

# Kontrola oblika kristala u postupku šaržne kristalizacije

---

Ždrakić, Marija

Master's thesis / Diplomski rad

2017

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:137345>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-18**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

**Marija Ždrakić**

# **DIPLOMSKI RAD**

Zagreb, srpanj 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

**Marija Ždrakić**

**KONTROLA OBLIKA KRISTALA U POSTUPKU ŠARŽNE  
KRISTALIZACIJE**

**DIPLOMSKI RAD**

Voditelj rada: prof.dr.sc. Jasna Prlić Kardum

Članovi ispitnog povjerenstva: prof.dr.sc. Jasna Prlić Kardum

prof.dr.sc. Aleksandra Sander

dr.sc. Lidija Furač, v.pred.

Zagreb, srpanj 2017.

*Ovaj rad izrađen je na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilišta u Zagrebu,  
Zavod za mehaničko i toplinsko procesno inženjerstvo pod vodstvom mentorice , prof. dr. sc.  
Jasne Prlić Kardum, akademske godine 2016. / 2017.*

### *Zahvala*

*Zahvaljujem se mentorici prof.dr.sc. Jasni Prlić Kardum na potpori i strpljenju, te brojnim savjetima i ugodnoj radnoj atmosferi prilikom izrade diplomskog rada.*

*Zahvaljujem se mag.ing.cheming. Anamariji Mitar kao i svim ostalim djelatnicima Zavoda za mehaničko i toplinsko procesno inženjerstvo na pomoći i pozitivnoj radnoj atmosferi.*

*Hvala djelatnicima Plive d.o.o. na pomoći prilikom izrade diplomskog rada.*

*Također, zahvaljujem obitelji i prijateljima na podršci tijekom trajanja studija.*

## SAŽETAK

Kristalizacija kao jedan od važnijih procesa farmaceutske industrije podliježe razvitku novih tehnika u dizajnu čestica. Kao jedno od područja aktivnog istraživanja farmaceutske industrije pojavila se sferična kristalizacija zbog činjenice da omogućuje istovremenu aglomeraciju kristala i kristalizaciju.

U ovom radu, u okviru šaržne kristalizacije, istraživao je utjecaj sustava (otapalo, antiotapalo, sredstvo za premošćivanje) na granulometrijska svojstva (veličinu i oblik) i strukturu nastalih kristala dronedaron-hidroklorida koji je aktivna komponenta lijeka za liječenje srčane aritmije. Odabirom pogodnog sustava pokušao se provesti postupak sferične kristalizacije.

Nakon određivanja krivulja topljivosti provedena je kristalizacija za dva različita sustava koji su utjecali na veličinu i oblik kristala, ali ne i na strukturu.

Nakon završetka procesa, oblik kristala praćen je svjetlosnim i stereo mikroskopom, dok je brzina otpuštanja dronedaron-hidroklorida praćena uređajem *Dissolution tester RC-6D*.

**Ključne riječi:** kristalizacija, dronedaron-hidroklorid, granulometrijska svojstva, sferična kristalizacija

## SUMMARY

In the pharmaceutical industry, the process of crystallization as one of the most important process, is subject of development of new techniques in particle design. Spherical crystallization has emerged as one of the areas of active research in the pharmaceutical industry. Spherical crystallization is a particle design technique, by which crystallization and agglomeration can be carried out simultaneously in one step.

In this study, through the batch crystallization process, the effect of the system (solvent, anti-solvent, bridging liquid) on the granulometric properties (size and form) and the structure of formed dronedarone-hydrochloride crystals, which is an active component of the drug for the treatment of cardiac arrhythmia, was investigated. After the selection a suitable system, the spherical crystallization process is carried out.

Solubility of the salt has also been determined and the crystallization for two different systems was performed. It was found that the addition of different solvents affects the shape and the crystal size distribution, but not crystals structure.

The shape of crystals was monitored with light and stereo microscope and the rate of release of dronedarone-hydrochloride was determined by the *Dissolution tester RC-6D*.

**Keywords:** crystallization, dronedarone-hydrochloride, granulometric properties, spherical crystallization

## SADRŽAJ

|   |    |
|---|----|
| 1. UVOD .....   | 1  |
| 2. OPĆI DIO .....   | 3  |
| 2.1. KRISTALIZACIJA.....  | 3  |
| 2.1.1. Načini provedbe kristalizacije.....                          | 3  |
| 2.2. TERMODINAMIKA PROCESA .....                                    | 4  |
| 2.2.1. Topljivost.....  | 4  |
| 2.2.2. Prezasićenost.....   | 5  |
| 2.2.3. Širina metastabilne zone .....                               | 6  |
| 2.3. NUKLEACIJA I RAST KRISTALA.....                                | 6  |
| 2.4. IZBOR OTAPALA.....   | 7  |
| 2.5. ŠARŽNA KRISTALIZACIJA .....                                    | 8  |
| 2.5.1. Kristalizacija hlađenjem .....                               | 9  |
| 2.5.2. Kristalizacija dodatkom pomoćnih komponenti .....            | 10 |
| 2.6. SFERIČNA KRISTALIZACIJA .....                                  | 11 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO .....  | 14 |
| 3.1. ZADATAK .....  | 14 |
| 3.2. MATERIJAL .....  | 14 |
| 3.2.1. Dronedaron-hidroklorid .....                                 | 14 |
| 3.2.2. Otapalo .....  | 16 |
| 3.2.3. Sredstvo za premošćivanje.....                               | 17 |
| 3.3. UREĐAJI .....  | 18 |
| 3.3.1. Uređaji za provedbu kristalizacije.....                      | 18 |
| 3.3.2. Određivanje topljivosti soli u različitim otapalima .....    | 19 |
| 3.3.3. Uređaji za karakterizaciju produkta.....                     | 20 |
| 3.3.4. Ispitivanje brzine otpuštanja dronedaron-hidroklorida.....   | 21 |
| 3.4. PROVEDBA KRISTALIZACIJE U RAZLIČITIM SUSTAVIMA.....            | 24 |
| 4. REZULTATI .....  | 26 |
| 4.1. TOPLJIVOST DRONEDARON-HIDROKLORIDA U POJEDINIM OTAPALIMA ..... | 26 |
| 4.2. ODREĐIVANJE ŠIRINE METASTABILNE ZONE.....                      | 27 |
| 4.3. ODABRANI SUSTAVI.....  | 30 |
| 4.3.1. Ternarni dijagrami.....                                      | 30 |
| 4.3.2. Granulometrijska svojstva kristala .....                     | 33 |



|   |    |
|---|----|
| <b>4.4. REZULTATI XRD ANALIZE</b> .....                     | 36 |
| <b>4.5. BRZINA OTPUŠTANJA DRONEDARON-HIDROKLORIDA</b> ..... | 37 |
| <b>5. RASPRAVA</b> .....                                    | 38 |
| <b>6. ZAKLJUČAK</b> .....                                   | 41 |
| <b>7. POPIS SIMBOLA</b> .....                               | 42 |
| <b>8. LITERATURA</b> .....                                  | 43 |
| <b>9. PRILOZI</b> .....                                     | 46 |
| <b>Prilog 1.</b> .....                                      | 46 |
| <b>Prilog 2.</b> .....                                      | 52 |
| <b>ŽIVOTOPIS</b> .....                                      | 55 |

## 1.UVOD

Kristalizacija je toplinsko-separacijski proces najčešće primjenjivan u farmaceutskoj, kemijskoj i prehrambenoj industriji. Kao jedan od najvažnijih procesa u farmaceutskoj industriji može se provesti iz otopine, taline i plinske faze. Koristi se kao metoda proizvodnje, pročišćavanja ili obnavljanja čvrstih materijala, dok povoljni procesni uvjeti utječu na sam oblik kristala.

U konvencionalnim procesima kristalizacije karakteristična je međuovisnost fizikalnih procesa, te istovremeno odvijanje više procesa (nukleacija i rast kristala) što otežava dizajn i optimiranje postupka. Jedan od težih aspekata projektiranja i upravljanja procesom kristalizacije je kontrola kvalitete kristala.<sup>10</sup>

Većina djelatnih tvari se proizvode u kristalnom obliku kako bi se održala kemijska stabilnost tijekom transporta, pakiranja, skladištenja. Djelatne tvari podliježu intenzivnim energetskim operacijama (usitnjavanje, prosijavanje, miješanje i granuliranje) prije završnog procesa tabletiranja.<sup>1</sup>

Neki od ovih procesa su energetski neučinkoviti, mogu kontaminirati produkt, povećati vrijeme trajanja procesa i potrošnju energije, te uzrokovati promjenu u polimorfnim oblicima. Danas, farmaceutska industrija unapređuje proces proizvodnje, te je tako razvijena nova metoda u proizvodnji tableta, tzv. direktno tabletiranje za koji se koriste sferični aglomerati kristala.

Metoda izravne aglomeracije kristalnih čestica u sferične aglomerate naziva se sferična kristalizacija. To je postupak kristalizacije gdje se aglomeracija kristala namjerno inducira dodatkom sredstva za premošćivanje.<sup>2</sup>

Tako nastali aglomerati imaju poboljšana fizikalno-kemijska svojstva, bolju kemijsku stabilnost, bioraspodjelivost, sipkost i mogu se podvrgnuti direktnom tabletiranju. Parametri koju utječu ne samo na produktivnost, već i na morfologiju, raspodjelu veličina čestica i čvrstoću proizvoda su sustav otapala, količina sredstva za premošćivanje, miješanje, temperatura, koncentracija tvari.<sup>2</sup>

U ovom radu napravljen je odabir sustava (otapalo, antiotapalo i sredstvo za premošćivanje), te način provedbe procesa kristalizacije. Promjenom sustava otapala, sredstva za

premošćivanje te brzine okretaja miješala i korištenja razbijala unutar kristalizatora pratio se utjecaj na oblik nastalih kristala dronedaron-hidroklorida koji je aktivna komponenta lijeka za liječenje srčane aritmije.

## 2. OPĆI DIO

### 2.1. KRISTALIZACIJA

Kristalizacija spada u najvažnije procese u kemijskoj industriji. To je toplinski separacijski proces koji rezultira nastajanjem nove, čvrste faze. Do fazne promjene dolazi kristalizacijom iz otopine, taline i plinske faze.<sup>3</sup> Kristalizacija se sastoji od formiranja čvrste disperzne faze u kontinuiranom mediju koji je uglavnom tekuća faza u industrijskim sustavima. Formiranje čvrste faze sastoji se od dva koraka: pojave prijelaznih struktura između čvrste i tekuće faze i rast tih struktura u čvrste čestice, kristale. Pokretačka sila procesa kristalizacije je razlika koncentracija koja se naziva prezasićenost. Ona se može generirati u sustavu na primjer hlađenjem, isparavanjem otapala, dodatkom antiotapala ili uz kemijsku reakciju, dodatak aditiva uz isoljavanje ili precipitaciju.<sup>4</sup>

Kemijski aspekti, kao što su topljivost i polimorfizam, igraju ključnu ulogu u početnom dizajnu procesa kristalizacije. Postizanje željene kristalne morfologije jedan je od glavnih ciljeva dizajna procesa kristalizacije.<sup>5</sup>

#### 2.1.1. Načini provedbe kristalizacije

Kristalizacija se može provesti iz taline, otopine i plinske faze.

*Kristalizacija iz taline:* talina se sastoji od dvije ili više komponenti različitih temperatura tališta. Hlađenjem taline dolazi do parcijalnog nastajanja kristala drugačijeg sastava od početne taline. Komponenta s većom temperaturom tališta obogaćuje se kristalima, a separacija kristala i taline je djelomična. Potpuna separacija nastaje višestupnjevitom kristalizacijom u sustavima s potpunim miješanjem komponenti te sustavima u kojima nastaju miješani kristali.<sup>3</sup>

*Kristalizacija iz otopine:* potrebna pokretačka sila kod kristalizacije iz otopine može se osigurati bez i sa pomoćnom komponentom. Ukoliko se provodi bez pomoćne komponente, prezasićenost se osigurava isparavanjem otapala, hlađenjem otopine ili zaleđivanjem otapala. Način na koji se kristalizacija provodi utječe na granulometrijska svojstva kristala.<sup>3</sup>

*Kristalizacija iz plinske faze:* kristalizacija iz plinske faze provodi se odvođenjem topline iz sustava pri čemu se komponenta koja desublimira direktno prevodi u kristale. Proces separacije je parcijalan jer preostala plinska smjesa sadrži određenu količinu desublimacijske tvari. Separacija smjese može se poboljšati višestupnjevitim protustrujnim procesom.<sup>3</sup>

## 2.2. TERMODINAMIKA PROCESA

Proces kristalizacije uglavnom je baziran na termodinamičkom ponašanju sustava. Čimbenici koji definiraju termodinamiku procesa su prezasićenost, topljivost i metastabilna zona. Polazna točka kristalizacije je topljivost dok je sljedeći korak metastabilna svojstva.<sup>5</sup>

### 2.2.1. Topljivost

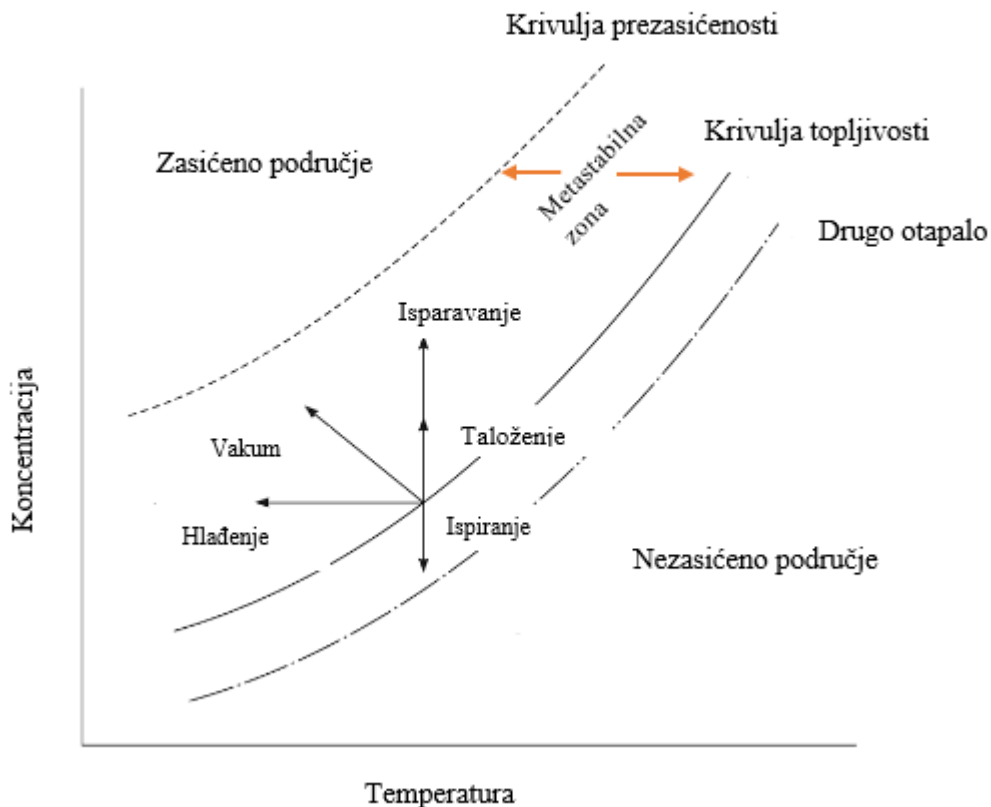
Topljivost je maksimalna koncentracija koja može postojati u ravnoteži u određenim uvjetima i često se povećava s povećanjem temperature otopine.<sup>5</sup> Na *slici 1.* prikazana je tipična krivulja topljivosti koja određuje način kristalizacije. Općenito, eksperimentalno određivanje topljivosti lijekova u različitim organskim otapalima zahtijeva veliku količinu otopljene tvari, te je obično dugotrajan postupak. Stoga se preferira predviđanje topljivosti za kristalizacijski model kako bi bili precizniji u predviđanju svojstva konačnog produkta.<sup>5</sup>

Iz faznog ravnotežnog dijagrama (*slika 1.*) vidimo uvjete pri kojima može doći do kristalizacije i koji način provedbe procesa bi bio pogodniji za konačne produkte. Dijagram se može podijeliti u tri područja; nezasićeno područje, metastabilnu zonu i prezasićeno područje.<sup>6</sup>

Nezasićeno područje: prisutni kristali će se otopiti,

Metastabilna zona: rast kristala,

Prezasićeno područje: dolazi do spontane nukleacije.



