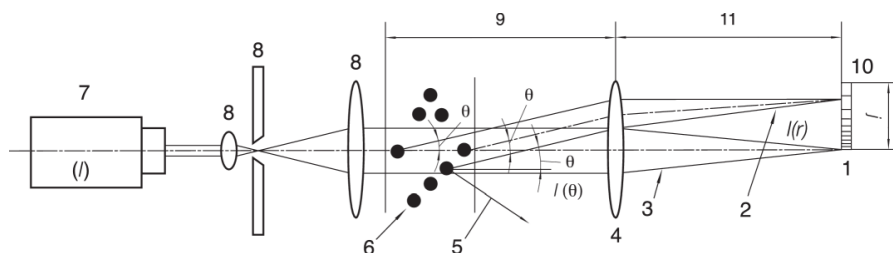
## 11.2 Partikkelikokojakauma

Laserdiffraktiotekniikkaa (engl. Laser Light Diffraction) käytetään määrittelemään partikkelien kokojakaamaa (Particle size analysis by laser light diffraction), testimonografia 2.9.31 (Ph.Eur.). Partikkelikokojakauman tai partikkelikoon keskiarvon perusteella voidaan määrittellä myös rakeistuksen päätepiste (Patel ym. 2008). Näyte voidaan tarvittaessa näytteen analysoimisen helpottamiseksi dispergoida sopivaan nesteeseen tai kaasuun tiettyyn pitoisuuteen sekä hajottaa pienemmiksi osiksi. Laserdiffraktiolla mitataan yleensä 0,1 µm–3 mm:n kokoisia partikkeleita, joiden määrittelyn ideaalitilanteessa tulisi olla pallonmuotoisia. (Ph.Eur.)

Laserdiffraktiossa partikkelit altistetaan monokromaattiselle valonsäteelle (yleensä laser) (Ph.Eur.). Lasersäteen osuessa kooltaan valonsädettä lähellä olevaan tai pienempään hiukkaseen aiheuttaa se diffraktion. Hiukkaskoosta riippuvainen diffraktiokuvion intensiteetti näkyy taipumakulman funktiona. (Ilkka ym. 1990: 38.) Valo siroaa partikkeleista eri kulmissa, mikä voidaan mitata moniosaisella detektorilla (multi-element detector). Numeeriset arvot esittävät hajontakuviota, jotka tallennetaan myöhempää analyysiä varten. (Ph.Eur.)

Hajontakuviota arvoitetaan käyttämällä sopivaa optista mallia ja matemaattista määrittelytapaa, minkä avulla saadaan suhteellinen käsitys erillisten numeroluokkien kokonaismäärästä muodostaen volumetrisen partikkelikokojakauman (Ph.Eur.).

Laite sisältää laservalonlähteen, valonsädettä prosessoivaa optiikkaa, näytteen mitta-alueen (tai solun), Fourier-linssin ja moniosaisen detektorin mittaamaan valon hajontakuviota (Kuva 20) (Ph.Eur.).



Kuva 20. Esimerkki laserdiffraktiolaitteistosta. Numeroiden selitykset: 1. hämääntäjädetektori, 2. hajontavalonsäde, 3. suora valonsäde, 4. Fourierin linssi, 5. linssin ohi mennyt hajontavalonsäde, 6. partikkelit ryhmänä, 7. laser- valonlähde, 8. säteitä prosessoiva yksikkö, 9. linssin toiminta-alue, 10. moniosainen detektori, 11. linssin polttoväli. (mukaillen Ph.Eur.)

Tällä menetelmällä saavutettava toistettavuus riippuu pääasiassa materiaalin ominaisuuksista. Vaadittu toistettavuus riippuu mittauksen tarkoituksesta. Euroopan farmakopean monografiassa ei ole mainittu spesifisiä vaatimuksia eri valmisteille. Pakollisia rajoja ei voida määrittää, koska toistokokeidenkin määrä eri näytevalmisteilla saattaa vaihdella ainekohtaisesti. Partikkelikokojakaumamenetelmä pohjautuu ISO-standardeihin. (Ph.Eur.) Partikkelikokojakauma voidaan myös määrittää seulasarjamenetelmällä, jota ei käytetty tässä opinnäytetyössä.

#### Testin suorittaminen

Partikkelikokojakauma määritettiin erikseen sekä satunnaisesta otoksesta seulomattomia rakeita että valmista massaa. Seulomattomista rakeista sekä valmiista massasta tehtiin kummastakin kolme eri mittausta jokaisesta erästä. Tulokset luokiteltiin partikkelikokojen ( $\mu\text{m}$ ) mukaan d10-, d50- ja d90-tuloksiin eli 10 %:n, 50 %:n ja 90 %:n fraktioihin koon mukaan.

## 12 Määritykset tableteista ja testien suorittaminen

Tableteista voidaan tehdä monia Euroopan farmakopean monografioiden mukaisia standardimäärityksiä. Hajoamisaika, lujuus, jakelutarkkuus ja dissoluutio eli lääkeaineen liukeneminen ovat yleisiä tablettien määritysmenetelmiä.

Hajoamisajan määrittäminen on tärkeää, koska sen perusteella voidaan varmistaa tablettien yhdenmukaisuus erästä toiseen. Hajoamisaikatestiä käytetään tuotekehityksessä haettaessa tabletille parasta kompositiota ja sopivia valmistusolosuhteita. (Ilkka ym. 1990:



160.) Hajoamisaikatestissä tarkoitus on määrittää tabletin hajoaminen tietynsuuruiseksi partikkeleiksi eikä testin ole tarkoitus mitata lääkeaineen vapautumista valmisteesta. Hajoamiskoetta käytetään siis laadun yhdenmukaisuuden kontrollointiin eikä lääkeaineen vapautumisen mittaamiseen kuten liukenemisnopeuskoetta. (Ilkka ym. 1990: 161.)

Puristusvoiman on oltava optimaalinen tablettien valmistuksessa, jolloin vältetään tablettien murentuminen tai hajoaminen normaalissa prosessoinnissa (Ph.Eur.). Lujuuden testauksen avulla voidaan määrittellä tätä ominaisuutta. Lujuuden testaaminen jaetaan kolmeen eri luokkaan: radiaalinen (säteen suuntainen puristus- ja vetolujuus), aksiaalinen (pystyakselin suuntainen puristus- tai vetolujuus) ja pudotus- ja hankauslujuus. (Ilkka ym. 1990: 160.)

Jakelutarkkuuden määrittäminen perustuu oletukseen, että lääkeaine on homogeenisesti jakautunut tabletoitavaan seokseen, jolloin tablettien painon hajonta korreloi pitoisuuden hajonnan kanssa. Jakelutarkkuuden avulla voidaan tarkkailla myös puristusvoiman ja puristustyön suuruutta, mikä vaikuttaa tablettien mikrorakenteeseen, lujuuteen, hajoamisaikaan ja moneen muuhun tekijään. (Ilkka ym. 1990: 161.)

Lääkeaineen liukenemisen kannalta liukenemisnopeus eli dissoluutio on tärkein tableteista tehtävä in vitro -määrittäminen. Liukenemisnopeuden määrittäminen perusteella voidaan joskus ennustaa veteen huonosti liukenevien lääkeaineiden imeytymistä elimistössä. (Ilkka ym. 1990: 161.)

Tableteille tehtiin tässä opinnäytetyössä Euroopan farmakopean monografioiden mukaiset standardimäärittäykset lujuus, hajoamisaika, kuluvuus ja jakelutarkkuus. Tableteista mitattiin myös paksuus. Opinnäytetyössä keskityttiin farmaseuttis-tekniisiin määrittämyksiin. Tableteista ei tässä opinnäytetyössä määritetty dissoluutiota (lääkeaineen vapautumista ja liukenemistä ajan funktiona) vaan tablettien hajoamisaika, koska tabletit olivat päällystämättömiä ja tarkoitettu liukeneviksi suhteellisen nopeassa ajassa.

## 12.1 Lujuus

Testin tablettien lujuus (Resistance to crushing of tablets) tarkoituksena on määrittää vakioituissa olosuhteissa voiman avulla tabletin lujuus (N), joka tarvitaan murskaamaan tabletti (testimonografia 2.9.8). Laite koostuu kahdesta tasapintaisesta leuasta,

jotka liikkuvat kohtisuorassa toisiaan kohti. Leukojen murskauspinnat ovat litteät ja isommat kuin kontaktipinta tabletin kanssa. (Ph.Eur.)

### Testin suorittaminen

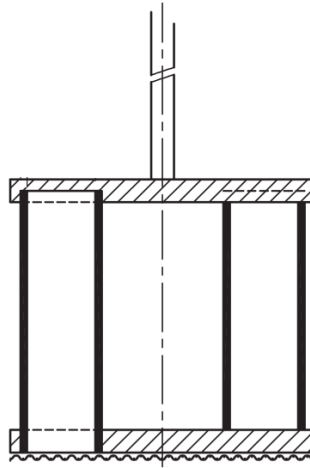
Testi tehtiin jokaisesta erästä satunnaisesti valitulle kymmenelle eri tabletille Euroopan farmakopean mukaisesti. Tableteista jokainen asetettiin yksitellen pinseteillä lujuuslaitteen leukojen väliin mahdollisimman samankaltaisesti vaakatasoon.

Käytännön suorituksen aikana huomioitiin, että pienillä (5 kN) puristuvuuksilla tehdyillä tableteilla hajoaminen oli kevyttä, kun taas suuremmalla (11 kN) puristuvuudella tehdyt tabletit hajosivat räjähtävällä voimalla sinkoillen osiin.

### 12.2 Hajoamisaika

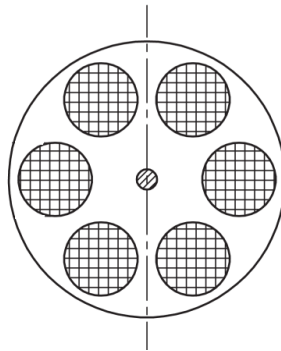
Tablettien ja kapseleiden hajoamisaikamäärityksen (Disintegration of tablets and capsules) on tarkoitus määrittää, missä ajassa tabletit tai kapselit hajoavat sijoitettuina nestemediumiin (väliaine) vakioituissa olosuhteissa (testimonografia 2.9.1). Täydellinen hajoaminen määritellään siten, että yksikön jäännökset, poikkeuksena liukenematomat tabletin päällysteet tai kapselin kuoret, ovat jäljellä testilaitteen seinämässä tai kiinnittyvät alemmalle pinnalle kiekkoa, jolloin on jäljellä pehmeä massa ilman kiinteää ydintä. Normaalin pituisille tableteille käytetään erilaista laitetta (laite A) kuin pidemmille tableteille (laite B). (Ph.Eur.) Alla esitelty laite A.

Laite koostuu korihäkistä, joka pyörii vertikaalisesti akselinsa ympäri, ja dekanterilasiin (Kuva 21). Dekanterilasiin laitetaan upotusneste, joka yleensä on vesi (Water purified). Termostaatin avulla neste lämmitetään  $37 \pm 2^\circ\text{C}$ :seen, ja sen avulla pystytään säätämään syklejä (yleensä 29–32 rpm/min) sekä nestekorkeutta. (Ph.Eur.)



Kuva 21. Korihäkki sivulta kuvattuna (mukaillen Ph.Eur.).

Korihäkissä sijaitseviin kuuteen putkeen laitetaan yksi annosyksikkö (tabletti tai kapseli) näytettä (Kuva 22). Mittaus suoritetaan käyttämällä spesifistä mediumia upotusnestessä. Tietyn ajan kuluttua mittauksen loputtua kori nostetaan nesteestä ja havainnoidaan annosyksiköitä, jolloin kaikkien annosyksiköiden tulisi olla hajonneet kokonaan. Jos 1 tai 2 annosyksikköä ovat hajoamattomia, toistetaan testi 12 ylimääräisellä annosyksiköllä. Vaatimukset eivät täyty ellei 16 tai 18 annosyksikköä 24 yksiköstä hajoa testattaessa. (Ph.Eur.)



Kuva 22. Korihäkissä olevat putket ylhäältä päin kuvattuna (mukaillen Ph.Eur.).

#### Testin suorittaminen

Hajoamisajan määrittämisessä laitettiin jokaiseen kuuteen putkesta yksi satunnaisesti valittu tabletti tutkittavasta erästä. Korihäkki pudotettiin 39-asteiseen veteen ja laite käynnistettiin. Kaikkien kuuden tabletin hajottua kokonaan korihäkin ylösalainen liike pysähtyi ja tabletin hajoamiseen kulunut aika kirjattiin sekunteina.

### 12.3 Kuluvuus

Kuluvuuden määrittämisessä käytetään rumpua, jossa yksi rummun sivuista on liikuteltavissa (testimonografia 2.9.7). Tabletit kellahtavat rummun mukana, koska rummun sisällä keskellä ulommalla seinustalla on yksi seinämä, johon tablettien vauhti välillä pysähtyy, ja ne putoavat seinämän jälkeen alas rumpuun. Rumpu pyörii horisontaalisesti nopeudella 25 kierrosta minuutissa. Jokaisella kierroksella tabletit liikkuvat tai pyörivät ja tippuvat osuen rummun seinämille sekä toisiinsa. 650 milligramman tai vähemmän painavista tableteista otetaan noin 6,5 gramman otos. Tableteista poistetaan irtohiukkaset ennen testaamista sekä tablettinäyte otetaan ennen niiden asettamista rumpuun. Rumpua pyöritetään 100 kertaa ja poistetaan tabletit. Tableteista poistetaan irtohiukkaset ennen uusintapunnitusta. Kuluvuuden tulos saadaan selville ensimmäisen ja jälkimmäisen punnituksen erotuksena. (Ph.Eur.)

#### Testin suorittaminen

Kuluvuutta varten satunnaisesti valittuja tabletteja kevyesti puhdistettiin siveltimellä seulaverkon päällä. Jokaisesta erästä punnittiin noin 6,5 grammaa tabletteja yhtä määritystä kohden. Tabletit laitettiin punnitukseen jälkeen rumpuun, joka pyöritti tabletteja 4 minuutin ajan kierrosnopeudella 25 (rpm). Lopuksi tabletit vielä puhdistettiin siveltimen ja seulaverkon avulla kuten määrityksen alussa ja punnittiin.

