

3D-tiskani oralni dozirni oblici punjeni disperzijom ulja i djelatne tvari

Milićević, Andrea

Master's thesis / Diplomski rad

2019

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:149:607331>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-28**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Andrea Milićević

**3D-TISKANI ORALNI DOZIRNI OBLICI PUNJENI DISPERZIJOM
ULJA I DJELATNE TVARI**
DIPLOMSKI RAD

Voditelj rada: prof. dr. sc. Gordana Matijašić

Članovi ispitnog povjerenstva:
prof. dr. sc. Gordana Matijašić
izv. prof. dr. sc. Krunoslav Žižek
doc. dr. sc. Igor Dejanović

Zagreb, srpanj 2019.

*Diplomski rad izrađen je u Zavodu za mehaničko i toplinsko procesno inženjerstvo Fakulteta
kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.*

SAŽETAK

Čvrsti oralni dozirni oblici zauzimaju najveći dio tržišta farmaceutske industrije i najbolje su primljeni kod pacijenata, no postoje razne poteškoće vezane za njihov razvoj, proizvodnju i primjenu. Implementacijom tehnologije 3D-tiska u ranoj fazi razvoja lijeka mogla bi se značajno smanjiti potrošnja resursa te bi se taj obično dugotrajan proces mogao znatno skratiti. Također, tehnologija 3D-tiska ima potencijal biti veliki korak ka proizvodnji personaliziranih lijekova.

U ovom radu ispitana je mogućnost izrade farmaceutskih dozirnih oblika različite geometrije i debljine stijenke tehnologijom 3D-tiska taložnim srašćivanjem, metodom zaustavljanja tiska, doziranja djelatne tvari te nastavljanja tiska. Kao djelatna tvar korišten je dronedaron-hidroklorid koji je doziran u obliku disperzije u Labrafil ulju, a kao filament korišten je komercijalni PVA filament. Printani oblici podvrgnuti su *in vitro* ispitivanju otpuštanja djelatne tvari, a rezultati su obrađeni u dodatku za Microsoft Excel, DDSolver.

Uspješnom provedbom 3D-tiska dobiveno je šest različitih modela čvrstih polimernih dozirnih oblika. Rezultati ispitivanja otpuštanja djelatne tvari pokazali su pravilne i usporedive profile otpuštanja s početnom vremenskom zadržskom, funkcijski povezanom s debljinom stijenke oblika. Profili su opisani Makoid-Banakarovim modelom s vremenskom zadržskom i Peppas-Sahlinovim 2 modelom s vremenskom. Pokazano je da tehnologija 3D-tiska ima potencijal postati metodom za jednostavnu i brzu izradu personaliziranih dozirnih oblika s odgođenim otpuštanjem.

ABSTRACT

Solid oral dosage forms occupy most of the pharmaceutical industry's market and are best received in patients, but there are various difficulties during their development, production and application. The implementation of 3D printing technology at an early stage of development could greatly reduce resource consumption, and this long-lasting process could be significantly shortened. Also, 3D printing technology has the potential to be a major step towards producing personalized medicines.

In this study, the possibility of producing pharmaceutical dosage forms by Fused Deposition Modeling 3D printing technology is examined. Models with different geometries and thickness are printed, and the dispersion of active ingredient in oil is added during a pause in printing. Dronedarone hydrochloride is used as an active ingredient, Labrafil is used as an oil phase, and commercial PVA filament is used as a printing material. Printed dosage forms were subjected to *in vitro* dissolution tests and the results are interpreted in Microsoft Excel Add-In, DDSolver.

Successful performance of 3D printing has provided six different models of solid polymer dosage forms. The results of dissolution tests showed proper and comparable release profiles with initial time delay, functionally related to the thickness of the shape wall. The profiles are described by the Makoid-Banakar model with time lag and the Peppas-Sahlin 2 model also with time lag. It is shown that 3D printing technology has the potential to become a method for a quick and simple production of personalized dosage forms with delayed release.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. Konvencionalni dozirni oblici.....	2
2.2. Tehnologija 3D-tiska u farmaceutskoj industriji	4
2.2.1. Trodimenzionalni tisak.....	4
2.2.2. Prednosti korištenja tehnologije 3D-tiska u farmaceutskoj industriji.....	5
2.2.3. Izvedbena i regulatorna ograničenja	7
2.3. Ispitivanje kinetike otpuštanja djelatne tvari	9
2.3.1. <i>In vitro</i> – <i>in vivo</i> korelacija	9
2.3.2. Ispitivanje otpuštanja lijeka.....	10
2.3.3. Mehanizmi otpuštanja	10
2.3.4. Modeli	12
3. EKSPERIMENTALNI DIO	13
3.1. Materijali	13
3.2. Izrada modela.....	14
3.3. 3D-tisak.....	15
3.4. Metode karakterizacije	16
3.4.1. Određivanje sadržaja dronedarona	16
3.4.2. Ispitivanje brzine otpuštanja dronedarona	16
3.5. Obrada podataka.....	18
4. REZULTATI	20
4.1. Geometrijske značajke modela.....	20
4.2. 3D-tiskani oblici	20
4.3. Sadržaj dronedarona u doziranoj disperziji	21
4.4. Profili otpuštanja.....	22
4.5. Kinetički modeli.....	27
4. 5. 1. Utjecaj debljine stijenke na vremensku zadržku	34
4. 5. 2. Utjecaj početne koncentracije na kinetiku otpuštanja.....	35
4. 5. 3. Utjecaj površine i faktora oblika na kinetiku otpuštanja	36
5. RASPRAVA.....	37
5.1. Početne postavke	37
5.2. 3D-tisak.....	39
5.3. Kinetika otpuštanja	39
6. ZAKLJUČAK	42
7. POPIS SIMBOLA.....	43
8. LITERATURA.....	44

