

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
MEDICINOS AKADEMIJA
FARMACIJOS FAKULTETAS
VAISTŲ TECHNOLOGIJOS IR SOCIALINĖS FARMACIJOS KATEDRA

KAROLINA RUDOKAITĖ

**GAMYBOS METODO ĮTAKA ŽVAKUČIŲ SU
ANTOCIANINŲ/KARAGENINŲ KOMPLEKSU KOKYBĖS
PARAMETRAMS**

Magistro baigiamasis darbas

Darbo vadovė:
Prof. dr. Jurga Bernatoniene

KAUNAS, 2018

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
MEDICINOS AKADEMIJA
FARMACIJOS FAKULTETAS
VAISTŲ TECHNOLOGIJOS IR SOCIALINĖS FARMACIJOS KATEDRA

TVIRTINU:

Farmacijos fakulteto dekanė prof. Ramunė Morkūnienė

Data

**GAMYBOS METODO ĮTAKA ŽVAKUČIŲ SU
ANTOCIANINŲ/KARAGENINŲ KOMPLEKSU KOKYBĖS
PARAMETRAMS**

Recenzentas

Darbo vadovas

Prof. dr. Jurga Bernatoniene

Data

Darbą atliko

Magistrantė Karolina Rudokaitė

Data

KAUNAS, 2018

TURINYS

SANTRAUKA	5
SUMMARY	6
PADĖKA	7
SANTRUMPOS.....	8
1. ĮVADAS	9
1.1 Darbo aktualumas.....	9
1.2 Darbo tikslas ir uždaviniai.....	9
2. LITERATŪROS APŽVALGA.....	10
2.1 Antocianinų-karageninų komplekso charakteristika: apibūdinimas ir gavimas	10
2.2 Rektalinių preparatų gamybos ypatumai.....	11
2.3 Kokybės kontrolė	12
2.4 Pagrindų, naudojamų žvakučių gamyboje, įtaka kokybei.....	13
2.5 Hidrofobiniai pagrindai.....	14
2.6 Hidrofiliniai pagrindai.....	18
2.7 Difiliniai pagrindai	19
2.8 Natūralių produktų naujovės žvakučių gamyboje.....	20
3. TYRIMŲ METODIKA IR METODAI.....	21
3.1 Tyrimo objektas.....	21
3.2 Medžiagos ir prietaisai	21
3.2.1 Tyrime naudotos medžiagos.....	21
3.2.2 Reagentų paruošimas.....	21
3.2.3 Tyrime naudoti prietaisai.....	22
3.3 METODAI	22
3.3.1 Žvakučių gamyba ritinimo būdu.....	22
3.3.2 Žvakučių gamyba liejimo būdu	23
3.3.3 Žvakučių gamyba presavimo būdu.....	23
3.3.4 Žvakučių gamyba su „ghi“ sviesto ir „witepsol H-15“ mišinio pagrindu.....	23
3.3.5 Žvakučių vienalytiškumo vertinimas.....	24
3.3.6 Žvakučių tekstūros analizė	24
3.3.7 Žvakučių pH reikšmės nustatymas	24

3.3.8 Žvakučių išvaizdos vertinimas	25
3.3.9 Masės vienodumo testas	25
3.3.10 Pagrindo įtakos žvakučių lydymosi temperatūrai nustatymas.....	25
3.3.11 Suirimo tyrimas	25
3.3.12 Pagrindo įtakos antocianinų atpalaidavimui iš žvakučių nustatymas.....	26
3.3.13 Statistinė duomenų analizė	27
4. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS.....	28
4.1 PRESAVIMO METODO ĮTAKA ŽVAKUČIŲ KOKYBEI	28
4.2 PAGRINDO ĮTAKA ŽVAKUČIŲ FORMAVIMUISI	29
4.3 PAGRINDO ĮTAKA ŽVAKUČIŲ TEKSTŪRAI.....	30
4.4 ŽVAKUČIŲ PAGRINDO ĮTAKA pH REIKŠMEI	33
4.5 ŽVAKUČIŲ SUIRIMO TESTAS	34
4.6 ŽVAKUČIŲ VIENALYTIŠKUMO NUSTATYMAS.....	35
4.7 FIZIKINIŲ SAVYBIŲ VERTINIMAS.....	36
4.8 ESC ANALIZĖS REZULTATAI, ATSIŽVELGIANT Į ANTOCIANINŲ IR KARAGENINŲ KIEKĮ	37
4.9 ŽVAKUČIŲ LYDYMOSI TEMPERATŪROS NUSTATYMAS.....	38
4.10 TIRPIMO TESTAS KREPŠELINIŲ PRIETAISU.....	39
5. IŠVADOS.....	42
6. PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS	43
7. LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	44
8. PRIEDAI	48

SANTRAUKA

K. Rudokaitė. Gamybos metodo įtaka žvakučių su antocianinų/karageninų kompleksu kokybės parametrams. Magistro baigiamasis darbas / mokslinė vadovė Prof. dr. Jurga Bernatoniene: Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Farmacijos fakulteto Vaistų technologijos ir socialinės farmacijos katedra. Kaunas.

Tyrimo tikslas: nustatyti gamybos metodo įtaką žvakučių su antocianinų/karageninų kompleksu kokybės parametrams.

Tyrimo uždaviniai ir metodai: pagaminti žvakutes liejimo, ritinimo ir presavimo metodais naudojant įvairių rūšių pagrindus; įvertinti žvakučių kokybę atliekant tekstūros analizę, nustatant pH reikšmę, įvertinant išvaizdą; įvertinti žvakučių tirpimo ir tirpumo savybes.

Tyrimo rezultatai ir išvados: išanalizavus gautus rezultatus, nustatyta, kad žvakučių gamybos metodas turi įtakos žvakučių kokybei. Kokybės reikalavimus atitinka žvakutės, pagamintos presavimo būdu. Presavimo būdu pagamintos žvakutės toliau buvo analizuojamos kokybės tyrimais. Tekstūros analizės tyrimas parodė, kad žvakutės, pagamintos „witepsol H-15“ pagrindu yra kiečiausios ir zondo prasiskverbimo jėga didžiausia, o žvakutės, pagamintos „ghi“ sviesto ir „witepsol H-15“ pagrindu (70:30) yra minkščiausios. Žvakučių lydymosi temperatūra mažėja įterpiant vis didesnę kiekį „ghi“ sviesto į žvakutę. Nustatyta, kad „ghi“ sviesto ir „witepsol H-15“ pagrindų mišinys antocianinų/karageninų komplekso stabilumui įtakos neturi, o tik pagreitina žvakutės tirpimą. Šiems kokybės parametrams įrodyti atlikti tirpimo ir tirpumo testai. Nustatyta, kad presavimo būdu pagamintų žvakučių išvaizdos savybės atitinka kokybės reikalavimus: paviršius lygus, oro burbulų nesusidaro, įtrūkimų nėra, veiklioji medžiaga tolygiai pasiskirsto.

SUMMARY

K. Rudokaitė. The influence of preparation method on the quality parameters of suppositories with anthocyanin/ carrageenan complex. Master thesis/supervisor: Prof. dr. Jurga Bernatoniė. Lithuanian University of Health Sciences, Faculty of Pharmacy, Department of Drug Technology and Social Pharmacy. Kaunas.

Aim of the research: to evaluate the effect of preparation method on the quality parameters of suppositories with anthocyanin/ carrageenan complex.

Objectives and methodology of the research: to prepare the suppositories using fusion molding, rolling and compression molding methods with different bases; to evaluate the quality of suppositories by analyzing the surface texture, measuring pH value, assessing the overall appearance; to examine the melting and solubility characteristics.

Results and conclusions of the research: study results demonstrate that the preparation method influences the quality of the suppositories. The requirements of quality control meet suppositories manufactured by compression molding method. Suppositories produced by compression molding method were further analyzed using quality testing. Texture analysis indicated that suppositories prepared with the witepsol H-15 base had the highest hardness parameter and the highest force of penetration of the rod while suppositories produced using ghee butter and witepsol H-15 bases (70:30) were the softest. Melting temperature of the suppositories lowers when increasing the concentration of ghee butter. It was determined that the mixture of ghee butter and witepsol H-15 bases did not influence that stability of anthocyanin/ carrageenan complex, just induced the melting. To evaluate and confirm these quality parameters melting and solubility tests were performed. It was assessed that suppositories prepared by compression molding method meet the quality requirements: uniform surface, absence of air bubbles and cracks, active compound was distributed evenly.

PADĖKA

Dėkoju Lietuvos sveikatos mokslų universiteto, Farmacijos fakulteto, Vaistų technologijos ir Socialinės farmacijos katedrai, Analizinės ir Toksikologijos katedrai bei darbo vadovei Prof. Jurgai Bernatonienei už pagalbą atliekant magistro baigiamąjį darbą.

SANTRUMPOS

proc. - procentai

g – gramai

mg – miligramai

cm – centimetrai

ml – mililitrai

μl – mikrolitrai

pav. – paveikslėlis

°C - laipsniai Celcijaus

Ph.Eur – Europos farmakopėja

pH – vandenilio jonų koncentracija

žr. – žiūrėti

p – patikimumo lygmuo

ESC – efektyvioji skysčių chromatografija

PcG – polikombinės grupės baltymai

1. ĮVADAS

1.1 Darbo aktualumas

Hemorojus, proktitas, išangės įplėšos – dažnos šių laikų problemos, kurias išspręsti gana sudėtinga. Farmacijos specialistai siekia inovatyvių preparatų kūrimo siekiant palengvinti šiuos simptomus. Dažna vaisto forma šių ligų gydyme – žvakutės, tai gana stabili vaisto forma. Žvakutės gali veikti ir vietiškai ir sistemiškai. Šią vaisto formą galima skirti pacientams be sąmonės ar negalintiems praryti. Gydant išangės ligas siekiama kuo efektyvesnio vietinio žvakučių poveikio.

Antocianinų/karageninų kompleksas yra nauja medžiaga. Remiantis ląstelių tyrimais, gyvūnų modelių ir žmogaus klinikinių tyrimų duomenimis, buvo nustatyta, kad antocianinai turi priešūždegiminį ir antikancerogeninį poveikį, pasižymi stipriu antioksidaciniu poveikiu. Pasisavinimas per epitelinį audinį efektyvus [5].

Aktualu išsiaiškinti technologinių veiksnių įtaką žvakučių su antocianinų/karageninų kompleksu kokybės parametrams. Žvakutės gaminamos naudojant šiuos pagrindus: kakavos sviestą, „witepsol H-15“ ir „ghi“ sviestą. Svarbu įvertinti šių pagrindų įtaką produktų kokybei ir stabilumui. Remiantis gautais rezultatais bus atrinktas rektalinis medicinos prietaiso prototipas, kurį būtų galima naudoti išangės ligų gydymui.

1.2 Darbo tikslas ir uždaviniai

Darbo tikslas:

Sumodeliuoti žvakutes su antocianinų/karageninų kompleksu ir nustatyti gamybos įtaką žvakučių kokybės parametrams.

Darbo uždaviniai:

1. Remiantis literatūra parinkti žvakučių pagrindus.
2. Parinkti tinkamiausią žvakučių gamybos metodą ir įvertinti technologinių veiksnių įtaką kokybei.
3. Nustatyti žvakučių, pagamintų skirtingais pagrindais, kokybės parametrus.
4. Įvertinti antocianinų/karageninų komplekso įtaką organoleptinėms ir fizikinėms savybėms.