Kuluvuus määritettiin muiden erien tableteista kaksi kertaa, paitsi standardilaktoosi 2 -erän 11 kN:n puristusvoimalla tehdyistä tableteista kolme kertaa tulosten varmistamiseksi. Määrityksiä tehtäessä vaaka vaelsi jonkin verran ja varsinkin edellä mainitun erän kohdalla, minkä takia määritys päätettiin toistaa kolme kertaa. Muidenkin tulosten varmistamiseksi koe toistettiin kerran erien kohdalla.

Kuluvuusmäärityksiin valitut 6,5 gramman määrät koostuivat eri tablettiyksilöistä ensimmäisessä, toisessa ja kolmannessa kokeessa, koska jo kerran määritetyt tabletit ovat kuluneet eikä kuluvuutta voinut määrittää uudelleen samoista tableteista.

### 12.4 Jakelutarkkuus

Jakelutarkkuusmääritys (painon määritys) yksittäisannosteltaville valmisteille (Uniformity of mass of single-dose preparations) suoritetaan Euroopan farmakopean mukaan

seuraavasti: Punnitaan 20 yksittäistä satunnaisesti valittua yksilöä tai yksittäin pakattua yksilöä ja määritetään keskimääräinen massa (testimonografia 2.9.5). Kahden yksilön paino saa korkeintaan poiketa tietyn prosenttimäärän verran massojen keskiarvosta, eikä yksikään massoista saa poiketa enempää kuin kaksinkertaisen prosenttimäärän verran (Taulukko 4).

Taulukko 4. Päälystämättömien tablettien sallitut prosenttipoikkeamat.

Tabletin paino	Sallittu prosenttipoikkeama
≤ 80 mg	± 10 %
> 80 mg ja < 250 mg	± 7,5 %
≥ 250 mg	± 5 %

Testin suorittaminen

Punnittiin vaa'alla 20 yksittäistä satunnaisesti valittua tablettia jokaisesta tabletoidusta erästä.

### 12.5 Paksuus

Paksuuden määrittämiselle ei ole omaa monografiaa Euroopan farmakopeassa. Yleisesti voidaan sanoa, että tabletin paksuus korreloi tabletoinnissa käytetyn puristusvoiman kanssa massan ollessa homogeenista ja tabletin painon ollessa vakio.

Testin suorittaminen

Tablettien paksuus määritettiin mikrometrillä erästä satunnaisesti valitusta 20 tabletista. Tabletit asetettiin yksitellen keskikohdasta mikrometrin pihtien väliin ja mitattiin kunkin yksittäisen tabletin paksuus.

## 13 Tulokset ja tulosten tarkastelu

Nollahypoteesina ( $H_0$ ) tässä opinnäytetyössä oli, että laktoosilaatujen välillä ei ole eroja tutkittujen ominaisuuksien odotusarvojen suhteen. Vaihtoehtoisena hypoteesina ( $H_1$ ) vastaavasti oli, että ainakin yksi laktoosilaatu poikkeaa muista laktoosilaaduista tilastollisesti merkitsevästi. Testien merkitsevyytasoksi ( $p$ -arvo) valittiin 0,05, jolloin tilastolli-

sen testin  $p$ -arvon ollessa vähemmän tai yhtä paljon kuin 0,05, tulee nollahypoteesi hylätä merkitsevyystasolla  $\alpha$ .

Opinnäytetyössä tulosten tilastollinen tarkastelu tehtiin osalle tuloksista yksisuuntaisella varianssianalyysillä (kaatotilavuusmäärittely) ja osalle tuloksista (tableteista tehdyt määritykset) kaksisuuntaisella varianssianalyysillä. Laktoosilaatujen lisäksi tilastollisesti tarkasteltiin myös tablettien valmistuksessa käytetyn puristusvoiman vaikutusta valmistettuihin tabletteihin. Varianssianalyysit suoritettiin tilastolliseen tarkasteluun tarkoitettulla Minitab-ohjelmalla (versio 17). Varianssianalyysillä vertailtiin, oliko laktoosilaatujen sekä tietyllä puristusvoimalla puristettujen tablettien välillä tilastollisesti merkitseviä eroja. Tukeyn parivertailua luottamustasolla 95 % käytettiin saatujen tilastollisesti merkitsevien erojen tarkempaan analysointiin. Partikkelikokojakauman tuloksia käsiteltiin Excelillä.

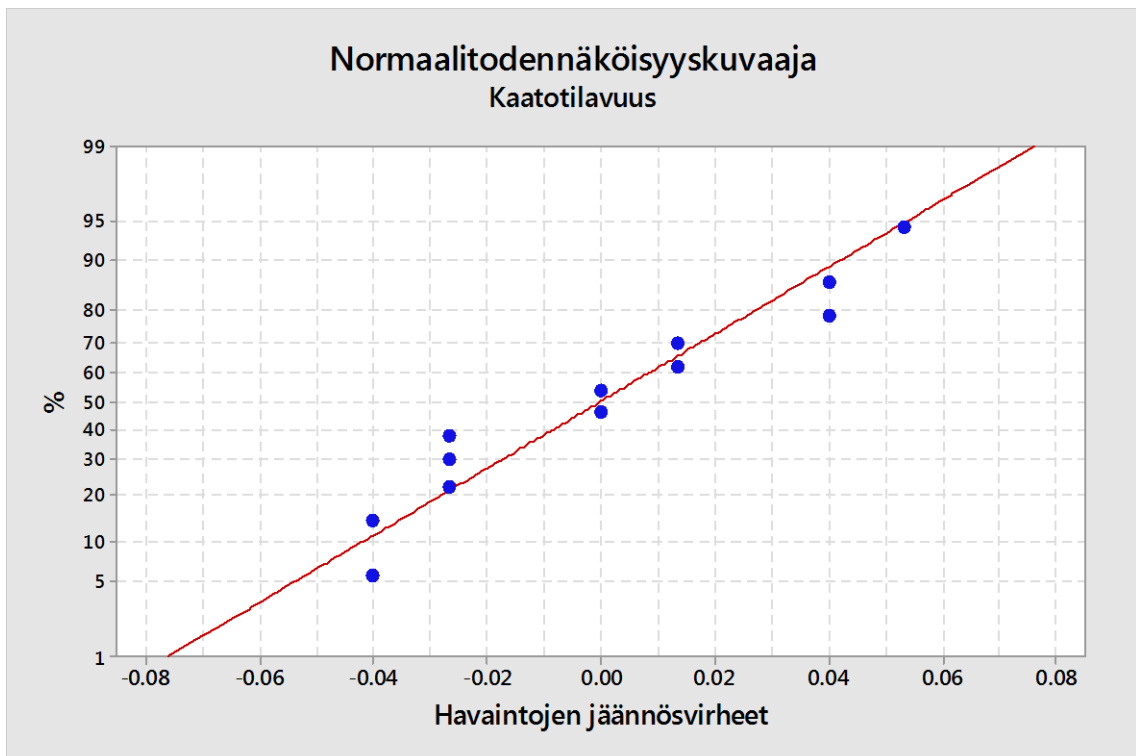
Suunnittelumuuttujina tablettien tulosten analysoinnissa olivat laktoosilaatu ja puristusvoima. Laktoosilaadut (standardi, hieno, karkea) muodostivat kolme eri tasoa ja puristusvoima (5 kN, 11 kN) kaksi tasoa. Rakeiden sekä valmiiden massojen tilastollinen tarkastelu tehtiin laktoosilaatujen vertailulla. Tabletteja analysoitiin vastemuuttujien kuluuuden, hajoamisajan, paksuuden, jakelutarkkuuden ja lujuuden suhteen.

### 13.1 Kaatotilavuus

Kaatotilavuus Euroopan farmakopean mukaan tulee virallisesti ilmoittaa tiheytenä (g/ml), joten kaatotilavuustulokset ovat muutettu tiheydeksi. Kaatotilavuudelle ei ole tiettyjä raja-arvoja Euroopan farmakopeassa, mutta massan kaatotilavuuden tulisi sijoittua välille 150–250 ml. Määrityksissä saadut tulokset sijoituivat 172–184 ml:n välille, kun saadut kaatotilavuusmittaustulokset kerrottiin kahdella, joten tulokset olivat Euroopan farmakopean antamien rajojen sisällä.

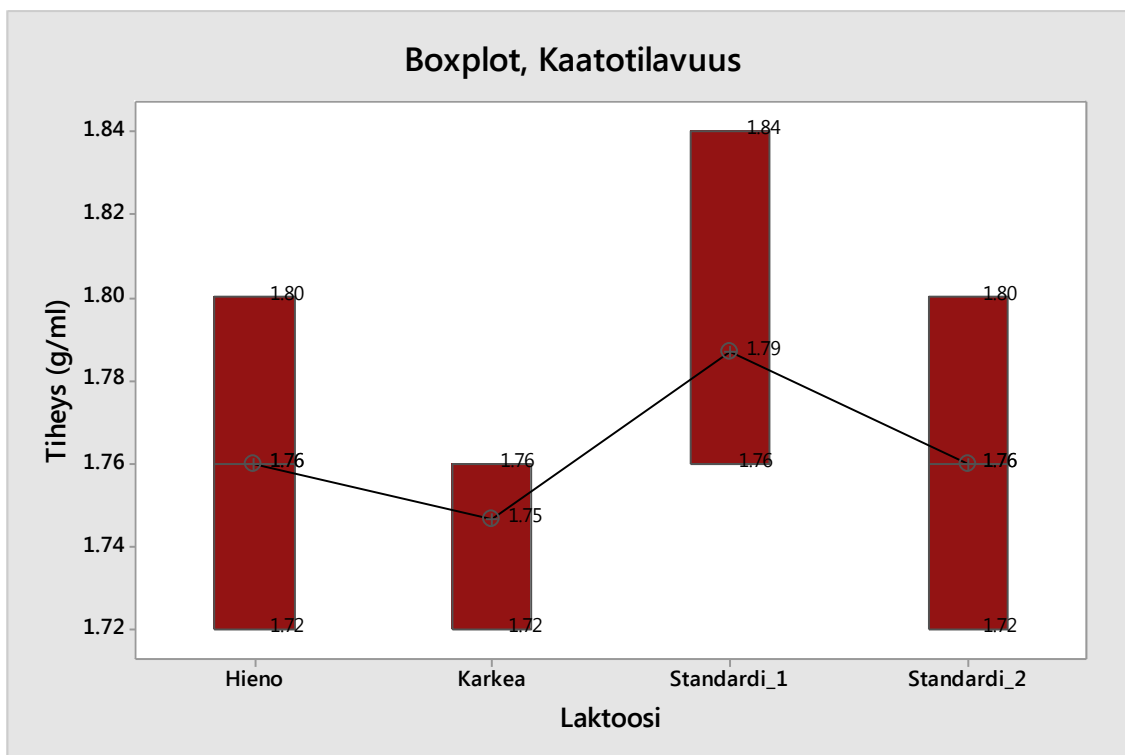
Yksisuuntaisen varianssianalyysin tulosten mukaan  $p$ -arvo  $> 0,05$  (0,647), joten laktoosilaatujen odotusarvot eivät poikkea tilastollisesti merkitsevästi toisistaan (Liite 1). Selitysaste on alhainen (17,76 %), jolloin käytetyn mallin mukainen ennustettavuus suhteessa odotusarvoon on huono. Mittausten määrä oli myös tutkimuksessa vähäinen.

Kaatotilavuuden normaalitodennäköisyyskuvaajalla havaintojen jäännösvirheet noudattavat kohtuullisesti normaalijakaumaa (Kuva 23). Havaintojen jäännösvirheiden sijoittumisessa voidaan havaita säännönmukaisuutta ja ryhmittymistä. Havaintojen määrä on pieni (alle 15 kpl) ja mittaustuloksia olisi voinut olla enemmän tulosten luotettavan tilastollisen tulkittavuuden kannalta. Euroopan farmakopean mukaan pienikin häiriötekijä jauhepedissä voi aiheuttaa kaatotilavuuden tuloksen muutoksen, minkä takia kaatotilavuutta on usein hyvin vaikea mitata toistettavasti.



Kuva 23. Kaatotilavuusanalyysin havaintojen jäännösvirheiden normaalitodennäköisyyskuvaaja.

Boxplotin mukaan kaatotilavuuden standardilaktoosilaatu 1 näyttää jonkin verran poikkeavan muista laktoosilaaduista (Kuva 24). Tilastollisesti poikkeama ei kuitenkaan ole merkitsevä.



Kuva 24. Kaatotilavuusanalyysin boxplot eri laktoosilaaduista.

Karkean laktoosilaadun tuloksissa on vähiten hajontaa, mutta muiden laktoosilaatujen tiheydet ovat jakaantuneet keskenään samalla tavalla laajemmalle alueelle. Karkealla ja standardilaktoosilaadulla oli kaksi yksittäistä mittaustulosta 1,76 g/ml. Kaikilla laktoosierillä mittauksia tehtiin yhteensä kolme erää kohti. Hienolla ja standardilaktoosilaatu 2:lla ovat tiheyden tulokset jakaantuneet samankaltaisesti 1,72 g/ml:sta 1,80 g/ml:aan.

### 13.2 Partikkelikokojakauma

Euroopan farmakopean mukaan partikkelikokojakaumatulokset yleensä esitetään kumulatiivisena jakaumana tai tiheyden jakaumana tilavuuden mukaan. Tässä opinnäytetyössä tulokset ilmoitetaan keskiarvoina logaritmisella asteikolla.