1. UVOD

Tehnologija 3D-tiska nalazi rastuću primjenu u brojnim industrijama. Zbog brze i relativno jeftine izrade predmeta svih mogućih oblika i veličina različitim materijalima, koristi se za proizvodnju raznih proizvoda, od dijelova za automobile do kuća. Jako je interesantna njezina primjena u medicini, gdje se koristi prednost individualizirane proizvodnje za izradu personaliziranih implantata, organa, kardiovaskularnih stentova, krvnih žila, dijelova kosti, ali i kao pomoćno sredstvo u kirurškoj domeni za poboljšanje dijagnostike i razumijevanja u planiranju operacije. [1]

Također, zadnjih nekoliko godina nalazi rastuću primjenu u razvoju inovativnih lijekova. Štoviše, u farmaceutskom sektoru se tehnologija 3D-tiska ubraja u revolucionarne trendove u razvoju farmaceutskih pripravaka. 2016. godine pripravak za liječenje epilepsije, *Spritam*, američke tvrtke *Apresia Pharmaceuticals*, postao je prvi lijek odobren od strane Američke agencije za hranu i lijekove (*U. S. Food and Drug Administration, FDA*) proizveden ovom tehnologijom. Nakon toga su čvrsti oralni dozirni oblici proizvedeni 3D-tiskom dobili i svoje ime – *printlets*. [2]

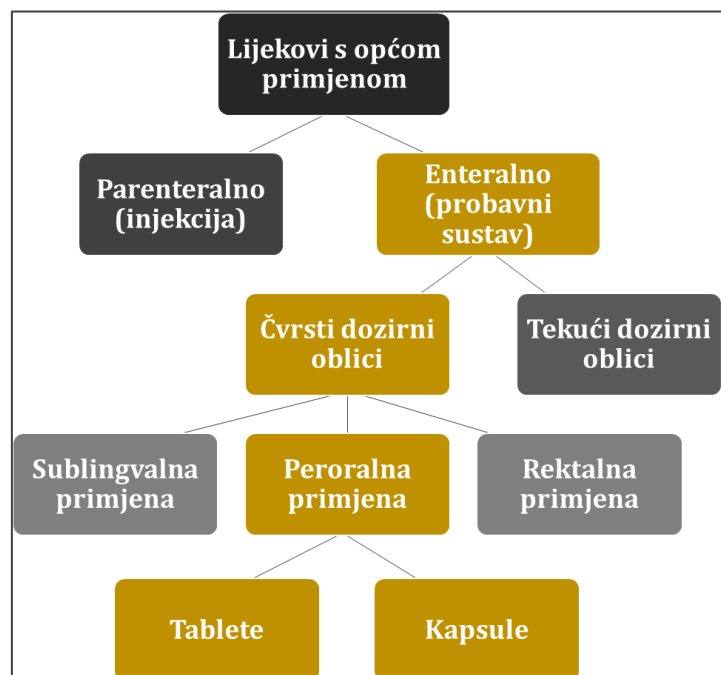
Cilj ovog istraživanja je izrada različitih modela dozirnih oblika tehnologijom 3D-tiska, doziranje disperzije ulja i djelatne tvari tijekom same izrade modela – zaustavljanjem i nastavljanjem 3D-tiska te ispitivanje kinetike otpuštanja djelatne tvari iz dobivenih dozirnih oblika.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Konvencionalni dozirni oblici

Farmaceutski dozirni oblik ili farmaceutska formulacija prema definiciji podrazumijeva fizikalni oblik u kojem se određeni lijek proizvodi i izdaje [3]. Svaki dozirni oblik uz djelatnu tvar/tvari sadrži pomno odabrane pomoćne tvari i izrađen je precizno definiranim procesima u svrhu postizanja kliničke djelotvornosti i što manje škodljivosti djelatne tvari.

Dozirni oblici mogu biti u krutom, polukrutom, tekućem i plinovitom stanju, a mogu se primjenjivati opće (djelovanjem kroz krvotok) i lokalno (primjerice transdermalno direktno na oboljelo mjesto). Lijekovi koji imaju opće djelovanje u krvotok dolaze procesom apsorpcije iz probavnog sustava (enteralna primjena) ili direktnom apsorpcijom (parenteralna primjena) (slika 1) [4].