*Slika 1.* Fazni ravnotežni dijagram

### 2.2.2. Prezasićenost

Pokretačka sila procesa kristalizacije je prezasićenost. To je otopina koja sadrži veću količinu otopljene tvari nego što to odgovara topljivosti te tvari na danoj temperaturi, te stoga nije stabilna. Prezasićenost možemo postići hlađenjem otopine, isparavanjem otapala, kemijskom reakcijom, isoljavanjem, adijabatskim isparavanjem, vakuum kristalizacijom, elektrokemijskom reakcijom, dodatkom manje djelotvornog otapala, cijepljenjem. Najčešći način postizanja prezasićene otopine je kristalizacija hlađenjem, gdje se prezasićenost stvara snižavanjem temperature. Brzina hlađenja u početku, dok je velika razlika u temperaturi između otopine i okoline, biti će veća, dok će na kraju procesa biti manja. Daljnjim hlađenjem ulazi se u metastabilnu zonu gdje može doći do nukleacije.<sup>7,8</sup>

### 2.2.3. Širina metastabilne zone

Širina metastabilne zone definira se kao razlika između koncentracije otopine i koncentracije zasićenosti ili kao razlika između temperature otopine i temperature pri kojoj u kratkom vremenu može doći do spontane nukleacije. Važan je parametar koji utječe na veličinu, raspodjelu i oblik kristala. Na širinu metastabilne zone utječu: prisutnost nečistoća, brzina hlađenja, brzina miješanja, temperatura, toplinsko tretiranje otopine i geometrija reaktora.<sup>5</sup>

Povećanje temperature, prisutnost nečistoća i mehanički utjecaji (miješanje, ultrazvučno djelovanje itd.) smanjit će širinu metastabilne zone. Velika brzina hlađenja, te održavanjem na temperaturi višoj od temperature zasićenosti održava metastabilnu zonu širom.

## 2.3. NUKLEACIJA I RAST KRISTALA

U procesu kristalizacije dva bitna koraka su nukleacija i rast kristala. Nukleacija se može provoditi različitim mehanizmima, pa tako može biti primarna i sekundarna. Primarna nukleacija je kada je neovisna o prisutnosti kristala u otopini, a sekundarna se javlja kao rezultat prisutnosti kristala u otopini.<sup>4</sup>

Primarna nukleacija, koja se pojavljuje pri visokoj razini prezasićenosti, je stvaranje jezgri u otopini bez kristala. Kako nastaje kristalna formacija, nove se jezgre često formiraju kombinacijom primarne nukleacije na mjestu punjenja i sekundarne nukleacije. Obično je potrebna velika poticajna sila prezasićenosti za pokretanje nukleacije, te u mnogim slučajevima dovodi do formiranja velikog broja jezgri.<sup>5</sup> Primarna nukleacija se dijeli na homogenu i heterogenu. Kod homogene, nukleacija nastaje spontano i u prezasićenoj otopini, slučajnom orijentacijom molekula ili iona nastaju nukleusi. Heterogena nukleacija je inicirana prisustvom nečistoća i do heterogene nukleacije će doći pri nižem stupnju prezasićenosti.<sup>9,10</sup>

Sekundarna nukleacija je stvaranje novih kristala u prisutnosti postojećih kristala. Uglavnom je uzrokovana micanjem makroskopskih kristala i nije usko povezana s omjerom prezasićenosti. Dolazi do formiranja nukleusa pri nižim razinama prezasićenosti nego kod primarne nukleacije.<sup>10</sup>

Sljedeći korak u procesu kristalizacije je rast kristala.

Brzina rasta kristala može se izraziti kao linearna brzina povećanja dimenzija ili kao brzina taloženja. Ako je poznata brzina rasta kristala može se predvidjeti vrijeme trajanja procesa, te veličina kristalizatora. Također neki eksperimenti pokazuju da je kristalni rast brojnih tvari u funkciji veličine kristala na takav način da veliki kristali rastu brže od malih.<sup>11</sup>

Rast kristala se odvija adsorpcijom otopljenih molekula na njihovu površinu u prezasićenoj otopini. Brzina rasta kristala ovisi o temperaturi, tlaku, svojstvima otopine i kristalizirane tvari, stupnju prezasićenosti te prisutnosti pomoćnih komponenti (cjepivo, aditivi, antiotapalo).<sup>12</sup>

Rast kristala je rezultat niza procesa koji se zbivaju na određenoj udaljenosti od površine, ali i na samoj površini kristala te uključuje: prijenos tvari iz otopine do površine kristala, difuzijom, konvekcijom ili kombinacijom dvaju mehanizama; ugradnju materijala u kristalnu rešetku.<sup>12</sup>

## 2.4. IZBOR OTAPALA

Tip i izbor otapala imaju glavnu ulogu u polimorfnoj selektivnosti i morfologiji produkta uglavnom zbog interakcija otapala i solvata na molekularnoj razini.<sup>5</sup>

Izbor otapala za svaku reakciju od presudne je važnosti, te je nekoliko tvrtki uključujući i *Pfizer* objavilo vodič za odabir otapala. Na *slici 2.* prikazana je tablica s popisom odabira otapala koji su razvrstani u tri područja (preporučljivo, upotrebljivo i nepreporučljivo).<sup>13</sup>

Otapalo ima veliki utjecaj na oblik kristala budući da molekule otapala različito utječu na rast kristala. Takav utjecaj povezan je sa selektivnom adsorpcijom molekula otapala na kristale. Postoje dva glavna pristupa objašnjenju utjecaja otapala na rast kristala. Prvi pristup uzima u obzir promjene površinske napetosti zahvaljujući interakcijama između otapala i rastućih kristala. Povećanje površinske napetosti vodi smanjenju rasta kristala i obrnuto. Drugi pristup definiran je proširenom ulogom prisutnih nečistoća, gdje je brzina rasta kristala određena uklanjanjem molekula otapala adsorbiranih na površinu kristala.<sup>19</sup>





## PFIZER - Vodič za odabir otapala

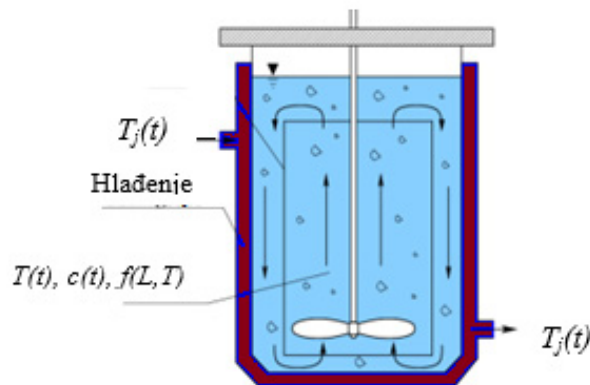
| Preporuča se      | Upotrebljivo                | Nepreporuča se       |
|-------------------|-----------------------------|----------------------|
| Voda              | Cikloheksan                 | Pentan               |
| Aceton            | Heptan                      | Heksan               |
| Etanol            | Toluen                      | Diizopropil eter     |
| 2-propanol        | Metilcikloheksan            | Dietil eter          |
| 1-propanol        | Tercijarni butil metil eter | Diklormetan          |
| Etil-acetat       | Izooktan                    | Dikloretnan          |
| Izopropil-acetat  | Acetonitril                 | Kloroform            |
| Metanol           | 2-MeTHF                     | N-metil-2-pirolidon  |
| Butan-2-on        | Tetrahidrofuran             | Dimetilformamid      |
| <i>n</i> -butanol | Ksilen                      | Piridin              |
| <i>t</i> -butanol | Dimetil sulfoksid           | Dimetilacetamid      |
|                   | Octena kiselina             | 1,4-dioksan          |
|                   | Etilen-glikol               | Dimetoksietan        |
|                   |                             | Benzen               |
|                   |                             | Ugljikov tetraklorid |

*Slika 2.* Pfizer-ov vodič za odabir otapala

## 2.5. ŠARŽNA KRISTALIZACIJA

Šaržna kristalizacija koristi se u različitim industrijama za proizvodnju velikog broja kemikalija, farmaceutskih prašaka i fotografskih materijala, te njome nastaju proizvodi čija su svojstva od primarnog značaja. Šaržna kristalizacija koristi se za nastajanje produkta uže

raspodjele veličine kristala, te koristi jednostavniju i fleksibilniju opremu.<sup>14,15</sup> Glavni nedostatak pri provedbi šaržnog postupka je poteškoća pri održavanju konstante prezasićenosti. Naime, promjena prezasićenosti, odnosno pokretačke sile, utječe na nukleaciju, rast te konačno i na raspodjelu veličina kristala. Laboratorijski šaržni kristalizator (slika 3.) uspješno se koristi za razvoj kinetičkih modela i da bi se odredio utjecaj promjene procesnih parametara na kinetiku kristalizacije i aproksimaciju za industrijsku primjenu.<sup>16</sup>



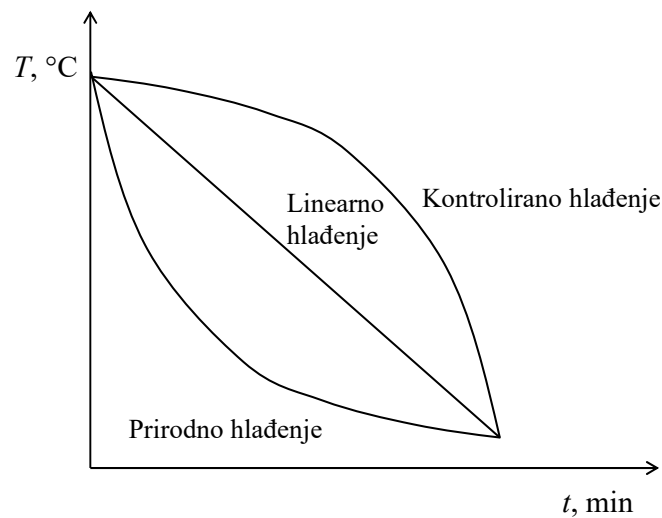
**Slika 3.** Šaržni kristalizator s duplom stjenkom

### 2.5.1. Kristalizacija hlađenjem

Kristalizacija hlađenjem uobičajeno se primjenjuje za otopine u kojima topljivost jako ovisi o temperaturi. Samo hlađenje može postići željeni stupanj kristalizacije kada je topljivost dovoljno niska pri završetku hlađenja dok je u nekim slučajevima potrebno dodatno smanjiti topljivost (isparavanjem ili dodatkom antiotapala). Kristalizacija hlađenjem može se provesti šaržno ili kontinuirano. Kod kristalizacije hlađenjem na profil prezasićenosti mogu utjecati: širina metastabilnog područja, brzina hlađenja, brzina nukleacije, sustav otapala, nečistoće, miješanje. Na slici 4. prikazano je prirodno hlađenje u odnosu na linearno i kontrolirano.<sup>17</sup>

Brzina hlađenja može se podesiti da bude konstantna tijekom cijelog procesa ili se može programirati da slijedi krivulju topljivosti otopljene tvari. Prikladnost korištenja određenog profila hlađenja ovisi i o karakteristikama materijala koji kristalizira, te o načinu provedbe.<sup>11</sup>

Korištenje kontroliranih profila hlađenja obično je najučinkovitija metoda za kontrolu svojstava produkta.<sup>11</sup>



*Slika 4.* Prikaz vrsta hlađenja

## 2.5.2. Kristalizacija dodatkom pomoćnih komponenti

Antiotapalo, dodaci i cjepivo pripadaju u pomoćne komponente koje se dodaju kako bi se poboljšala svojstva tvari ili utjecalo na prezasićenost.

### 2.5.2.1. Dodatak antiotapala

Dodatak antiotapala je potencijalno najbolji način za postizanje kontrolirane raspodjele veličine čestica. Proces se može provoditi polušaržno (antiotapalo se dodaje u otopinu i obrnuto) ili kontinuirano, uz pomoć miješanja gdje će se antiotapalo miješati s primarnim otapalom i smanjiti topljivost tvari. Na ovaj način otopljena tvar kristalizira iz primarnog otapala dodavanjem antiotapala u kojemu je otopljena tvar relativno netopljiva.<sup>17,18</sup>

Prednosti ovakvog oblika kristalizacije su mogućnost provedbe pri sobnoj temperaturi što je važno za temperaturno osjetljive tvari, te što se aktivnost otapala značajno mijenja, te to može imati utjecaj na morfologiju kristala ili sami polimorfni oblik kristala.<sup>17,18</sup>

Nedostatak kristalizacije dodatkom antiotapala je potreba uvođenja dodatnog otapala ili više njih, čime se smanjuje volumetrijska produktivnost, dolazi do većih gradijenata

prezasićenosti, te je stoga potrebno razdvajanje, pročišćavanje i recikliranje što utječe na povećanje kapitalnih troškova.<sup>17,18</sup>

## 2.6. SFERIČNA KRISTALIZACIJA

Sferična kristalizacija je tehnika dizajna čestica koja omogućuje istodobno, u jednom koraku, odvijanje kristalizacije i aglomeracije. 1986. godine *Kawashima et al.* koristili su tehniku sferične kristalizacije za povećanje veličine djelatne tvari. Parametri koji utječu na proces sferične kristalizacije su: odabir otapala, vrsta, količina i način dodavanja sredstva za premošćivanje, topljivost, temperatura, miješanje, veličina čestica i prisutni aditivi. Oni utječu na produktivnost procesa, te raspodjelu veličina čestica, morfologiju, čvrstoću.<sup>21</sup>

Proces sferične kristalizacije zasniva se na otapanju djelatne tvari u pogodnom otapalu, te dodatku antiotapala. Potom se dodaje u manjoj količini sredstvo za premošćivanje koje djeluje kao vezivno sredstvo i potiče stvaranje aglomerata. Sredstvo za premošćivanje ne smije biti mješljivo s antiotapalom. Koji sustav otapala će se koristiti ispitat će se metodom pokušaja i pogreške.<sup>21</sup>



*Slika 5.* Mehanizam sferične aglomeracije<sup>22</sup>

Ostali procesni parametri koji su važni za kinetiku aglomeracije i svojstva čestica su brzina miješanja, temperatura i udio otapala. Neke studije su pokazale da viša temperatura rezultira

manjom veličinom čestica, te da veća brzina miješanja smanjuje poroznost i povećava mehaničku otpornost nastalih aglomerata.<sup>22</sup>

Ova tehnika može kristalnu formu lijeka pretvoriti u različit polimorfni oblik, te se tako postiže bolja bioraspoloživost i otapanje. Proces smanjuje vrijeme i trošak omogućujući bržu proizvodnju lijekova. Sferno aglomerirani kristali mogu se pripremiti u obliku tableta bez daljnje obrade kao što je granulacija. Konačna doza lijeka u obliku tablete pripremljena ovom tehnikom pokazuje poboljšanja vezana uz čvrstoću, profil raspada, stupanj otapanja, mogućnost mrvljenja, u odnosu na tablete dobivene procesom granuliranja.<sup>23</sup>

Prisutnost aditiva kao što su polimerni materijali i površinski aktivne tvari može utjecati na proces aglomeracije molekula tijekom kristalizacije. Viskoznost i površinska napetost medija smanjuje se dodatkom površinski aktivnih tvari što utječe na proces nukleacije. Prisutnost aditiva u procesu sferične aglomeracije može smanjiti vrijeme trajanja procesa, kao i unaprijediti mikrometerska svojstva lijeka.<sup>24</sup>

Prednosti i nedostaci procesa sferične kristalizacije navedeni su u *tablici 1*.

**Tablica 1.** Prednosti i nedostaci procesa sferične kristalizacije.<sup>24</sup>

| <b>PREDNOSTI</b>  | <b>NEDOSTATCI</b>  |
|---|--|
| Poboljšana fizikalno-kemijska svojstva kristala                                     | Težak proces odabira pogodnih otapala                            |
| Mogućnost konverzije u polimorfne oblike, bolja bioraspoloživost                    | Teška optimizacija procesnih parametara (miješanje, temperatura) |
| Učinkovitije provođenje daljnjih postupaka obrade (separacija, filtracija, sušenje) |  |
| Može se koristiti za prikrivanje gorkog okusa lijeka                                |  |
| Moguća priprema mikrosfera, mikrospužvi, nanočestica i mikropeleta                  |  |

### 2.6.1. Glavni koraci uključeni u proces sferične kristalizacije

Aglomeracija se odvija u četiri koraka<sup>21</sup>:

#### 1. Zona flokulacije

U ovoj zoni sredstvo za premošćivanje zamjenjuje kapljevina s površine kristala. Adsorbirana kapljevina za premošćivanje povezuje čestice tako što stvara premosnicu između njih.

#### 2. Nulta zona rasta

Flokule se prevode u čvrsto stegnute kuglice, te je tekućina istisnuta na površinu flokula. Pokretačka sila dobivena je miješanjem suspenzije, te sudarima kuglica-kuglica i kuglica-miješalo.

#### 3. Zona brzog rasta

Zona brzog rasta odvija se kada se sredstvo za premošćivanje istisne sa površine aglomerata. Formiranje velikih čestica nakon slučajnog sudara između formiranih nukleusa naziva se koalescencija. Višak vlage na površini nukleusa potreban je za uspješan sudar.

#### 4. Zona konstantne veličine čestica

U ovoj zoni aglomerati prestaju rasti ili čak pokazuju i smanjivanje veličine aglomerata. Smanjenje veličine aglomerata može biti posljedica loma, mrvljenja i trošenja.