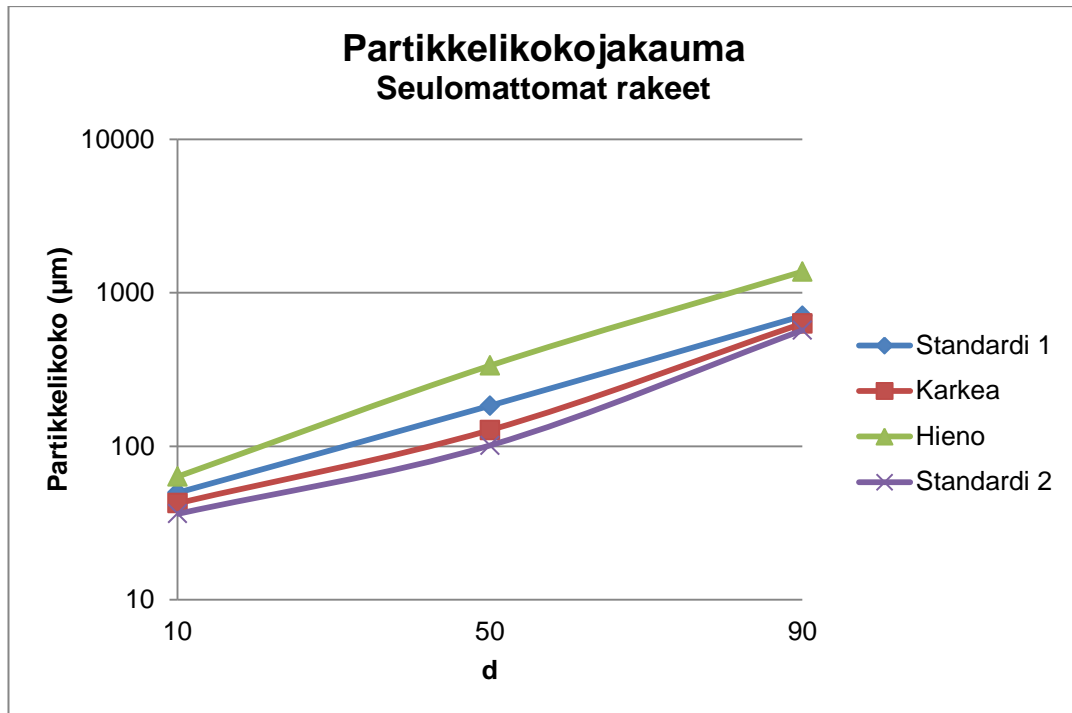
## Seulomattomat rakeet

Seulomattomissa rakeissa varsinkin fraktiileissa d50 ja d90 hieno laktoosilaatu eroaa karkeasta ja standardilaaduista. Hienon laktoosilaadun partikkelikoot ovat jopa kolminkertaiset verrattuna muihin laktoosilaatuihin d50-fraktiilissa ja d90-fraktiilissakin kaksinkertaiset. Seulomattomien rakeiden partikkelikokojakaumien keskiarvot on jaoteltu fraktiileittain laktoosilaadun mukaan (Taulukko 5).

Taulukko 5. Seulomattomien rakeiden partikkelikokojakaumien keskiarvot laktoosilaatujen mukaan fraktiileittain.

<b>Partikkelikokojakauma</b>			
Seulomattomat rakeet			
<b>Laktoosilaatu</b>	<b>d10 (µm)</b>	<b>d50 (µm)</b>	<b>d90 (µm)</b>
Standardi 1	50	184	706
Karkea	42	127	631
Hieno	63	335	1373
Standardi 2	36	101	569

Logaritmisesta kuvaajasta voidaan todeta samat poikkeamat: hieno laktoosilaatu poikkeaa partikkelikooltaan karkeasta sekä standardilaaduista (Kuva 25). Karkean laktoosilaadun tulokset asettuvat kahden standardilaadun tulosten välille.



Kuva 25. Seulomattomien rakeiden partikkelikokojakauman keskiarvotulokset fraktiileittain esitettynä logaritmisena kuvaajana.

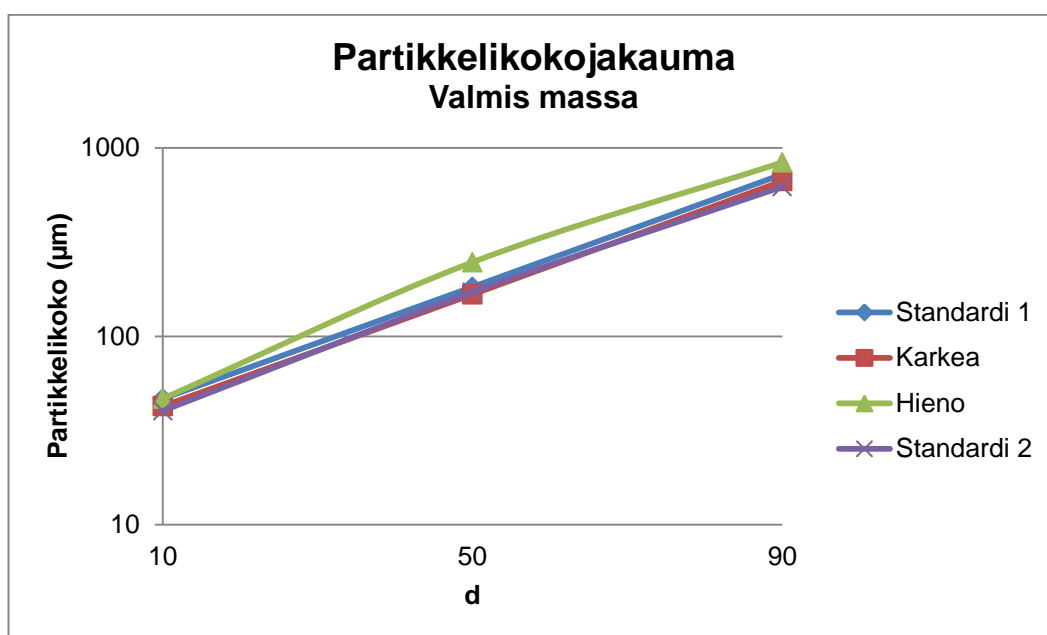
#### Valmis massa

Valmiin massan d50- ja d90-fraktiilien partikkelikoot eivät poikkea toisistaan niin merkittävästi kuin seulomattomien rakeiden. Partikkelikokoja vertaillen hienon laktoosin partikkelikoot ovat silti suurempia kuin muilla laktoosilaaduilla (Taulukko 6). Hienon laktoosin partikkelikoon suuruus johtuu sen alkuperäisestä pienestä partikkelikoosta, jolloin pienemmät partikkelit tarttuvat helpommin toisiinsa kuin isommat partikkelit. Pienillä partikkeleilla on enemmän tarttumapinta-alaa kuin isoilla partikkeleilla.

Taulukko 6. Valmiin massan partikkelikokojakaumien keskiarvot laktoosilaatujen mukaan fraktiileittain.

Partikkelikokojakauma			
Valmis massa			
Laktoosilaatu	d10 (µm)	d50 (µm)	d90 (µm)
Standardi 1	47	183	724
Karkea	43	167	666
Hieno	47	247	837
Standardi 2	40	172	622

Valmiin massan partikkelikokojakauman kuvaajasta nähdään myös hienon laktoosin erottuminen partikkelikooltaan muista laktoosilaaduista (Kuva 26). D10-fraktiilin kohdalla laktoosilaatujen partikkelikoot ovat hyvin lähellä toisiaan, kun taas d50-fraktiilissa hieno laktoosilaatu erottuu selvästi muista laktoosilaaduista. D90-fraktiilin kohdalla erot ovat tasoittuneet, mutta hieno laktoosilaatu sisältää edelleen enemmän isompia partikkeleita.



Kuva 26. Valmiin massan partikkelikokojakauman keskiarvotulokset fraktiileittain esitettynä logaritmisena kuvaajana.

Tilastollista tarkastelua varianssianalyysilla ei pystytty tässä tapauksessa tekemään, koska käytettävissä olivat vain fraktiilien keskiarvot. Hieno laktoosilaatu poikkesi partikkelikokojakaumatulostensa ja kuvaajien perusteella muista laktoosilaaduista valmiin massan määrittämisessä. Bolhuis ym. tutkimusryhmineen päätyi samaan tulokseen laktoosin partikkelikokoa tutkiessaan: pienemmillä partikkeleilla oli suurempi pinta-ala kuin karkeammasta seulontafraktiosta valmistetuilla (Bolhuis ym. 1986: 145, 147).

### 13.3 Lujuus

5 kN:n puristusvoimilla tehdyillä tableteilla pienin lujuus (49 N) oli karkeasta laktoosista tehdyn erän tableteilla, kun taas suurin lujuus (79 N) oli hienon laktoosierän tableteilla.

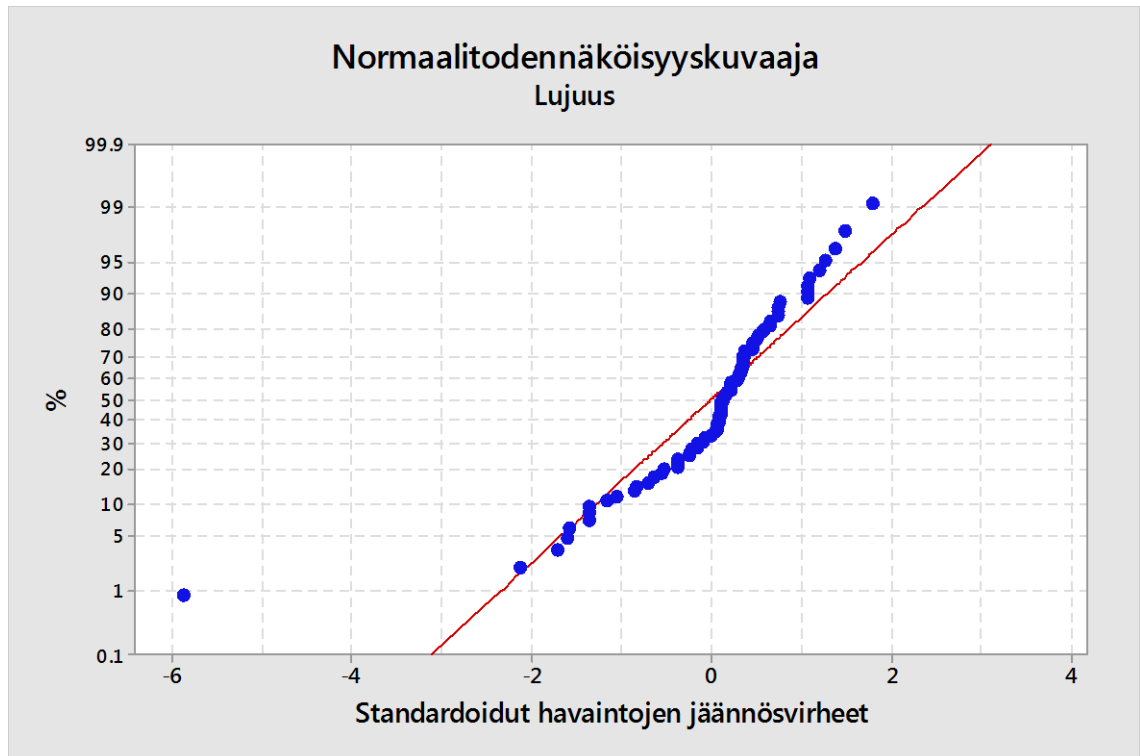
Pienin lujuus (92 N) 11 kN:n puristusvoimalla tehdyillä tableteilla oli karkean laktoosilaadun tableteilla ja suurin lujuus (182 N) hienon laktoosin tableteilla, vastaavasti kuten pienellä puristusvoimalla tehdyillä tableteilla. Keskiarvo 5 kN:n puristusvoimalla valmistetuilla tableteilla oli 58 N ja 11 kN:n tableteilla 150 N eli melkein kolminkertainen 5 kN:n tabletteihin verrattuna. Euroopan farmakopean mukaan tulokset tulee ilmoittaa minimi-, maksimi- ja keskiarvoilla (Taulukko 7).

Taulukko 7. Lujuusmääritysten minimi-, maksimi- ja keskiarvot eri laktoosilaaduista valmistetuilla tableteilla.

Lujuus				
Laktoosilaatu	Puristusvoima (kN)	Min (N)	Max (N)	Ka (N)
Standardi 1	5	52	60	54
Standardi 1	11	122	144	136
Karkea	5	49	60	55
Karkea	11	92	163	145
Hieno	5	62	79	69
Hieno	11	167	182	176
Standardi 2	5	56	63	59
Standardi 2	11	144	156	150

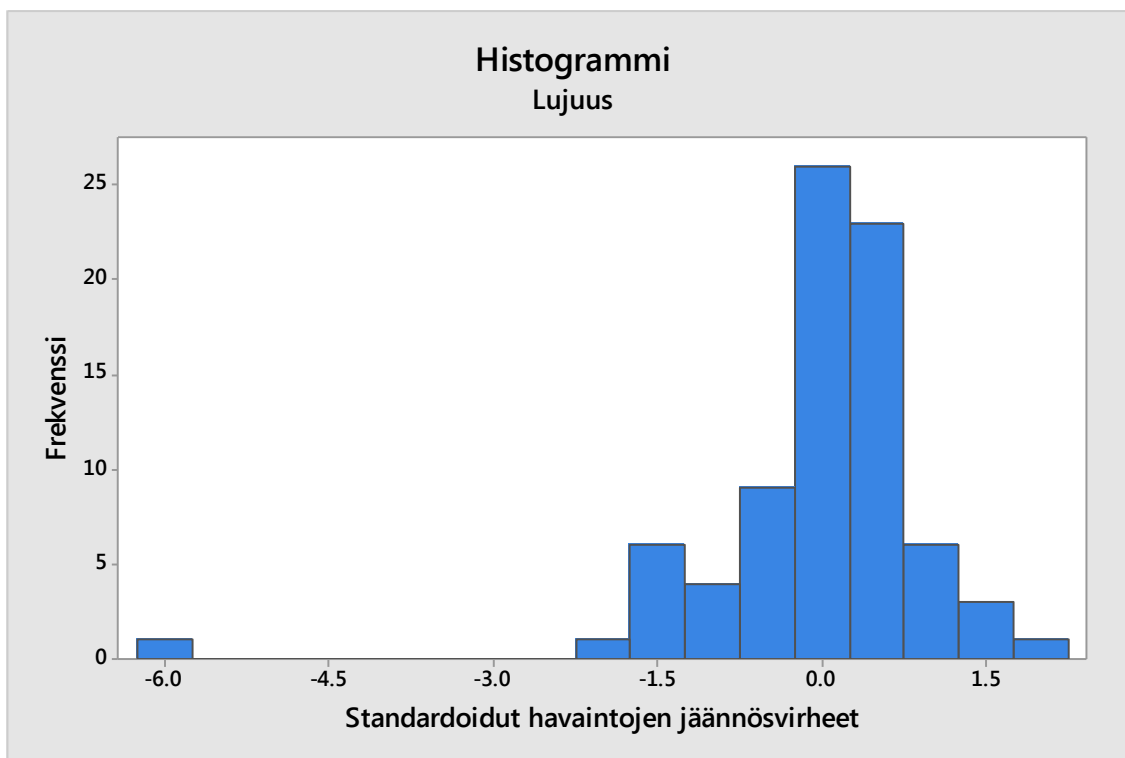
Kaksisuuntaisen varianssianalyysin perusteella laktoosilaatujen ja puristusvoiman  $p$ -arvojen perusteella kummankin ryhmän sisällä odotusarvot poikkeavat koko aineiston odotusarvoista,  $p$ -arvo on kummallakin ryhmällä  $<0,001$  (Liite 1). Merkitsevä ero lujuusmäärittäyksessä eri puristusvoimilla valmistettujen tablettien välillä oli hyvin ennustettavissa ennen lujuusmäärittäystä tablettien valmistuksessa käytetyn erilaisen puristusvoiman takia. Selitysaste (96,36 %) on todella hyvä, joten ennustettavuus suhteessa odotusarvoon on hyvä, käytetty tilastollinen malli sopii tutkimusaineistoon erinomaisesti.