Slika 1. Podjela dozirnih oblika s općom primjenom (krvotok)

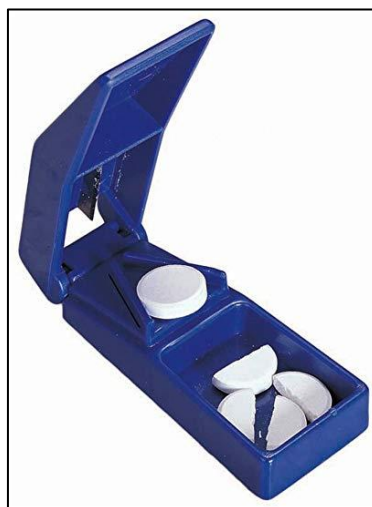
Najčešće korišteni lijekovi su **oralni dozirni oblici**; najbolje su prihvaćeni kod pacijenata jer imaju jednostavnu i ugodnu primjenu, relativno su sigurni i jeftini [5]. Predviđa se kako će tržište oralnih dozirnih oblika u SAD-u doseći 54 % ukupnog tržišta dozirnih oblika prema načinu primjene do 2020. godine [6]. Također, čak jedna trećina inovativnih razvijenih pripravaka u 2018. su oralni dozirni oblici [7].

Većina oralnih dozirnih oblika (tablete i kapsule) proizvodi se konvencionalnim proizvodnim procesima koji su prvi put izvedeni prije oko 200 godina. Neki dijelovi tih

procesa, poput direktnog komprimiranja i kapsuliranja, zbog velike isplativosti pri masovnoj proizvodnji i danas su prisutni u više-manje istom obliku. Posljedica ovakve proizvodnje su visoki kapitalni troškovi, prostorna i vremenska neekonomičnost te potreba za visoko-stručnim osobljem koje će provoditi mnogobrojne korake procesa proizvodnje (mljevenje, miješanje, granuliranje itd.) koji moraju funkcionirati učinkovito, precizno i sigurno. Pored izvedbenih poteškoća, najveći nedostatak konvencionalne proizvodnje je nemogućnost proizvodnje pripravaka kod kojih je moguće utjecati na dozu (količinu lijeka koju je potrebno unijeti u organizam).

Pri konvencionalnoj proizvodnji, ukoliko se određeni lijek proizvodi u nekoliko različitih doza, te doze su određene u ranoj fazi razvoja lijeka kao doze koje imaju siguran i terapijski učinak na većinu populacije. Međutim, doza nekog lijeka koja je potrebna određenom pacijentu može bitno varirati ovisno o faktorima poput dobi, spola, mase, ali i ozbiljnosti bolesti, prethodnim reakcijama na lijekove itd. Oko 80 % nuspojava koje se javljaju kod hospitaliziranih pacijenata ili koje uzrokuju hospitalizaciju su one uzrokovane upravo netočnom dozom lijeka [8]. Modifikacije doza u svrhu prilagodbe različitim pacijentima se inače postižu ili uzimanjem više pripravaka s manjom dozom ukoliko je potrebna veća doza od one koja je dostupna na tržištu, ili cijepanjem pripravaka veće doze, najčešće rukama, nožem ili malim uređajima (engl. *tablet splitter*) (slika 2) [9], ukoliko je potrebna manja doza od dostupne. Cijepanje čvrstih dozirnih oblika u većini slučajeva uzrokuje nejednaku raspodjelu mase djelatne tvari između dijelova te na kinetiku otpuštanja, primjerice kod obloženih tableta.

Stoga se u novije vrijeme fokus premješta s *jedna-veličina-za-sve* pristupa (engl. *one-size-fits-all*) na individualiziran pristup liječenju pacijenata, odnosno tzv. personalizirane lijekove. Također, naglasak je stavljen na fleksibilnost reguliranja doza još od najranijih faza razvoja lijeka. [5]



Slika 2. Uređaj za cijepanje doza tableta

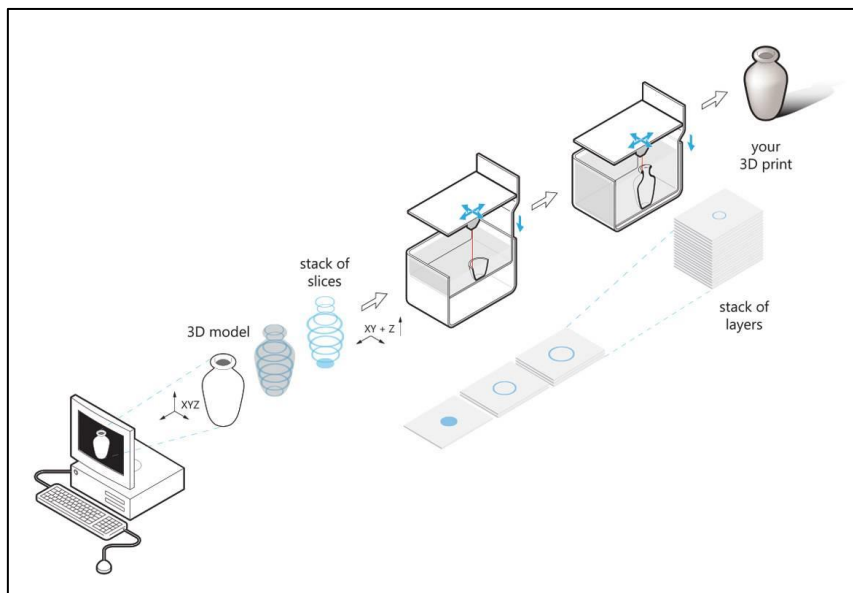
2.2. Tehnologija 3D-tiska u farmaceutskoj industriji

2.2.1. Trodimenzionalni tisak

Trodimenzionalni – 3D-tisak je aditivna proizvodna tehnologija čiji počeci sežu u osamdesete godine prošlog stoljeća patentom stereolitografije [10] kao tehnologije izrade trodimenzionalnih oblika upotrebom materijala koji se stvrdnjavaju pomoću ultraljubičastog zračenja. Objekt se izrađuje sloj po sloj, odozdo prema gore, tvoreći određeni oblik.