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. ZADATAK

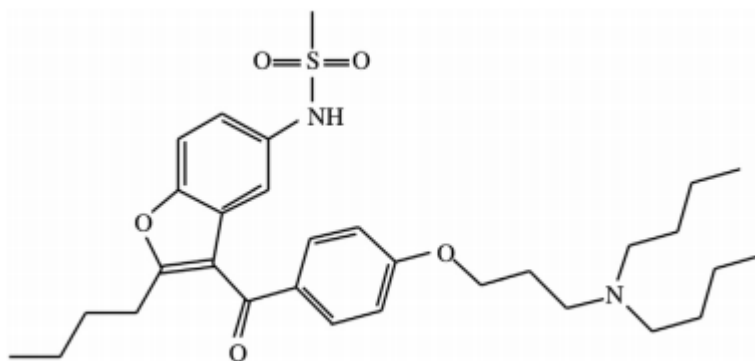
Eksperimentalni dio obuhvaća pronalazak pogodnog sustava otapala, antiotapala i sredstva za premošćivanje, te pronalazak odgovarajućih uvjeta za provedbu kristalizacije. Istraživan je utjecaj promjene otapala i sredstava za premošćivanje, te broja okretaja miješala na veličinu, oblik i strukturu kristala dronedaron-hidroklorida. Ispitana je i brzina otpuštanja dronedaron- hidroklorida za dva različita uzorka.

#### 3.2. MATERIJAL

Za provedbu eksperimenta korišten je dronedaron-hidroklorid. Sredstva koja su korištena kao otapala su izopropanol i acetonitril, a sredstva za premošćivanje bila su heksan, heptan i etil-acetat. Demineralizirana voda korištena je kao antiotapalo, dok su otapala i sredstva za premošćivanje dodavani u različitim volumnim udjelima.

##### 3.2.1. Dronedaron-hidroklorid

Dronedaron-hidroklorid je derivat amiodarona koji je popularni antiaritmik. Kemijski naziv dronedaron-hidroklorida je N-(2-butil-3-(p-(3-(dibutilamino)propoksi)benzoil)-5-benzofuranil) metan sulfonamid (*slika 6.*). Molekulska formula je  $C_{31}H_{44}N_2O_5S$ , a molekulska masa iznosi 556,758 g/mol. Koristi se za liječenje atrijalnih fibrilacija, te je u kliničkim ispitivanjima utvrđeno kako je dronedaron bolji od amiodarona zbog bržeg i kraćeg vremena poluraspada, smanjene lipofilnosti i zanemarive kardiovaskularne toksičnosti.<sup>25</sup>



**Slika 6.** Kemijska struktura dronedaron-hidroklorida

Dronedaron-hidroklorid je bijeli prašak praktički netopljiv u vodi, topljiv u etanolu, te dobro topljiv u metilen kloridu i metanolu. Temperatura tališta iznosi 149°C-153°C. Dronedaron je heterociklički spoj koji sadrži benzofuran supstituiran s metilsulfonamidom. Zamjena jodne skupine s metan-sulfonilnom skupinom kod dronedarona je kako bi se smanjio rizik od oštećenja drugih organa, te rizik od neurotoksičnosti. Naziv oralnih tableta dronedarona je *Multaq*, a prodaje ih tvrtka *Sanofi Aventis*, Pariz, Francuska.<sup>25</sup>



**Slika 7.** Dronedaron-hidroklorid kao prah





### 3.2.2. Otapalo

Izopropanol (2-propanol) je alkohol koji se dobiva iz propena-nusproizvoda pri rafinaciji nafte. Koristi se kao organsko otapalo, antifriz, sredstvo za ekstrakciju, otapalo za boje te je glavni sastojak alkohola za čišćenje (70 % smjesa izopropanol-voda).<sup>26</sup>

Acetonitril je bezbojna tekućina formule  $C_2H_3N$ . Proizvodi se uglavnom kao nusprodukt akrilonitrila. U laboratoriju se koristi kao otapalo srednje polarnosti koje se može miješati s vodom i organskim otapalima, ali ne sa zasićenim ugljikovodicima. Također se koristi i kao otapalo za pročišćavanje butadiena u rafinerijama, te kao otapalo za proizvodnju lijekova i fotografskog filma.<sup>27</sup>

**Tablica 2.** Podaci o korištenim otapalima

| Otapalo                    | Izopropanol  | Acetonitril   |
|----------------------------|--|---|
| Molekulska formula         | $C_3H_8O$  | $C_2H_3N$   |
| Strukturna formula         | $\begin{array}{c} \text{H} & \text{H} & \text{H} \\   &   &   \\ \text{H}-\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{H} \\   &   &   \\ \text{H} & \text{OH} & \text{H} \end{array}$ | $\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{C}\equiv\text{N} \\   \\ \text{H} \end{array}$ |
| Molarna masa, g/mol        | 60,1   | 41,05   |
| Gustoća, g/cm <sup>3</sup> | 0,789  | 0,786   |
| Temperatura vrelišta, °C   | 82,6   | 82,1  |
| Piktogrami opasnosti       |   |                      |

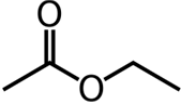
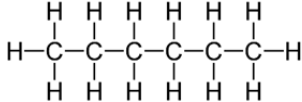
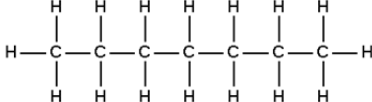



### 3.2.3. Sredstvo za premošćivanje

Etil-acetat je organski spoj formule  $C_4H_8O_2$ . Bezbojna je i lako zapaljiva tekućina. Dobiva se sintezom octene kiseline i etanola uz prisustvo jakih kiselina kao što je sumporna kiselina. Koristi se u odstranjivačima laka za nokte, u ljepilima, u kapljevinskoj ekstrakciji, kolonskoj kromatografiji.<sup>26,27</sup>

Heksan je zasićeni tekući ugljikovodik sa šest ugljikovih atoma u molekuli. Pripada grupi alkana i postoji u pet izomernih oblika. Heksan je bezbojna i zapaljiva tekućina koji se upotrebljava kao otapalo i sredstvo za ekstrakciju masti i ulja.<sup>27,28</sup>

Heptan je zasićeni tekući ugljikovodik sa 7 ugljikovih atoma u molekuli. Postoji u 9 izomernih oblika. Pripada skupini alkana, sklon je neravnomjernom izgaranju pa se koristi kao jedno od mjerila za određivanje oktanskog broja motornog goriva.<sup>27,28</sup>

**Tablica 3.** Podaci o korištenim sredstvima za premošćivanje

| Otapalo                    | Etil-acetat   | Heksan   | Heptan  |
|----------------------------|---|--|---|
| Molekulska formula         | $C_4H_8O_2$   | $C_6H_{14}$  | $C_7H_{16}$   |
| Strukturna formula         |  |   |  |
| Molarna masa, g/mol        | 88,11   | 86,17  | 100,21  |
| Gustoća, g/cm <sup>3</sup> | 0,902   | 0,659  | 0,683   |
| Temperatura vrelišta, °C   | 77,1  | 68,7   | 97-99   |
| Piktogrami opasnosti       |  |  |  |

### 3.3. UREĐAJI

#### 3.3.1. Uređaji za provedbu kristalizacije

Za provedbu kristalizacije korišten je kristalizator Rushtonovih dimenzija s dvostrukom stjenkom i razbijalima, termostatski blok *Julabo CF41*, miješalica s digitalnim prikazom broja okretaja miješala, te miješalo s četiri ravne lopatice nagnute pod kutom od 45°. Za provedbu eksperimenta po potrebi je korišten i rotacijski isparivač.



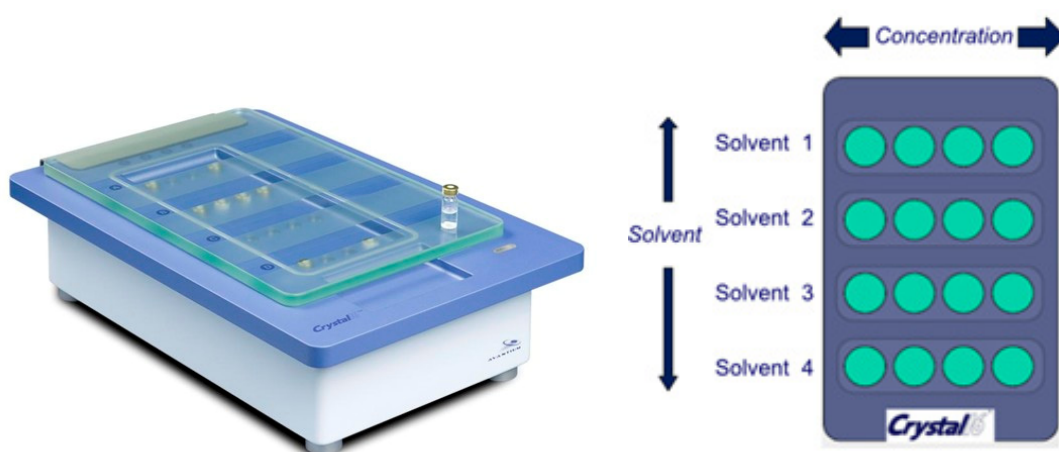
*Slika 8.* Kristalizator za provedbu eksperimenta



*Slika 9.* Rotacijski isparivač

### 3.3.2. Određivanje topljivosti soli u različitim otapalima

Topljivost dronedaron-u različitim otapalima određena je u Pliva Hrvatska d.o.o. na uređaju *Crystal 16* (slika 10.). To je uređaj koji se sastoji od četiri neovisno grijana bloka reaktora pomoću kojeg se može izvesti 16 paralelnih eksperimenata u malim volumenima. Uređajem se određuje širina metastabilne zone praćenjem zamućenosti turbidimetrom.



*Slika 10.* Uređaj *Crystal 16*

### 3.3.3. Uređaji za karakterizaciju produkta

#### Određivanje oblika i veličine kristala

Oblik i veličinu kristala nakon procesa kristalizacije, te oblik i veličinu suhih kristala određivano je na svjetlosnom mikroskopu *MoticBA200* (slika 11.) i na stereo mikroskopu *Olympus SZX 16* (slika 12.).



*Slika 11.* Svjetlosni mikroskop *MoticBA200*



*Slika 12.* Stereo mikroskop *Olympus SZX 16*

## Određivanje strukture kristala

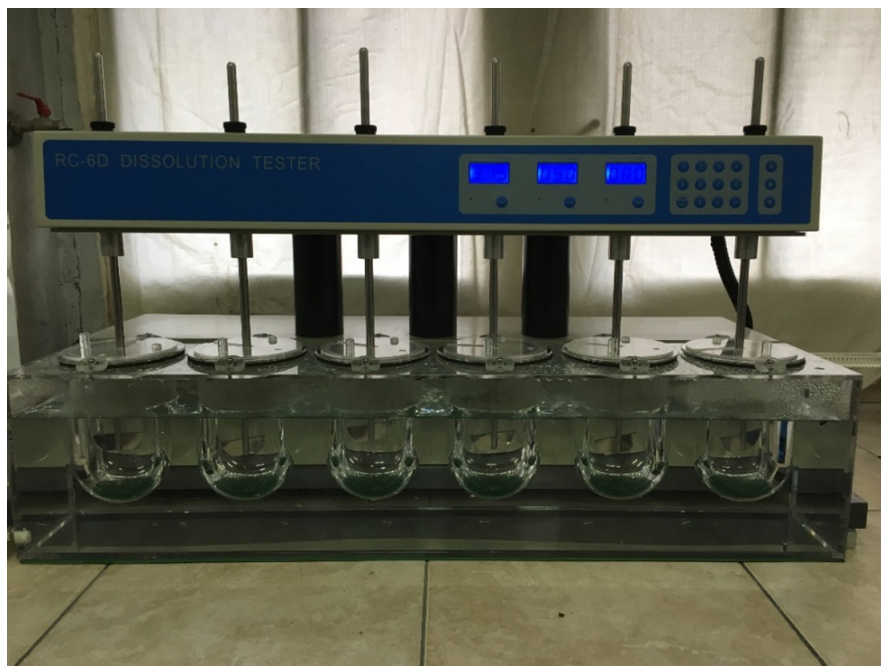
Rendgenskom analizom pomoću *Shimadzu XRD-6300* (slika 13.) određena je kvalitativna analiza dobivenih kristala. Uređaj ne-destruktivno analizira materiju u kontroliranim uvjetima rada. Radi na principu ozračivanja materijala rendgenskim zrakama gdje zatim dolazi do njihove difrakcije ovisno o strukturi kristala.



*Slika 13.* XRD uređaj *Shimadzu XRD-6300*

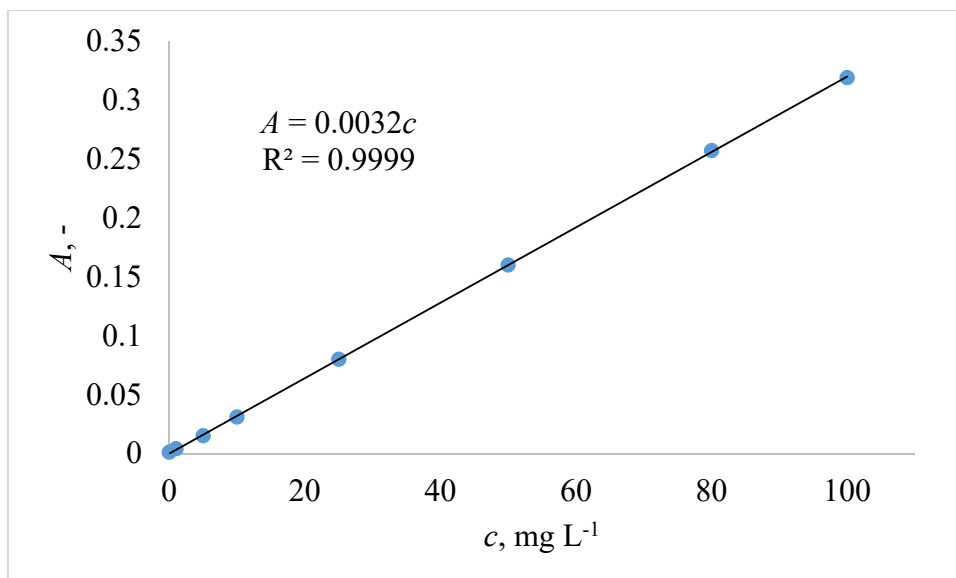
### 3.3.4. Ispitivanje brzine otpuštanja dronedaron-hidroklorida

Ispitivanje je provedeno na uređaju za ispitivanje otpuštanja djelatnih tvari (Dissolution tester RC-6D, Zhengzhou Nanbei Instrument), (slika 14.). Kao medij je korišten fosfatni pufer volumena 1000 ml, pH 4,5, a za miješanje su korištene košarice (USP I). Temperatura pufera podešena je na  $37 \pm 0,5$  °C, a broj okretaja lopatica na 75 o/min.



**Slika 14.** Uređaj za ispitivanje otpuštanja djelatnih tvari

Uzorkovanje je provedeno u vremenima 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90 i 120 minuta u skladu s FDA metodom za ispitivanje otpuštanja dronedarona iz tableta.<sup>33</sup> Prilikom uzorkovanja uzorci su filtrirani kroz filtar *CHROMAFIL® Xtra PET-45/25* nakon čega su analizirani na UV/Vis spektrofotometru *UV-1280, Shimadzu* pri valnoj duljini 289,8 nm što odgovara maksimumu apsorbancije dronedarona u fosfatnom puferu. Na temelju dobivenih vrijednosti apsorbancija i umjernog pravca (*slika 15.*) izračunate su vrijednosti koncentracija dronedarona u navedenim vremenima te je prikazan njegov profil otpuštanja.



**Slika 15.** Baždarni dijagram (dronedaron u fosfatnom puferu)



### 3.4. PROVEDBA KRISTALIZACIJE U RAZLIČITIM SUSTAVIMA

Postupak prekrystalizacije proveden je u dva različita otapala. Prvi sustav bio je sa izopropanolom dok je drugi bio sa acetonitrilom. Kristalizacija za ta dva sustava provedena je pri različitim uvjetima. U tablicama 4. i 5. prikazani su početni sastavi dok se detaljniji postupak provedbe nalazi u *Prilogu 1*. Količina dronedaron-hidroklorida uzimana je prema podacima topljivosti dronedaron-hidroklorida u izopropanolu na temperaturi od 55°C i u acetonitrilu na 50°C i 55°C. Kako bi dobili sferične aglomerate kristala dodavana su sredstva za premošćivanje. Ovisno o potrebi tijekom procesa kristalizacije korišten je rotacijski isparivač.