Lujuuden normaalitodennäköisyyskuvaajalta nähdään havaintojen jäännösvirheiden sijoittuminen (Kuva 27). Kuvaajalla on yksi poikkeava havainto, mutta muut havaintojen jäännösvirheet ovat normaalistijakautuneita.



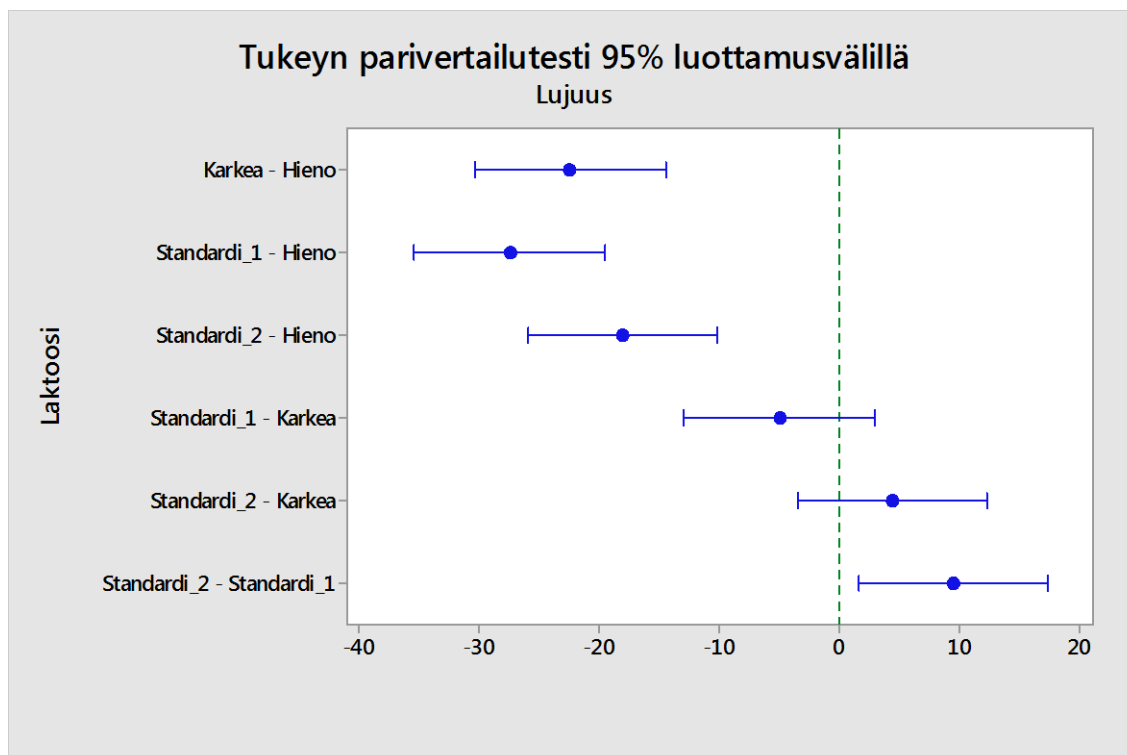
Kuva 27. Lujuusanalyysin havaintojen jäännösvirheiden normaalitodennäköisyyskuvaaja.

Lujuusmäärityksen havaintojen jäännösvirheiden histogrammista on nähtävissä, että havaintojen jäännösvirheet noudattavat suurin piirtein normaalijakaumaa (Kuva 28). Histogrammissa havaintojen jäännösvirheiden sijoittumisen perusteella voidaan tehdä samat havainnot kuin edellä olleesta normaalitodennäköisyyskuvaajasta. Histogrammissa poikkeuksellisinä näkyvät välillä 0,0 ja -1,5 oleva lyhyempi palkki sekä -6,0:n kohdalla oleva havainto.



Kuva 28. Histogrammi lujusmäärittelyn havaintojen jäännösvirheistä.

Tukeyn parivertailutestin perusteella laktoosilaadusta karkea ja hieno laktoosilaatu sekä hieno ja standardilaadut poikkeavat merkitsevästi toisistaan (Kuva 29). Standardi ja karkea laktoosilaatu eivät poikkeavat toisistaan merkitsevästi.



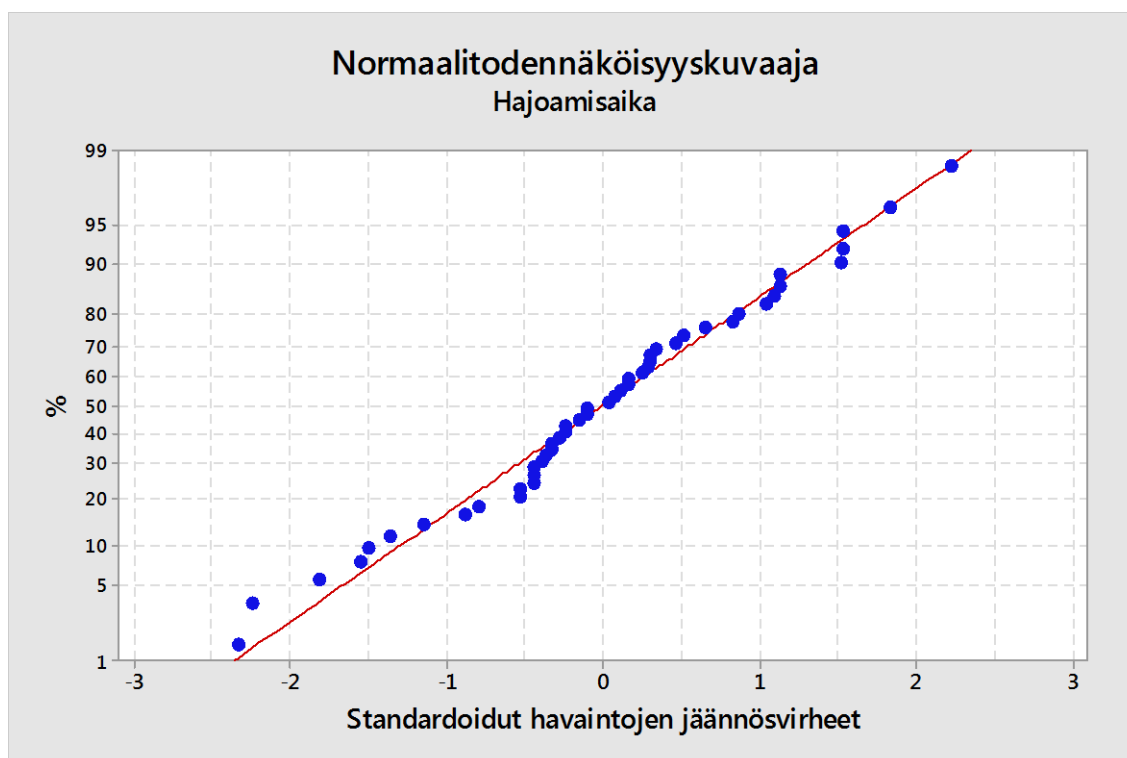
Kuva 29. Tukeyn parivertailutestin tulokset laktosilaaduista lujuusmäärittämisessä.

Huomioitava on, että myös standardilaktosilaadut 1 ja 2 poikkeavat toisistaan, minkä takia standardilaktosien valmistusprosessissa voi olla eroja tai itse mittauksissa ollut häiriötekijöitä.

#### 13.4 Hajoamisaika

Euroopan farmakopean asettama vaatimus hajoamisaikakokeelle täyttyi ja kaikki testatut tabletit hajosivat kokeen aikana. Kaksisuuntaisen varianssianalyysin perusteella laktosilaatujen sekä eri puristusvoimilla puristettujen tablettien odotusarvot poikkesivat tilastollisesti merkitsevästi toisistaan hajoamisajan suhteen (Liite 1). Laktosilaatujen määrityksessä  $p$ -arvo on 0,002 ja puristusvoimilla  $<0,001$ . Hajoamisajan voi olettaa olevan pidempi suuremmalla puristusvoimalla valmistetuilla tableteilla kuin pienemmällä puristusvoimilla valmistetuilla. Ero 11 kN:n ja 5 kN:n tablettien hajoamisen keskiarvoissa oli melkein kaksinkertainen. 5 kN:n puristusvoimilla valmistetuilla tableteilla hajoamisaikojen keskiarvo oli 81 s ja 11 kN:n puristusvoimilla valmistetuilla tableteilla 145 s. Selitysaste on 70,56 %, jolloin ennustettavuus suhteessa odotusarvoon on kohtalainen. Mallin voi olettaa kuvaavan kohtalaisesti tutkimusasetelmaa.

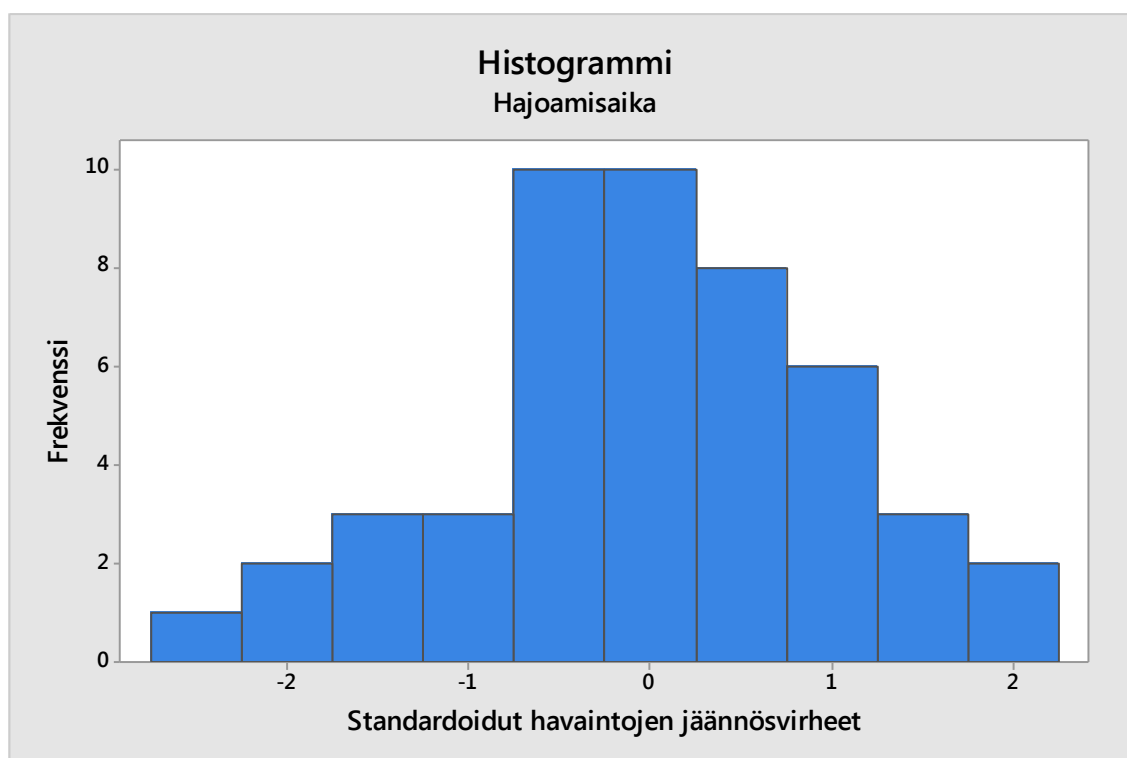
Havaintojen jäännösvirheiden sijoittuminen normaalitodennäköisyyskuvaajalla osoittaa virhetermien olevan normaalistijakautuneita (Kuva 30).



Kuva 30. Hajoamis aika-analyysin havaintojen jäännösvirheiden normaalitodennäköisyyskuvaaja.

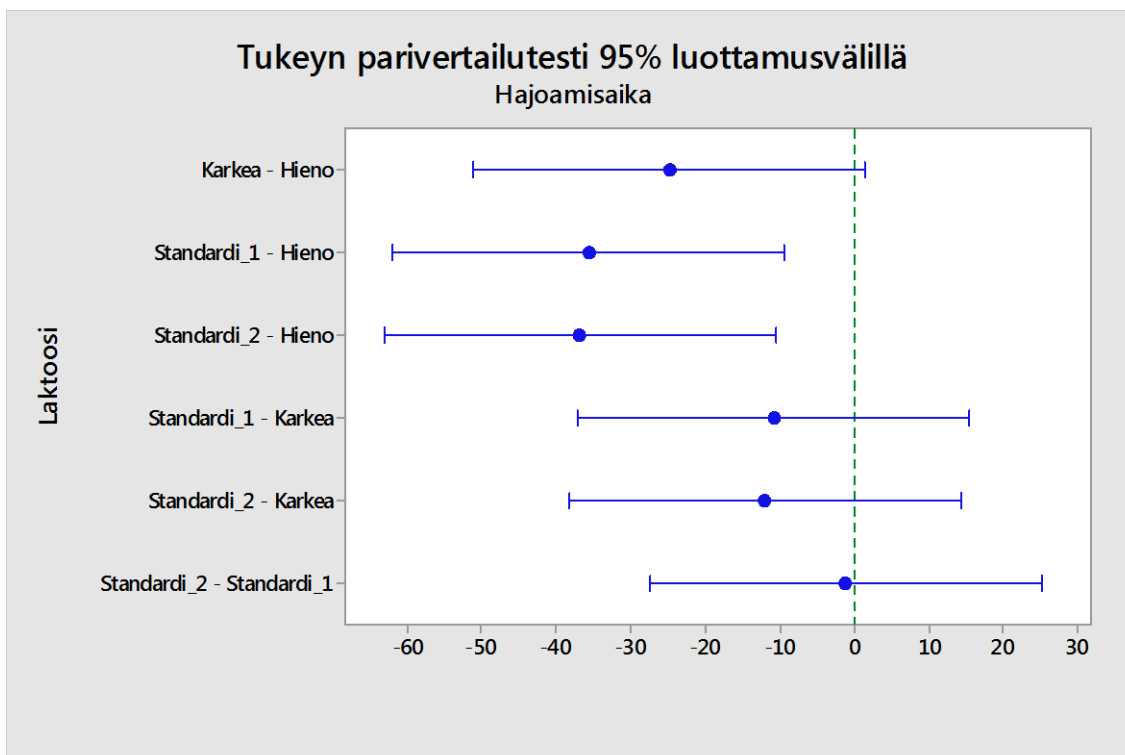
Havaintojen normaalia jakautumista tukee myös havaintojen jäännösvirheiden histogrammi, jossa havaintojen jäännösvirheet noudattavat myös normaalijakaumaa (Kuva 31).