2. LITERATŪROS APŽVALGA

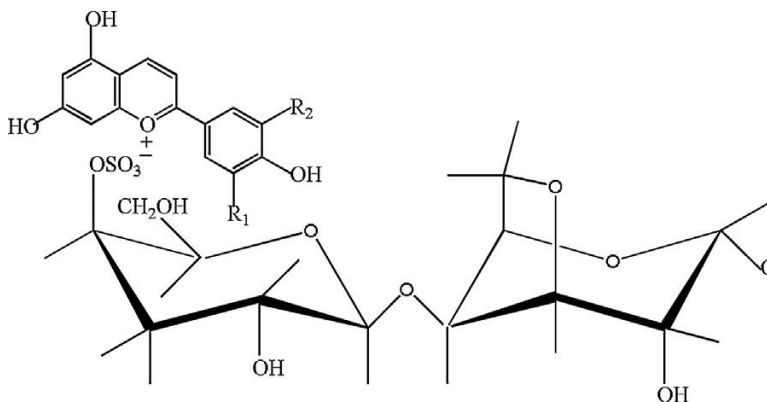
2.1 Antocianinų-karageninų komplekso charakteristika: apibūdinimas ir gavimas

Antocianinai yra svarbiausi vandenyje tirpūs natūralūs pigmentai, naudojami kaip natūralūs netoksiški dažikliai. Tai antioksidantai, naudojami gydymui siekiant išvengti daugelio ligų [3, 16]. Antocianinai yra glikozilinti polihidroksi- ir polimetoksi- 2-fenilbenzopirilo dariniai, turintys teigiamą krūvį turintį deguonies atomą aromatiniam žiede (necukrinę dalį - aglikoną), kuris lemia konjūguotus dvigubus ryšius, atsakingus už šviesos absorbciją (500nm) ir suteikiančius rožinę, raudoną, purpurinę ir mėlyną spalvas [21]. Antocianinų kiekis, randamas mėlynėse yra nuo 300-700mg/100g, tačiau tai priklauso ir nuo uogos sunokimo [3]. Labiausiai nagrinėjamas antocianinų laisvų radikalų prijungimą ir antioksidacinį pajėgumą gydymo tikslams [21]. Galimi antocianinų aglikonų kompleksai su karageniniais. [21] Antocianinų izoliatai gali užtikrinti apsaugą nuo DNR skilimo, pakeisti nuo hormonų priklausomos ligos vystymąsi, slopinti fermentus, reguliuoti imuninį atsaką, priešuždegiminį aktyvumą, mažinti kapiliarų pralaidumą [21,23,15]. Labai ryškus antocianinų priešvėžinis poveikis, Strasbūro mokslininkai atliko tyrimą, kurio tikslas buvo nustatyti, ar mėlynių ekstraktas slopina PcG baltymų ekspresiją ir jo mechanizmą. Tyrimo rezultatai parodė, kad mėlynių ekstraktas slopina vėžinių ląstelių dalijimąsi [1].

Karageninai priklauso linijinių sulfatinių polisacharidų grupei. Išgaunami iš valgomųjų raudonųjų dumblių. Karageninai turi vieną sulfatinę grupę. Dėl esančios anijoninės sulfatinės grupės karageninai gali jungtis su priešingą krūvį turinčiais polimerais dėl jonų sąveikos ir esant tam tikroms sąlygoms sudaryti kompleksus su antocianiniais [23]. Karageninai pasižymi skausmą slopinančiu, priešvėžiniu, antilipideminiu, antikoaguliaciniu poveikiu. Mokslininkų atlikti *in vitro* tyrimai parodo, kad karageninai pasižymi priešvirusiniu poveikiu, slopina Herpes ir hepatito A virusų replikacijas [5].

Lietuvos sveikatos mokslų universiteto mokslininkai atliko tyrimą antocianinų-karageninų kompleksui sudaryti, kurio žaliava buvo mėlynės (*Vaccinium myrtillus*). Tai mėlynos spalvos uoga, kuri kaupia bioaktyvius antrinius netabolitus: flavonoidus,

vitaminus, cukrus ir pektinus. Antocianinai yra plačiausiai nagrinėjami junginiai, gauti iš šio augalo [3]. Iš mėlynių vandeninės ištraukos gauti antocianinai jungiami su karageniniais skiedžiant tirpalus arba remiantis adsorbicija ant antocianinų mikrogranulių susijungiant su epichlorhidrinu. Moksliniais tyrimais įrodyta, kad elektrostatiški karageninų sudaryti kompleksai gali pagerinti vaisto poveikį. Tokie kompleksai didina vaisto biologinį praeinamumą ir pasisavinimą. Karageninai, turintys dvi sulfatinės grupes, gali prisijungti didesnę kiekį antocianinų [23].



Įpav. Joninio komplekso formavimas tarp antocianinų sulfatinės grupės ir karageninų laisvo radikalo [8]

2.2 Rektalinių preparatų gamybos ypatumai

Preparatų vartojimas per burną tampa neįmanomu esant pykinimui, vėmimui ir traukuliams. Daugelyje situacijų žvakutės gali tapti alternatyvia priemone [31]. Ši vaisto forma tinkama kūdikiams ir vaikams, kuriems sunku arba nemoka nuryti vaisto [26]. Rektaliniai preparatai dalinai aplenkia pirminį metabolizmą [19].

Žvakutės gaminamos liejimo, ritinimo ir presavimo metodais [13]. Gamybą sudaro šeši etapai: naudojamo pagrindo paruošimas; vaistinės medžiagos paruošimas; pagalbinių medžiagų paruošimas; vaistinės medžiagos įvedimas į pagrindą; vaistinės formos formavimas ir pakavimas [20]. Daugiakomponenčių žvakučių gamybai taikomi liejimo ir ritinimo metodai, presavimas taikomas nedaugeliu atvejų. Į žvakutes įterpiami milteliai turi būti nepastebimi ir nejuntami [20].

Gaminant žvakutes liejimo metodu, pagrindas išlydomas kaitinant virš vandens vonelės, įmaišomos veikliosios medžiagos ir kiti papildomi komponentai (pvz.: eteriniai

aliejai), paliekama atvėsti. Kai lydinys atvėsta, pilstoma į žvakučių formeles [20]. Būtina apskaičiuoti, ar veikliosios medžiagos kiekis neviršija 5 proc. visos žvakutės masės ir pagal tai atsižvelgiant sumažinti pagrindo kiekį arba palikti tokį patį [10,29].

Gaminant ritinimo metodu, kakavos sviestas sutrinamas, dedamos veikliosios medžiagos ir tolygiai maišoma naudojant grūstuvėje su piestele. Gauta vientisa masė formuojama į vieną ilgą tam tikro diametro cilindrą. Cilindras supjaustomas tam tikromis dalimis, kad gautųsi vienodos formos bei masės žvakutės. Formavimui patartina naudoti filtrinį popierių, kukurūzų miltus arba talką, kad sumažinti kakavos sviesto lipnumą [20]. Tai seniausias žvakučių gamybos metodas [16].

Šalto presavimo metodas naudojamas pagrindams, kurie gali būti formuojami į žvakutes jas tiesiog supresuojant. Šis metodas tinkamas medžiagoms, kurios neatsparios karščiui [20]. Pirmiausia, įdedamas nedidelis kiekis pagrindo, padaroma duobutė, į kurią sudedama veiklioji medžiaga ir galiausiai likęs pagrindas. Viskas išmaišoma [16]. Žvakučių masė sudedama į cilindrą, kuris po to uždaromas, presavimo procesas vyksta mechaniškai spaudžiant ar sukant ratą. Gautos žvakutės išimamos, vertinama jų kokybė ir pakuojamos [20].

2.3 Kokybės kontrolė

Žvakučių kokybės kontrolę apima fizikinė ir cheminė analizė. Fizikinė analizė apima vizualinę apžiūrą, lydymosi temperatūrą, skystėjimo laiką, lydymosi laiką bei mechaninį tvirtumą. Cheminė analizė apima aktyvumo tyrimus ir tirpimo testą. Fiziniai ar cheminiai pokyčiai lengvai pastebimi pakitus formai, kvapui ar spalvai [20,32].

Veikliosios medžiagos atpalaidavimo iš žvakutės tyrimas reikalauja žinių apie lydymosi temperatūrą, kuri priklauso nuo gamyboje naudoto pagrindo [18]. Bandymai turi būti atliekami temperatūroje, kuri turi būti artima žmogaus kūno temperatūrai. Tačiau, tiriant žvakutes, skirtas gydyti karščiavimą, atsižvelgiama į temperatūros pokyčius [18].

Turi būti įrodyta, kad pagalbinės medžiagos, naudojamos žvakučių gamyboje, per visas gamybos stadijas nepaveikia neigiamai ir nekeičia galutinio produkto stabilumo. Bet kokių vaistų nesuderinamumas turi būti stebimas. Gamybos procesas turi atitikti geros praktikos reikalavimus, o gautas produktas farmakopėjinius reikalavimus [33].

Gamybos klaidos, ruošiant žvakutes skubiam vartojimui, gali pasireikšti masės nehomogeniškumu ir vaistinės medžiagos išsiskyrimu ne pagal nurodytus reikalavimus. Vengrijos Segedo universiteto mokslininkai atliko tyrimus, siekdami nustatyti gamybos klaidas. Analizuojami du žvakučių mėginiai, paruošti su tiksliai žinomomis klaidomis [27]. Rezultatai parodo, kad pagrindinė gamybos technologijos klaida – neteisingas poslinkio koeficiento skaičiavimas, kuris daro įtaką rezultatų pokyčiams kiekvienos dozuotos formos tyrime. Kita klaida, kai apskaičiuojamas pagrindo perteklius. Tai gali lemti vaisto koncentracijos sumažėjimą (negali būti mažiau nei 80 proc.). Tikslūs skaičiavimai yra svarbūs, siekiant pagaminti vaisto formą, kurioje būtų tikslus veikliosios medžiagos kiekis, nepaisant skirtingų tankių komponentų [27].

Molekulės gebėjimas kristalizuotis į daugiau negu vieną išdėstymą yra vadinamas polimorfizmu. Tai turi esminį poveikį tinkamumo laikotarpiui, tirpimui bei formavimui. Netinkamas žvakučių su kakavos sviesto pagrindo laikymas, t.y aukštesnėje nei 30°C [24]. Vėstant žvakutės sukietėja ir atsiranda nestabilios polimorfines formas, kas ir lemia žvakučių lydymąsi žemesnėje temperatūroje. Problema vėliau taps dar labiau komplikauta jei įterptas vaistas taip pat yra linkęs į polimorfizmą. Buvo mėginta iširti riebalų, įskaitant ir kakavos sviestą, kristalizacijos kinetika [24]. Laikas, reikalingas riebalams atgauti jų stabilią polimorfinę formą po tirpimo, nebuvo iki galo atskleistas. Šiame tyrime iširtas kakavmedžio ir alyvpalmių sėklų aliejaus junginio atsistatymas į termostabilias polimorfines formas [24].

2.4 Pagrindų, naudojamų žvakučių gamyboje, įtaka kokybei

Pagrindas atsakingas už fizikines ir chemines vaisto formos savybes, lemia dispersinės sistemos stabilumą. Pagrindas sudaro didelę dalį žvakutės, turi didelę įtaką vaisto biologiniam praeinamumui, terapiniam aktyvumui ir pasiskirstymui [14]. Labai svarbu parinkti tokį pagrindą ir pagalbines medžiagas, kurie nulemtų geriausias biofarmacines savybes ir nepakeistų veikliosios medžiagos fizikinių ir cheminių savybių [30]. Žvakučių pagrindai turi būti stabilūs, nedirginantys, chemiškai ir fiziologiškai inertiški, suderinami su vaistų įvairovė, stabilūs laikant ir estetiškai priimtini [14]. Žvakutės turi būti kietos kambario temperatūroje, o minkštėti ir lydytis esant kūno

temperatūrai [8]. Pavyzdžiui, didesnės lydymosi temperatūros pagrindai gali būti maišomi su žemesnės lydymosi temperatūros pagrindais (kamfora, chloralhidratas, mentolis, fenolis, timolis ir lakūs aliejai) arba formuoti žvakutes, kurios būtų tinkamos naudoti tropiniuose kraštuose. Į pagrindus, kurių lydymosi temperatūra žemesnė, dedama medžiagų, kurios didina lydymosi temperatūrą arba dedami dideli kiekiai kietų medžiagų [14]. Riebalų ar hidofilinių pagrindų lydymasis ir tirpimas lemia veikliosios medžiagos atpalaidavimą [31].

2.5 Hidrofobiniai pagrindai

Hidrofobiniai pagrindai gali būti riebalai arba į riebalus panašios medžiagos, kurios lydosi kūno temperatūroje ir yra natūralios arba sintetinės kilmės. Daug metų kakavos sviestas buvo laikomas geriausiu pagrindu. Šis pagrindas gaunamas karštai presuojant skrudintas kakavos medžio sėklas. Kakavos sviestas - natūralūs augaliniai riebalai. Vienas didžiausių šio pagrindo privalumų - maišymas su įvairiomis vaistinėmis medžiagomis, smarkiai apibrėžta lydymosi temperatūra ir didelis plastiškumas (ypač pridėjus nedidelį kiekį bevandenio lanolino). Kakavos sviestas naudojamas gaminant žvakutes ritinimo, liejimo ir presavimo metodais [14, 29]. Kakavos sviestas neturi emulsiklių, todėl negali absorbuoti didesnio kiekio vandens. Šis pagrindas švelnus, nedirginantis audinių membranos. Žvakutes iš kakavos sviesto pagrindo patogiu gaminti ritinimo būdu, tačiau nepatogu liejimo [22, 2]. Hidrinti augaliniai aliejai taip pat plačiai naudojami žvakučių gamyboje. Tokio tipo pagrindai yra „erticoat H-340“ ir „kuva“. „Kuva“ pagrindo privalumas yra tas, kad ne lauro riebalai, iš kurių jie pagaminti, yra stabilesni nei lauro riebalai ir yra gerai suderinami su kakavos sviestu [14].