**Tablica 4.** Provedba kristalizacije u sustavu s acetonitrilom

| Naziv eksperimenta                           | A 1                                | A 2                                 | A 3                                 | A 4                                 |
|--|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Početni sastav                               | 150 ml acetonitrila<br>10,5 g DHK* | 40,7 ml acetonitrila<br>1,58 g DHK* | 63,6 ml acetonitrila<br>3,26 g DHK* | 71,2 ml acetonitrila<br>2,76 g DHK* |
| Temperatura otapanja dronedaron-hidroklorida | 55°C                               | 50°C                                | 50°C                                | 50°C                                |
| Hlađenje                                     | BH=12 °C/h                         | -                                   | -                                   | -                                   |
| Demineralizirana voda                        | 150 ml                             | 192 ml                              | 300 ml                              | 128 ml                              |
| Rotacijski isparivač                         | +                                  | +                                   | -                                   | +                                   |
| Broj okretaja miješala                       | 1. 500 o/min<br>2. 330 o/min       | 600 o/min                           | 770 o/min                           | 770 o/min                           |
| Sredstvo za premošćivanje                    | heksan                             | heksan                              | heksan                              | heksan                              |
| m <sub>k</sub> nakon sušenja                 | 2,60 g                             | 0,62 g                              | 0,43 g                              | 1,80 g                              |

**Tablica 5.** Provedba kristalizacije u sustavu s izopropanolom

| Naziv eksperimenta                 | I 1                               | I 2                               | I 3                               | I 4                               | I 5                               | I 6                               | I 7                               | I 8                               |
|------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| <b>Početni sastav</b>              | 50 ml izopropanola<br>1,65 g DHK* | 100 ml izopropanola<br>3,3 g DHK* | 200 ml izopropanola<br>6,6 g DHK* | 200 ml izopropanola<br>6,6 g DHK* | 200 ml izopropanola<br>6,6 g DHK* | 200 ml izopropanola<br>6,6 g DHK* | 200 ml izopropanola<br>6,6 g DHK* | 300 ml izopropanola<br>9,9 g DHK* |
| <b>Temperatura otapanja DHK*</b>   | 55°C                              | 55°C                              | 55°C                              | 55°C                              | 55°C                              | 55°C                              | 55°C                              | 55°C                              |
| <b>Hlađenje</b>                    | -                                 | BH=10 °C/h                        | BH=10 °C/h                        | BH=7 °C/h                         | BH=7 °C/h                         | BH=10 °C/h                        | -                                 | -                                 |
| <b>Demineralizirana voda</b>       | 100 ml                            | 250 ml                            | -                                 | 350 ml                            | 300 ml                            | 300 ml                            | 300 ml                            | 450 ml                            |
| <b>Rotacijski isparivač</b>        | +                                 | +                                 | -                                 | +                                 | +                                 | +                                 | +                                 | +                                 |
| <b>Broj okretaja miješala</b>      | 430 o/min                         | 500 o/min                         | 350 o/min                         | 350 o/min                         | 350 o/min                         | 300 o/min                         | 450 o/min                         | 500 o/min                         |
| <b>Sredstvo za premošćivanje</b>   | etil-acetat                       | etil-acetat                       | -                                 | etil-acetat                       | etil-acetat                       | etil-acetata                      | etil-acetat                       | heptan                            |
| <b>m<sub>k</sub> nakon sušenja</b> | 0,56 g                            | 2,33 g                            | 5,13 g                            | 0,87 g                            | 1,12 g                            | 1,34 g                            | 1,60 g                            | 4,24 g                            |

\*DHK= dronedaron-hidroklorid

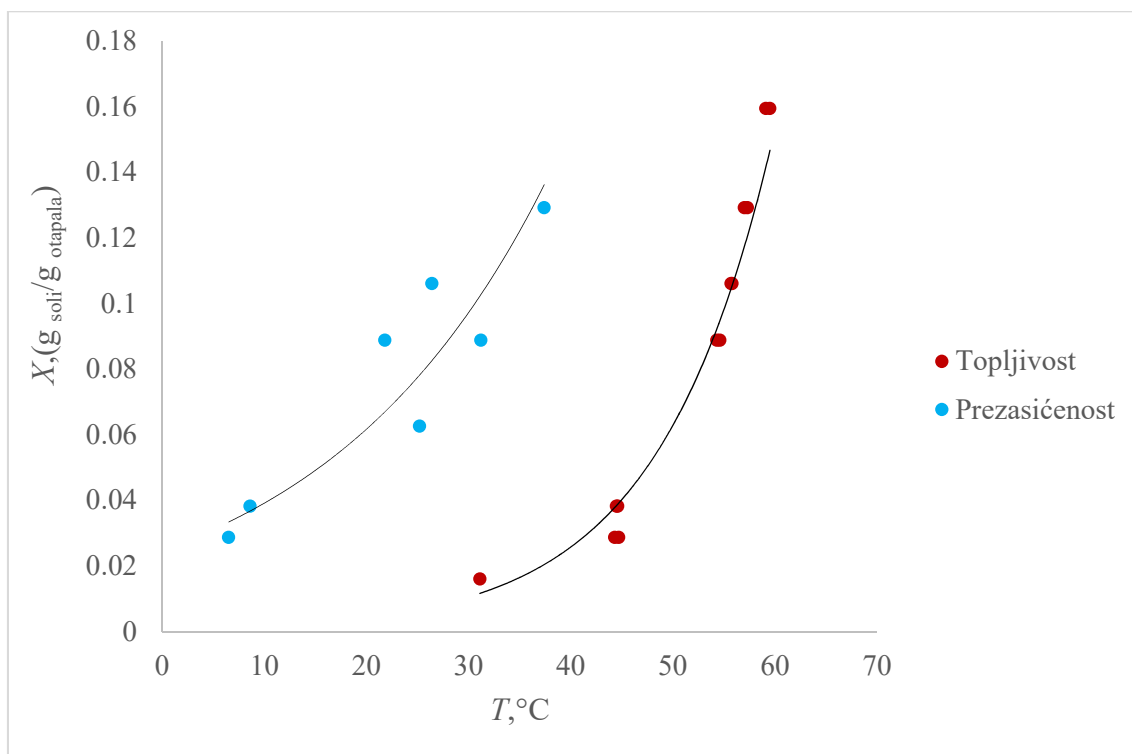
## 4. REZULTATI

### 4.1. TOPLJIVOST DRONEDARON-HIDROKLORIDA U POJEDINIM OTAPALIMA

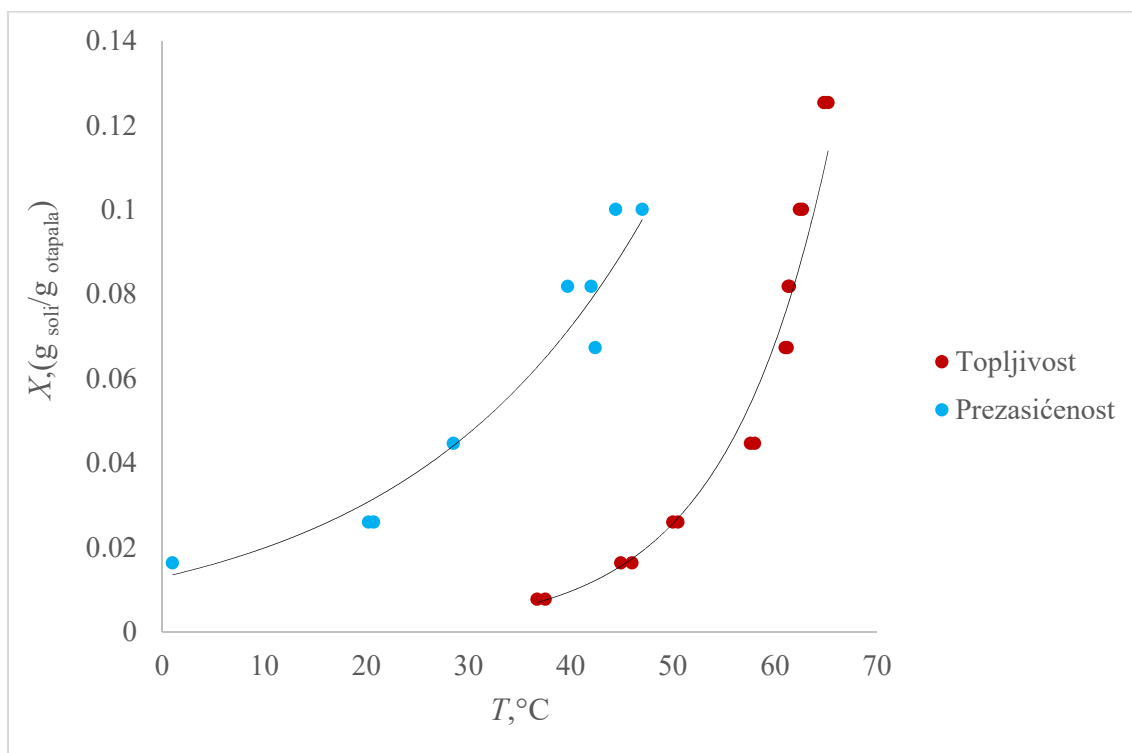
*Tablica 6.* Topljivost dronedaron-hidroklorida u različitim otapalima

| Otapalo     | Potpuna topljivost | Djelomična topljivost | Netopljivo |
|-------------|--------------------|-----------------------|------------|
| Metanol     | +                  |                       |            |
| Diklormetan | +                  |                       |            |
| Acetonitril |                    | +                     |            |
| Izopropanol |                    | +                     |            |
| Voda        |                    |                       | +          |
| Heksan      |                    |                       | +          |
| Heptan      |                    |                       | +          |
| Etil-acetat |                    |                       | +          |
| Izooktan    |                    |                       | +          |

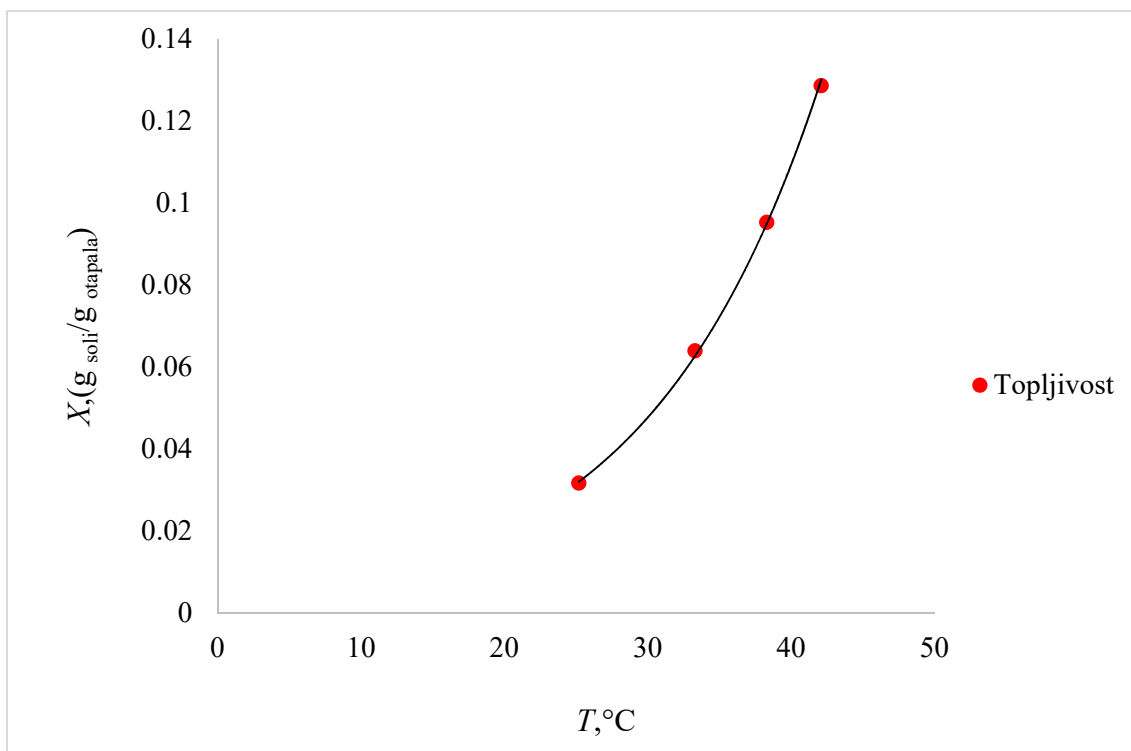
## 4.2. ODREĐIVANJE ŠIRINE METASTABILNE ZONE



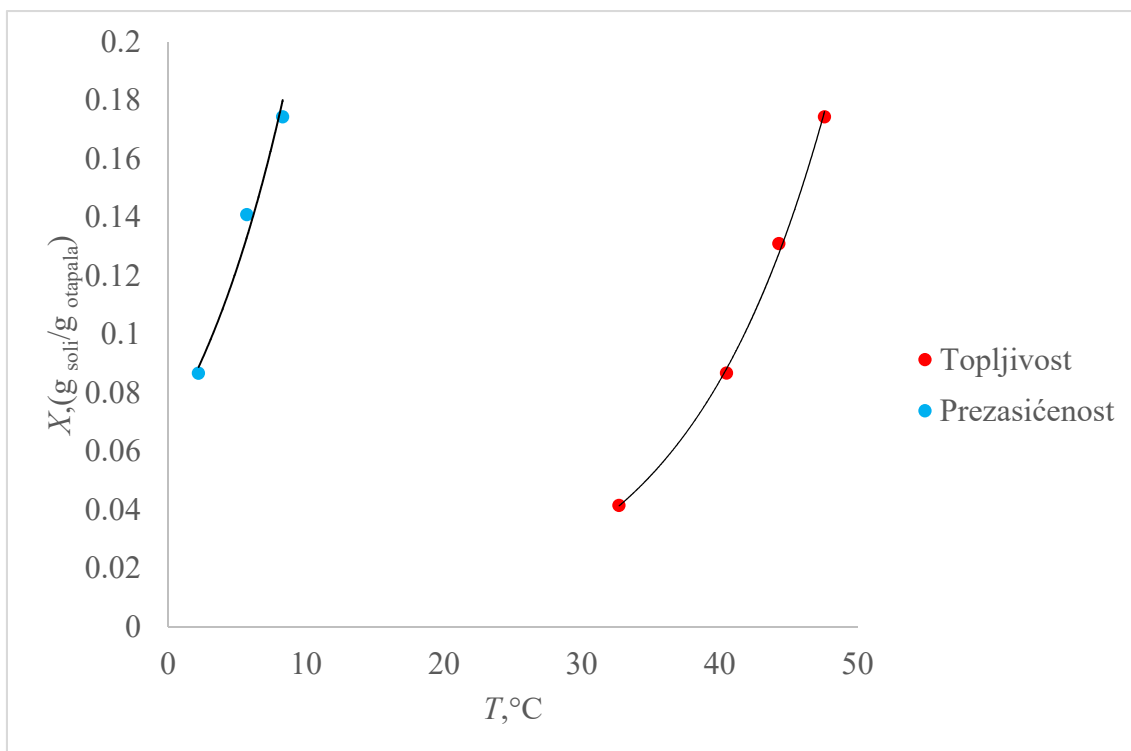
*Slika 16.* Krivulja topljivosti i prezasićenosti u acetonitrilu



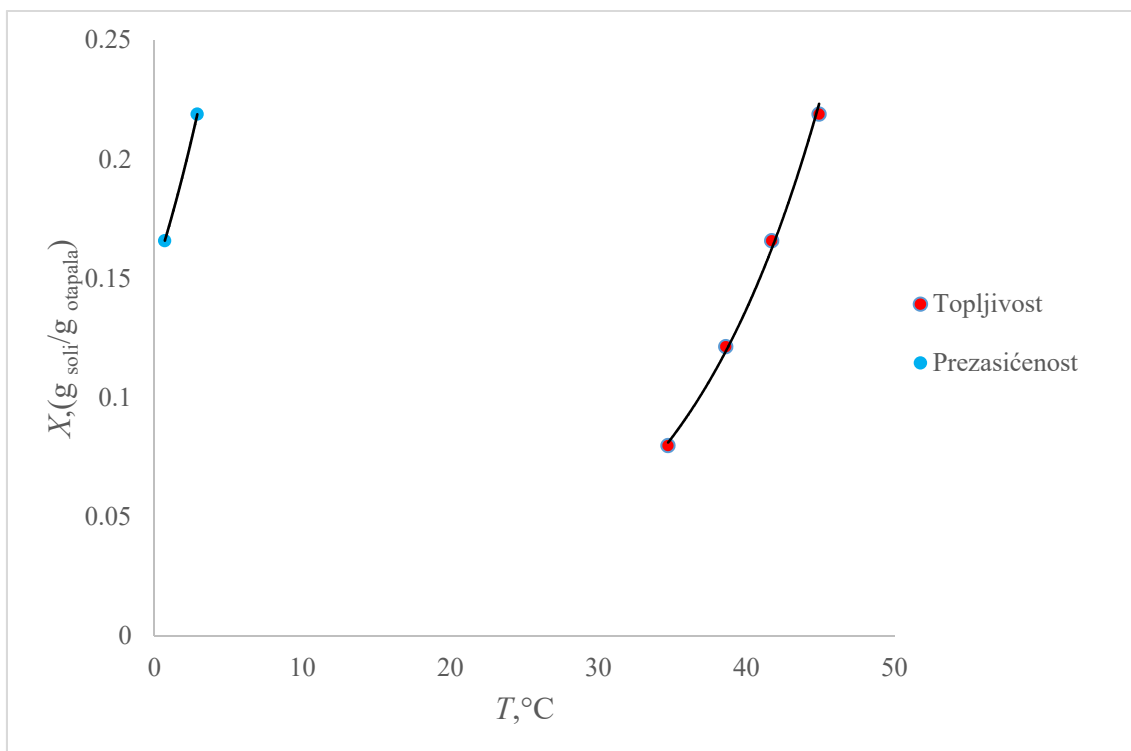
*Slika 17.* Krivulja topljivosti i prezasićenosti u izopropanolu