Kuva 31. Histogrammi hajoamisaikamäärityksen havaintojen jäännösvirheistä.

Tukeyn parivertailutestissä standardilaadut sekä hieno laktoosilaatu eroavat tilastollisesti merkitsevästi toisistaan (Kuva 32).



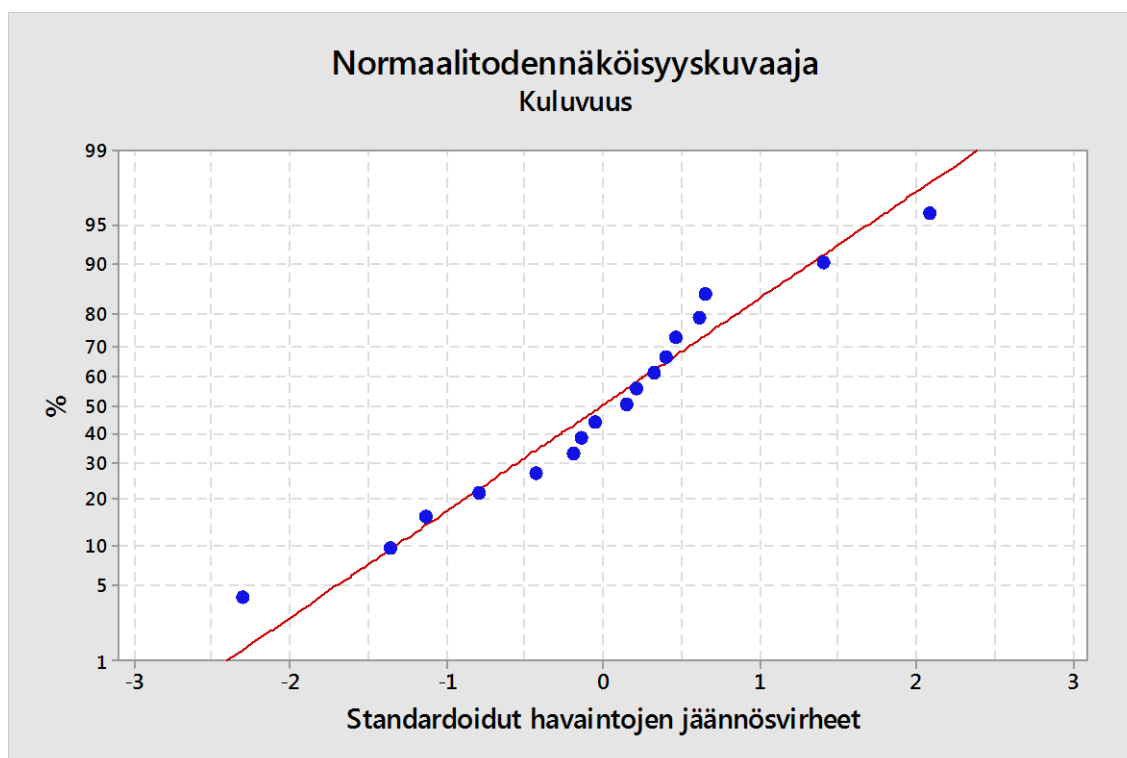
Kuva 32. Tukeyn parivertailutestin tulokset laktoosilaaduista hajoamisaikamäärityksessä.

Karkea ja hieno laktoosilaatu sekä karkea ja standardilaktoosilaadut eivät poikkea toisistaan tilastollisesti merkitsevästi.

### 13.5 Kuluvuus

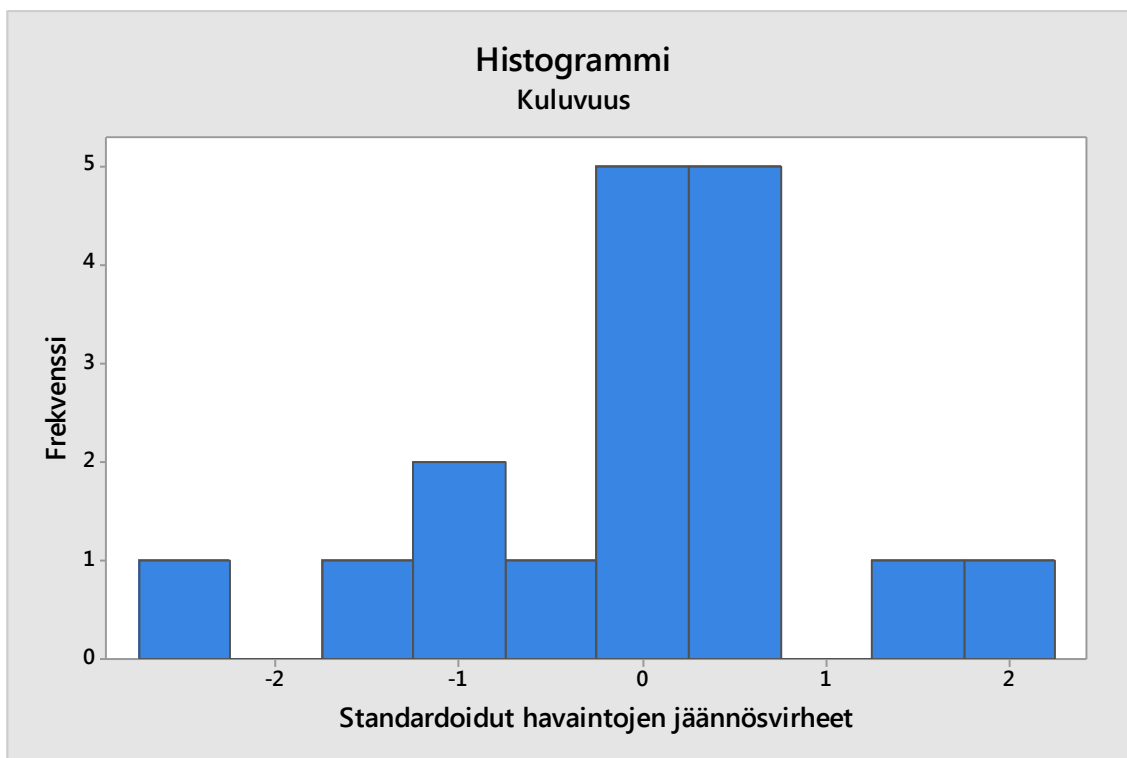
Kuluvuusmäärityksessä  $p$ -arvon (0,301) mukaan laktoosilaatujen odotusarvot eivät poikkea tilastollisesti merkitsevästi toisistaan (Liite 1). Eri puristusvoimilla valmistettujen tablettien kuluvuusmäärityksessä ainakin toisen odotusarvo poikkeaa tilastollisesti merkitsevästi kummankin määrityksen odotusarvosta ( $p$ -arvo 0,003). 5 kN:n puristusvoimilla valmistetuilla tableteilla kuluvuus oli suurempi kuin 11 kN:n puristusvoimilla valmistetuilla tableteilla: 648 mg ja 204 mg. Selitysaste on 59,55 %, jolloin ennustettavuus suhteessa odotusarvoon on kohtalainen.

Kuluvuusmäärittämisessä havaintojen jäännösvirheet näyttävät olevan normaalijakautuneita, jotkin havainnoista silti erottuvat muista (Kuva 33).



Kuva 33. Kuluvuusanalyysin havaintojen jäännösvirheiden normaalitodennäköisyyskuvaaja.

Havaintojen jäännösvirheiden histogrammin perusteella havaintojen jäännösvirheet eivät ole normaalijakautuneita (Kuva 34). Histogrammissa erottuvat myös normaalitodennäköisyyskuvaajalla olleet kolme poikkeavaa havaintoa.



Kuva 34. Histogrammi kuluuusmäärityksen havaintojen jäännösvirheistä.

Havaintoja oli pieni määrä (alle 20), minkä takia havaintojen jäännösvirheiden normaaliutta ei voida luotettavasti histogrammista nähdä. Kuluuuden määrittäminen oli myös haasteellista vaa'an lukeman juoksemisen takia ja joitakin mittauksia jouduttiin uusimaan, mikä saattoi vaikuttaa saatuihin tuloksiin. Havaintojen jäännösvirheiden vinoutumista toiseen suuntaan tai poikkeavia havaintoja ei ole vähäisen havaintojen määrän takia mahdollista tulkita luotettavasti.

### 13.6 Jakelutarkkuus

Jakelutarkkuustuloksista laskettiin minimi-, maksimi- ja keskiarvot (Taulukko 8). Jakelutarkkuuden määrittämisessä yksikään yksittäinen mittaustulos ei poikennut tablettien eräkohtaisesta keskiarvosta  $\pm 5\%$ . Ryhmän tulokset pysyivät siis hyväksytyissä rajoissa Euroopan farmakopean vaatimusten mukaisesti.

Taulukko 8. Jakelutarkkuuden minimi-, maksimi- ja keskiarvotulokset sekä 5 %:n rajat laktoosilaaduittain eriteltyinä.

Jakelutarkkuus							
Laktoosilaatu	Puristusvoima (kN)	Min (N)	Max (N)	Ka (N)	5 %	Ka + 5 %	Ka - 5 %
Standardi 1	5	398	403	401	20,1	421	381
Standardi 1	11	379	405	398	19,9	418	378
Karkea	5	395	399	397	19,9	417	377
Karkea	11	400	408	404	20,2	424	384
Hieno	5	393	410	404	20,2	424	384
Hieno	11	397	402	400	20,0	420	380
Standardi 2	5	397	406	403	20,2	423	383
Standardi 2	11	400	407	404	20,2	424	384

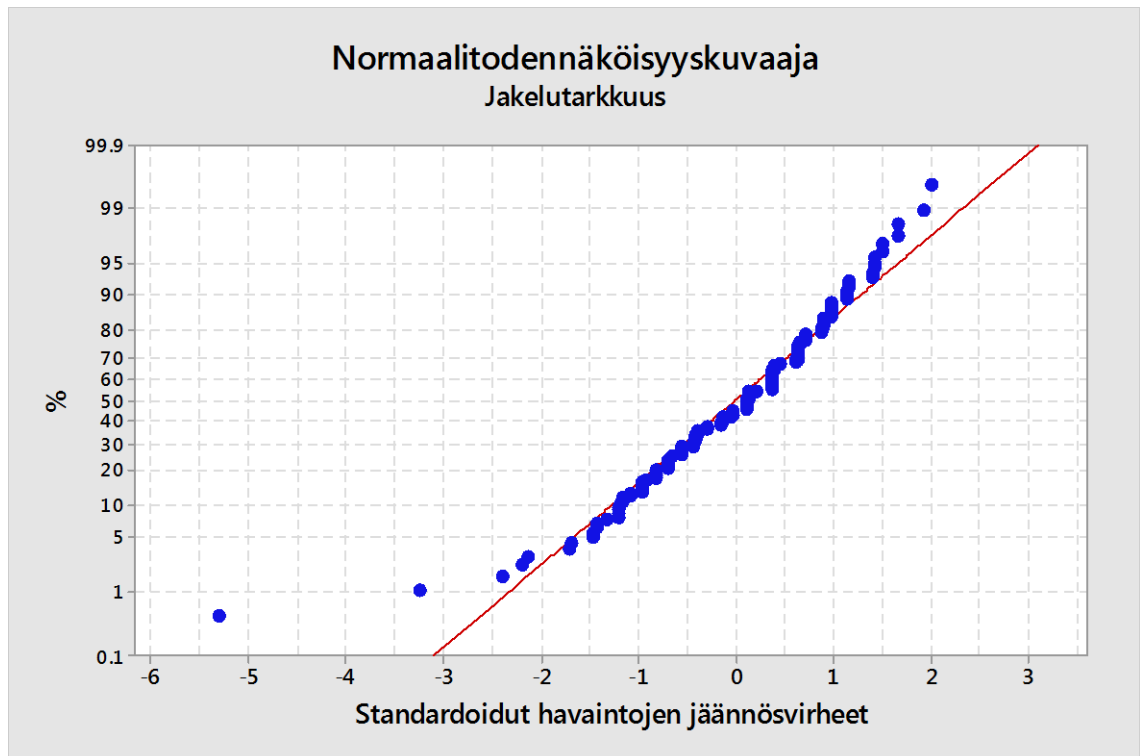
Jakelutarkkuudessa 5 kN:n puristusvoimalla tehdyillä tableteilla pienin sekä suurin arvo oli hienolla laktoosilaadulla. 11 kN:n puristusvoimalla tehdyillä tableteilla pienin tulos oli standardilaktoosierällä 1 ja suurin tulos karkealla laktoosilaadulla. Suuria poikkeamia keskiarvosta ei tämän ryhmän tuloksilla ollut eikä yksittäisistä tuloksista yksikään poikennut keskiarvosta yli 5 %. Jakelutarkkuuden hajonta oli kuitenkin suurempaa 11 kN:n kuin 5 kN:n puristusvoimilla valmistetuilla tableteilla. 11 kN:n puristusvoimalla valmistetuilla tableteilla standardilaatu 1:llä hajonta oli suurta, kun taas 5 kN:n tableteilla se oli huomattavasti vähäisempää. Pienin tulos 11 kN:n puristusvoimilla valmistetuilla tableteilla oli standardilaktoosierällä 1 ja suurin tulos karkealla laktoosierällä. Standardilaktoosierää verrattaessa tulosten jakautumisessa on huomattava ero. Standardilaktoosilaatu 2:n jakelutarkkuustuloksissa on paljon vähemmän hajontaa kuin standardilaktoosilaatu 1:n tuloksissa.