Postoji više tehnologija 3D-tiska kojima je zajednički početni korak: model željenog proizvoda izrađuje se u digitalnom obliku koristeći računalni *Computer Aided Design (CAD)* program. *CAD* programi omogućuju trodimenzionalno modeliranje predmeta uz pomoć prostorno određenih elemenata te danas imaju vodeću ulogu u dizajniranju, projektiranju i konstruiranju u svim granama inženjerstva. Postoje razne vrste komercijalnih *CAD* programa kao i onih otvorenog koda koji se razlikuju ovisno o primijenjenoj tehnologiji. [11]

Gotov model se u .stl formatu stavlja u tzv. *Slicer*, program koji služi za definiranje postavki tiska te koji „reže“ (engl. *slice = rezati*) model u vodoravne slojeve koji se mogu promatrati kao dvodimenzionalni elementi koje printer slaže jedan na drugog pomičući se po z osi (slika 3). Također se mogu definirati i temperatura podloge i/ili mlaznice, postavljanje potpora pri printu, ispunjavanje šupljina itd. *Slicer* pretvara .stl format u g-code format kojeg printer prepoznaje. Shematski prikaz tijeka 3D-tiska prikazan je na slici 3 [13]. [12]



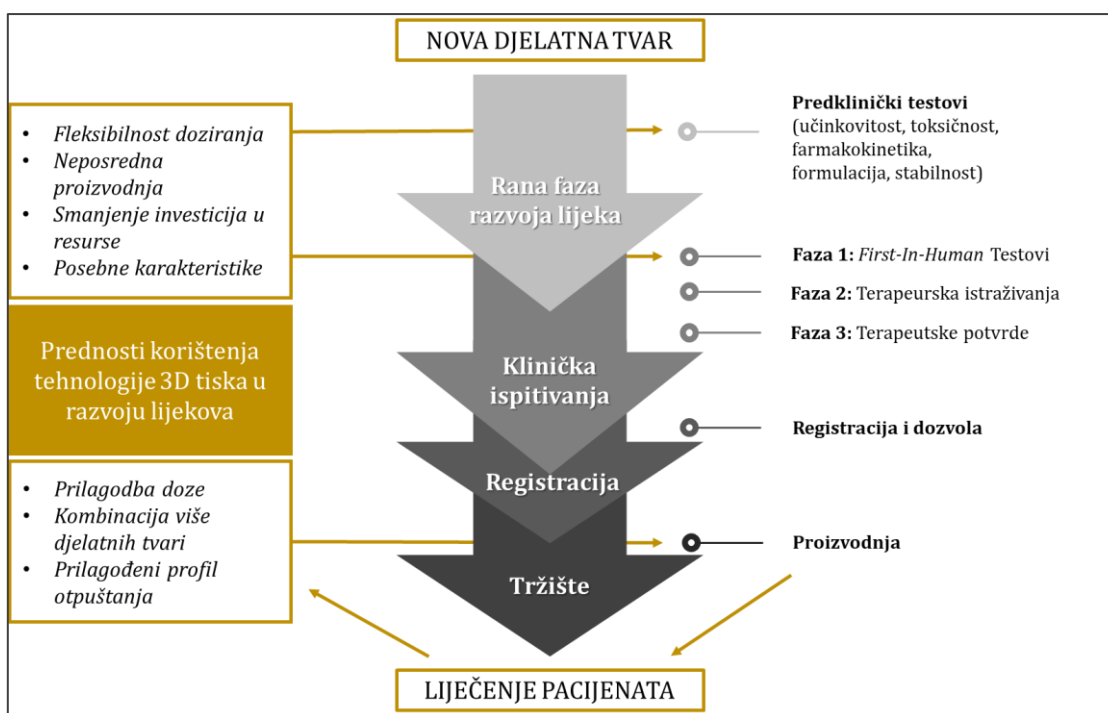
Slika 3. Shematski prikaz tijeka 3D-tiska

Vrste tehnologija 3D-tiska prema mehanizmu tiskanja [5]:

- *Stereolitografija* (engl. *Stereolithography (SLA) 3D printing*) – temelji se na principu fotopolimerizacije pomoću ultraljubičastog lasera.
- *3D-tisak s praškastom bazom* (engl. *Powder based (PB) 3D printing*) – temelji se na principu nanošenja tankih slojeva praška koji se spaja pomoću kapljica veziva nanešenih inkjet printerom ili piezoelektričnom glavom printera.
- *Selektivno lasersko sinteriranje* (engl. *Selective Laser Sintering (SLS) 3D printing*) – temelji se na principu sinteriranja i vezanja praška sloj po sloj pomoću laserske zrake.
- *3D-tisak na bazi ekstruzije* (engl. *Extrusion based (EXT) 3D printing*) – temelji se na principu ekstruzije polukrutih materijala (npr. homogenih pasti, želatina i sl.) na podlogu koja se kreće na definiran način kako bi se formirao proizvod.
- *Taložno sraščivanje* (engl. *Fused Deposition Modelling (FDM) 3D printing*) – temelji se na principu ekstruzije termoplastičnog filameta kroz mlaznicu pod visokom temperaturom koja se kreće na način da formira proizvod sloj po sloj.