Nedidelės frakcijos gliceridai, kurių savybės panašios į kakavos sviesto, yra atskirti nuo natūralių arba hidrintų riebalų. Šio tipo pagrindams priklauso „sebuvonolis“, kurio trūkumai greitas gedimas ir prastas žvakučių formavimas dėl nepkankamo plastiškumo. Šis pagrindas naudojamas žvakučių gamyboje liejimo būdu. Mokslininkai pasiūlė naudoti acetone tirpią frakciją hidrintus jaučio riebalus ir alyvpalmių sėklų aliejų [14].

Kita hidrofobinių pagrindų grupė sudaryta iš produktų, gautų esterinimo būdu iš didelės molekulinės masės alkoholių su pusiau sintetinių riebalų rūgštimis. Riebaliniai

pagrindai, kurių sudėtyje yra riebalų rūgščių gliceridų, paprastai yra inertiški, yra geros struktūros, pasižymi optimaliomis lydymosi ir kietėjimo savybėmis bei yra stabilūs. Žvakučių pagrindas „Estarinum“ yra kakavos sviesto ir palmių aliejaus hidrolizės produktas. Ši pagrindų grupė turi daug privalumų: nesudaro polimorfinių pakitimų, gerai emulguoja vandeninius tirpalus ir greitai sukietėja. „witepsol H-15“ pagrindas yra plačiai naudojamas tiek pramoninėje gamyboje, tiek farmacijos praktikoje [14].

Taškento farmacijos instituto mokslininkai pasiūlė kombinuoti hidrofobinius žvakučių pagrindus, remiantis esterinimo produktų vietoje gaminamų augalinių aliejų (medvilnės, alyvuogių, persikų, saulėgražų), su įvairiais kiekiais gyvulinių aliejų, pridant emulsiklių „T-2“ arba „Tween-80“. Preliminarūs tyrimai parodė, kad hidrofobinė sudedamoji dalis su 5% „T-2“ emulsikliu gali būti naudojama kaip žvakučių pagrindas [14].

„Suporino M“ pagrindas tirpsta lengvai, yra chemiškai inertiškas, netoksiškas, greitai atpalaiduoja veikliąją medžiagą ir nedirgina tiesiosios žarnos. Hidrintų riebalų mišiniai su hidrofiliniais junginiais, emulsikliais ar angliavandenilinėmis produktais yra plačiai naudojami kaip kakavos sviesto pakaitalai. Junginiai, tokie kaip vaškas, parafinas ir spermacetas yra naudojami siekiant padidinti lydymosi temperatūrą. Lanolinas, lecitinas, cholesterolis gerina pagrindo maišymasi su vandeniu. Hidrintų riebalų mišinys su 4% parafino vadinamas „Butirolio“ pagrindu [14].

Witepsol H-15 pagrindas yra dažniausiai žvakučių gamyboje naudojamas pagrindas iš witepsol pagrindų. Witepsol H-15 pagrindo žvakutė tvirtos, mechaniškai sunkiau pažeidžiamos nei kakavos sviesto žvakutės [22].

1 lentelė. Hidrofobiniai pagrindai [14]

Pagrindas	Sudėtis	Fizikocheminės savybės	Lydymosi temperatūra °C
Kakavos sviestas (<i>Oleum Cacao seu Butyrum Cacao</i>)	Didesnės molekulinės masės riebalų rūgščių trigliceridai	Tiršta homogeniška masė, silpno kvapo, malonaus skonio	32,0 - 34,0

Lauro aliejus (<i>Oleum Cinnamomi pedunculati</i>)	Junginiai gauti iš alyvpalmių sėklų ir lauro vaisių	Gelsva masė, malonaus kvapo ir skonio. Kakavos sviesto pakaitalas.	34,0 - 35,0
Kalendrų aliejus (<i>Oleum Coriandri</i>)	Petroseleninės rūgšties trigliceridai	Kakavos sviesto pakaitalas	30,0 - 31,0
„Kuva-300“	Frakcionuoti hidrinti parafino augalų riebalai (palmių, sojų, medvilnės, žemės riešutų)	Tiršta masė	38,0 ± 2,0
„Kuva-500“	Iš dalies frakcionuoti, pagrindas rafinuotas palmių aliejus.	Tiršta masė	35,0 ± 2,0
Riebalų pagrindas	30% kakavos sviesto, 49-60%, hidrintas saulėgrąžų aliejus (maistiniai riebalai) ir 10-21% parafino.	Tiršta masė	38,0 ± 2,0
Butirolis	50% hidrintų riebalų, 20% parafino, 30% kakavos sviesto	Tiršta masė, nuo baltos iki gelsvos spalvos, specifinio kvapo	37,0± 2,0
Lanolinas	Lanolino 60 (80)%, hidrintų riebalų 20 (10)%, parafino 20 (10)%	Kieta homogeniška vašo masė, balta su gelsu atspalviu.	35,5 - 37,5
Sebuvinolis	Jautienos riebalų frakcija	Vientisa masė	36,0 – 37,0

Suporinas - M	95% hidrinto medvilnės aliejaus ir 5% T-2 mišinys	Šviesiai geltona vientisa masė, silpno specifinio kvapo	34,0 – 36,0
Salomas, įvairių tipų	Medvilnės ir saulėgražų aliejaus hidrinimo produktai po tolesnio gryninimo	Vientisa masė, nuo baltos iki šviesiai geltonos spalvos su grietinėlės atspalviu, specifinio kvapo.	32,0 – 34,0
<i>Massa Estarinum</i> , A, B, C, D, E, T tipai	Sočiųjų rūgščių mono-, di-, trigliceridų mišinys (lauro, miristino, palmitino, stearino)	Balta masė, beveik be kvapo ir skonio, tirpsta kūno temperatūroje ir virsta bespalviu arba geltonu skysčiu.	29,0 - 50,0
„Witepsol“	Augalinių rūgščių C12-C18 mono-, di- ir trigliceridų mišinys. Didžiausia dalis- lauro rūgšties trigliceridai.	Balta, kieta, biri lengvai tirpi masė. Bekvapė ir beskonė.	
H-15			33,5 – 35,5 /32,0 – 34,5
H-32			32,1
W-35			33,5 – 35,5 /27,0 – 30,0
E-75			37,0 – 39,0 /32,0 – 36,0
„Novata“	Kietų sočiųjų riebalų rūgščių (C11-C17) mono-, di- ir trigliceridų, alkoholių (C12-C20) ir nejonizuojančių polietilenglikolio emulsiklių mišinys.	Balta tirpi masė, be kvapo ir be skonio.	
PK			31,0 – 35,5
PKS			38,0 – 40,0
PKS-37			36,0 – 37,5

„Estaramas“ (H, W, S, E)	Pusiau sintetinis gliceridų mišinys (gamtinių aliejų mono-, di-, trigliceridai)	Balta kieta lydyta masė, be skonio ir kvapo.	32,0 – 42,0
„Weecobee“ pagrindas	Augalinių aliejų hidrinimo produktai	Bekvapė ir beskonė vientisa masė.	40,0 – 45,0
„Hidroktas M“	Palmių aliejaus hidrinimo produktai	Vientisa balsva masė.	36,0 – 39,0

2.6 Hidrofiliniai pagrindai

Šiems pagrindams būdingas geras tirpumas vandenyje. Vaistinės medžiagos iš šio pagrindo išsiskiria palaipsniui [14].

Želatinos-glicerolio pagrindą sudaro želatina, glicerolis ir vandens kiekiai, nurodyti skirtingose farmakopėjose. Želatinos kiekis gali svyruoti nuo 10 iki 20 proc. Želatinos-glicerolio tankis priklauso nuo želatinos kiekio. Kuo mažesnis kiekis, tuo greičiau pagrindas lydosi. Dehidratavimosi laikas, ypač prailguoto veikimo, priklauso nuo glicerolio kiekio. Pagrindas lydosi kūno temperatūroje ir maišosi su junginiais, kurie yra tirpūs vandenyje ir glicerolyje. Dėl pagrindo trūkumo mikroorganizmai gali greitai daugintis, o želatina skilti. Taigi, šio pagrindo žvakutės yra stabilios trumpą laiką. Tai trukdo gaminti žvakutės pramoniniu mastu. Buvo pasiūlyta į želatinos-glicerolio pagrindą pridėti dekametoksino, kuris veikia kaip konservantas ir prailgina galiojimo laiką [14].

Muilo-glicerino pagrindas yra muilo ir glicerino tirpalas. Žvakutės, pagamintos iš muilo-glicerino pagrindo, kaip taisyklė, yra be pridėtinių medžiagų. Pasižymi silpnu poveikiu ir yra vietiniai dirgikliai, kurie sukelia išeinamosios žarnos peristaltiką [14].

2 lentelė. Hidrofiliniai pagrindai [14]

Želatinos - glicerolio	1 dalis želatinos, 2 dalys vandens, 5 dalys glicerolio	Homogeniška skaidri masė	
Muilo – glicerolio	Krystalinis natrio karbonatas, 0,13; glicerolio, 3; stearino rūgštis 0,25	Šio pagrindo žvakutės yra bespalvės, higroskopinės, gaminamos be pridėtinių medžiagų	
Polietilenoksidai (PEO) (Polietilenoksidai, polietilenglikolis, karbovaksas, skurolis, postonalis)	Etileno oksido polimerai $H(O-CH_2CH_2)_nOH$ ($n = 3-325$)	PEO-300, 400, 600- bespalvis skaidrus klampus higroskopiškas skystis, silpno kvapo. PEO-1000, 1500, 3000, 3350, 4000, 6000, 8000, 20000, 35000- balta arba beveik balta higroskopiška vientisa masė panaši į parafiną.	Kietėjimo temperatūra PEO-600 15,0 – 35,0; PEO-1000 35,0 – 40,0; PEO-1500 42,0 – 48,0; PEO-3000 50,0 – 56,0; PEO-3350 53,0 – 57,0; PEO-4000 53,0 – 59,0; PEO-6000 55,0 – 61,0; PEO-8000 55,0 – 62,0; PEO-20000/35000: min 57,0

2.7 Difiliniai pagrindai

Difilinius pagrindus sudaro hidrofobinė ir hidrofilinė dalys. Tai teikia galimybę įterpti ir vandenyje tirpias medžiagas. Pagrindas, kuriame vandens (22 – 24 proc.) ir glicerolio (35 – 45 proc.) naudojamas kaip hidrofilinis, kakavos sviestas arba witepstolis (22 – 26 proc.) kaip hidrofobinis, dedama želatina kaip difilinis emulsiklis Gaunama vienalytė, stabili masė, kurios lydymosi temperatūra $35,5 \pm 5,0$ °C. Į riebalinį želatinos

pagrindą galima įterpti vandenyje ir riebaluose tirpiai vaistines medžiagas bet kuriame gamybos etape [14].

2.8 Natūralių produktų naujovės žvakučių gamyboje

Idealiomis savybėmis pasižymi „ghi“ sviestas, kuris gali būti naudojamas kaip žvakučių pagrindas. „Ghi“ sviestas turi galimybę sumažinti mažo tankio lipoproteino cholesterolio kiekį plazmoje [25]. Gebėjimas išlyginti odą ir lipofiliškumo charakteristika lemia geresnį pasisavinimą. Vaginalinės ar rektalinės žvakutės lydosi kūno temperatūroje tikslingai. Azijos mokslininkai atliko tyrimą, kurio tikslas nustatyti „ghi“ sviesto pagrindo vaidmenį su bičių vašku skirtingomis sudėtimis (1:1; 2:1; 1:2) [25]. Taip pat galima gaminti žvakutes iš „ghi“ sviesto ir PEG pagrindų mišinio [7]. Rezultatai parodė, kad didesnis „ghi“ sviesto santykis gerina veikliosios medžiagos atpalaidavimą, o bičių vaškas mažina veikliosios medžiagos atpalaidavimo greitį. Daugiau tyrimų gali padėti „ghi“ sviestą ateityje naudoti kaip geresnį natūralų ingredientą daugelyje kitų farmacinių preparatų [25,7].