Jakelutarkkuuksien eräkohtaisesta tarkastelusta huomataan, että standardilaktoosilaatujen jakelutarkkuustuloksissa on jonkin verran eroa. Standardilaktoosilaatu 1:n jakelutarkkuustulokset ovat pienempiä kuin standardilaktoosi 2:n tulokset. Tabletointijärjestyksellä voi olla vaikutusta jakelutarkkuustuloksiin, koska standardilaatu 1 tabletoitiin ensimmäisenä ja standardilaatu 2 viimeisenä. Standardilaktoosilaadun tuloksissa on eniten hajontaa keskenään verrattuna hienon ja karkean laktoosilaatujen tuloksiin. Tulokset laktoosilaaduista huolimatta ovat samankaltaisia. Puristusvoimalla ei ole jakelutarkkuustuloksien kannalta merkitystä. Yksittäisillä tuloksilla on enemmän hajontaa riippumatta tablettien valmistuksessa käytetystä puristusvoimasta.

*P*-arvon (<0,001) perusteella laktoosilaatujen odotusarvot poikkeavat toisistaan (Liite 1). Puristusvoimilla 5 kN ja 11 kN valmistettujen tablettien odotusarvot eivät eroa tilas-

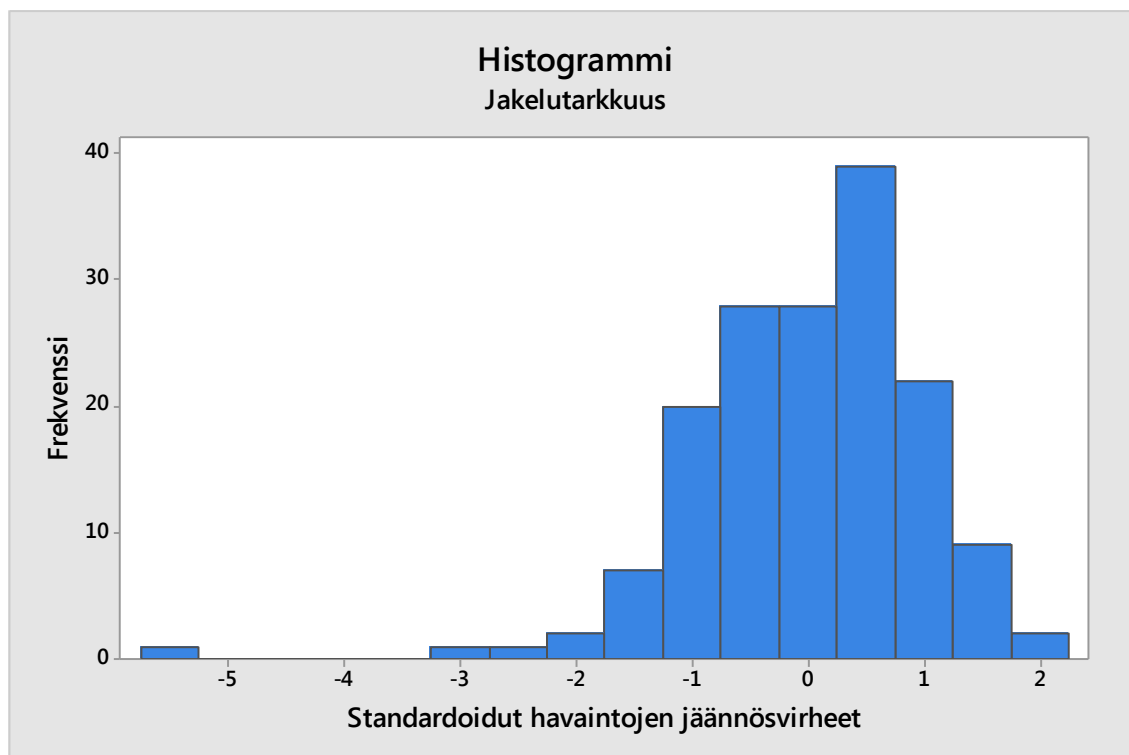
tollisesti merkitsevästi toisistaan. Selitysaste on alhainen 13,54 %, joten ennustettavuus suhteessa odotusarvoon on huono. Tehtyjen määritysten lukumäärä olisi voinut olla suurempi.

Normaalitodennäköisyyskuvaajassa havaintojen jäännösvirheiden sijoittuminen on lähes lineaarista, vähäistä kaarteavuutta näkyy silti ääripäissä (Kuva 35). Kaksi poikkeavaa havaintoa kuvaajalla on kahdessa kohtaa: -5,3 ja -3,3.



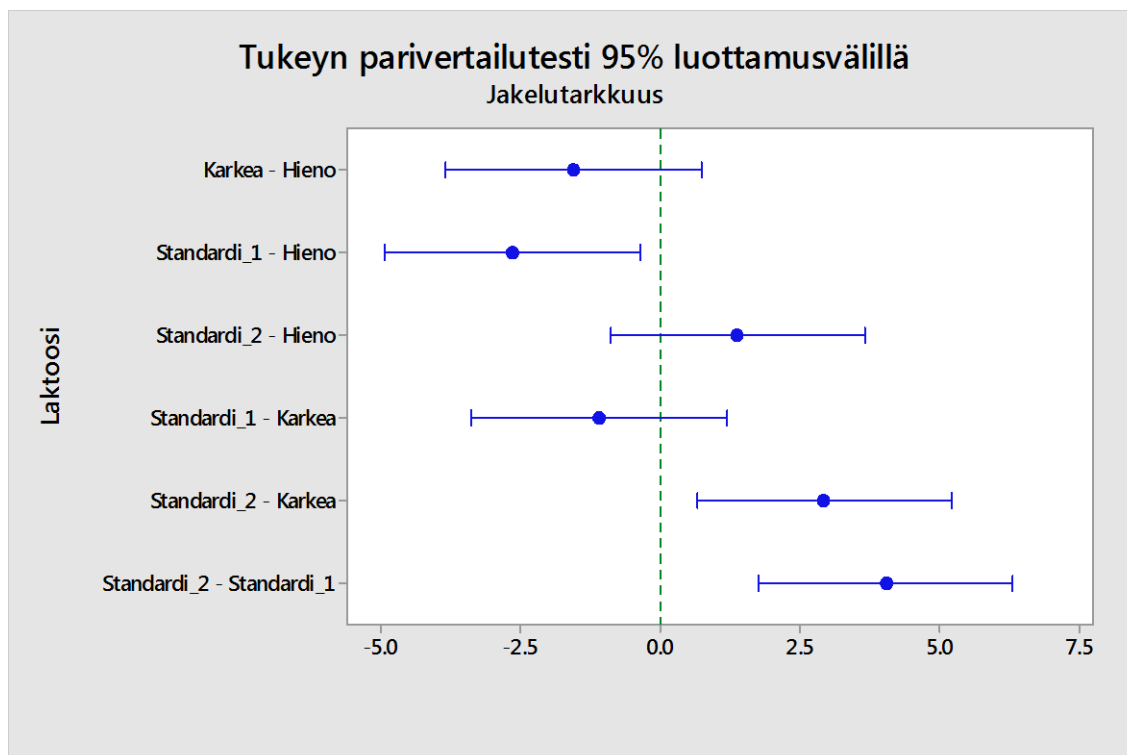
Kuva 35. Jakelutarkkuusanalyysin havaintojen jäännösvirheiden normaalitodennäköisyyskuvaaja.

Histogrammin perusteella havaintojen jäännösvirheet ovat vinoutuneet hieman oikealle sekä siellä on nähtävissä edellä mainittu yksittäinen havainto kaukana muista (Kuva 36). Havaintojen jäännösvirheet kuitenkin näyttävät muuten noudattavan tavoiteltavaa histogrammin muotoa.



Kuva 36. Histogrammi jakelutarkkuusmäärityksen havaintojen jäännösvirheistä.

Tukeyn parivertailutesti osoittaa toisella standardilaktoosilaadulla ja hienolla laktoosilaadulla sekä standardilaadulla ja karkealla laadulla olevan tilastollisesti merkitsevän eron jakelutarkkuuden kannalta (Kuva 37).



Kuva 37. Tukeyn parivertailutestin tulokset laktoosilaaduista jakelutarkkuusmäärittämisessä.

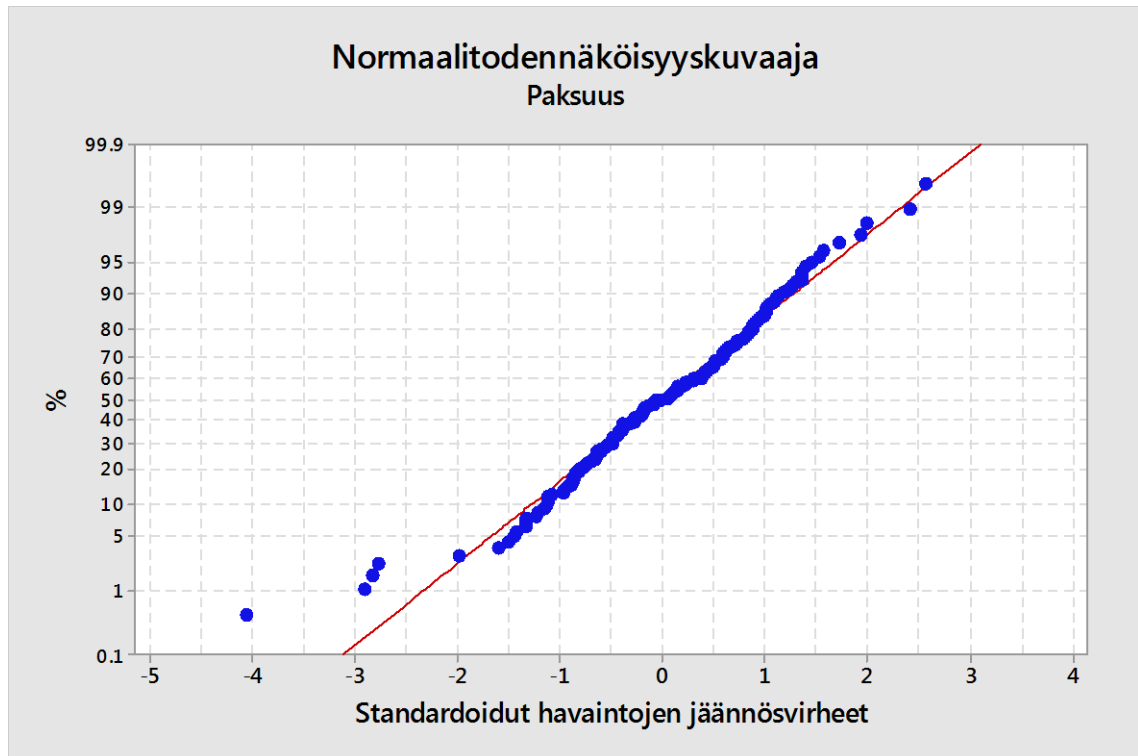
Testin tuloksia tarkastellessa tulee huomata, että standardilaadut näyttäisivät eroavan myös merkitsevästi toisistaan, mikä kertoo standardilaatujen mahdollisista eroista valmistusprosessin aikana.

### 13.7 Paksuus

Paksuusmäärittämisessä tilastollisessa analyysissä saadun p-arvon perusteella laktoosilaatujen sekä puristusvoimien odotusarvot eroavat tilastollisesti merkitsevästi kummallakin,  $p < 0,001$  (Liite 1). 5 kN:n puristettujen tablettien paksuuden keskiarvo (4,1 mm) oli suurempi kuin 11 kN:n puristettujen tablettien (3,5 mm). Selitysaste on erittäin hyvä (98,58 %), jolloin ennustettavuus suhteessa odotusarvoon on erinomainen.

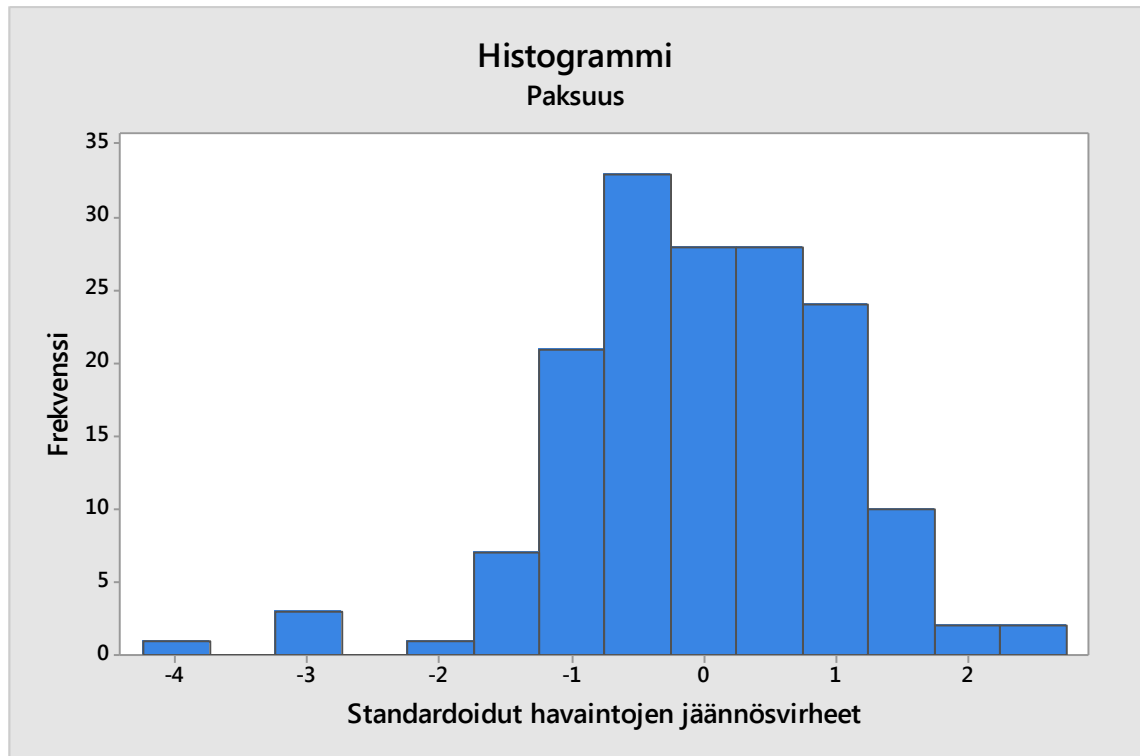
Havaintojen jäännösvirheet ovat sijoittuneet normaalitodennäköisyyskuvaajassa lineaarisesti, mutta siellä on nähtävissä yksittäisiä poikkeavia havaintoja (Kuva 38). Neljä havaintoa välillä -2,5 ja -4,2 kuvaajan alareunassa poikkeavat kuvaajan muista havaintojen jäännösvirheistä.