2.2.2. Prednosti korištenja tehnologije 3D-tiska u farmaceutskoj industriji

Tehnologija 3D-tiska zbog specifičnosti slobodnog oblikovanja, niskih troškova opreme i izvedbe i brzine izrade može biti implementirana kroz cijeli proces razvoja lijeka, od predkliničkih testiranja do neposredne izrade lijekova prilagođenih određenim pacijentima ili grupi pacijenata (slika 4). [1]



Slika 4. Prikaz procesa razvoja lijeka i prednosti implementacije tehnologije 3D-tiska u proces

Rana faza razvoja lijeka [1]

Rana faza razvoja lijeka podrazumijeva predklinička testiranja, pri kojima se ispituje učinkovitost, sigurnost, toksičnost i farmakokinetika djelatne tvari, zajedno s Fazom 1 kliničkih testiranja u kojoj se lijek prvi put testira u ljudskom organizmu na zdravim dobrovoljcima (engl. *First-In-Human Trials*).

Prikladna formulacija u ovoj fazi igra važnu ulogu. Idealan dozirni oblik je jeftin, pokazuje zadovoljavajuću bioraspodjeljivost, može se lako proizvesti u različitim dozama i olakšava brz razvoj, dok je proizvodnja konvencionalnih oblika, iako isplativa u velikim količinama, u ranim fazama razvoja skupa, relativno dugotrajna i onemogućava laku manipulaciju dozama, što bitno povisuje vrijeme i troškove razvoja. Dvije glavne vrste dozirnih oblika, koje se koriste u Fazi 1, su tekuće formulacije i čvrsti oralni dozirni oblici, no njihovo korištenje povlači probleme topljivosti i stabilnosti djelatne tvari, odnosno visoke kapitalne troškove i nepovoljnu fleksibilnost doza.

Tehnologija 3D-tiskanja u ranoj fazi razvoja lijeka može značajno pridonijeti proizvodnjom manjih serija prilagođenih dozirnih oblika i na taj način bitno povećati učinkovitost i fleksibilnost pri razvoju, smanjiti troškove razvoja te posljedično ubrzati cijeli proces dosad dugotrajnog ranog razvoja.

Glavne prednosti korištenja tehnologije 3D-tiska u ranoj fazi razvoja lijeka su:

- **Fleksibilnost doziranja.** Tijekom rane faze testiranja lijeka, promjena doza je dinamična; različite doze se ispituju u hodu, u skladu s toksikološkim i farmakološkim rezultatima, stoga je potrebno koristiti dozirni oblik sa što većom fleksibilnosti doziranja. Radi toga se obično koriste tekuće formulacije, unatoč problematici topljivosti i stabilnosti djelatne tvari. Tehnologija 3D-tiska omogućuje proizvodnju manjih serija formulacija s različitim dozama modifikacijom oblika i dimenzija ili proizvodnjom sirovine za tisak (prašak ili filament) različitih koncentracija djelatne tvari. Također, mogu se proizvesti i oblici malih dimenzija s preciznim dozama za životinje u predkliničkim ispitivanjima.
- **Neposredna proizvodnja.** Tehnologija 3D-tiska omogućuje jako brzu proizvodnju na zahtjev u više iteracija te je na taj način moguće i optimirati korištenje pomoćnih tvari u kratkom vremenu.
- **Smanjenje investicije u resurse.** U usporedbi s konvencionalnim načinima proizvodnje dozirnih oblika u ranoj fazi razvoja lijeka, tehnologija 3D-tiska zahtijeva daleko najmanja ulaganja; 3D-printeri su jeftini u usporedbi s većinom laboratorijske opreme, jednostavni su za korištenje, zauzimaju malo mjesta i mogu se koristiti bez potrebe za zahtjevnom obukom. Sirovine za proizvodnju su također jeftine, a cijeli proces proizvodi zanemarive količine otpada.
- **Posebne karakteristike.** Tehnologijom 3D-tiska moguće je proizvesti delikatne i kompleksne oblike s jedinstvenim karakteristikama, moguće je postići preciznu prostornu distribuciju djelatne i pomoćnih tvari. Nadalje, moguće ih je precizno

prilagoditi za predklinička testiranja na životinjama, kao i za olakšanje primjene u Fazi 1 kliničkih ispitivanja.