**Slika 18.** Krivulja topljivosti u sustavu acetonitril - voda (volumni omjer: 1:3)



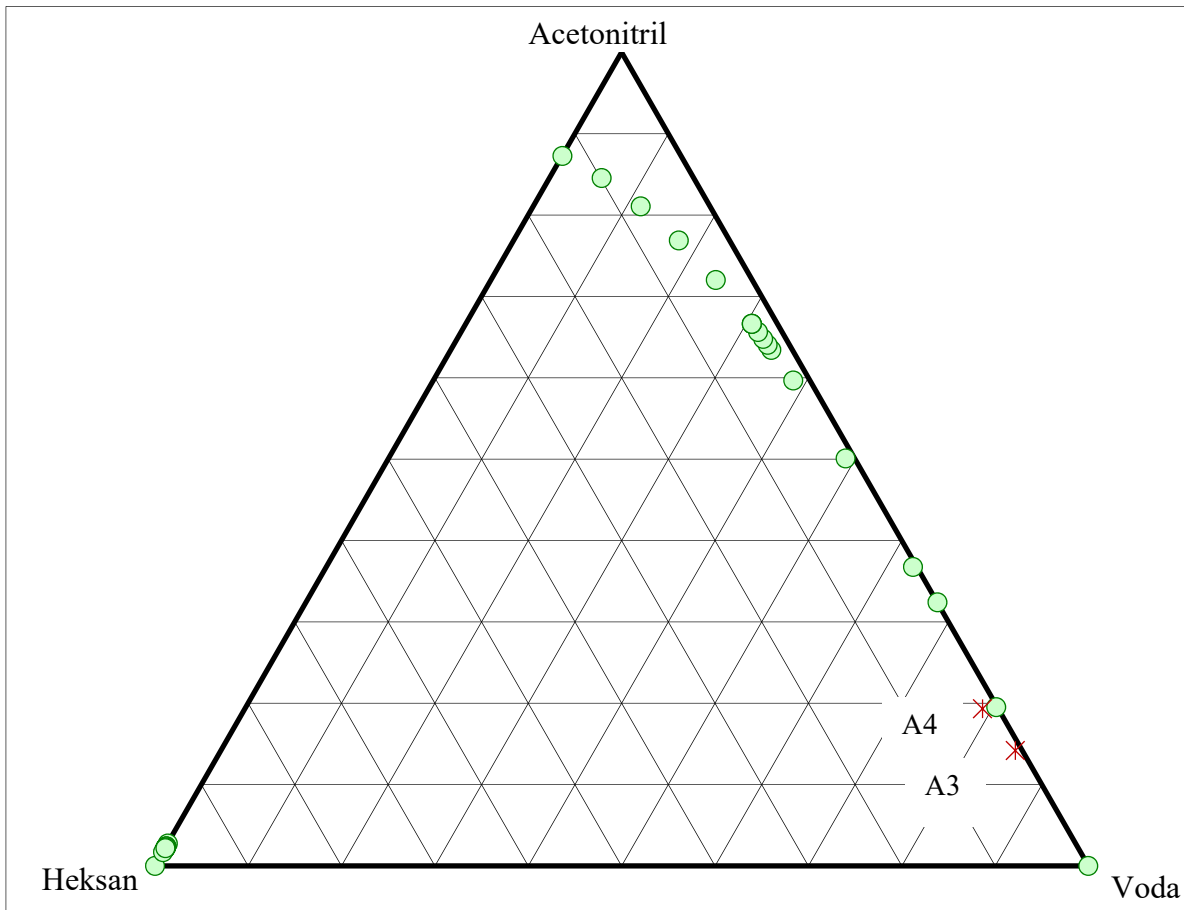
**Slika 19.** Krivulja topljivosti u sustavu izopropanol - voda (volumni omjer: 1:2)



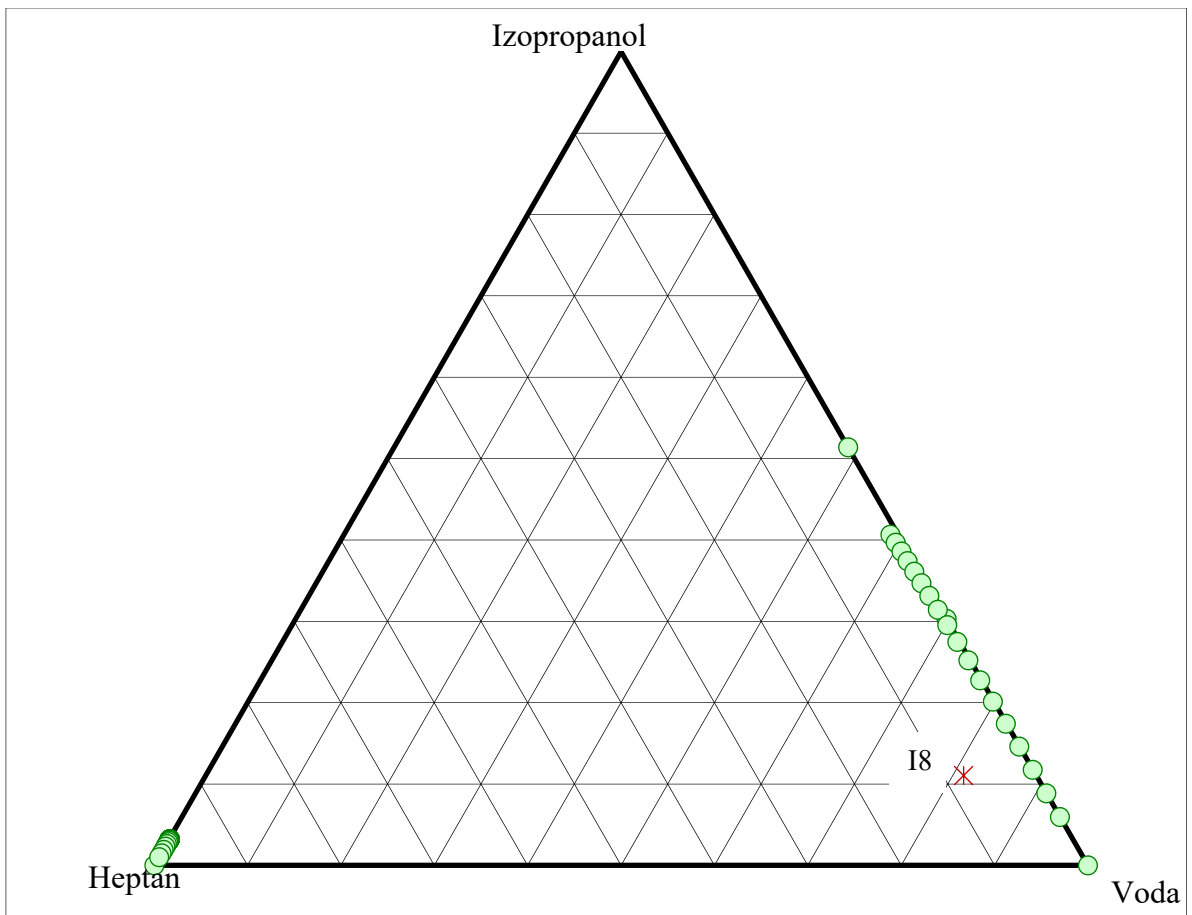
**Slika 20.** Krivulja topljivosti u sustavu izopropanol-voda (volumni omjer: 2:3)