3. TYRIMŲ METODIKA IR METODAI

3.1 Tyrimo objektas

Žvakutės pagamintos naudojant šiuos pagrindus: kakavos sviestą, „witepsol H-15“ ir „ghi“ sviestą. Kaip veikioji medžiaga įterptas antocianinų/karageninų kompleksas.

3.2 Medžiagos ir prietaisai

3.2.1 Tyrime naudotos medžiagos

- Antocianinų/karageninų kompleksas (netinklinis) (LSMU laboratorija);
- „Ghi“ sviestas (Azija, platintojas UAB „Biosala“, Lietuva);;
- Kakavos sviestas (Henry Lamotte GmbH, Vokietija);
- „Witepsol H-15“ (Sasol GmbH, Vokietija);
- Išgrynintas vanduo (Ph.Eur.01/2008:0008);
- Natrio dihidrofosfatas (Sigma-Aldrich, JAV);
- Dinatrio hidrofosfatas (Sigma-Aldrich, JAV);
- 10proc. vandenilio chlorido rūgštis (Sigma-Aldrich, JAV).

3.2.2 Reagentų paruošimas

Fosfatinis buferis, naudotas tirpumo ir tirpimo testuose

Fosfatinis buferinis tirpalas, naudojamas suirimo ir tirpimo testams, pagamintas taip, kad atitiktų fiziologinius išangės parametrus – pH 7,3. Tirpalas pagamintas skirtinguose induose ištirpinus natrio dihidrofosfatą (25,5g/1000g) ir dinatrio hidrofosfatą (18,5g/1000g) išgrynintame vandenyje. Šie du tirpalai sumaišomi santykiu 2:8.

3.2.3 Tyrime naudoti prietaisai

- Mikroskopas Motic® (Motic China Group Co.. Ltd.. Kinija);
- Tekstūros analizatorius „TA.XT.plus“ (Stable Micro Systems Ltd. Godalming. Surrey. (Jungtinė karalystė);
- Tirpimo nustatymo prietaisas „Sotax“ (Jungtinė karalystė)
- Tirpumo nustatymo prietaisas „Sotax“ (Jungtinė karalystė);
- pH-metras Delta OHMHD 2105.1 Delta OHM. (Italija);
- Mikropipetės „Gilson“ (Prancūzija);
- Žvakučių presavimo aparatas (Izraelis);
- Analitinės svarstyklės „Precisa“ (Jungtinė karalystė);
- Lydymosi temperatūros taško nustatymo aparatas „Stuart“ SMP10. (Jungtinė karalystė);
- Vandens vonelė „J.P.Selecta“ .s.a. (Ispanija).

3.3 METODAI

3.3.1 Žvakučių gamyba ritinimo būdu

Gaminant žvakutes ritinimo būdu, pagrindas naudotas kakavos sviestas. Reikiamas kakavos sviesto (7,0 g) ir veikliosios medžiagos kiekis (0,002 g) pasveriamas ir supilamas į grūstuvę. Išmaišoma ir minkoma iki vienalytės masės. Plastiškumui pagerinti įdedama bevandenio lanolino, toliau minkoma piestele. Sutrinta masė turi atšokti nuo sienelių. Gauta masė dedama ant stiklinės plokštelės, mentelė apvyniojama permanentiniu popieriumi ir ritinama iki cilindro formos. Išritinta masė supjaustoma į lygius gabalėlius, iš kurių formuojamos žvakutės. Gautos žvakutės dedamos į šaldytuvą, kad veiklioji medžiaga išliktų stabili 2-8°C temperatūroje.

3.3.2 Žvakučių gamyba liejimo būdu

Pasveriamas reikiamas kakavos sviesto kiekis (7,0 g), sudedamas į porcelianinę lėkštelę. Pagrindas išlydomas padėjus lėkštelę ant kaitlentės, įmaišomas. Kai pagrindas išsilydo, įterpiama veiklioji medžiaga (0,002g). Gauta vienalytė masė išmaišoma stikline lazdele ir pilama į žvakučių formeles. Atvėsinama šaldytuve. Gautos žvakutės laikomos šaldytuve, kad veiklioji medžiaga išliktų stabili 2-8°C temperatūroje.

3.3.3 Žvakučių gamyba presavimo būdu

Pasveriamas reikiamas kiekis pagrindo. Šiuo gamybos metodu gaminamos žvakutės kakavos sviesto, „witepsol H-15“, „witepsol H-15“ ir „ghi“ sviesto mišinių santykiu 9:1, 8:2, 7:3 pagrindais. Gaminamos dviejų gramų žvakutės. Atsveriama 7 g pagrindo, kadangi vienu metu gaminamos trys žvakutes ir galimi iki 1 g nuostoliai, dedamas į porcelianinę lėkštelę, suberiama veiklioji medžiaga. Masė stikline lazdele išmaišoma ir beriama į presavimo aparatą, supresuojama. Gautos žvakutės dedamos į šaldytuvą, kad veiklioji medžiaga išliktų stabili 2-8°C temperatūroje.

3.3.4 Žvakučių gamyba su „ghi“ sviesto ir „witepsol H-15“ mišinio pagrindu

Pirmiausia pagaminamas inovatyvus pagrindai – „ghi“, sviesto ir „witepsol H-15“ mišiniai santykiu 9:1, 8:2, 7:3. Atsveriamos 9 dalys „witepsol H-15“ ir 1 dalis „ghi“ sviesto. Suberiama į porcelianinę lėkštelę ir dedama ant kaitlentės, kol pagrindai išsilydo (iki 40°C). Išmaišoma stikline lazdele iki vienalytės masės. Gautas pagrindas atšaldomas iki sustingimo. Sustingęs pagrindas išimamas iš lėkštelės ir smulkia tarka tarkuojamas iki birios masės. Į 7 gramus pagrindo beriama 0,002 g veikliosios medžiagos antocianinų/karageninų komplekso, stikline lazdele išmaišoma ir beriama į presavimo aparatą. Gautos žvakutės dedamos į šaldytuvą, kad veiklioji medžiaga išliktų stabili 2-8°C temperatūroje.

3.3.5 Žvakučių vienalytiškumo vertinimas

Pirmiausia žvakučių vienalytiškumas vertinamas perpjovus žvakutę skalpeliu ir stebima, ar nėra oro tarpų ir ar veikioji medžiaga tolygiai pasiskirsčiusi. Žvakučių vienalytiškumo vertinamui buvo naudojamas mikroskopas Motic®. Skalpeliu atpjaunamas labai plonas žvakutės sluoksnis ir dedamas ant mikroskopinio stiklelio. Per 400X didinamąjį lęšį, reguliuojant vaizdą sraigtais, siekiama pamatyti kuo labiau sufokusuotą vaizdą ir įvertinti žvakutės vienalytiškumą.

3.3.6 Žvakučių tekstūros analizė

Šiai analizei naudojamas tekstūros analizatorius TA.XT plus. Tyrimo metu įvertinama zondo prasiskverbimo jėga į žvakutę. Naudojama kompiuterinė programa Exponent, kurioje pasirenkamas testas žvakutėms. Zondo prasiskverbimo greitis 0,5mm/s. Matuojama jėga, reikalinga prasiskverbti 3mm.

Žvakutės vienas smailusis galas nupjaunamas ir pastatomas statmenai prieš zondą. Paleidžiamas zondas ir tai atliekama 3 kartus su to paties pagrindo žvakutėmis esant vienodoms sąlygoms ir parametrams. Programa nubraižo grafikus, apskaičiuoja rezultatus.

3.3.7 Žvakučių pH reikšmės nustatymas

Žvakučių pH reikšmė nustatoma pH-metru pH/mV Delta OHM HD 2105.1. Gaminama 5 proc. ištrauka. Žvakutė išlydoma porcelianinėje lėkštelėje kaitinant ant vandens vonelės, pilama 15 ml distiliuoto šilto vandens, išmaišoma. Gautas tirpalas filtruojamas per popierinį filtrą.

Ph-metro elektrodas pirmiausia nuplaunamas distiliuotu vandeniu ir tik tada merkiamas į gautą žvakutės ištrauką. Tyrimas atliekamas esant $37\pm 2^{\circ}\text{C}$. pH reikšmės matuojamos 3 kartus.

3.3.8 Žvakučių išvaizdos vertinimas

Labai svarbu žvakutes įvertinti vizualiai. Įvertinamas kvapas, spalva, paviršius, veikliosios medžiagos pasiskirstymas. Žvakutėse neturi būti oro burbulų ar įtrūkimų.

3.3.9 Masės vienodumo testas

Masės vienodumo testas atliktas remiantis Ph. Eur. 01/2002. .2.9.5. Vienadoziai preparatai turi atitikti masės vienodumo testą. Pasveriami 20 vienodos sudėties žvakučių ir apskaičiuojama vidutinė vienos žvakutės masė. Masės nuokrypis neturi viršyti $\pm 5\text{proc.}$ nuo vidutinės žvakutės masės.

3.3.10 Pagrindo įtakos žvakučių lydymosi temperatūrai nustatymas

Lydymosi temperatūros taško nustatymas atliktas remiantis Ph. Eur. 01/2008:20215. Naudojamas stiklinis kapiliaras atviras abiejuose galuose, apie 80mm ilgio, 1,4 mm skersmens. Žvakutė porcelianinėje lėkštelėje išlydoma naudojant vandens vonelę ir tuomet kapiliaras užpildomas žvakutės masės lydiniu. Dedame į šaldytuvą, kurio temperatūra 2-8°C, kad masė sustingtų.

Kapiliaras talpinamas į aparatą, temperatūra pamažu didėja ir per okuliarą stebime, kada masė pradeda lydėtis. Tai atliekama 5 kartus su vieno pagrindo žvakute ir apskaičiuojamas gautų rodiklių vidurkis.

3.3.11 Suirimo tyrimas

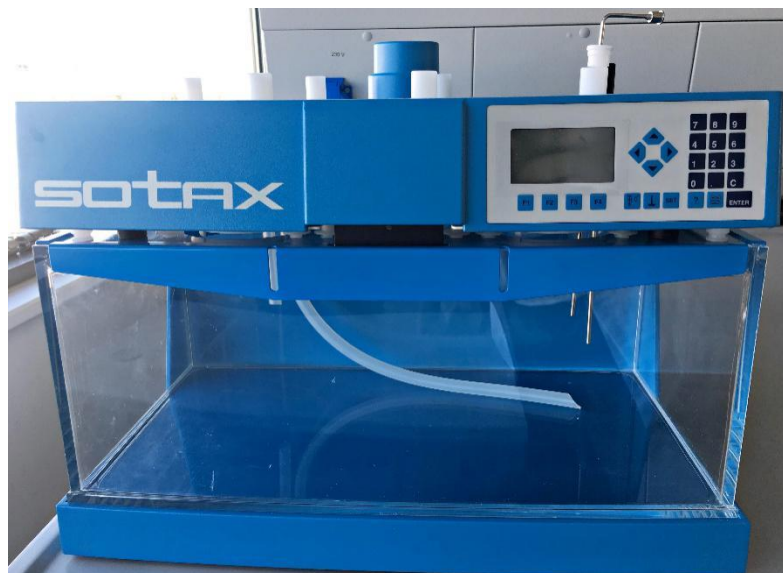
Suirimo testas atliekamas remiantis Ph. Eur 07/2010:51701. Naudojamas krepšelinis prietaisas. Stiklinis indas užpildomas 500ml fosfatinio buferio, kad pH reikšmė būtų 7,2. Nustatomas maišymo greitis 50 r/min, laukiama kol temperatūra pakils iki $37\pm 2^\circ\text{C}$. Į krepšelį įdedama žvakutė ir prietaisas įjungiamas. Chronometru fiksuojamas suirimo laikas. Pagal keliamus farmakopėjos reikalavimus, žvakutė turi suirti greičiau nei per 45 minutes.