Personalizirani lijekovi [1]

2015. godine u SAD-u je usvojena Inicijativa o preciznosti lijekova (*Precision Medicines Initiative*) naglasak koje je bio pomak s *one-size-fits-all* pristupa u proizvodnji i propisivanju lijekova ka personalizaciji. Tehnologija 3D-tiska se u ovoj domeni može implementirati u više različitih situacija zahvaljujući svojim karakteristikama, rezultirajući proizvodima prilagođenima specifičnim potrebama pacijenta:

- **Prilagodba doze.** Potreba za prilagođenim dozama lijeka posebno je izražena kod djece i starijih osoba zbog općih fizičkih karakteristika (dob, težina), kao i farmakokinetičkih faktora (kapacitet metabolizma, funkcionalnost organa). 3D-tiskom je moguće kreirati dozirni oblik sa točnom dozom koja je potrebna pacijentu, a s napretkom genetičkog testiranja predviđa se da će biti moguće izraditi individualni lijek prema genetičkom profilu, metabolizmu i biokemijskim markerima.
- **Kombinacija više djelatnih tvari.** Liječenje određene bolesti često uključuje kombinaciju više različitih lijekova, što često uzrokuje namjerno i nenamjerno pogrešno uzimanje lijekova. Tehnologija 3D-tiska može riješiti problem velike količine lijekova sjedinjujući više djelatnih tvari u jedan dozirni oblik (*polypill*) zahvaljujući mogućnosti precizne raspodjele prostora unutar samog oblika. Najpoznatiji primjer je dozirni oblik razvijen od strane Khaled i suradnika [15] – radi se o kombinaciji od čak pet djelatnih tvari (aspirin, hidroklorotiazid, atenolol, ramipril i pravastatin) s različitim brzinama otpuštanja u jednoj „polipiluli“ namijenjenoj srčanim bolesnicima.
- **Prilagođeni profili otpuštanja.** U zadnjih nekoliko godina mnoga istraživanja bavila su se ispitivanjem kinetike otpuštanja djelatne tvari iz 3D-tisanih dozirnih oblika u kojima se pokazalo kako se mogu postići definirani profili otpuštanja pri korištenju prikladnih pomoćnih tvari i postavki tiska te koristeći različite polimere. Ubrzano se razvijaju ideje i koncepti, primjerice integriranje djelatne tvari u sirovinu te ispitivanje otpuštanja iz različitih oblika s istim odnosom površine i volumena.

2.2.3. Izvedbena i regulatorna ograničenja

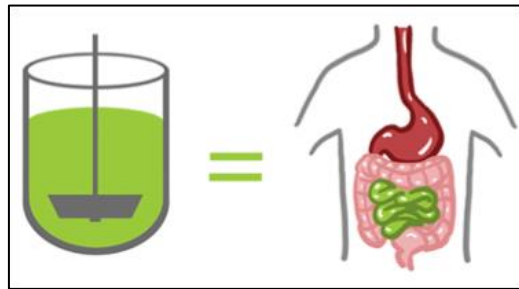
Postoji nekoliko izvedbenih ograničenja tehnologije 3D-tiska. Primjerice, PB tehnologija zahtijeva poseban prostor i nadzor za izvedbu zbog potencijalnih ostataka praška opasnih za zdravlje. Nadalje, određene tehnologije su ograničene na određenu vrstu materijala, npr. FDM može koristiti samo termoplastične polimere, a SLA samo fotopolarizirane oligomere. Također, mehanička izdržljivost ovisi o korištenoj tehnologiji, npr. EXT

tehnologija proizvodi mehanički slabe strukture, za razliku od FDM tehnologije koja proizvodi izdržljivije oblike.

Tehnologija 3D-tiska, kao i svaka inovativna nekonvencionalna tehnologija, susreće se i s regulatornim ograničenjima. [5]

2.3. Ispitivanje kinetike otpuštanja djelatne tvari

2.3.1. *In vitro* – *in vivo* korelacija



Slika 5. Ilustracija *in vitro* – *in vivo* korelacije [16]

Važno svojstvo svakog lijeka je bioraspoloživost, odnosno brzina i stupanj apsorpcije djelatne tvari iz farmaceutskog dozirnog oblika definirane krivuljom odnosa koncentracije i vremena u sistemskej cirkulaciji ili izlučivanjem u urinu [17]. Određuje se određivanjem resorpcije, distribucije, metabolizma i izlučivanja lijeka. Za lijekove s enteralnom primjenom manja je i više varira od bioraspoloživosti lijekova s parenteralnom primjenom jer djelatna tvar prolazi kroz više bioloških barijera ili kroz metabolizam[18]. Nadalje, dva lijeka koji su farmaceutski ekvivalentni te pokazuju sličnu bioraspoloživost, do te mjere da nema značajne razlike u djelotvornosti i neškodljivosti, su bioekvivalentni.