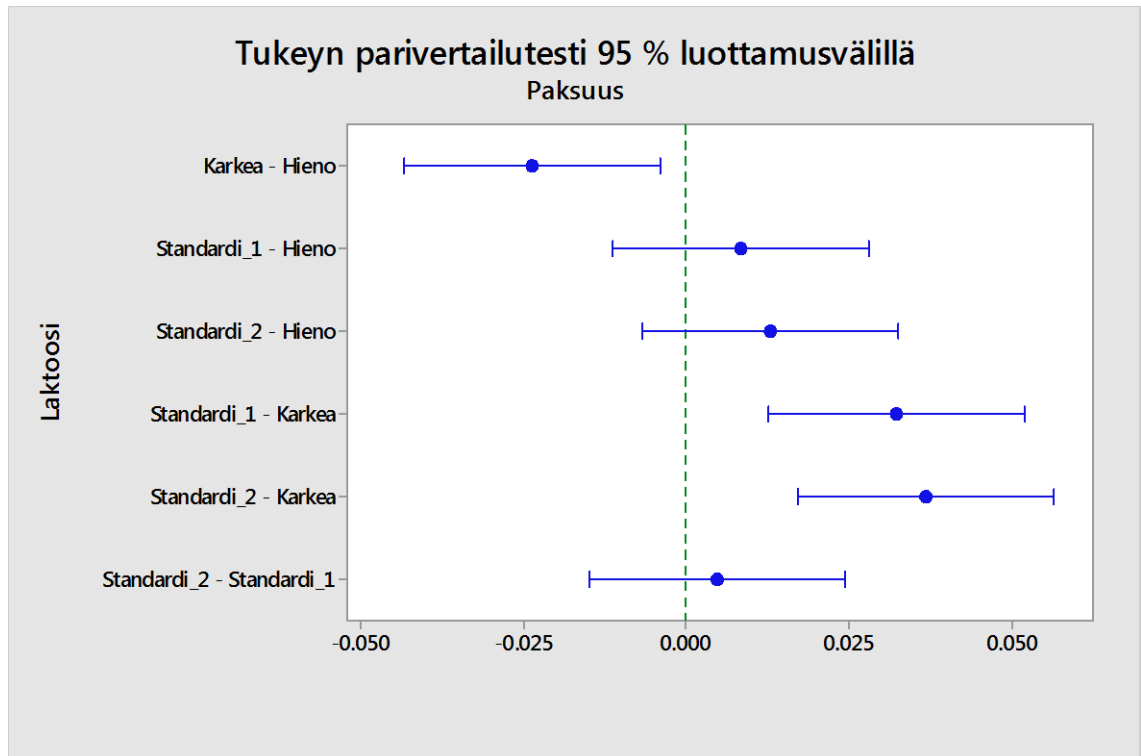
Kuva 38. Paksuusanalyysin havaintojen jäännösvirheiden normaalitodennäköisyyskuvaaja.

Histogrammin perusteella havaintojen jäännösvirheiden sijoittuminen on vasemmalle päin painottuva (Kuva 39). Histogrammissa näkyvät yksittäiset muista poikkeavat havaintojen jäännösvirheet nolapisteen vasemmalla puolella sekä histogrammin huippu on siirtynyt vasemmalle.



Kuva 39. Histogrammi paksuusmäärityksen havaintojen jäännösvirheistä.

Tukeyn parivertailutestissä karkea ja hieno laktoosilaatu sekä standardilaktoosilaadut ja karkea laktoosilaatu eroavat tilastollisesti merkitsevästi toisistaan (Kuva 40).



Kuva 40. Tukeyn parivertailutestin tulokset laktoosilaaduista paksuusmäärittämisessä.

Hieno laktoosi eivätkä standardilaktoosilaadut eronneet tilastollisesti merkitsevästi toisistaan.

## 14 Johtopäätökset

Valmiista massasta tehdyistä määryksistä kaatotilavuudessa ei saatu laktoosilaatujen välille tilastollisesti merkitseviä eroja. Partikkelikokojakaumien keskiarvotuloksia tarkasteltiin 10-, 50- ja 90-fraktiileittain kuvaajien ja taulukoiden muodossa. Seulomattomilla rakeilla laktoosilaadut poikkesivat kaikki toisistaan, eniten tuloksissa eroa oli hienolla ja standardilaktoosilaadulla 2. Valmiin massan osalta hieno laktoosilaatu poikkesi selkeästi muista laktoosilaaduista partikkelikooltaan. Hienon laktoosin partikkelikoot olivat suurempia kuin karkean ja standardilaktoosien seulomattomilla rakeilla sekä valmiilla massalla.

Tableteista tehdyistä määryksistä hienon laktoosilaadun odotusarvot poikkesivat kaikkien laktoosilaatujen odotusarvoista muiden määryksien paitsi kuluvuuden osalta tilastollisesti merkitsevästi. Karkean laktoosilaadun odotusarvot poikkesivat tilastollisesti merkitsevästi lujuusmääryksessä, jakelutarkkuudessa ja paksuudessa kaikkien laktoosilaatujen odotusarvoista. Standardilaktoosilaatujen odotusarvot erosivat lujuudessa, jakelutarkkuudessa sekä paksuudessa tilastollisesti merkitsevästi kaikkien laktoosilaatujen odotusarvoista. Jakelutarkkuuden määryksessä kummankin standardilaktoosilaadun odotusarvot poikkesivat tilastollisesti merkitsevästi kaikkien laktoosilaatujen odotusarvoista. Tablettien valmistuksessa käytetyillä puristusvoimilla ei ollut merkitystä jakelutarkkuustuloksien suhteen, muissa määryksissä puristusvoimat vaikuttivat saatuihin tuloksiin.

Puristusvoiman vaikutus eri vastemuuttujissa oli erilainen. Kuluvuusmääryksessä laktoosilaaduilla ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa, mutta eri puristusvoimilla valmistettujen tablettien välillä oli tilastollisesti merkitsevä ero: 5 kN:n puristusvoimilla valmistetut tabletit kuluivat enemmän kuin 11 kN:n puristusvoimilla valmistetut. Tablettien kuluvuuden määryksessä standardilaktoosierässä yhden tabletin kuluvuus ei ollut enää hyväksyttävissä rajoissa, mutta poikkeama saattoi olla vaa'an juoksemisesta johtuva virhemittaus. Kuluvuusmääryksen tulosten tulkinnassa tulee huomioida havaintojen väheneminen määrä sekä mahdolliset virhemittaukset, minkä takia tulosten tulkintaa ei voi pitää täysin luotettavana.

Lujuusmääryksessä sekä hieno ja karkea laktoosilaatu että hieno ja standardilaktoosilaatujen tulokset poikkesivat toisistaan tilastollisesti merkitsevästi. Standardilaktoosilaadut myös poikkesivat toisistaan tilastollisesti merkitsevästi. Eri puristusvoimilla

valmistetut tabletit erosivat myös tilastollisesti merkitsevästi toisistaan. 11 kN:n puristusvoimilla valmistetut tabletit olivat lujempia kuin 5 kN:n tabletit. Tablettien lujuus oli loogisesti verrattavissa tablettien valmistuksessa käytettyyn puristusvoimaan.

Hajoamisaikamäärityksessä hieno laktoosilaatu poikkesi tilastollisesti merkitsevästi standardilaktoosilaaduista. 5 kN:n puristusvoimilla ja 11 kN:n puristusvoimilla valmistetuilla tableteilla oli myös tilastollisesti merkitsevä ero, pienemmällä puristusvoimalla tehdyt tabletit hajosivat nopeammin kuin suuremmalla puristusvoimalla valmistetut.

Jakelutarkkuusmäärityksessä hienon laktoosilaadun tulokset erosivat tilastollisesti merkitsevästi standardilaktoosilaatu 1:stä sekä karkea laatu erosi standardilaktoosilaatu 2:sta. Standardilaktoosilaadutkin erosivat toisistaan tilastollisesti merkitsevästi. Samoja raaka-aineita käytettäessä pienetkin valmistusprosessin erot näkyvät eroina valmiissa lopputuotteessa, minkä takia täysin samanlaista lopputuotetta on mahdoton valmistaa, vaikka prosessi olisi hyvin standardoitu. Mallin vasteen selitysaste (13,54 %) oli myös alhainen eli mallin sopivuus tutkimusaineistoon oli huono.

Paksuusmäärityksessä hieno laktoosilaatu erosi tilastollisesti merkitsevästi karkeasta sekä standardilaadut karkeasta laktoosilaadusta. Tablettien valmistuksessa käytetyillä puristusvoimilla oli tulosten mukaan myös tilastollinen tarkastelussa merkitystä, 5 kN:n puristusvoimalla valmistetuilla tableteilla paksuus oli keskimäärin suurempi kuin 11 kN:n tableteilla.

Hienoa laktoosilaatua sisältävien tablettien suurempi lujuus, paksuus ja pidempi hajoamisaika verrattuna muista laktoosilaaduista puristettuihin tabletteihin johtuvat samasta syystä kuin massankin kohdalla eli hieno laktoosi on tiiviimmin pakkautunut, jolloin tabletista tulee lujempi, pakkautuneempi ja se hajoaa hitaammin. *Tulokset noudattelevat jo aikaisemmin Kelebin (2004b) ja hänen tutkimusryhmänsä tekemää tutkimusta, jossa on suuremman partikkelikoon todettu tekevän rakeista hauraampia ja tablettien ominaisuuksiin vaikuttaneen eniten laktoosin partikkelikoon, mikä oli nähtävissä lujuudessa ja hajoamisajassa.*

*Bolhuis ym. (1986) saivat tutkimuksessaan selville, että pienemmistä partikkeleista saatiin lujempia tabletteja. Keleb ym. tutkimuksessa myös todettiin, että laktoosilaadulla on suuri vaikutus rakeiden ominaisuuksiin high shear -rakeistuksessa sekä tablettien ominaisuuksiin, mikä myös tuki nyt tehdyn opinnäytetyön tilastollisten analyysien tulok-*

*sia sekä aikaisemmin saatuja tutkimustuloksia.* Huolimatta tilastollisesti merkitsevästä eroista käytännön hajoamisajat tässä opinnäytetyön tutkimuksessa olivat pieniä: hajoamisaika ei muuttunut laktoosilaatujen välillä kuin alle minuutin, joten tuloksella ei ole merkitystä tässä opinnäytetyössä tutkitun valmisteen käytettävyyden kannalta.

Lisätutkimuksia tarvittaisiin selvittämään oliko hienon laktoosin muista laktoosilaaduista poikkeavalla valmistusprosessilla (pidempi kuivausaika) vaikutusta massan lopputulokseen sekä miten käytetty vesimäärä vaikutti kuhunkin massaan, koska vesimäärä vaihteli eräkohtaisesti. Eräkohtaiset erot vesimäärässä olivat kuitenkin hyvin pieniä. Tehdyistä tutkimuksista esimerkiksi Keleb tutkimusryhmineen (2004b) on saanut selville, että laktoosin partikkelikoko vaikuttaa optimaaliseen vesikonsentraatioon. Laktoosin ja puristusvoimien välistä yhteyttä olisi hyvä tutkia lisää tekemällä kattavamman ja tasapainoisemman koesuunnitelman, valmistamalla lisää eriä ja tekemällä niistä erilaisia määrittämiä sekä koetoistojen lisäämisellä. Laktoosilaatujen ja puristusvoimien yhdysvaikutusta ei voitu ottaa huomioon tässä opinnäytetyössä koeasetelmasta johtuen, mikä olisi ollut olennaista saada selville tutkimuksen tulosten arvioinnin kannalta. Raaka-aineena käytettyjen laktoosien koostumukset  $\mu/\beta$ -muodot sekä kiteytyneisyysaste olisivat olleet tutkimuksen kannalta arvokkaita tietoja, koska ne vaikuttavat kirjallisuuden perusteella laktoosin käyttäytymiseen sekä tutkimuksissa saatuihin tuloksiin.

Tableteista olisi ollut tarpeellista tehdä lisää farmako-teknisiämäärittämiä sekä määrittää lääkeaineen liukeneminen eli dissoluutio. Rakeista olisi saatu lisätietoa ottamalla esimerkiksi SEM-kuvat (engl. scanning electron microscope), jolloin olisi saatu vielä kattavampi käsitys rakeiden huokoisuudesta sekä sisä- ja ulkopintarakenteesta. Säilyvyystutkimus kertoisi myös tableteista pidemmän ajan kuluessa miten esimerkiksi tablettien lujuus on muuttunut.

Saatujen tulosten perusteella yhteenvetona voidaan todeta, tilastollisia eroja oli hienon, karkean ja standardilaktoosilaatujen välillä partikkelikokojen perusteella sekä eri puristusvoimalla valmistettujen tablettien välillä. Tilastollisia eroja oli myös standardilaktoosilaaduista tehtyjen massojen ja tablettien välillä, koska valmistusprosessia on joskus vaikea suorittaa täysin toistettavasti olosuhteiden, materiaalien ja toteutuksen osalta, vaikka raaka-aineet ja valmistusprosessi pyritään pitämään standardina. Saadut tulokset olivat standardimonogramiamäärittämiä rajoissa niiltä osin kuin niitä voitiin verrata Euroopan farmakopean määrittämiin. Laktoosilaaduilla ei ollut valmisteen proses-

soitavuutta tai lopputuotteen laatua ajatellen ratkaisevaa merkitystä tässä opinnäytetyössä tutkittujen päällystämättömien tablettien kannalta.

## Lähteet

Adams, Kenneth, Carstensen, J. T., Mehta, Ashok, Zoglio, M. A. 1977. Influence of Granulation Liquid Flow Rate on Particle-Size Distribution in Spray-Granulated Products. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 66 (10), s. 1462–1464.

Arnold, Jesse C., Milton, Susan J. 2003. Introduction to probability and statistics. Principles and applications for engineering and the computing sciences. 4. painos. Yhdysvallat: The McGraw-Hill Companies, Inc.

Badawy, Sherif I. Farag, Hussain, Munir A. 2004. Effect of Starting Material Particle Size on Its Agglomeration Behavior in High shear Wet Granulation. *AAPS PharmSciTech* 5 (3): 38, s. 1–7.

Baert, L., Massart, D. L., Rambali, B. 2003. Scaling up of the fluidized bed granulation process. *International Journal of Pharmaceutics* 252, s. 197–206.