2pav. Suirimo testui nustatyti naudojamas prietaisas „Sotax”

3.3.12 Pagrindo įtakos antocianinų atpalaidavimui iš žvakučių nustatymas

Metodui atlikti naudojamas krepšelinis prietaisas. Stiklinis indas užpildomas 500ml fosfatinio buferio, kad pH reikšmė būtų 7,2. Nustatomas maišymo greitis 50r/min, laukiama kol temperatūra pakils iki 37°C. Į krepšelį dedamos dvi žvakutės, kad koncentracija tirpale būtų paprasčiau nustatyti (0,33g). Nustatyti intervalai mėginiams paimti : 10min, 20min, 30min, 40min, 50min, 60min. Kai žvakutės įdedamos į krepšelį, prietaisas įjungiamas ir tuo pačiu metu įjungiamas chronometras. Po 10min prietaisas sustabdomas ir automatiškai pipete paimamas 3ml mėginys, tiek pat buferio grąžinama atgal į stiklinį indą. Testas vėl paleidžiamas, o paimtas mėginys filtruojamas pro Q-Max PTFEIL 0,45 μm mikrofiltriukus. Kadangi antocianinų/karageninų kompleksas šarminėje terpėje greitai skyla, tirpalas parūgštinamas 0,001ml 10proc. HCl tirpalu, kad pH reikšmė būtų 2-2,2. Taip kartojama su likusiais 5 mėginiais.



3pav. Tirpumo testui nustatyti naudojamas prietaisas „Sotax”

Remiantis Ph. Eur. 01/2016:2394 gauti mėginiai analizuojami efektyviosios skysčių chromatografijos metodu. Naudojamas tirpiklis: vandenilio chlorido rūgštis R, metanolis R (2:98 V/V). Analizuojamas tirpalas: mėginį tirpikliu praskiedžiamas iki 25 ml. 5ml gauto tirpalo dar skiedžiami 20 ml praskiesta fosforo rūgštimi. Palyginamasis tirpalas: ištirpinti 0,1250 g antocianinų/karageninų komplekso 25 ml tirpiklio ir 5ml gauto tirpalo praskiesti iki 20ml fosforo rūgšties.

Kolonėlės dydis: aukštis 0,250m skersmuo 4,6mm, nejudri fazė – oktadecilsilil silicio gelis, temperatūra $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$, judri fazė – bevandenė skruzdžių rūgštis ir vanduo (8,5:91,5 V/V). Tėkmės greitis 1,0ml/min, nustatymas spektrofotometrijos metodu 535 nm, injekcija 10 μl . Gaunamos chromatogramos, kurios analizuojamos.

3.3.13 Statistinė duomenų analizė

Gauti duomenys apdoroti kompiuterine programa Microsoft® Office Excel 2010. Vidurkiai pateikti su vidutinėmis standartinėmis paklaidomis, skirtumai tarp vidurkių patikimi, jei $p < 0,05$.

4. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

4.1 PRESAVIMO METODO ĮTAKA ŽVAKUČIŲ KOKYBEI

Žvakutės buvo gaminamos presavimo metodu, kadangi veiklioji medžiaga (antocianinų-karageninų kompleksas) yra netirpi – pagrindą ir veikliąją medžiagą galima sumaišyti ir presuoti. Gaminant žvakutes presavimo metodu, nesunku išgauti nedidelio masės nuokrypio ir vienodas torpedos formos žvakutes, šis gamybos metodas patogus ir greitas.



4pav. Presavimo metodu pagamintos žvakutės. Kairėje – kontrolinė žvakutė, dešinėje – žvakutė su antocianinų-karageninų kompleksu.

**Sudėtis: pagrindas „witepsol H-15“, „ghi“ sviestas, 0,002g antocianinų-karageninų komplekso.*

Žvakutė su antocianinų-karageninų kompleksu nuo kontrolinės žvakutės skiriasi spalva. Atlikus vizualinę apžiūrą, galime teigti, kad antocianinų-karageninų kompleksas žvakutės pagrinde pasiskirstęs gana tolygiai (4 pav.).

Žvakutės taip pat buvo gaminamos liejimo ir ritinimo metodais. Žvakutėse, pagamintose liejimo būdu pastebėta, kad veiklioji medžiaga – antocianinų/karageninų kompleksas nusėda žvakutės apačioje, o ne tolygiai pasiskirsto (5 pav). Gaminant žvakutes ritinimo būdu sunku žvakutes išgauti taisyklingos formos (6 pav.). Taigi, išbandžius visus

galimus žvakučių gamybos metodus, pasirinkome žvakučių gamybą presavimo būdu ir šių žvakučių analizę.

Įvykusi
antocianinų/karageninų
komplekso sedimentacija



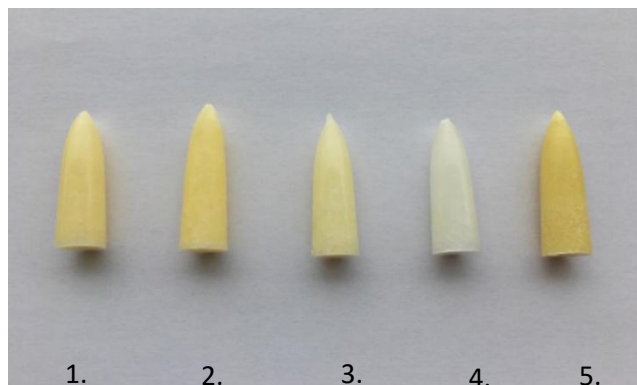
5pav. Žvakutės pagamintos liejimo būdu, kai pagrindas witepsol H-15.



6pav. Žvakutės, pagamintos ritinimo būdu, kai pagrindas kakavos sviestas.

4.2 PAGRINDO ĮTAKA ŽVAKUČIŲ FORMAVIMUISI

Gaminant žvakutes su skirtingais pagrindais, buvo vertinama, ar žvakutės tinkamai susiformuoja. Žvakučių gamyboje buvo naudojami kakavos sviesto, „witepsol H-15“, „witepsol H-15“ - „ghi“, sviesto (santykiu 9:1; 8:2; 7:3) derinio pagrindai. Į žvakutes įterpus daugiau nei 30 proc. ghi sviesto, žvakutės praranda formą, tinkamą vartojimui.



7 pav. 1 žvakutės pagrindas „witepsol H-15“ – „ghi“, sviestas 9:1; 2 žvakutės pagrindas „witepsol H-15“ – „ghi“ sviestas 8:2; 3 žvakutės pagrindas „witepsol H-15“ – „ghi“ sviestas 7:3, 4 žvakutės pagrindas witepsoli H-15, 4 žvakutės pagrindas kakavos sviestas.

Pagal pagamintas žvakutes, pavaizduotas 7 paveiksle, galime spręsti, kad iš visų panaudotų pagrindų, žvakutės susiformuoja taisyklingos formos. Įvertinus žvakutės vizualiai, galime teigti, kad žvakutės atitinka reikalavimus. „Ghi“ sviestas labai lengvai tirpsta esant kūno temperatūrai, todėl žvakutes reikia formuoti pagrindą tik išėmus iš šaldytuvo.

4.3 PAGRINDO ĮTAKA ŽVAKUČIŲ TEKSTŪRAI

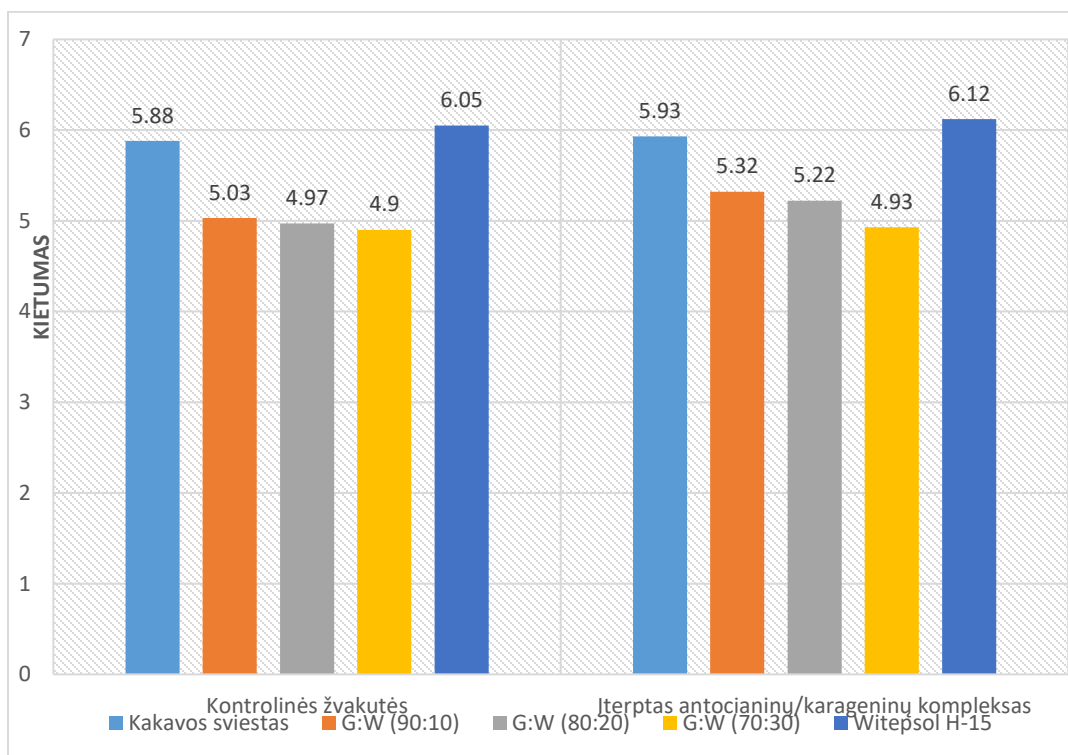
Tekstūros analizės metodas buvo atliekamas siekiant nustatyti skirtingų pagrindų žvakučių kietumą. Matuojama jėga, reikalinga zondui prasiskverbti į žvakutę, esant nustatytiems parametrams (atstumas 3mm, greitis 0,5 mm/s). Analizė buvo atliekama tris kartus su kiekviena žvakute ir išvestas gautų rodmenų vidurkis.

3 lentelė. Kontrolinių žvakučių tekstūros analizės rezultatai.

ŽVAKUTĖS SUDĖTIS	KIETUMAS	ZONDO PRASISKVERBIMO JĖGA
Kakavos sviestas	5,88±0,75	307,285±27,765
„Witepsol H-15“ ir „ghi“ sviestas (90:10)	5,03±1,32	385,679±44,076
„Witepsol H-15“ ir „ghi“ sviestas (80:20)	4,97±0,74	204,318±17,451
„Witepsol H-15“ ir „ghi“ sviestas (70:30)	4,90±0,66	182,030±24,751
„Witepsol H-15“	6,05±0,15	396,25±32,654

4 lentelė. Žvakučių, kuriose įterptas antocianinų/karageninų kompleksas tekstūros analizė.

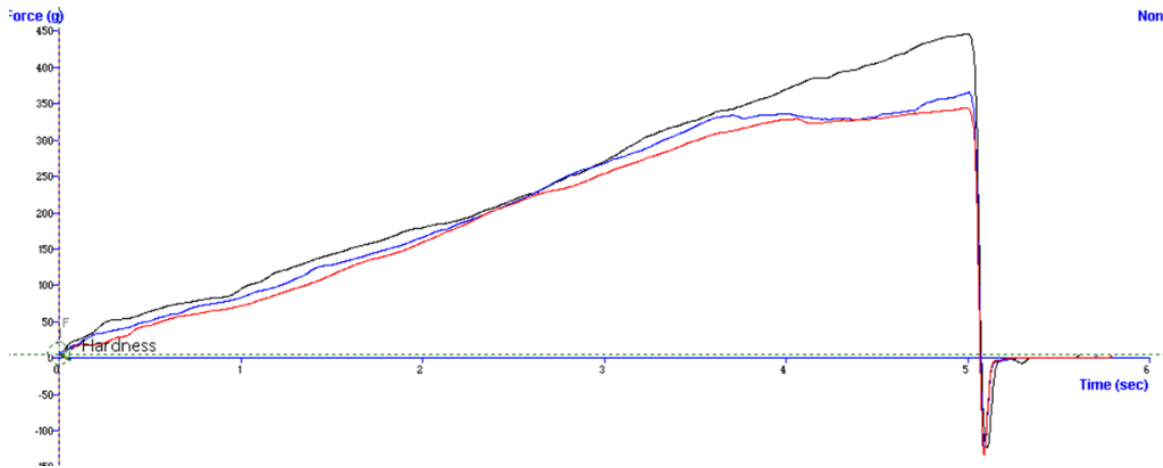
ŽVAKUTĖS SUDĖTIS	KIETUMAS	ZONDO PRASISKVERBIMO JĖGA
Kakavos sviestas	5,93±0,32	308,563±17,569
„Witepsol H-15“ ir „ghi“ sviestas (90:10)	5,32±0,92	301,357±37,503
„Witepsol H-15“ ir „ghi“ sviestas (80:20)	5,22±0,52	214,166±23,728
„Witepsol H-15“ ir „ghi“ sviestas (70:30)	4,93±0,42	168,925±25,488
„Witepsol H-15“	6,12±0,23	399,45±12,685



8 pav. Žvakučių kietumas pavaizduotas grafiškai. ($p < 0,05$), ($n=3$). G:W – „ghi“ sviesto ir „witepsol H-15“ santykis žvakutės pagrinde.