Stoga, jednom određena bioraspoloživost lijeka, koja se izvodi *in vivo* na zdravim dobrovoljcima i u pravilu je komplicirano, skupo i dugotrajno ispitivanje, služi kao standard za određivanje terapijske ekvivalentnosti *in vitro* putem laboratorijskog testa otpuštanja, što je jako korisno pri razvitku generičkih lijekova i kontroli kvalitete u proizvodnji, ali i tijekom razvoja novog pripravka (slika 5). Ako se nakon zaključnih *in vivo* istraživanja utvrdi da novi pripravak posjeduje traženu bioraspoloživost, tada se mogu pokušati korelirati rezultati *in vitro* i *in vivo* eksperimenata, uz parametre poput udjela otpuštene djelatne tvari nekom standardnom *in vitro* metodom nakon određenog vremena s jedne strane; i postignute koncentracije lijeka u plazmi, vremena potrebnog da se postigne maksimum koncentracije itd. s druge strane. Ako se ovdje uspije naći bitna korelacija, tada se pri vrednovanju određenog pripravka i dalje može koristiti *in vitro* metoda umjesto *in vivo* metode.

Ovaj princip uspostavljanja odnosa između nekog biološkog svojstva ili parametra izvedenog na osnovu biološkog efekta izazvanog djelovanjem ljekovitog pripravka i fizikalno-kemijskih karakteristika danog ljekovitog pripravka naziva se *in vivo* – *in vitro* korelacija (slika 5) [19].

2.3.2. Ispitivanje otpuštanja lijeka

Za tehniku ispitivanja *in vitro* postavljaju se sljedeći uvjeti s analitičkog i biofarmaceutskog gledišta: principijelna sličnost postupaka s odnosima *in vivo*, što veća raznolikost primjene, dostatna diferencijacija za različite pripravke i dobra reproducibilnost.

Za većinu lijekova postoje već utvrđene metode rada propisane od strane FDA ili farmakopeja [21], a uključuju definirane faktore:

- medij za ispitivanje određenog sastava i volumena,
- vrijeme i temperatura provođenja ispitivanja,
- zatvoren/otvoren sustav,
- aparatura i pokretanje pripravka te
- kontinuirano/diskontinuirano određivanje sadržaja [20].

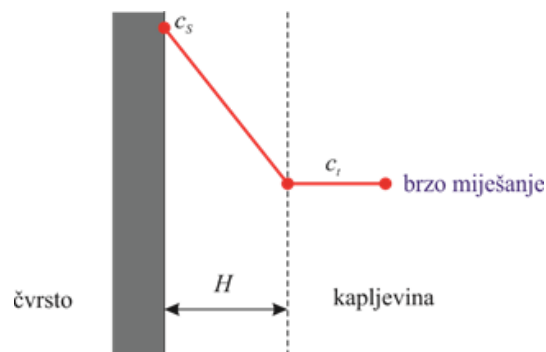
2.3.3. Mehanizmi otpuštanja

Otpuštanje djelatne tvari kao fizikalni proces je proces prijenosa tvari sa čvrste površine u medij pod određenim uvjetima temperature, sastava otapala i karakteristika međufazne površine čvrsto/tekuće. Kinetika otpuštanja je tada definirana protokom medija brzinom reakcije na međufaznoj površini te difuzijom otpuštenih molekula s međufazne površine u medij.

Prema Higuchiju [22], u teoriji postoje tri osnovna modela koji, sami ili u kombinaciji, definiraju mehanizme otpuštanja djelatne tvari:

a) Model difuzijskog sloja

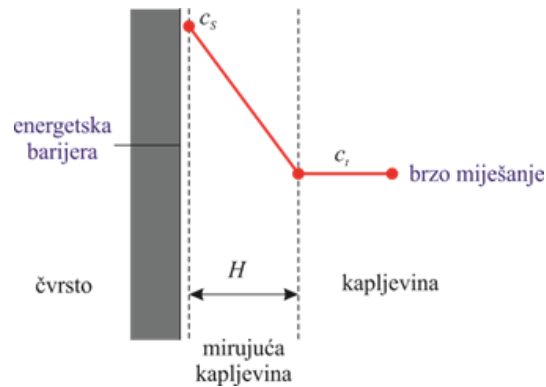
Pretpostavlja se da je brzina kemijske reakcije trenutna, pa je brzina otpuštanja kontrolirana brzinom molekularne difuzije čvrstih molekula kroz statični sloj kapljevine prema I. Fickovom zakonu (slika 6).



Slika 6. Model difuzijskog sloja

b) Model barijere na granici faza

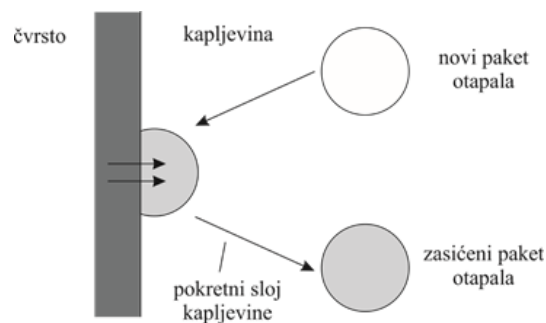
Pretpostavlja se da reakcija na granici faza S/L nije trenutna zbog velike energije aktivacije koja se mora premostiti da bi došlo do oslobađanja djelatne tvari. Poslije toga, mehanizam oslobađanja je u principu isti kao kod modela difuzijskog sloja. Međutim, brzina otpuštanja je relativno brza u usporedbi sa savladavanjem energetske barijere, stoga je ta reakcija ograničavajuća u procesu otpuštanja prema ovom modelu (slika 7).