Baş, Nursin, Byrne, Edmond P., Pathare, Pankaj B. 2012. Comparison of quality parameters of granola produced by wet granulation with commercially available product. *Food and Bioproducts processing*. 90, s.729–736.

Beer, Paul, de Matas, Marcel, Huang, Zhenyu, Wilson, David. 2014. Transfer from High shear Batch to Continuous Twin Screw Wet Granulation: A Case Study in Understanding the Relationship Between Process Parameters and Product Quality Attributes. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 103, s. 3075–3082.

Bettini, Ruggero, Caramella, Carla, Cocconi, Daniela, Colombo, Paolo, Ferrari, Franca, Giordano, Ferdinando, Price, Robert, Santi, Patrizia, Toby, Michael, Young, Paul. 2004. The Surface Roughness of Lactose Particles Can Be Modulated by Wet-Smoothing Using a High shear Mixer. *AAPS PharmSciTech* 5 (4): 60, s. 1–6.

Betz, Gabriele, Chansanroj, Krisanin, Ibrić, Svetlana, Meier, Brigitte, Petrović, Jelena. 2011. Analysis of fluidized bed granulation process using conventional and novel modeling techniques. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 44, s. 227–234.

Bindra, Dilbir S., Gao, Julia Z., Narang, Ajit S., Pandey, Preetanshu, Tao, Jing. 2015. Evaluating Scale-Up Rules of a High shear Wet Granulation Process. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 104, s. 2323–2333.

Bolhuis, G. K., Bosch, H., de Boer, A. H., Kussendrager, K. D., Lerk, C. F., Vromans, H. 1985. Studies on tableting properties of lactose. Part 2. Consolidation and compaction of different types of crystalline lactose. *Pharmaceutisch Weekblad Scientific Edition* 7, s. 186–193.

Bolhuis, G. K., Bosch, H., de Boer, A. H., Kussendrager, K. D., Lerk, C. F., Vromans, H. 1986. Studies on tableting properties of lactose. Part 3. The consolidation behavior of sieve fractions of crystalline  $\alpha$ -lactose monohydrate. *Pharmaceutisch Weekblad Scientific Edition* 8, s. 145–150.



Both, Douglas, Sprockel, Omar L. 2012. Implementation of QbD: The Roles of Product Attributes and Equipment Parameters in Control Loop Development. *American Pharmaceutical Review*. Verkkodokumentti. <<http://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/119522-Implementation-of-QbD-The-Roles-of-Product-Attributes-and-Equipment-Parameters-in-Control-Loop-Development/>>. Luettu 15.10.2016.

Burggraeve, A., De Beer, T., Hellings, M., Heyden, Yvan Vander, Remon, J.P., Silva, Ana F.T., Van Den Kerkhof, T., Vervaet, C. 2012. Development of a fluid bed granulation process control strategy based on real-time process and product measurements. *Talanta* 100, s. 293–302.

Canaan = Pharmaceutical Instruments. 2016. Verkkodokumentti. <<http://www.pharmaceuticalinstrument.com/shop/processing-equipment/canaan-fluid-bed-dryer-granulator>>. Luettu 15.10.2016.

Carter, John C. 2001-2006. The role of lubricants in solid oral dosage manufacturing. Carter Pharmaceutical Consulting, Inc. Verkkodokumentti. <<http://www.carterpharmaceuticalconsulting.com/articles/role-of-lubricants-in-solid-oral-dosage-manufacturing.html>>. Luettu 30.10.2016.

ChEBIa = European Molecular Biology Laboratory. 2016. Verkkodokumentti. <<https://www.ebi.ac.uk/chebi/searchId.do?chebiId=CHEBI:36219>>. Luettu 4.6.2016.

ChEBIb = European Molecular Biology Laboratory. 2015. Verkkodokumentti. <<https://www.ebi.ac.uk/chebi/searchId.do?chebiId=CHEBI:36218>>. Luettu 4.6.2016.

Chiu, Wing-Sin, Gamble, John F., Gray, Vivienne, Toale, Helen, Tobyn, Michael, Wu, Yongmei. 2010. Investigation into the Degree of Variability in the Solid-State Properties of Common Pharmaceutical Excipients – Anhydrous Lactose. *PharmSciTech* 11 (4), s. 1552–1557.

Chulia, D., Genty, M., Giry, K., Louvet, F., Viana, M., Wütrich, P. 2009. Comparison of single pot and multiphase granulation. Part 1: Effect of the high shear granulator on granule properties according to the drug substance and its concentration. *Pharmaceutical Development and Technology*: 14 (2), s. 138–148.

Contractor, Labdhi D., Dave, Rutesh H., Wu, Stephen H. 2012. To determine the end point of wet granulation by measuring powder energies and thermal properties. *Drug Development and Industrial Pharmacy*: 38 (4), s. 439–446.

Council of Europa = Background and Mission. 2015. Verkkodokumentti. Council of Europa. <<http://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-background-50.html>>. Luettu 23.12.2015.

Dacanal, G. C., Menegalli, F. C. 2008. Experimental study of fluidized bed agglomeration of acerola powder. *Brasilian Journal of Chemical Engineering* 25 (1).

Dave, Vivek S., Haware, Rahul. V., Raut, Nishikant A., Saoji, Suprit D. 2015. Excipient Variability and Its Impact on Dosage Form Functionality. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 104, s. 906–915.

Euroopan farmakopea = Euroopan farmakopea. 2015. Verkkodokumentti. Fimea. <[http://www.fimea.fi/valvonta/lait\\_ja\\_ohjeet/euroopan\\_farmakopea](http://www.fimea.fi/valvonta/lait_ja_ohjeet/euroopan_farmakopea)>. Luettu 14.1.2015.

Fimea = Fimea. 2015. Verkkodokumentti. <<http://www.fimea.fi/>>. Luettu 14.1.2015.

Gerhardt, Armin H. 2010. Fundamentals of Tablet Compression. *Pharmaceutical Processes. Journal of GXP Compliance* 14 (1), s. 70–79.

Ghadiri, Mojtaba, Naji, Ayman, Rahmanian, Nejat. 2011. Effects of process parameters on granules properties produced in a high shear granulator. *Chemical Engineering Research and Design* 89, s. 512–518.

GMP = GMP-todistukset. 2015. Verkkodokumentti. Fimea. <<http://www.fimea.fi/valvonta/gmp-todistukset>>. Luettu 14.1.2015.

GMX Granumeist® = Freund-Vector. 2015. Verkkodokumentti. Freund-Vector Corporation. <<http://www.freund-vector.com/products/gmx.asp>>. Luettu 25.1.2016

Graphic Residual Analysis = OriginLab. Verkkodokumentti. <<http://www.originlab.com/doc/Origin-Help/Residual-Plot-Analysis>>. Luettu 29.10.2016.

Green, Don W., Maloney, James O., Perry, Robert H. 1999. *Perry's Chemical Engineers' Handbook*. 7. painos. Yhdysvallat: The McGraw-Hills Companies Inc.

Guigon, P., Saleh, K., Vialatte, L. 2005. Wet granulation in a batch high shear mixer. *Chemical Engineering Science* 60, s. 3763–3775.

Hassan, Bassam A. R. 2012. Overview on Pharmaceutical Formulation and Drug Design. *Pharmaceutica Analytica Acta*. 3 (10).

Hauber, Matthew J., Troy, David B. 2006. *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*. 21. painos. Yhdysvallat: Lippincott Williams & Wilkins, s. 892, 896.

Horizontal Lödige Ploughshare® Mixer = Mixing. Verkkodokumentti. <<http://www.loedige.de/en/global-content/applications/mixing/>>. Luettu 15.10.2016.

Hounslow, M. J., Instone, T., Knight, P. C., Pearson, J. M. K. 1998. An investigation into the kinetics of liquid distribution and growth in high shear mixer agglomeration. *Powder Technology* 97, s. 246–257.

ICH Guidelines = International Council for Harmonisation. Verkkodokumentti. <<http://www.ich.org/products/guidelines.html>>. Luettu 4.6.2016.

Ilkka, Jukka, Juslin, Markku, Marvola, Martti, Paronen, Petteri, Turakka, Liisa, Urtti, Arto. 1990. Farmasian teknologia. Kuopio: Farmasian opiskelijayhdistys Fortis.

Instructions for carrying out statistical procedures and tests using Minitab = Essential Statistic for the Pharmaceutical Sciences John Wiley & Sons Ltd. Verkkodokumentti. <[https://www2.ljmu.ac.uk/PBS/pbs\\_docs/Chap\\_14\\_Instruc\\_Minitab\\_Tukey.pdf](https://www2.ljmu.ac.uk/PBS/pbs_docs/Chap_14_Instruc_Minitab_Tukey.pdf)>. Luettu 29.10.2016.

IUPAC = International Union of Pure and Applied Chemistry. Verkkodokumentti. Gold Book. <<http://goldbook.iupac.org/A00182.html>>. Luettu 11.1.2016.

Johansen, A., Knight, P. C., Kristensen, H. G., Schaefer, T., Seville, J. P. K. 2000. An investigation of the effects on agglomeration of changing the speed of a mechanical mixer. Powder Technology 110, s. 204–209.

Keleb, E.I., Remon, J.P., Vermeire, A., Vervaet, C. 2004a. Single-step granulation/tabletting of different grades of lactose: a comparison with high shear granulation and compression. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 58:1, s. 77–82.

Keleb, E.I., Remon, J.P., Vermeire, A., Vervaet, C. 2004b. Extrusion Granulation and High shear Granulation of Different Grades of Lactose and Highly Dosed Drugs: A Comparative Study. Drug Development and Industrial Pharmacy. 30 (6), s. 679–691.

Kikushui Seisakusho Ltd. 2005. Verkkodokumentti. <[http://www.kikusui.com/en/pro\\_info/tabpress.asp](http://www.kikusui.com/en/pro_info/tabpress.asp)>. Luettu 8.10.2016.

Knight, Peter. 2004. Challenges in granulation technology. Powder Technology 140, s. 156–162.

Kouki, Jari, Ranta, Esa, Rita, Hannu. 2012. Biometria. Tilastotiedettä ekologeille. 10. painos. Helsinki: Gaudeamus Helsinki University Press.

Mackaplow, Michael B, Michaels, James N., Rosen, Lawrence A. 2000. Effect of primary particle size on granule growth and endpoint determination in high shear wet granulation. Powder Technology 108, s. 32–45.

Matsuda, Yoshihisa, Mouri, Yoshifumi, Otsuka, Makoto. 2003. Chemometric Evaluation of Pharmaceutical Properties of Antipyrine Granules by Near-Infrared Spectroscopy. AAPS PharmSciTech 4 (3), s. 1–7.

Multiple-Comparison Procedures. Verkkodokumentti. <<http://www2.hawaii.edu/~taylor/z631/multcomp.pdf>>. Luettu 24.9.2016.

Narang, Ajit S., Mahato, Ram I. 2012. Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery. 2. painos. Yhdysvallat: CRC Press.

Owen, Siân C, Rowe, Raymond C, Sheskey, Paul J. 2006. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 5. painos. Iso-Britannia: Butler & Tanner.

Parikh, Dilip M, Swarbrick, James. 1997. Handbook of Pharmaceutical Granulation Technology. Drugs and the Pharmaceutical Sciences, volume 81. Yhdysvallat: Marcel Dekker Inc.

Patel, P. Rakesh, Suthar, A. M. 2008. Ensuring Better Control of Granulation. Verkkodokumentti. Pharmaceutical Manufacturing. <<http://www.pharmamanufacturing.com/articles/2008/096/>>. Luettu 5.6.2016.

Pharma Tips = Granulation & Particle-Bonding Mechanism Process. 2015. Verkkodokumentti. <<http://pharmatips.doyouknow.in/Articles/Production/Granulation-Particle-Bonding-Mechanism-Process.aspx>>. Luettu 28.1.2016.

Ph.Eur. = European Pharmacopoeia. Verkkodokumentti. European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare. Version 8.6.

Podczek, Fridrun. 1998. Particle-particle Adhesion in Pharmaceutical Powder Handling. Singapore: Imperial College Press.

Ronald T. Dodge Company = Microencapsulation. Verkkodokumentti. <<http://rtdodge.com/RTD-entrapment.html>>. Luettu 15.10.2016.

Roto Mix = Ima Pharma. Verkkodokumentti. Ima Pharma. <[http://www.imapharma.com/Product/EN/Products-F575/Solid\\_Dose\\_Processing\\_%2F\\_Manufacturing-S591/GranulationT601/High\\_shear\\_mixer\\_granulatorsQ603/High\\_shear\\_mixers\\_for\\_wet\\_granulation\\_\\_\\_Roto\\_Mix-M4.html](http://www.imapharma.com/Product/EN/Products-F575/Solid_Dose_Processing_%2F_Manufacturing-S591/GranulationT601/High_shear_mixer_granulatorsQ603/High_shear_mixers_for_wet_granulation___Roto_Mix-M4.html)>. Luettu 25.1.2016.

Shanmugam, Srinivasan. 2015. Granulation techniques and technologies: recent progresses. Bioimpacts. 5 (1), s. 55–63.

Vegapress II = Cemach Machineries. 2016. Verkkodokumentti. Cemach Machineries. <<http://www.cemachlimited.com/vegapress-ii.html>>. Luettu 8.10.2016.

## Liite 1      Varianssianalysien tulosteet

### Kaatotilavuus

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Laktoosi	3	0.002533	0.000844	0.58	0.647

Model Summary

R-sq 17.76%

### Lujuus

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Laktoosi	3	8608	2869	31.77	0.000
Puristusvoima	1	170676	170676	1890.02	0.000

Model Summary

R-sq 96.36%

### Hajoamisaika

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Laktoosi	3	10525	3508.2	6.06	0.002
Puristusvoima	1	49152	49152.0	84.87	0.000

Model Summary

R-sq 70.56%

### Kuluvuus

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Laktoosi	3	0.2587	0.08624	1.36	0.301
Puristusvoima	1	0.8299	0.82987	13.13	0.003

Model Summary

R-sq 59.55%

## Jakelutarkkuus

### Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Laktoosi	3	372.82	124.273	8.08	0.000
Puristusvoima	1	0.31	0.306	0.02	0.888

### Model Summary

R-sq 13.54%

## Paksuus

### Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Laktoosi	3	0.0318	0.0106	9.33	0.000
Puristusvoima	1	12.2268	12.2268	10752.45	0.000

### Model Summary

R-sq 98.58%