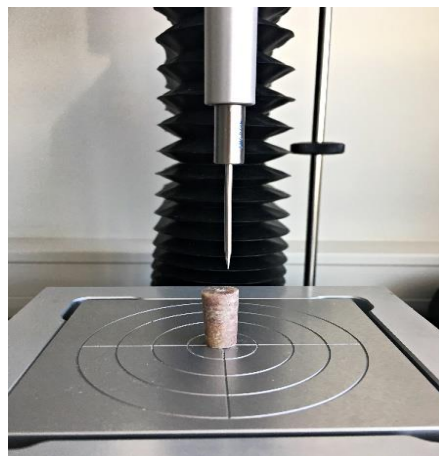
Rezultatai rodo, kad kuo didesnis „ghi“ sviesto kiekis žvakutėje, tuo zondo prasiskverbimo jėga mažesnė. Kiečiausios žvakutės, kurių pagrindą sudaro „witepsol H-15“. Antocianinų/karageninų komplekso įterpimas į žvakutę nekeičia jos kietumo

($p > 0,05$) (8pav.). Apžvelgus rezultatus, galime teigti, kad „ghi“ sviestas minkština žvakutes.



9pav. Tekstūros analizės kreivė. (Force – zondo prasiskverbimo jėga gramais (g); Time – laikas sekundėmis, kai zondas skverbiasi į žvakutę (sec)) (n=3)

Apibendrinant tekstūros analizės rezultatus, galime teigti, kad kuo didesnis „ghi“, sviesto kiekis žvakutėje, tuo zondo prasiskverbimo jėga mažesnė. Atsižvelgiant į žvakučių, kurių sudėtyje yra antocianinų-karageninų kompleksas, ir kontrolinių žvakučių, kietumą, galime teigti, kad veikliosios medžiagos įterpimas kietumo nekeičia ($p > 0,05$). Žvakučių kietumas svarbus žvakutės suirimo ir veikliosios medžiagos atpalaidavimo laikui.



10pav. Tekstūros analizatorius

4.4 ŽVAKUČIŲ PAGRINDO ĮTAKA pH REIKŠMEI

Gaminama 5proc. vandeninė ištrauka. 1,25g žvakutės ištirpinama lėkštelėje šildant ant kaitlentės. 23,75g vandens pašildoma iki panašios temperatūros ir supilamas į lydinį. Perkošiama per popierinį filtrą. pH reikšmė matuojama naudojant pH-metrą Delta OHM HD 2105.

5 lentelė. Kontrolinių žvakučių pH reikšmės.

PAGRINDAS	pH REIKŠMĖ
„Witepsol H-15’’- „ghi’’ sviestas (90:10)	pH 5,51±0,12
„Witepsol H-15’’- „ghi’’ sviestas (80:20)	pH 5,93±0,18
„Witepsol H-15’’- „ghi’’ sviestas (70:30)	pH 6,03±0,25
Kakavos sviestas	pH 5,75±0,35
„Witepsol H-15’’	pH 5,21±0,28

Pagal gautas pH reikšmes, galime teigti, kad kuo didesnis ghi sviesto kiekis įterptas žvakutėje tuo rūgštingumas mažesnis.

6 lentelė. Žvakučių pH su antocianinų-karageninų kompleksu

PAGRINDAS	pH REIKŠMĖ
„Witepsol H-15’’- „ghi’’ sviestas (90:10)	pH 6,43±0,15
„Witepsol H-15’’- ghi sviestas (80:20)	pH 5,62±0,34
„Witepsol H-15’’- „ghi’’ sviestas (70:30)	pH 6,31±0,27
Kakavos sviestas	pH 6,03±0,38
„Witepsol H-15’’	pH 5,42±0,44

Apibendrinus gautus rezultatus ir palyginus žvakučių ištraukų pH, kuomet įterptas antocianinų/karageninų kompleksas ir kontrolinių žvakučių, galime teigti, kad antocianinų-karageninų komplekso įterpimas į žvakutę reikšmingų pokyčių neparodo ($p > 0,05$).

4.5 ŽVAKUČIŲ SUIRIMO TESTAS

7 lentelė. Žvakučių suirimo testo rezultatai, kai pagrinda neįterptas antocianinų-karageninų kompleksas.

Žvakutės pagrindas	Suirimo laikas, min
„Witepsol H-15”- „ghi” sviestas 90:10	13min.10s±13s
„Witepsol H-15”- „ghi” sviestas 80:20	10min.3s±4s
“Witepsol H-15”- „ghi” sviestas 70:30	9min.27s±9s
Kakavos sviestas	15min.32s±6s
„Witepsol H-15”	21min.22s. ±8s

Ilgiausias suirimo laikas žvakutės, kurios pagrindas „witepsol H-15“, greičiausiai suiro žvakutė, kurios pagrindą sudaro „witepsol H-15“ – „ghi“ sviestas (70:30) ($p < 0,05$). Apžvelgus gautus rezultatus, galime teigti, kad žvakutės atitinka farmakopėjinius reikalavimus ir suiro greičiau nei per 30min. Vertinant „ghi“ sviesto įtaką, galima teigti, kad didinant jo kiekį, suirimo laikas trumpėjo ($p < 0,05$).

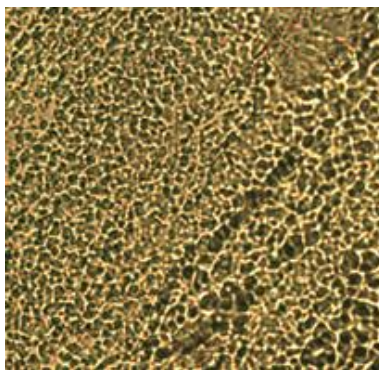
8 lentelė. Žvakučių suirimo rezultatai, kai į pagrindą įterptas antocianinų-karageninų kompleksas.

Žvakutės pagrindas	Suirimo laikas
„Witepsol H-15”- „ghi” sviestas (90:10) su antocianinų-karageninų kompleksu	15min.22s
„Witepsol H-15”- „ghi” sviestas (80:20) su antocianinų-karageninų kompleksu	12min.11s
„Witepsol H-15”- „ghi” sviestas (70:30) su antocianinų-karageninų kompleksu	10min.39s
Kakavos sviestas su antocianinų-karageninų kompleksu	17min.48s
„Witepsol H-15” su antocianinų-karageninų kompleksu	23min.6s

Antocianinų-karageninų komplekso įterpimas nežymiai pailgino žvakutės suirimo laiką. Žvakutės, kurių pagrinde įterptas „ghi“ sviestas, suyra greičiau nei kakavos sviesto ir „witepsol H-15“ pagrindu pagamintos žvakutės. Palyginus rezultatus, gautus tiriant kontrolines žvakutes ir žvakutes su antocianinų/karageninų kompleksu, reikšmingų pokyčių nepastebėta ($p > 0,05$). Visos žvakutės suirimo greičiau nei per 45min.

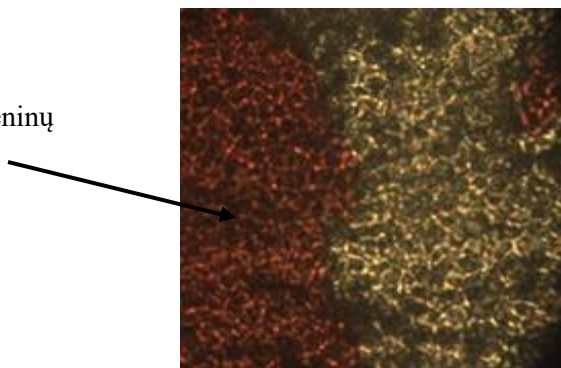
4.6 ŽVAKUČIŲ VIENALYTIŠKUMO NUSTATYMAS

Mikroskopuojant nustatomas žvakučių vienalytiškumas. Naudojamas mikroskopas *Motic*®. Pateiktuose paveikslėliuose (pav.11,12) matomi skirtumai tarp žvakutės, kurios sudėtyje nėra įterpto antocianinų-karageninų komplekso ir žvakutės, kurioje įterptas veikliosios medžiagos kompleksas. Antocianinų karageninų kompleksas išsiskiria ryškiai raudona spalva.



11 pav. Žvakutės mikrostruktūra, kai pagrindas „witepsol H15“ - „ghi“ sviestas (90:10)

Antocianinų/karageninų kompleksas



12 pav. Žvakutės mikrostruktūra, kai pagrindas „witepsol H15“ - „ghi“ sviestas (90:10) ir įterptas antocianinų-karageninų kompleksas

Paveikslėliuose pavaizduota žvakutės masės mikrostruktūra, užfiksuota mikroskopine kamera. Atliekant mikroskopinę analizę reikšmingų skirtumų tarp skirtingų pagrindų žvakučių nepastebėta, todėl vienalytiškumo toliau nevertinome.

4.7 FIZIKINIŲ SAVYBIŲ VERTINIMAS

Labai svarbu įvertinti organoleptines ir fizikines pagamintų žvakučių savybes. Vienas iš žvakučių kokybės vertinimų – vizualinis vertinimas, kad atitiktų farmakopėjinius reikalavimus. Vertinamos žvakutės pagamintos presavimo būdu.

9 lentelė. Žvakučių vizualinio vertinimo rezultatai

	ŽVAKUTĖS SUDĖTIS	SPALVA	PAVIRŠIUS	SVORIS (g)
A	Kakavos sviestas (kontrolė)	Geltona	Nelygus	2,00±0,06
B	Kakavos sviestas su antocianinų karageninų kompleksu	Ruda	Nelygus	1,92±0,05
C	„Witepsol H-15“ (kontrolė)	Balta	Lygus	1,95±0,02
D	„Witepsol H-15“ su antocianinų karageninų kompleksu	Rausva	Lygus	2,02±0,04
	„Witepsol H-15“ ir „ghi“ sviestas			
E	90:10	Balta	Lygus	1,94±0,02
F	80:20	Gelsva	Lygus	1,96±0,01
G	70:30	Geltona	Lygus	1,98±0,06
	„Witepsol H-15“-„ghi“ sviestas su antocianinų-karageninų kompleksu			
H	90:10	Rausva	Lygus	2,00±0,01
I	80:20	Rausva	Lygus	2,02±0,03
J	70:30	Rausva	Lygus	1,99±0,01

Pagal 9 lentelėje pateiktus duomenis galime teigti, kad antocianinų-karageninų komplekso įterpimas keičia žvakutės spalvą. Antocianinų-karageninų kompleksas yra vyšninės spalvos, todėl kuo didesnis kiekis veikliosios medžiagos įterpiamas, tuo žvakutės spalva intensyvesnė. Kakavos sviesto pagrindu pagamintų žvakučių pagrindas nelygus, kitų gamyboje naudotų pagrindų paviršius lygus. Žvakučių masė svyruoja nuo $1,92 \pm 0,05$ g iki $2,02 \pm 0,03$ g. Taigi, gaminant žvakutes reikšmingų masės nuokrypių nebūta.