### 4.3. ODABRANI SUSTAVI

#### 4.3.1. Ternarni dijagrami

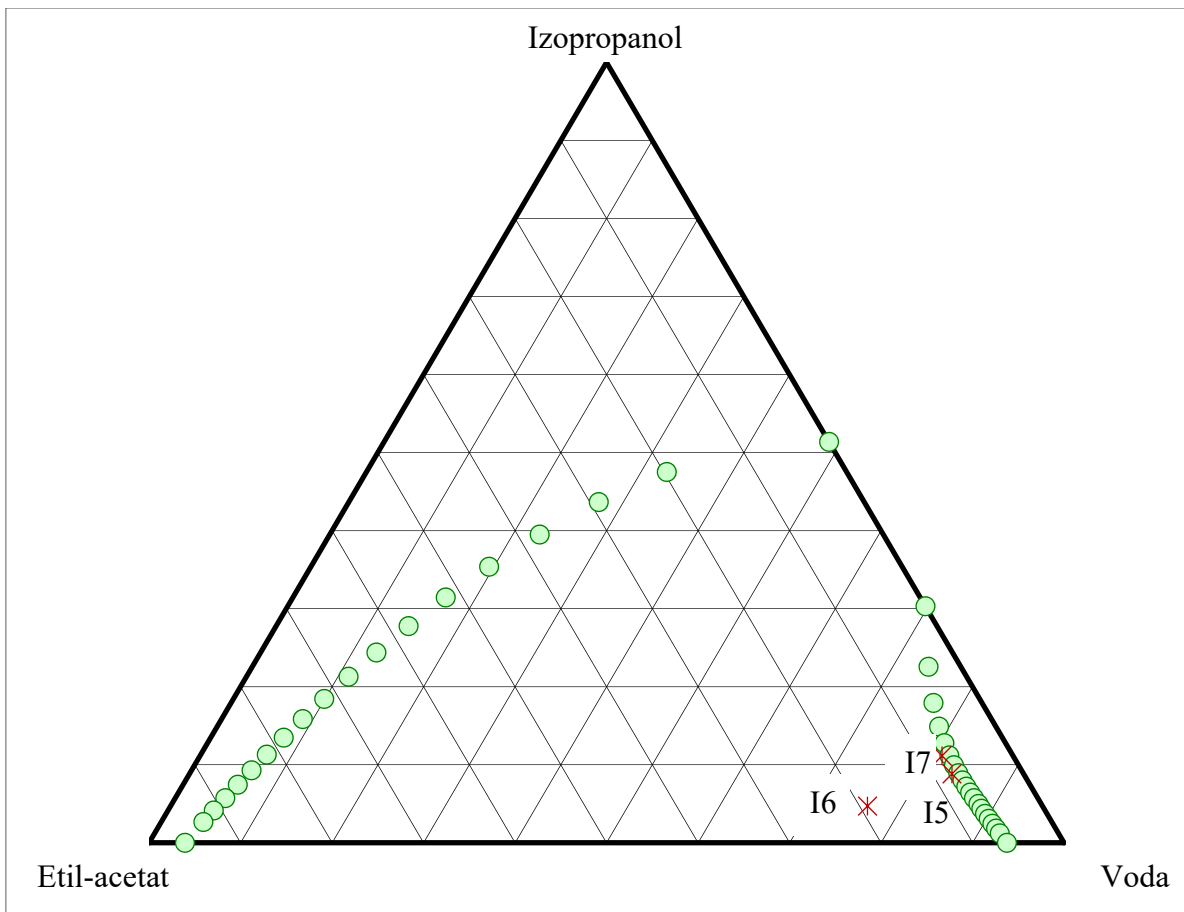


*Slika 21* . Ternarni dijagram za sustav acetonitril - voda - heksan



*Slika 22.* Ternarni dijagram za sustav izopropanol - voda - heptan



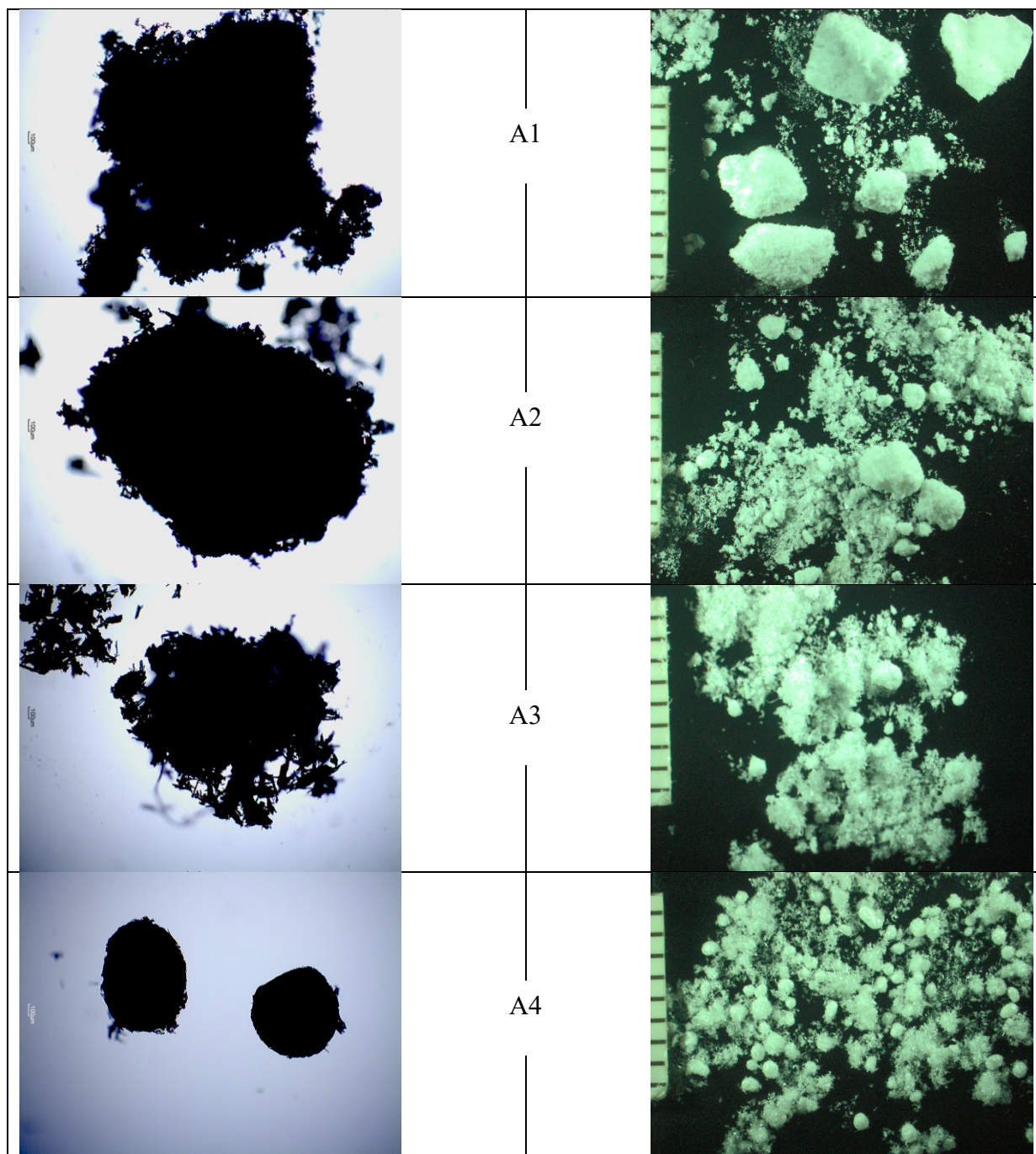


*Slika 23.* Ternarni dijagram za sustav izopropanol – voda - etil-acetat

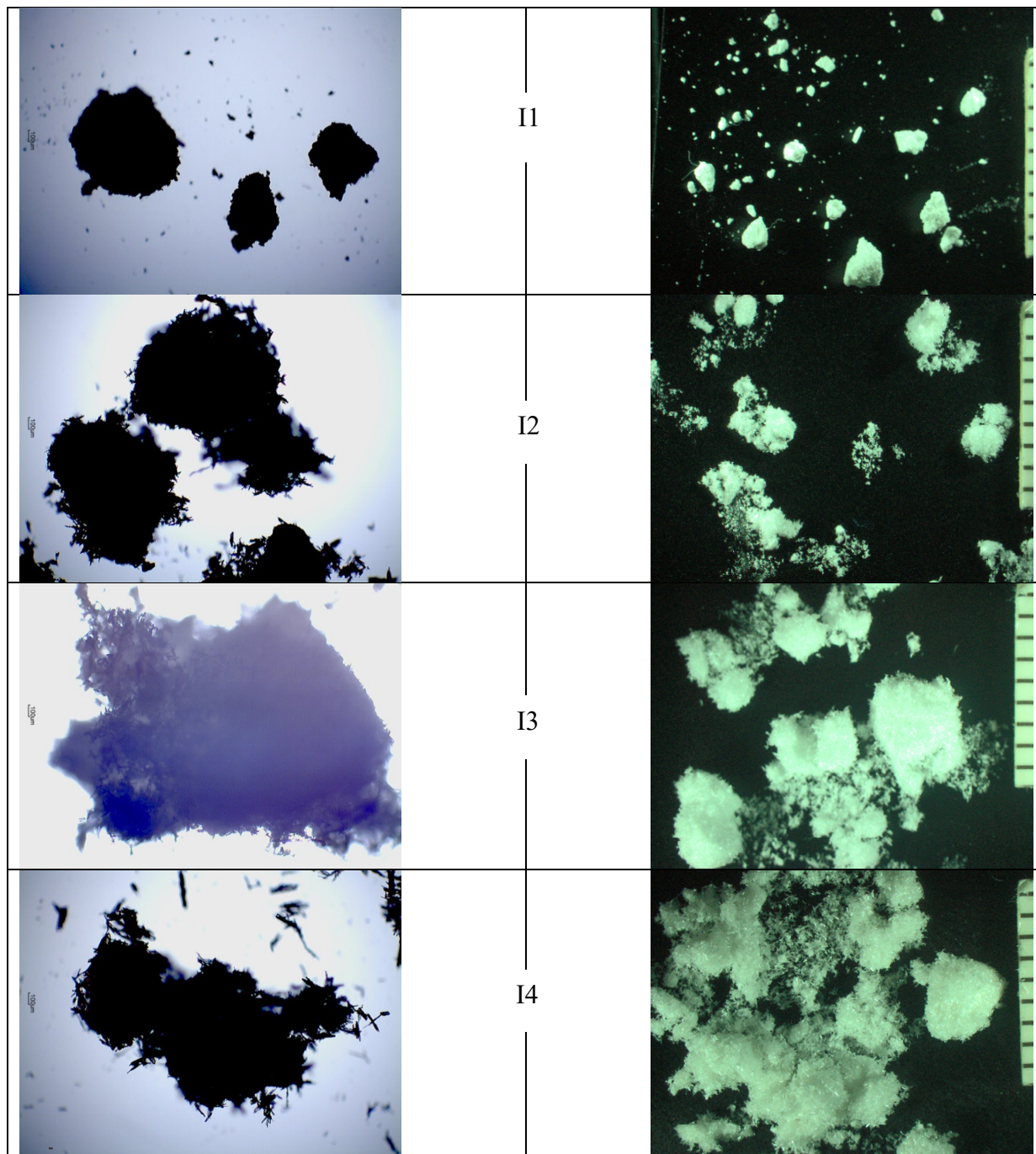
### 4.3.2. Granulometrijska svojstva kristala

U sljedećoj tablici prikazane su slike suhih kristala na kraju eksperimenata iz sustava s acetonitrilom i izopropanolom.

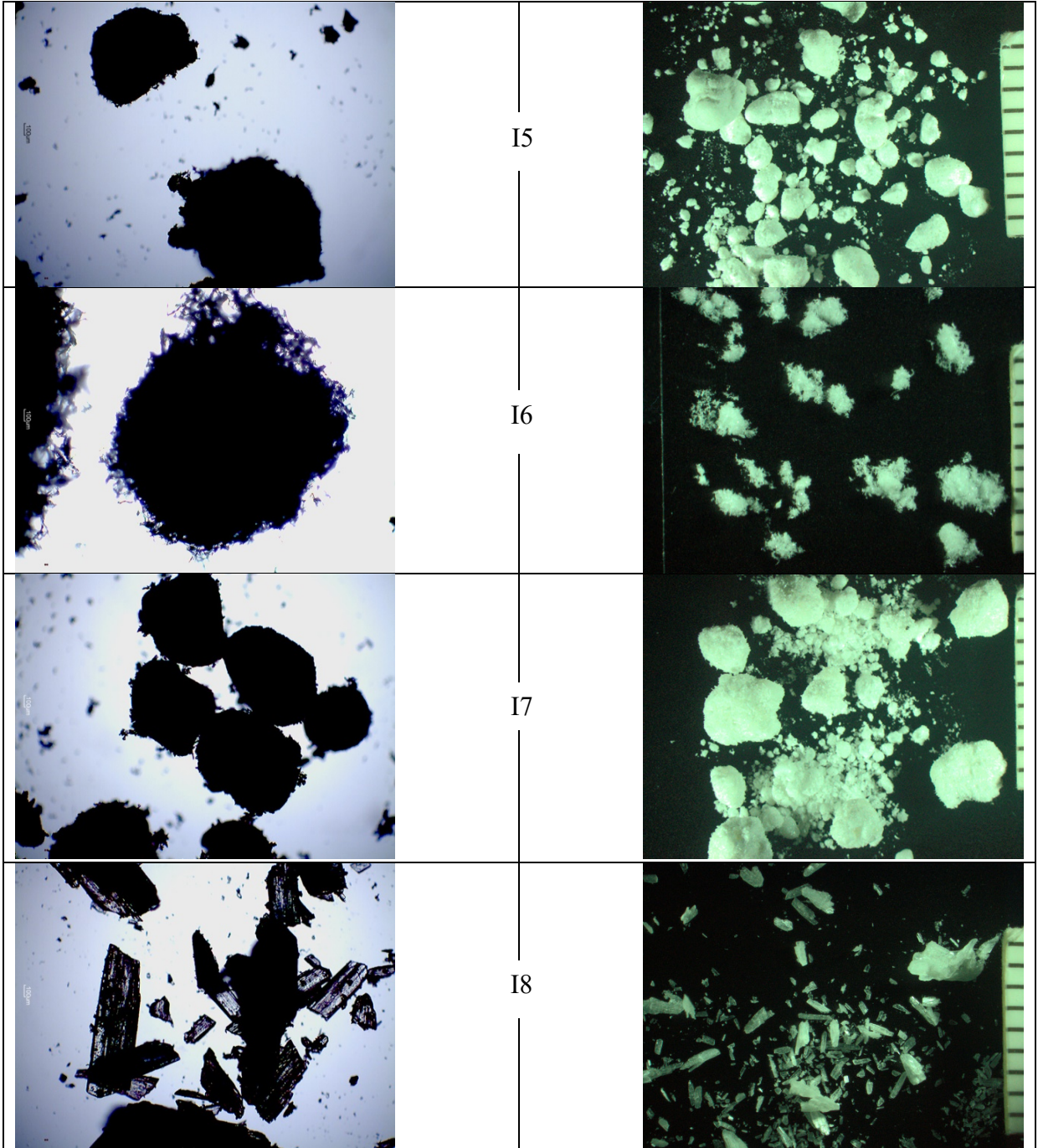
**Tablica 7.** Slike suhih kristala iz sustava s acetonitrilom slikane svjetlosnim (uvećanje 40x) i stereo mikroskopom



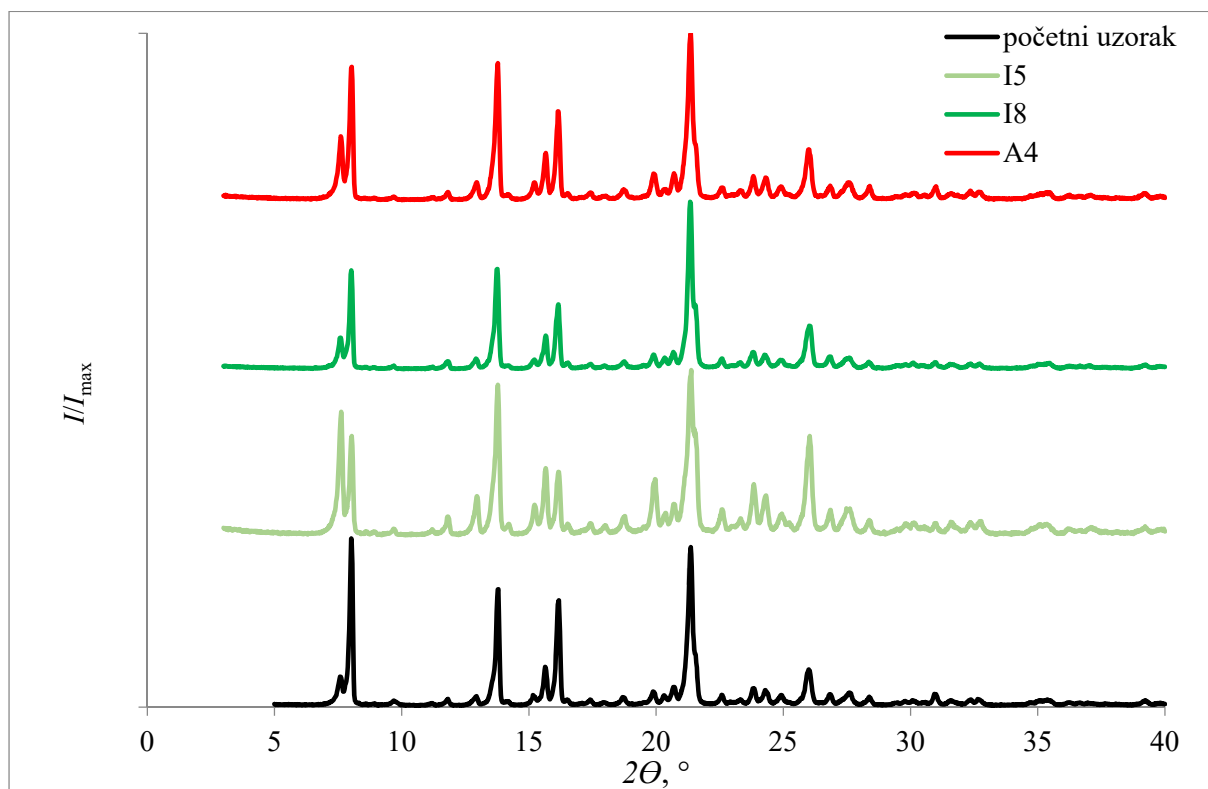
**Tablica 8.** Slike suhih kristala iz sustava s izopropanolom slikane svjetlosnim mikroskopom (uvećanje 40x) i stereo mikroskopom





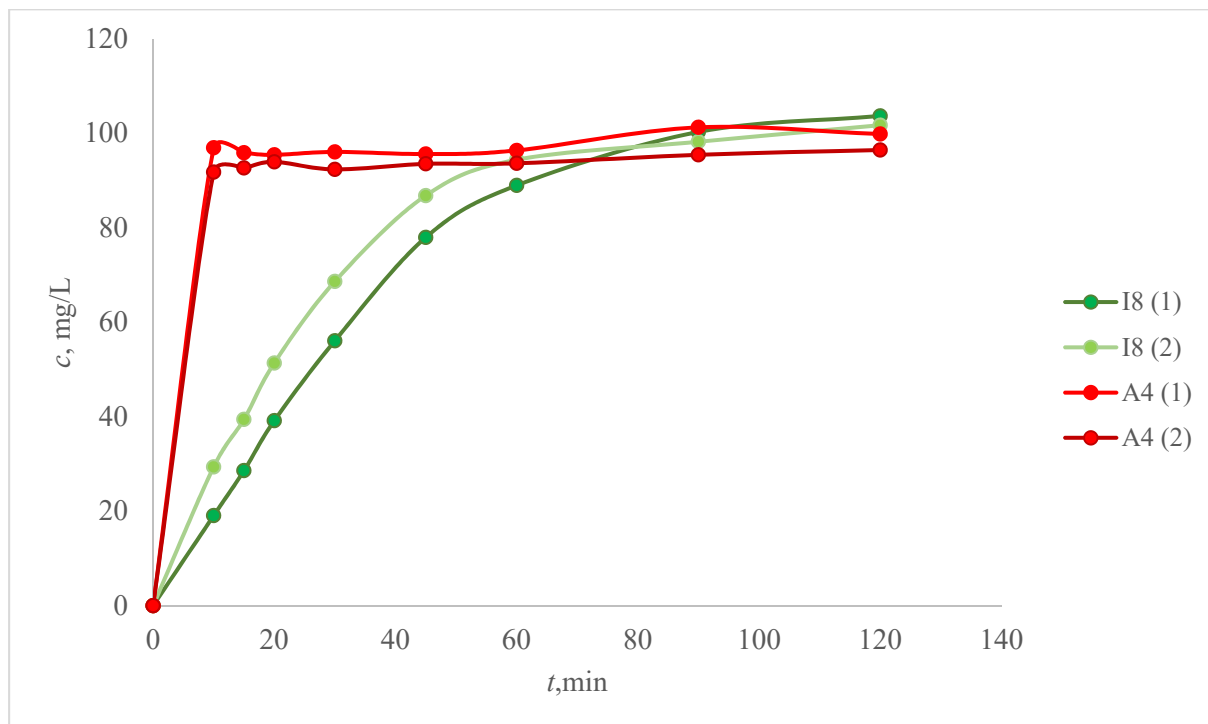


#### 4.4. REZULTATI XRD ANALIZE



*Slika 24.* Prikaz rezultata XRD analize za različite uzorke

#### 4.5. BRZINA OTPUŠTANJA DRONEDARON-HIDROKLORIDA



*Slika 25.* Prikaz brzine otpuštanja dronedaron-hidroklorida za uzorke I8 i A4

## 5. RASPRAVA

Prvi korak pri provođenju procesa prekrystalizacije dronedaron-hidroklorida bio je ispitivanje topljivosti u pojedinim otapalima kako je prikazano u *tablici 6*. Prilikom odabira otapala, vodilo se računa o topljivosti ispitivane djelatne tvari te štetnosti odabranih otapala. Iz *tablice 6*. te *Pfizerovog* vodiča za otapala prikazanim na *slici 2.*, vidljivo je da je dronedaron-hidroklorid djelomično topljiv u izabranim otapalima; (izopropanol i acetonitril) te da ona pripadaju preporučenim otapalima. Prilikom odabira otapala prema topljivosti, pri kristalizaciji je potrebno voditi računa da topljivost ne bude prevelika ( $< 50\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  na sobnoj temperaturi), stoga otapala u prvom stupcu *tablice 6*. nisu ispitivana u ovom radu.

Na uređaju *Crystal 16* određena je širina metastabilne zone dronedaron-hidroklorida za navedena otapala i smjesu otapala: acetonitril s vodom u omjeru 1:3, izopropanol s vodom u omjeru 1:2 i 2:3. Krivulje su prikazane na *slikama 18.-20*. Vidljivo je da se topljivost znatnije povećava s temperaturom iznad  $55^{\circ}\text{C}$ , te da topljivosti nisu prevelike što omogućuje uspješnu prekrystalizaciju dronedaron-hidroklorida. Za provedbu procesa važna je i širina metastabilne zone jer ona utječe na veličinu, oblik i raspodjelu kristala, a na *slikama 16. i 17.* vidimo da se ona kreće u rasponu od  $17\text{-}25^{\circ}\text{C}$ .

U ovom radu pokušala se provesti sferična kristalizacija te je u tu svrhu, voda odabrana kao antiotapalo, a ispitana su i različita otapala kao sredstvo premošćivanja. Provedbom procesa uočeno je da bez isparavanja otapala teško dolazi do kristalizacije, stoga je ispitana topljivost za dva sustava otapala koja su s antiotapalom, vodom, pomiješana u različitim omjerima. Naime, miješanjem otapala i antiotapala dobiva se smjesa koja je termodinamički nepovoljna za izdvajanje kristala dronedaron-hidroklorida. Na *slikama 18.-20.*, vidljivo je da se granica metastabilnosti pomakla prema znatno nižim temperaturama, što otežava kristalizaciju. Vidljivo da uz hlađenje do  $0^{\circ}\text{C}$  sustav acetonitril-voda (1:3) nije iskristalizirao, dok je kod sustava izopropanol-voda (1:2 i 2:3) došlo do kristalizacije tek na temperaturama ispod  $10$  odnosno  $5^{\circ}\text{C}$ .

Provedbom procesa isprobavana su sredstva za premošćivanje koja nisu mješljiva s antiotapalom, a koja će potaknuti stvaranje aglomerata. U *tablici 7.-8.* prikazane su slike dobivenih kristala. U sustavu izopropanol-voda-heptan dobiveni su igličasti kristali koji nisu povoljni za daljnji proces. Sustav izopropanol-voda-etil acetat dao je aglomerate sferičnog oblika, ali različite veličine i teksture. Većina aglomerata kristala dobivena tim sustavom bi se

smrvila pri dodiru. Sustav acetonitril-voda-heksan dao je povoljniji oblik kristala i pokazao veću sklonost aglomeriranju kristala, te je on korišten za daljnje provođenje procesa.