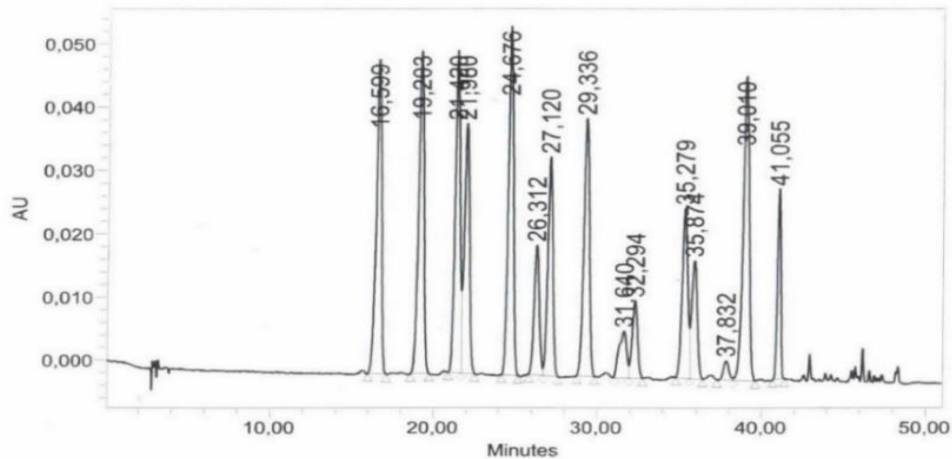
4.8 ESC ANALIZĖS REZULTATAI, ATSIŽVELGIANT Į ANTOCIANINŲ IR KARAGENINŲ KIEKĮ

Bendradarbiaujant su Lietuvos sveikatos mokslų universiteto analizinės ir toksikologijos katedra, efektyviosios skysčių chromatografijos metodu analizuota, kiek veikliosios medžiagos yra vienoje žvakutėje.

10 lentelė. Antocianinų ir karageninų kiekis, aptiktas žvakutėse ESC metodu

Pagrindas	Antocianinų kiekis mg%	Karageninų kiekis mg%
1. 90:10 „witepsol H-15” ir „ghi” sviestas	$22,75 \pm 0,22$	$11,2 \pm 0,22$
2. 80:20 „witepsol H-15” ir „ghi” sviestas	$22,55 \pm 4,77$	$11,15 \pm 4,77$
3. 70:30 „witepsol H-15” ir „ghi” sviestas	$23,06 \pm 0,63$	$32,65 \pm 0,63$
4. Kakavos sviestas ir „ghi” sviestas	$22,45 \pm 1,45$	$11,1 \pm 1,45$
5. „Witepsol H-15” ir „ghi” sviestas	$20,05 \pm 0,49$	$9,9 \pm 0,49$

Pagal 10 lentelėje pateiktus duomenis didžiausias antocianinų ir karageninų kiekis nusatytas žvakutėje, kurios pagrindą sudaro „witepsol H-15“ ir „ghi“ sviestas (70:30). Antocianinų-karageninų komplekso kiekis priklauso ir nuo technologinių gamybos stadijų, kurių metu galimi nuostoliai.



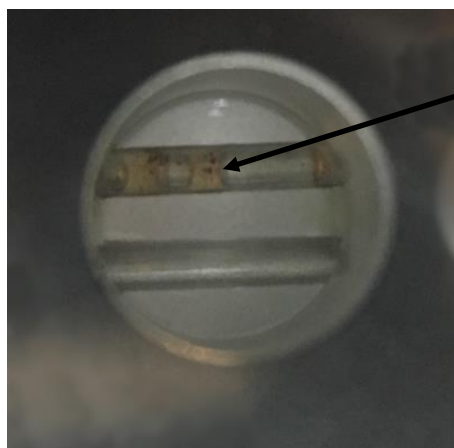
13pav. Chromatograma, atlikus žvakučių analizę efektyviosios skysčių chromatografijos metodu.

Iš pateiktos chromatogramos (13pav.) matyti, kad didžiausi antocianinų kiekiai antocianinų-karageninų komplekse yra : delfinidino 3-O-galaktozidas, delfinidino 3-O-gliukozidas, cianidino 3-O-galaktozidas, delfinidino 3-O-arabinozidas, cianidino 3-O-glukozidas, Petunidino 3-O-galaktozidas, cianidino 3-O-arabinozidas, petunidino 3-O-glukozidas, peonidino 3-O-galaktozidas, petunidino 3-O-arabinozidas, peonidino 3-O-glukozidas, malvidino 3-O-galaktozidas, peonidino 3-O-arabinozidas, malvidino 3-O-glukozidas.

4.9 ŽVAKUČIŲ LYDYMOSI TEMPERATŪROS NUSTATYMAS

Prietaisu „Stuart SMP10“ nustatyta žvakučių lydymosi temperatūra. Išlydytos žvakutės masė talpinama į kapiliarą, atvėsinama ir įdedama į aparatą. Tolygiai didėjant temperatūrai, padidinto vaizdo stebėjimo angos pagalba stebime, kada žvakutė pradeda lydėtis (11 pav.).

Rezultatai rodo, kad antocianinų/karageninų komplekso įterpimas į žvakutę lydymosi temperatūrai įtakos neturi ($p > 0,05$). Kuo didesnis kiekis ghi sviesto žvakutėje, tuo lydymosi temperatūra mažesnė – kinta tolygiai (žr.9 lentelę).



Žvakutės masė
stikliniame kapiliare

14 pav. Vaizdas pro mikroskopą.

11 lentelė. Žvakučių pagrindų sudėtys ir lydymosi temperatūra

Pagrindas	Su antocianinų/karageninų kompleksu	Be antocianinų/karageninų komplekso
„Witepsol H-15” ir „ghi” sviestas santykiu 90:10	37±2°C	37±2°C
„Witepsol H-15” ir „ghi” sviestas santykiu 80:20	36±2°C	36±2°C
„Witepsol H-15” ir „ghi” sviestas santykiu 70:30	35±2°C	35±2°C
„Witepsol H-15”	37±2°C	37±2°C
Kakavos sviestas	37±2°C	37±2°C

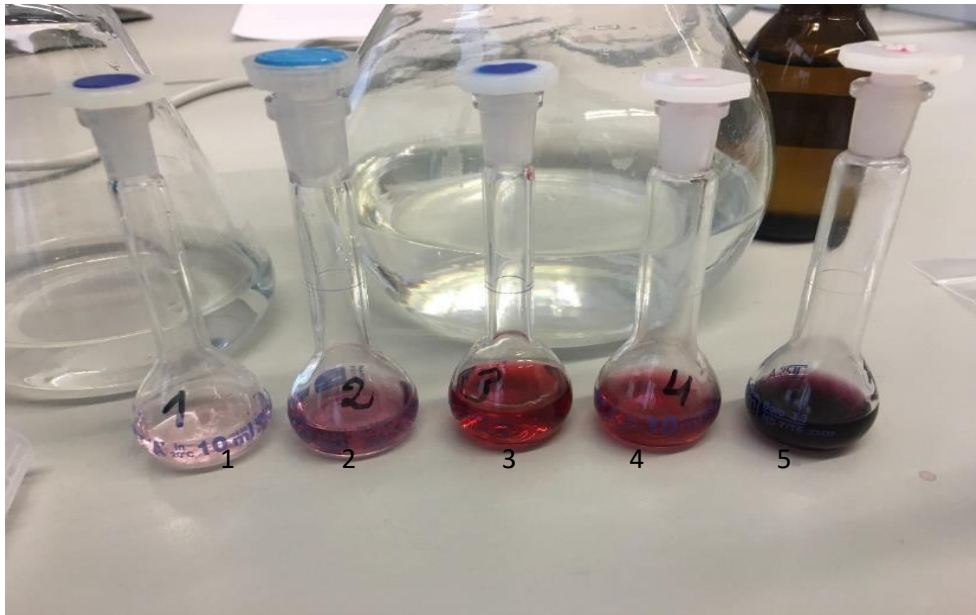
4.10 TIRPIMO TESTAS KREPŠELINIŲ PRIETAISU

Tirpimo testu siekiama išsiaiškinti, kiek veikliosios medžiagos atpalaiduojama per tam tikrą laiką organizmo terpėje (pH=7,2). Į žvakutę įterpta 0,333g antocianinų/karageninų komplekso.



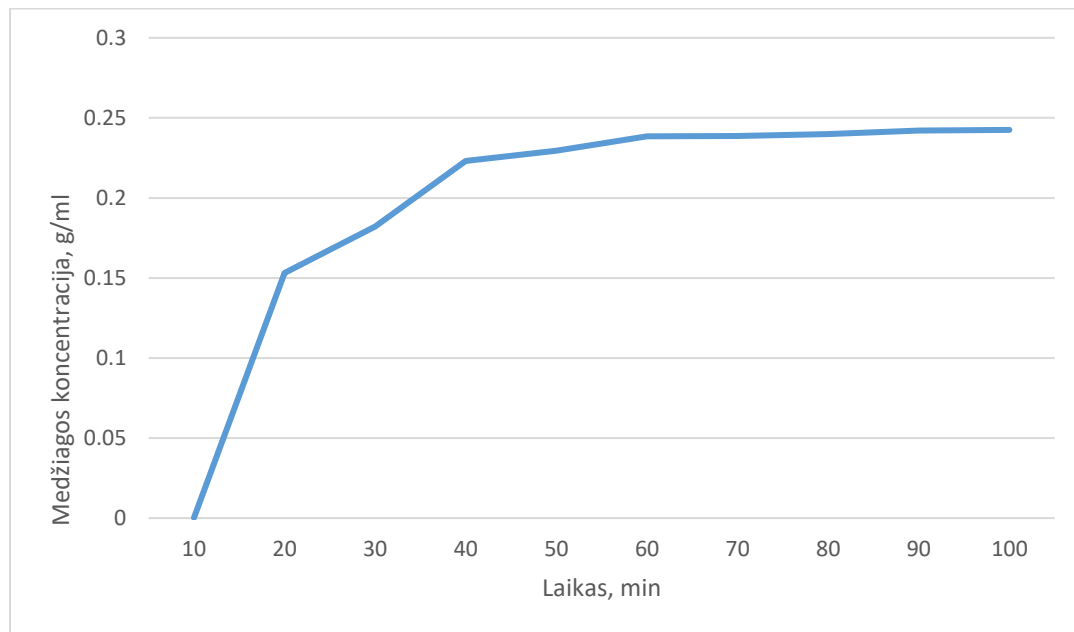
15pav. Žvakutės, paruoštos tirpimo testui.

Mėginiai imami kas 10 minučių. Paimtas mėginys filtruojamas membraniniu filtru ir parūgštinamas 0,001ml 10% HCl – pH 2, kadangi antocianinų/karageninų kompleksas šarminėje terpėje greitai skyla. Paimti 5 mėginiai po 5ml analizuojami efetyviosios skysčių chromatografijos metodu.



16pav. Mėginiai, paruošti ESC analizei. 1 mėginys paimtas po 10min., 2- po 20min., 3- po 30 min., 4-po 40 min., 5-po 50min. Visi mėginiai parūgštinti 0,001ml 10 proc. HCl rūgštimi.

Gautos chromatogramos parodė, kiek antocianinų atsipalaidavo iš žvakutės per tam tikrą laiką. Analizuojami ryškiausi pikai: delfinidino-3- O galaktozidas, delfinidino 3-O gliukozidas, cianidino 3-O galaktozidas, delfinidino 3- O arabinozidas, cianidino 3-O gliukozidas. Pagal gautus rezultatus apskaičiuojama atpalaiduotos medžiagos priklausomybė nuo laiko. Žvakutėse buvo įterpta 0,333 g antocianinų/karageninų komplekso. Per 60min. turi atsipalaiduoti ne mažiau 70proc. veikliosios medžiagos.



17pav. Antocianinų/karageninų komplekso atpalaidavimo priklausomybė nuo laiko.

Iš grafiko galime matyti, kad tam tikrą laiką veikliosios medžiagos kiekis tirpale didėjo, o vėliau nekito. Nuo 60 minutės kreivė beveik nekinta, iki 60min. atsipalaidavo 73,05 proc. veikliosios medžiagos.