Kako bi se odredilo dvofazno područje pogodno za odvijanje sferične kristalizacije bilo je važno poznavanje ravnoteže između korištenih otapala. Na *slikama 21.-23.* prikazani su ternarni dijagrami za odabrane sustave s ucrtanim točkama za pojedine eksperimente. Na *slikama 21.-23.* prikazani su sustavi s acetonitriplom i izopropanolom pri različitim načinima dodavanja sredstva za premošćivanje (brzo dodavanje/lagano dokapavanje), različitim brojem okretaja miješala, veličinom kristalizatora i korištenjem razbijala unutar njega (*tablica 4.-5.*). Svi provedeni eksperimenti nalaze se uz binodalnu krivulju, s malim udjelima otapala (do 20%) i kapljevine za premošćivanje (do 25%). Naime, da bi došlo do kristalizacije u sustavu je bilo potrebno imati iznad 80 %vode, a preveliki udjeli kapljevine za premošćivanje doveli bi do stvaranja prevelikih aglomerata kristala.

*Tablice 7. i 8.* prikazuju slike kristala snimljene na stereo i svjetlosnom mikroskopu, a dobivene pri kristalizaciji dronedaron-hidroklorida s izopropanolom, odnosno acetonitriplom. Eksperimenti su provedeni u šaržnom kristalizatoru, te se tijekom procesa kristalizacije nastojalo osigurati dobre hidrodinamičke uvjete u kristalizatoru. Promjenom brzine okretaja miješala utjecalo se na postizanje potpune suspenzije u kristalizatoru, te sprječavanje taloženja kristala na dno kristalizatora. Daljnjom provedbom procesa kristalizacije, povećanjem broja okretaja miješala, nastojalo se dobiti sitne sferične aglomerate kristala. Korištenjem razbijala unutar kristalizatora, te povećanjem brzine okretaja miješala dobiveni su sitniji kristali. Zapaženo je da su kristali nakon sušenja uglavnom zadržali oblik sferičnih nakupina, međutim nisu svi jednako čvrsto povezani. U sustavu s acetonitriplom, uzorak A4 je najkompaktniji ( $AR_4$  u intervalu 0,83-0,98, *prilog 2.*). Ovaj uzorak dobiven je pri boju okretaja miješala,  $n=770 \text{ o} \cdot \text{min}^{-1}$  i odnosu otapalo – antiotapalo 1:3. Iz *tablice 7.* može se uočiti smanjenje kristala s povećanjem broja okretaja miješala. Razlog tomu je nakupljanje kristala u raspršenim kapljicama sredstva za premošćivanje koje su sitnije pri većim brzinama vrtnje miješala.

Kristali dobiveni u sustavu s izopropanolom su skloni aglomeraciji i bez dodatka sredstva za premošćivanje (uzorak I3), dodatkom etil-acetata i pri brzinama vrtnje miješala iznad  $400 \text{ o} \cdot \text{min}^{-1}$  nastali aglomerati (I5 i I7) su sitniji, manje porozni i kompaktniji ( $AR_{I5}=0,55-0,91$  te  $AR_{I7}=0,76-0,93$ ). S istim otapalom uz dodatak heptana, dobiveni su krupniji kristali, oblika izduženih pločica koji nisu skloni aglomeraciji i nastanku sferičnih aglomerata (uzorak I8).



Budući da je ovaj uzorak drugačijeg oblika od ostalih uzoraka, ispitana je njegova unutarnja struktura te je uspoređena njegova topljivost s uzorkom sferičnog oblika.

Na *slici 24.* prikazani su rezultati rendgenske difrakcije nastalih kristala za uzorak prije kristalizacije te uzorke: I5, I8 i A4. Iz prikaza je vidljivo da promjena uvjeta provedbe procesa kristalizacije, te dodatak različitih otapala i sredstava za premošćivanje ne utječu na karakteristične pikove te se može zaključiti da prekristalizacijom ne dolazi do promjene unutarnje strukture kristala. Pregledom literature, nađeno je da se DHK pojavljuje u tri polimorfna oblika, A, B i C, od čega je najstabilniji polimorf pod nazivom B.<sup>34</sup> Karakteristični pikovi dobiveni rengenksom analizom (7,62; 8,02; 13,78; 15,66; 16,18; 19,98; 21,34; 26,02; *slika 24.*) ne potvrđuju da se radi o stabilnoj strukturi B. Dobiveni piktogrami mogu se usporediti sa strukturom opisanom u patentu US20130123353.<sup>35</sup>

Za provedbu ispitivanja otpuštanja djelatne tvari odabrani su eksperimenti A4 i I8 budući su dobiveni korištenjem različitih otapala te sredstva za premošćivanje, ali i samog oblika kristala. Uzorkovanjem u određenim vremenskim intervalima, te određivanjem koncentracije na UV/Vis spektrofotometru dobiven je grafički prikaz (*slika 25.*) prema kojemu sustav I8 iako nepovoljniji zbog igličastog oblika kristala pokazuje postepeno otpuštanje tvari s vremenom (oko 45 min za 80% djelatne tvari). Kod sustava A4 ubacivanjem u fosfatni pufer došlo je u kratkom vremenskom intervalu do naglog otpuštanja tvari (<10 min za 80% djelatne tvari). Može se pretpostaviti da se aglomerati, koji su sastavljeni od sitnih kristala, uranjanjem u fosfatni pufer raspadaju te brzo otapaju zbog svoje veličine. Dodatno, radi se o kristalima dobivenim prekristalizacijom u različitim sustavima što također, može utjecati na brzinu otapanja djelatne tvari. Da bi se sa sigurnošću mogao potvrditi uzrok razlike u brzini otpuštanja djelatne tvari, potrebno je provesti daljnja istraživanja.

## 6. ZAKLJUČAK

U ovom radom je istraživana utjecaj sustava (otapalo, antiotapalo, sredstvo za premošćivanje) na granulometrijska svojstva, te strukturu nastalih kristala dronedaron-hidroklorida.

S obzirom na topljivosti ispitivane djelatne tvari, te *Pfizerov* vodič za odabir otapala odabrana su dva sustava otapala, izopropanol i acetonitril.

U cilju provedbe sferične kristalizacije, voda je izabrana kao antiotapalo dok su kao sredstva premošćivanja odabrani etil-acetat, heksan i heptan ovisno o tendenciji stvaranja aglomerata.

Provedbom procesa uočeno je da bez isparavanja otapala teško dolazi do kristalizacije, te da promjena uvjeta provedbe kao i dodatak različitih otapala i sredstava za premošćivanje ne mijenjaju unutarnju strukturu kristala.

Iz slika kristala snimljenih svjetlosnim i stereo mikroskopom vidi se da sustav acetonitril-voda-heksan daje povoljniji oblik kristala i pokazuje veću sklonost aglomeriranju kristala, te je on korišten za daljnje provođenje procesa.

Kristali dobiveni u eksperimentima A4 i I8 korišteni su za ispitivanje otpuštanja djelatne tvari. Kristali dobiveni eksperimentom I8 postepeno su se otapali, dok su se kristali A4 u kratkom vremenskom intervalu otopili.

## 7. POPIS SIMBOLA

|              |   |
|--------------|---|
| $A$          | - apsorbancija, -                                       |
| $AR$         | - omjer okomitih dimenzija kristala, -                  |
| $BH$         | - brzina hlađenja, °C h <sup>-1</sup>                   |
| $c$          | - koncentracija soli, mg L <sup>-1</sup>                |
| $I/I_{\max}$ | - intenzitet, -   |
| $m_k$        | - masa kristala, g                                      |
| $T$          | - temperatura, °C                                       |
| $t$          | - vrijeme, min  |
| $X$          | - maseni odnos, g <sub>soli</sub> /g <sub>otapala</sub> |
| $2\theta$    | - kut difrakcije, °                                     |

## 8. LITERATURA

1. Leon, R.A.L., et al., Simultaneous Spherical Crystallization and Co-Formulation of Drug(s) and Excipient from Microfluidic Double Emulsions, *Cryst. Growth Des.* (2014), 14, 140–146.
2. Krishna, E. H., et al., Spherical crystallisation- a modern technique for direct compression of pharmaceutical substances, *Asian J Pharm Clin Res.*(2012), 5 (4), 114-117.
3. Sander, A., Jedinične operacije u ekoinženjerstvu, interna skripta, 2011.
4. Giulietti, M., Bernardo, A., Crystallization by Antisolvent Addition and Cooling, *Chemical Engineering Department Federal University of São Carlos UFSCar, Brasil*, (2012), 380-396.
5. Vedantam, S., Ranade, V. V., Crystallization: Key thermodynamic, kinetic and hydrodynamic aspects, *Sadhana* (2013), 38 (6), 1287-1337.
6. Jones, A. G., Crystallization process systems, Butterworth-Heinemann, 2002.
7. Alatalo, H., Supersaturation-controlled crystallization, *Lappeenranta University of Technology* (2010), 17-104.
8. *Practica in Process Engineering II, Crystallization, Zurich* (2014), 1-9.
9. Svärd, M., Structural, Kinetic and Thermodynamic Aspects of the Crystal Polymorphism of Substituted Monocyclic Aromatic Compounds, *Doktorska disertacija, Švedska* (2011.), 1-75.
10. Van der Graaf, J., Sonocrystallization, Nucleation of ammonium sulfate and alfa-lactose monohydrate due to ultrasonic irradiation, *Delft University of Technology* (2011.), 1-48.
11. Häkkinen, A., The influence of crystallization conditions on the filtration characteristics of sulphathiazole suspensions, *Lappeenranta University of Technology* (2009), 17-142.
12. Čavlina, A., Utjecaj procesnih parametara na granulometrijska svojstva memantin hidrogen sulfata u procesu šaržne kristalizacije, *Diplomski rad, FKIT, Zagreb* (2015), 1-42.
13. Hargreaves, C. R., Manley, J. B., ACS GCI Pharmaceutical Roundtable, Collaboration to Deliver a Solvent Selection Guide for the Pharmaceutical Industry, URL: <https://www.acs.org/content/dam/acsorg/greenchemistry/industriainnovation/roundtable/solvent-selection-guide.pdf> (2017/6/22)

14. Kalbasenka, A., Model – Based Control of fundamental Batch Crystallizers, Delft University of Technology (2009), 1-251.
15. Fiordalis, A., Georgakis, C., Optimizing Batch Crystallization Cooling Profiles: The Design of Dynamic Experiments Approach, Proceedings of the 9th International Symposium on Dynamics and Control of Process Systems (DYCOPS 2010), Leuven, Belgium (2010), 31-36.
16. J.Nývlt, O.Söhnel, M.Matuchová, M.Broul, The Kinetics of Industrial Crystallization, Academia Prague, Prague, 1985.
17. Tung, H.-H., et al., Crystallization of Organic Compound, An industrial perspective, A John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey (2009), 1-277.
18. Nagy, Z. K., Fujiwara, M., Braatz, R. D., Modelling and control of combined cooling and antisolvent crystallization processes, J. Process Contr. (2008), 1-9.
19. Pralas, I., Utjecaj dodataka na proces kristalizacije, Diplomski rad, FKIT, Zagreb (2016), 2-49.
20. Myerson, A. S., Handbook of Industrial Crystallization, Butterworth & Heinemann, Oxford, 2. izdanje, 2002.
21. Parida, R., et al., Overview of spherical crystallisation in pharmaceuticals, International Journal of Pharma and Bio Sciences (2010), 1(3), 1-6.
22. Kovačić, B., Vrečer, F., Planinšek, O., Spherical crystallization of drugs, Acta Pharm Slovenija (2012), 62, 1-14.
23. Parida, R., Evaluation parameters for spherical agglomerates formed by spherical crystallisation technique, International Journal of Pharma and Bio Sciences (2010), 1(3), 1-10.
24. Javadzadeh, Y., et al., Spherical Crystallization of Drugs, Intech (2015), 85-98.
25. Iram, F., et al., A review on dronedarone: Pharmacological, pharmacodynamic and pharmacokinetic profile, Journal of Acute Disease (2016), 5(2), 102-108.
26. <http://www.eurokor.hr/index.php/proizvoai/kemijske-sirovine-i-proizvodi/> (2017/6/20)
27. <https://bs.wikipedia.org/wiki/> (2017/6/20)
28. <http://www.enciklopedija.hr/> (2017/6/20)

29. Tiwari, S., Verma, P., Spherical crystallization – A novel drug delivery system, International journal of pharmacy and life sciences (2011), 2(9), 1065-1068.
30. Bharti, N., et al., Spherical Crystallization: A Novel Drug Delivery Approach, Asian Jpurnal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences (2013), 3(18), 10-16.
31. Varinder, S., Rathore, M. S., Spherical Agglomeration Techniques and their Evaluation Parameters, Int. J. Drug Dev. & Res. (2013), 5 (3), 67-76.
32. Krishna, E. H., et al., Modification of drug particle morphology by spherical crystallization technique to obtain directly compressible material, Der Pharmacia Sinica (2013), 4(1),77-87.
33. [http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp\\_getallData.cfm](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_getallData.cfm) (2017/6/28)
34. Baillon, B., Comte, M., SANOFI-AVENTIS, Pariz (2011). Crystallized form of dronedarone base, USA. Patent broj: US 2011/0230553 A1.
35. Sun, P., Pan, K., Wu, Y., Jiangsu Hengrui Medicine Co., Ltd. (2013). Dronedarone solid dispersion and preparation method thereof. Patent broj: US20130123353 A1.

## 9. PRILOZI

### Prilog 1.

U tablicama su prikazani postupci eksperimenata za sustave sa acetonitrilom i izopropanolom.

|                    |   |
|--------------------|---|
| Naziv eksperimenta | A1  |
| Početni sastav     | 150 ml acetonitrila<br>10,5 g DHK*  |
| Postupak           | <ul style="list-style-type: none"><li>◦ otapanje DHK* na 55°C</li><li>◦ hlađenje od 55°C do 11°C uz BH 12°C/h</li><li>◦ pri temp. od 30°C dodano 150 ml demineralizirane vode</li><li>◦ rotacijski isparivač (<math>V_{\text{destilata}} = 120</math> ml)</li><li>◦ za kristalizaciju preostalo 180 ml otopine uz brzo dodavanje heksana (40 ml) u određenim vremenskim razmacima uz smanjene broja okretaja miješala</li></ul> |

|                    |   |
|--------------------|---|
| Naziv eksperimenta | A2  |
| Početni sastav     | 40,7 ml acetonitrila<br>1,58 g DHK*   |
| Postupak           | <ul style="list-style-type: none"><li>◦ otapanje DHK* na 50°C</li><li>◦ dodatak 192 ml demineralizirane vode</li><li>◦ rotacijski isparivač (<math>V_{\text{destilata}} = 18</math> ml)</li><li>◦ za kristalizaciju preostalo 215 ml otopine, od čega se 125 ml koristilo za dodavanje heksana, a ostatak za dodavanje izooktana</li><li>◦ postupak za izooktanom nije uspio dok je za postupak s heksanom dokapavano 4 ml heksana u razmaku od 15 minuta uz brzinu okretaja miješala 600 o/min</li></ul> |

|                    |  |
|--------------------|--|
| Naziv eksperimenta | A3   |
| Početni sastav     | 63,6 ml acetonitrila<br>3,26 g DHK*  |
| Postupak           | <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ otapanje DHK* na 50°C</li> <li>◦ pomoću pumpe (protok 7,5 ml/min) dodano u 300 ml demineralizirane vode</li> <li>◦ iskristaliziralo bez isparavanja</li> <li>◦ za kristalizaciju uz dodatak heksana korišteno 180 ml</li> <li>◦ broje okretaja miješala 770 o/min uz lagano dokapavanje 2 ml heksana u vremenskim razmacima od 15 minuta</li> </ul> |

|                    |   |
|--------------------|---|
| Naziv eksperimenta | A4  |
| Početni sastav     | 71,2 ml acetonitrila<br>2,76 g DHK*   |
| Postupak           | <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ otapanje DHK* na 50°C</li> <li>◦ pomoću pumpe (protok 50 ml/min) prebačeno u 128 ml demineralizirane vode</li> <li>◦ rotacijski isparivač (<math>V_{\text{destilata}} = 30\text{ml}</math>)</li> <li>◦ dodatak još 30 ml demineralizirane vode, ostavljeno jedan dan</li> <li>◦ pri 770 o/min i 25°C lagano dokapavano 5 ml heksana u vremenskim razmacima od 15 minuta</li> </ul> |



|                    |  |
|--------------------|--|
| Naziv eksperimenta | I1   |
| Početni sastav     | 50 ml izopropanola<br>1,65 g DHK*  |
| Postupak           | <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ otapanje DHK* na 55°C</li> <li>◦ pomoću pumpe (protok 7,5 ml/min) prebačeno u 100 ml demineralizirane vode</li> <li>◦ rotacijski isparivač (<math>V_{\text{destilata}}=77</math> ml)</li> <li>◦ preostalo korišteno za kristalizaciju uz dodavanje heksana i etil-acetata</li> <li>◦ uspješan eksperiment bio je uz brzo dodavanje etil-acetata (<math>\approx 4,8</math> g)</li> </ul> |

|                    |  |
|--------------------|--|
| Naziv eksperimenta | I2   |
| Početni sastav     | 100 ml izopropanola<br>3,3 g DHK*  |
| Postupak           | <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ otapanje DHK* na 55°C</li> <li>◦ pomoću pumpe (protok 7,5 ml/min) prebačeno u 200 ml demineralizirane vode i uz hlađenje od 55°C do 25°C</li> <li>◦ 2x rotacijski isparivač (nakon 1. isparavanje dodano 50 ml demineralizirane vode)</li> <li>◦ za kristalizaciju preostalo 45 ml ukupne otopine</li> <li>◦ postupak proveden pri 25° C, broj okretaja miješala 500 o/min i uz brzo dodavanje etil-acetata (6 ml)</li> </ul> |

|                    |  |
|--------------------|--|
| Naziv eksperimenta | I3   |
| Početni sastav     | 200 ml izopropanola<br>6,6 g DHK*  |
| Postupak           | <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ otapanje DHK* na 55°C</li> <li>◦ hlađenje od 55°C do 20°C uz BH 10°C/h</li> <li>◦ broj okretaja miješala smanjen od 500 o/min do 350 o/min</li> </ul> |

|                    |  |
|--------------------|--|
| Naziv eksperimenta | I4 i I5  |
| Početni sastav     | 200 ml izopropanola<br>6,6 g DHK*  |
| Postupak           | <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ otapanje DHK* na 55°C</li> <li>◦ hlađenje do 38° C uz BH= 7°C/h</li> <li>◦ pumpom (protok 7,5 ml/min) prebačeno u 300 ml demineralizirane vode</li> <li>◦ rotacijski isparivač (<math>V_{\text{destilata}} = 85 \text{ ml}</math>)</li> <li>◦ za kristalizaciju potom uzeto 200 ml uz brzo dodavanje etil-acetata</li> <li>◦ budući da se nije ništa dešavalo, pumpom (protok 7,5 ml/min) prebačeno 100 ml u 50 ml demineralizirane vode</li> <li>◦ rotacijski isparivač (<math>V_{\text{destilata}} = 50 \text{ ml}</math>) uz brzo dodavanje etil-acetata (14 ml)</li> <li>◦ za dobivanje kristala oznake I5 uzeto je oko 100 ml ukupne otopine nakon 1x</li> </ul> |

|  |  |
|--|--|
|  | isparavanje<br>◦ lagano dokapavano 11 ml etil-acetata pri brzini okretaja miješala 350 o/min |
|--|--|

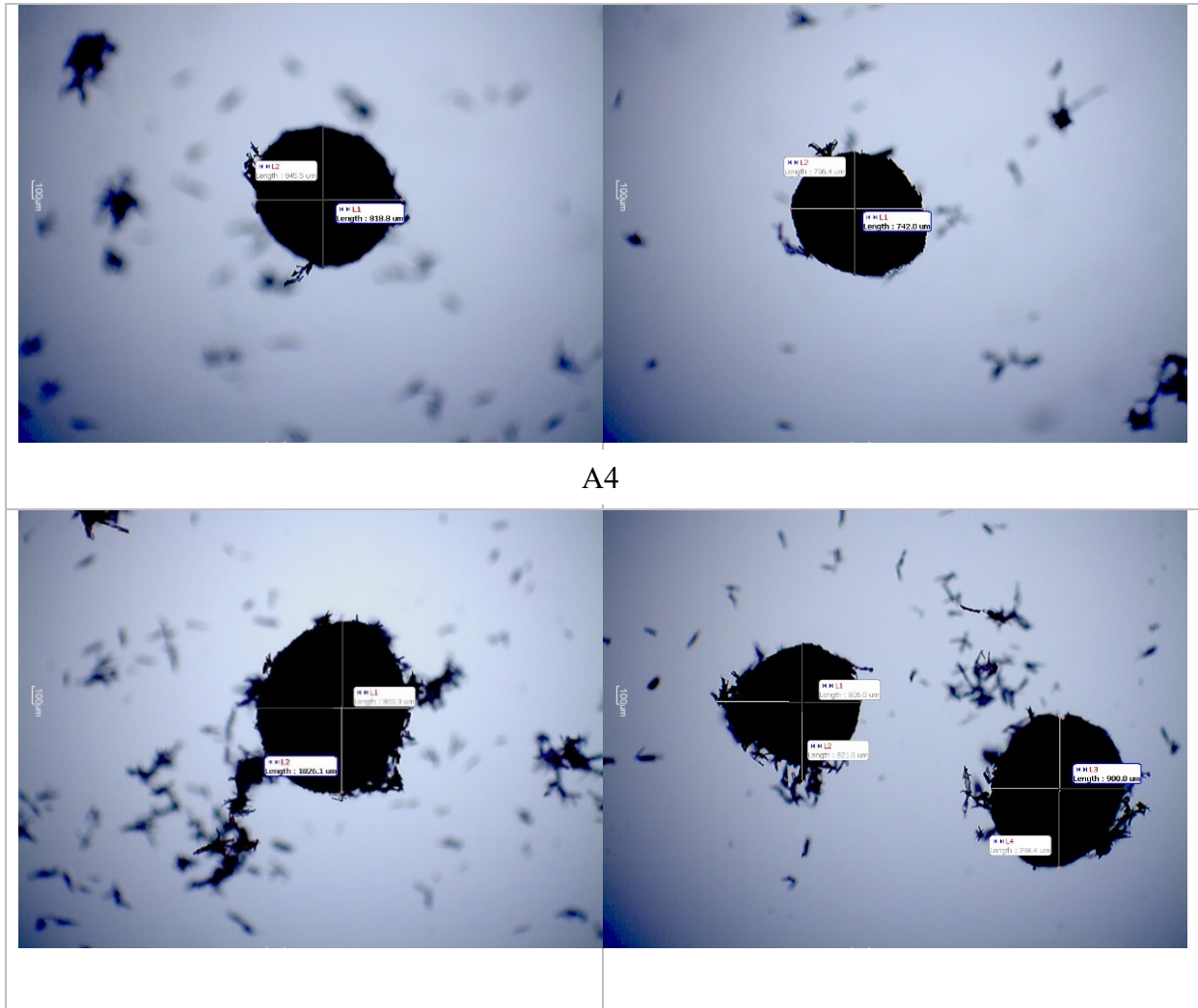
|                    |  |
|--------------------|--|
| Naziv eksperimenta | I6   |
| Početni sastav     | 200 ml izopropanola<br>6,6 g DHK*  |
| Postupak           | <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ otapanje DHK* na 55°C</li> <li>◦ ohlađeno do 40°C te pumpom (protok 50 ml/min) prebačeno u 300 ml demineralizirane vode</li> <li>◦ za kristalizaciju korišteno 200 ml ukupne otopine uz djelovanje ultrazvuka (A=20%, 10 min)</li> <li>◦ hlađenje do 20 °C uz BH= 10°C/h</li> <li>◦ rotacijski isparivač (<math>V_{\text{destilata}}=45</math> ml)</li> <li>◦ ostatak korišten za kristalizaciju pri 25 °C uz dokapavanje etil-acetata</li> <li>◦ rotacijski isparivač (<math>V_{\text{destilata}}=70</math> ml)</li> <li>◦ za kristalizaciju potom korišteno <math>\approx 70</math> ml uz dokapavanje etil-acetata (13 ml)</li> </ul> |

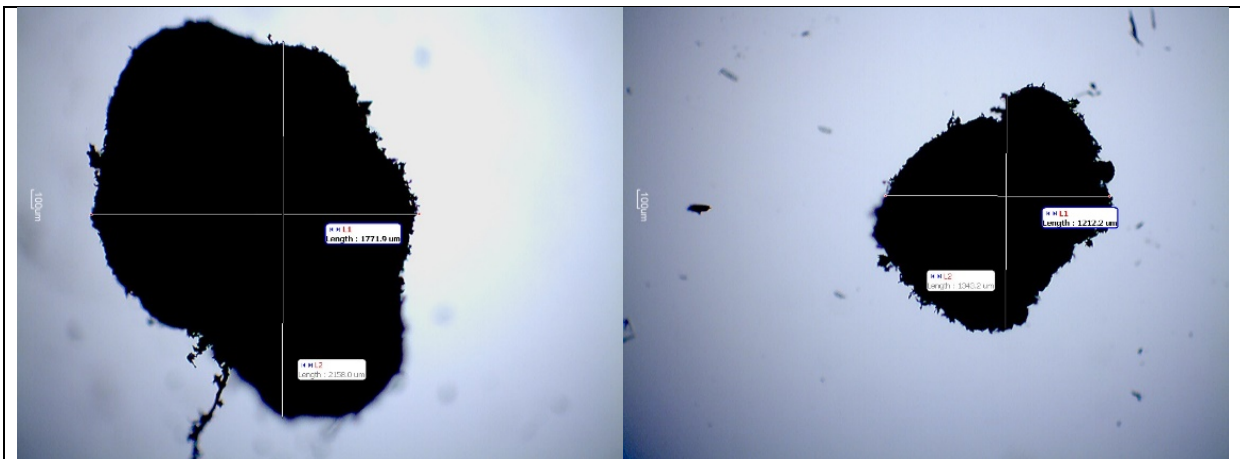
|                    |  |
|--------------------|--|
| Naziv eksperimenta | I7   |
| Početni sastav     | 200 ml izopropanola<br>6,6 g DHK*  |
| Postupak           | <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ otapanje DHK* na 55°C</li> <li>◦ ohlađeno do 40°C te pumpom (protok 50 ml/min) prebačeno u 300 ml demineralizirane vode</li> <li>◦ rotacijski isparivač (<math>V_{\text{destilata}}=135</math> ml)</li> <li>◦ ostatak za kristalizaciju odstojao jedan dan, te zatim djelovanje ultrazvuka (<math>A=20\%</math>, 3 min)</li> <li>◦ lagano dokapavanje etil-acetata (12 ml)</li> </ul> |

|                    |   |
|--------------------|---|
| Naziv eksperimenta | I8  |
| Početni sastav     | 300 ml izopropanola<br>9,9 g DHK*   |
| Postupak           | <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ otapanje DHK* na 55°C</li> <li>◦ ohlađeno do 40°C te pumpom (protok 50 ml/min) prebačeno u 450 ml demin. vode</li> <li>◦ rotacijski isparivač (<math>V_{\text{destilata}}=267</math> ml)</li> <li>◦ za kristalizaciju korišteno 100 ml uz dokapavanje heptana (14 ml) i dodatak 17 ml demineralizirane vode</li> </ul> |

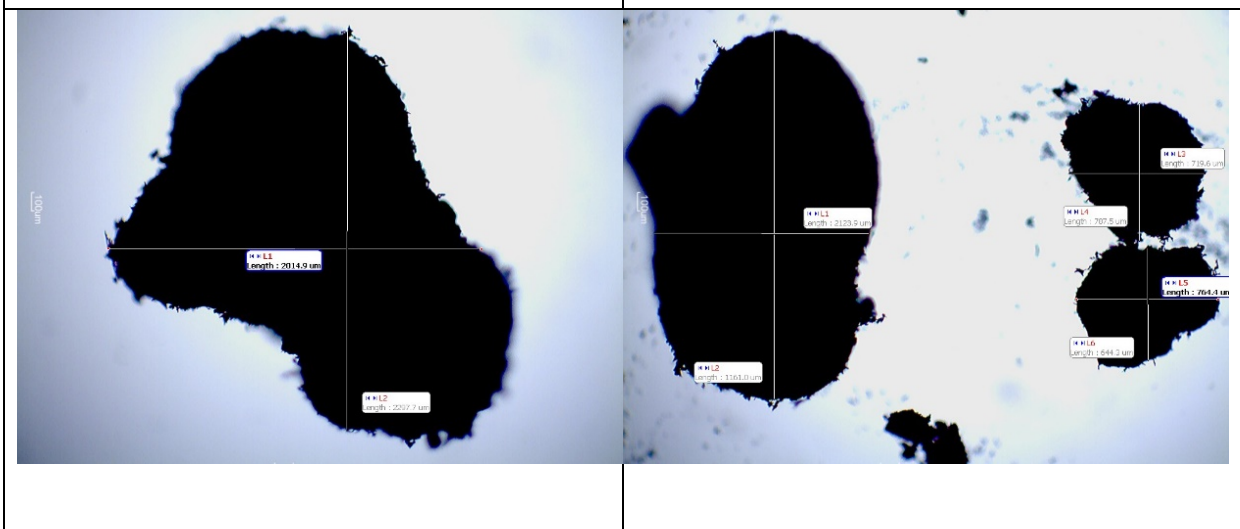
## Prilog 2.

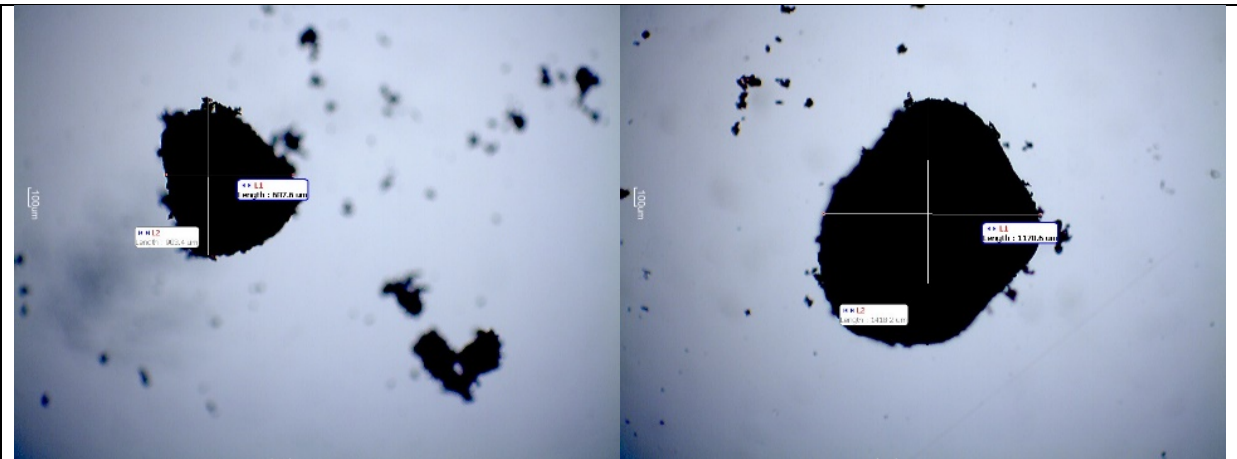
U tablici je prikazano određivanje Aspect ratio (omjer okomitih dimenzija kristala) kristala za sustave A4, I5 i I7.



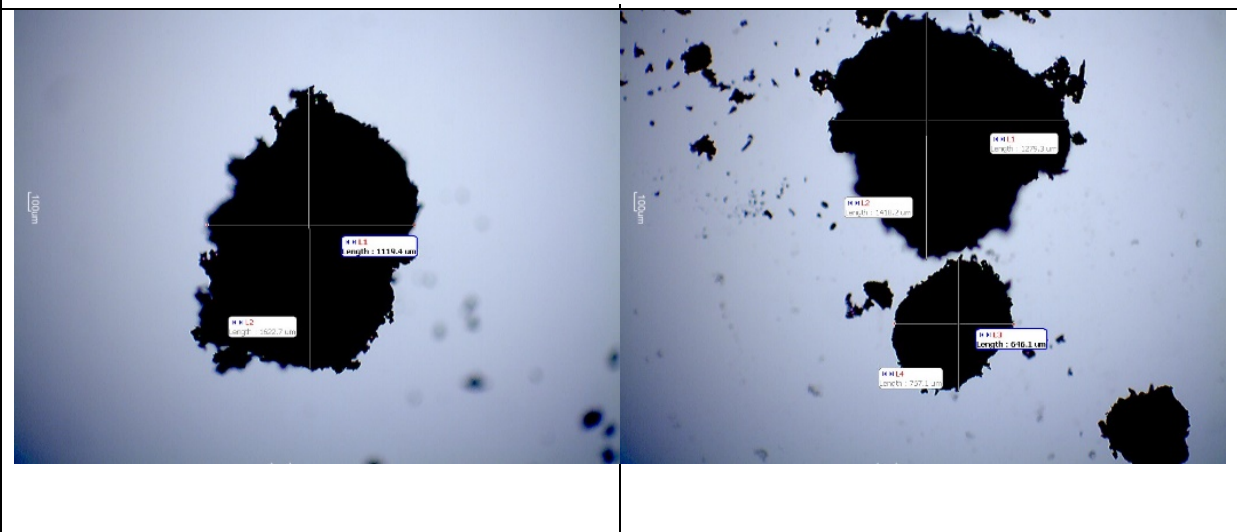


I5





I7



## ŽIVOTOPIS

████████████████████ Osnovnu školu pohađala sam u OŠ "Ivan Goran Kovačić" u Velikoj, te potom upisujem Gimnaziju u Požegi. Akademske godine 2011./2012. upisala sam Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, preddiplomski studij Ekoinženjerstvo. Akademske godine 2015./2016. upisala sam diplomski studij Ekoinženjerstvo na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu. Sudjelujem s posterskim izlaganjem na XI. Susretu mladih kemijskih inženjera 2016. godine u Zagrebu, na temu "Biodizel iz životinjskih masnoća: sinteza i karakterizacija".