5. IŠVADOS

1. Dažniausiai naudojami žvakučių pagrindai: kakavos sviestas ir „witepsol H-15“. Remiantis literatūra, žvakučių gamybai parinktas inovatyvus pagrindas „ghi“ sviestas. Atlikti tyrimai parodė, kad ne daugiau 30 proc. „ghi“ sviesto įterpimas į žvakutę nekeičia antocianinų/karageninų komplekso stabilumo, o tik gerina kokybės parametrus (tekstūrą, lydymosi temperatūrą, suirimo laiką).
2. Nustatyta, kad presavimo būdu pagamintos žvakutės taisyklingos formos ir atitinka kokybės reikalavimus. Liejimo būdu pagamintose žvakutėse veiklioji medžiaga antocianinų/karageninų kompleksas tolygiai nepasiskirsto, o nusėda. Ritinimo būdu pagamintos žvakutės yra netaisyklingos formos, todėl tyrimams buvo naudojamos žvakutės, pagamintos presavimo būdu. Tokias žvakutes patogu naudoti.
3. Tekstūros analizės tyrimas parodė, kad kakavos sviesto ir „witepsol H-15“ pagrindais pagamintos žvakutės yra iki 20 proc. kietesnės nei žvakutės, kuriose įterptas „ghi“ sviestas ($p < 0,05$). Tirpimo testas parodė, kad „ghi“ sviestas greitina žvakutės suirimą. Atliekant tirpimo testą ir gautus mėginius išanalizavus efektyviosios skysčių chromatografijos metodu nustatyta, kad atsipalaidavo 73,05 proc. antocianinų/karageninų komplekso. „Ghi“ sviesto įterpimas mažina žvakutės lydymosi temperatūrą. Visi šie kokybės parametrai greitina veikliosios medžiagos atpalaidavimą bei pasisavinimą.
4. Žvakutės, kuriose įterptas antocianinų/karageninų kompleksas yra mėlynos spalvos, lygiu paviršiumi, bekvapės, vienodo dydžio. Kiekvienos žvakutės masė nesiskyrė nuo vidutinės masės ± 5 proc, šios žvakutės gali būti naudojamos tolimesniems tyrimams *in vitro* ir *in vivo*.

6. PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS

Kadangi antocianinų/karageninų kompleksas yra nauja medžiaga, siekiant įvertinti šios veikliosios medžiagos savybes kuo didesniu patikimimu siūloma pratęsti tyrimus.

Žvakutes galima gaminti įvairių formų ir iš įvairių inovatyvių pagrindų, įterpiančias vis kitas pagalbines medžiagas. Svarbu tinkamai įvertinti parametrus, darančius įtaką tiek antocianinų/karageninų komplekso, tiek žvakučių kokybei.

7. LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Antonio J. León-González¹, Tanveer Sharif¹, Cyril Auger, Malak Abbas, Guy Fuhrmann, Valérie B. Schini-Kerth; Anthocyanin-rich bilberry extract induces apoptosis in acute lymphoblastic leukemia cells via redox-sensitive epigenetic modifications; *Journal of Functional foods* 44 (2018) Pages 227-234;
2. Bankole Victor O. and Oladimeji Francis A. Evaluation of the Kinetics and Mechanism of Piroxicam Release from Lipophilic and Hydrophilic Suppository Bases; *International Journal of ChemTech Research* Vol.10 No.1 pp 189-198, 2017;
3. Benvenuti Stefania, Brighenti Virginia, Pellati Federica; High-performance liquid chromatography for the analytical characterization of anthocyanins in *Vaccinium myrtillus* L. (bilberry) fruit and food products; 24 January 2018
4. Briaukienė B, Daunoras G, Gendrolis A, Grincevičius J ir kt. Farmakopėjos straipsnių rinkinys 2002. VVKT prie LR SAM. Kaunas; 2002. p.122-132, 298-300.
5. Campo Vanessa Leiria, Daniel Fábio Kawano, Dílson Braz da Silva Jr., Ivone Carvalh; Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis; *Carbohydrate Polymers* Volume 77 (2009) Pages 167–180;
6. Chatterjee A., Mohan S., HM Varshney, M Jaimini, and SK Sharma; Formulation and In Vitro Characterization of Zaltoprofen Suppositories Using Bases and Different Concentration of Plasticizer; *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*; Pages 360-361; 2014
7. Chalakanti Suryakumari*, A. Anusha, P. Anitha, D. Ravindra Formulation and evaluation of cow ghee as a base fast and sustained release chloroquine phosphate suppositories; *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*; Volume 3 26 May 2014, Issue 6, 1493-1509
8. Dalia Ghorab, Hanan Refai*, Randa Tag; Preparation and evaluation of fenoterol hydrobromide suppositories; *Drug Discoveries & Therapeutics*. 2011; 5(6):311-318
9. European pharmacopoeia -8th edition; published 15 July 2013; replaces the 7th Edition on 1 January 2014
10. Hargoli S.,¹ J. Farid, S. H. Azarmi, S. Ghanbarzadeh,² and P. Zakeri-Milani^{3,*}; Preparation and *In vitro* Evaluation of Naproxen Suppositories; 2013 Mar-Apr; 75(2): 143–148

11. Hernández-Bernal Francisco, Georgina Castellanos-Sierra, Carmen M Valenzuela-Silva, Karem M Catasús-Álvarez, Roselin Valle-Cabrera, Ana Aguilera-Barreto, Pedro A López-Saura, and the THERESA-3 Group of Investigators; Recombinant streptokinase vs phenylephrine-based suppositories in acute hemorrhoids, randomized, controlled trial (THERESA-3); 2014 Feb 14; 20(6): 1594–1601.
12. Gold M, Nepuri M, Lawrence H. Suppository development and production. In: Liberman HA, Riger MM, Banker GS, editors. Pharmaceutical dosage forms: Disperse system. 2nd ed. Vol. 2; 1996
13. Heyam Saad Ali, 2Dr. Gazala Afreen Khan and 3Dr. Babiker MA El-Haj; Factors influencing rectal drug delivery using natural terpenes; European journal of pharmaceutical and medical research; 2016,3(5), 27-35;
14. Yarnykh T. G., E. V. Tolochko, and V. N. Chushenko Drug synthesis methods and manufacturing technology; Studying an assortment of suppository bases (review); Translated from Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal, Vol. 44, No. 10, pp. 21 – 26, October, 2010
15. Jian He and M. Monica Giusti; Anthocyanins: Natural Colorants with Health-Promoting Properties; Annual Review of Food Science and Technology; Vol. 1:163-187 (Volume publication date April 2010)
16. Jin-MingKong^a, Lian-SaiChia^a, Ngoh-KhangGoh^a, Tet-FattChia^a, R.Brouillard Analysis and biological activities of anthocyanins; Phytochemistry, Volume 69, Issue 9, June 2008, Pages 1939-1940
17. Kaidar-Person O, Person B, Wexner SD. Hemorrhoidal disease: A comprehensive review. J Am Coll Surg. 2007; 102–117
18. Kalmara Eva, Jason Richard Lasher, Thomas Dean Tarry, Andrea Myers, Gerda Szakonyi a, Gyorgy Dombi, Gabriella Baki, Kenneth S. Alexander; Dosage uniformity problems which occur due to technological errors in extemporaneously prepared suppositories in hospitals and pharmacies; Received 5 June 2013; accepted 29 July 2013
19. Lakshmi Prasanna J.*, Deepthi B., Rama Rao N; Rectal drug delivery: A promising route for enhancing drug absorption; Asian J. Res. Pharm. Sci. 2012; Vol. 2: Issue 4, Pages 143-149

20. Loyd V. Allen Jr Art, Science, and Technology of Pharmaceutical Compounding; Published April 1st. 2008 by American Pharmacists Association (APhA); Pages 169-179
21. Mary Ann Lila Anthocyanins and Human Health: An In Vitro Investigative Approach; J Biomed Biotechnol. 2004 Dec 1; 2004(5): 306–313
22. Melgardt de Villiers; Suppository Bases; 14 July 2017
23. Navikaite V., Deimante Simanaviciute, Rima Klimaviciute, Valdas Jakstas, Liudas Ivanauskas Interaction between κ - and ι - carrageenan and anthocyanins from *Vaccinium myrtillus*; Received 28 January 2016
24. Noordin M. I. and L. Y. Chung Thermostability and polymorphism of theobroma oil and palm kernel oil as suppository bases; Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, Vol. 95 (2009) 3, 891–894
25. Ramya Devi D. *, K. Malarvizhi, M. Abinaya and B.N. Vedha Hari Innovation of natural product as suppository base; Available from: Dr. BN Vedha Hari, May 25, 2016
26. Saleem M. A.,* M. Taher, S. Sanaullah, M. Najmuddin, Javed Ali,¹ S. Humaira, and S. Roshan; Formulation and Evaluation of Tramadol hydrochloride Rectal Suppositories; European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 64 (2006) 393
27. Shirzad Azarmi, Wilson Roa, Raimar Löbenberg Current perspectives in dissolution testing of conventional and novel dosage forms; International Journal of Pharmaceutics; Volume 328, Issue 1, 2 January 2007, Pages 12–21
28. Savickas A, Drakšienė G, Briedis V, Velžienė S, Klimas R. Pramoninės vaistų technologijos praktikos darbai. Kaunas: LSMU Leidybos namai; 2012. p.55-57.
29. Savickas A, Briedis V, Švambaris L, Drakšienė G, Klimas R, Ramanauskienė K, Inkėnienė A.M. Vaistų technologija. Penktas tomas. Kaunas: KMU leidykla; 2008.p. 9-16.
30. Soichi Itoh, Naomi Teraoka, Toshio Matsuda, Kousuke Okamoto, Tatsuya Takagi, Charles Oo, H. Danny Kao; Reciprocating dialysis tube method: Periodic tapping improved in vitro release/dissolution testing of suppositories; 28 June 2006
31. Suresh G. Sudke¹ *, S. Singh¹, N. S. Bhajipale; Design of Curcumin Suppositories for Effective Treatment of Vaginal Candidiasis using Cow Ghee as a Suppository Base; Asian Journal of Pharmaceutics; Oct-Dec 2017

32. Varshney Himanshu M. Tanwar Y.S; Effect of different surfactants on the release pattern of cocoa butter suppositories containing Flubiprofen sodium; *Acta Pharmaceutica Scientia* 52: 129-136 2010;
33. World Health Organization The international pharmacopeia; Tests and general requirements for dosage forms; Quality specifications for pharmaceutical substances and dosage forms; 2003 Vol. 5, Pages 11-14

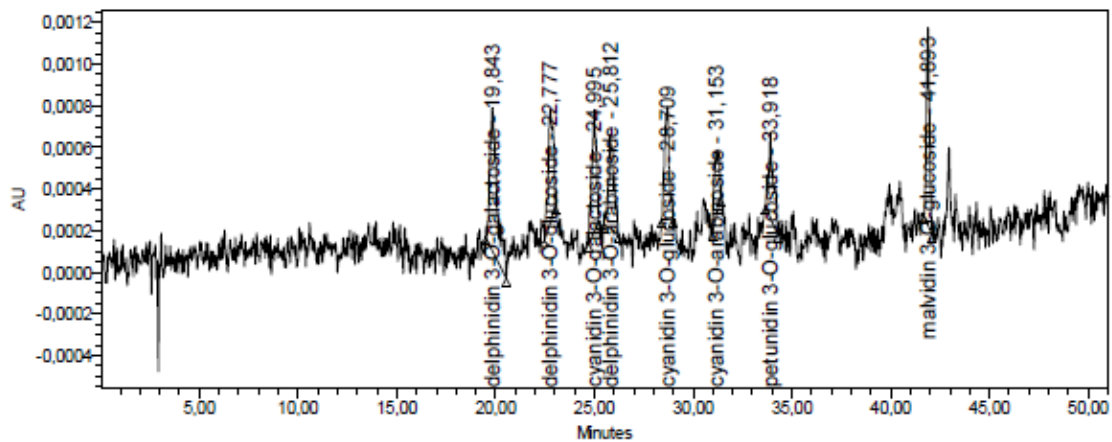
8. PRIEDAI



Multi Sample Summary

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	1 su rugstinimu 20mkl	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	Melynes
Vial:	41	Acq. Method Set:	European Pharmacopoeia
Injection #:	1	Processing Method:	535 Bilberry Cal
Injection Volume:	20,00 ul	Channel Name:	535
Run Time:	51,0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	PDA 535,0 nm
Date Acquired:	2018.02.01 23:17:38 EET		
Date Processed:	2018.02.06 11:51:16 EET		



	Peak Name	RT	Area
1	delphinidin 3-O-galactoside	19,843	17415
2	delphinidin 3-O-glucoside	22,777	10042
3	cyanidin 3-O-galactoside	24,995	9486
4	delphinidin 3-O-arabinoside	25,812	8625
5	cyanidin 3-O-glucoside	28,709	8792
6	petunidin 3-O-galactoside	28,751	
7	cyanidin 3-O-arabinoside	31,153	5046
8	delphinidin	33,799	
9	petunidin 3-O-glucoside	33,918	6988
10	peonidin 3-O-galactoside	34,694	
11	petunidin 3-O-arabinoside	35,721	
12	peonidin 3-O-glucoside	38,543	

Reported by User: System
 Report Method: Multi Sample Summary
 Report Method ID 5198
 Page: 1 of 12

Project Name: Melynes
 Date Printed:
 2018.02.06
 13:22:42 Europe/Vilnius