Slika 7. Model barijere na granici faza

c) Danckwertov model

Pretpostavlja se da makroskopski paketi otapala dolaze na slučajan način do S/L granice faza vrtložnom difuzijom. Takvi paketi na površini dodira faza apsorbiraju otoplenu tvar u skladu s zakonima difuzije te bivaju zamijenjeni novim paketima (slika 8).



Slika 8. Danckwertov model

2.3.4. Modeli

Tablica 1. prikazuje matematičke modele koji se najčešće koriste za opis kinetike otpuštanja djelatne tvari iz pripravaka s kontroliranim djelovanjem.

Metode ovisne o modelu dobivene su iz empirijskih korelacija s provedenim eksperimentima u kojima se nalaze parametri koji ukazuju na sama svojstva otpuštanja djelatne tvari te omogućuju procjenu konstante brzine otpuštanja. S druge strane, statističke metode i metode neovisne o modelu dobivene su čisto statističkim i numeričkim postupcima izrade modela [22].

Tablica 1. Prikaz modela koji se najčešće koriste za opis kinetike otpuštanja djelatne tvari

METODE OVISNE O MODELU		
MODEL	PRIMJENA	JEDNADŽBA
Kinetika nultog reda	Opis brzine otpuštanja kod pripravaka s produženim učinkom; brzina oslobađanja je konstantna.	$Q_0 - Q_t = K_0 t$ (1)
Kinetika prvog reda	Opis brzine otpuštanja kod pripravaka u obliku poroznih matrica s vodotopljivim djelatnim tvarima.	$Q_t = Q_0 e^{-K t}$ (2)
Weibullov model	Opis različitih profila otpuštanja; za usporedbu otpuštanja lijeka iz matrica.	$M = M_0 \left[1 - e^{-\frac{(1-T)^b}{a}} \right]$ (3)
Higuchijev model	Opis brzine otpuštanja iz različitih pripravaka s produženim učinkom i tableta s vodotopljivim djelatnim tvarima.	$Q_t = K_H t^{1/2}$ (4)
Hixon – Crowellov model	Opis brzine otpuštanja kod pripravaka poput tableta, gdje se otpuštanje odvija na područjima paralelnim površini lijeka.	$Q_0^{1/3} - Q_t^{1/3} = k_{HC} t$ (5)
Korsmeyer – Peppasov model	Opis brzine otpuštanja kod polimernih sustava.	$Q_t = K t^n$ (6)
Hopfenbergov model	Opis heterogene erozije pločastih, sferičnih i cilindričnih pripravaka.	$Q_t = 1 - \left[1 - \frac{k_0 t}{C_0 a_0} \right]^n$ (7)

3. EKSPERIMENTALNI DIO

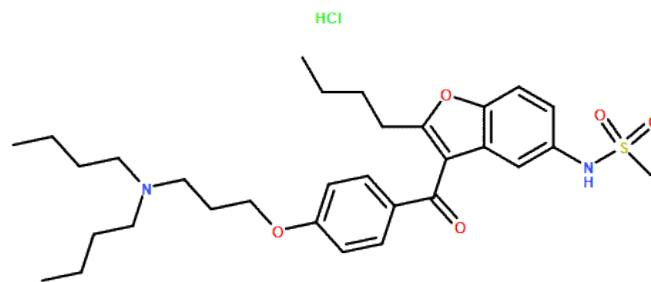
Tijek eksperimenta je sljedeći:

1. Izrada računalnih modela dozirnih oblika za 3D-tisak
2. Priprava mješavine ulja i djelatne tvari
3. 3D-tisak modela uz pauziranje na određenom postotku tiska i doziranje smjese ulja i djelatne tvari
4. Određivanje kinetike otpuštanja djelatne tvari iz 3D-tiskanih oblika
5. Analiza rezultata

3.1. Materijali

Djelatna tvar: dronedaron-hidroklorid

Dronedaron-hidroklorid ($C_{31}H_{45}ClN_2O_5S$) (slika 9), benzofuran sastavljen od heterocikličkih prstena, je djelatna tvar korištena u ovom eksperimentu zbog svojstva netopljivosti u ulju i lakoće detektiranja. Po fizikalnim svojstvima je bijeli prašak netopljiv u vodi, a dobro topljiv u organskim otapalima poput metanola, etanola te metilen-klorida. Koristi se prilikom liječenja kardiovaskularnih oboljenja zbog svojih antiaritmičkih svojstava [23].



Slika 9. Strukturna formula dronedaron-hidroklorida

Pomoćna tvar: Labrafil

Labrafil je tekući neionski surfaktant tvrtke Gattefosse koji se može dispergirati u vodi, a koristi se u formulacijama na bazi lipida za otapanje i povećanje oralne bioraspoloživosti djelatnih tvari koje su slabo topljive u vodi. Sastoji se od smjese oleoil makrogol-6 mono-, di- i triglicerida. [24]


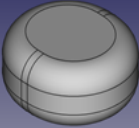
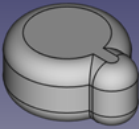
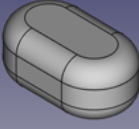
Polimer za 3D-tisak: PVA

Za tisak dozirnih oblika ispitana su dva komercijalna PVA filamenta proizvođača Technology Outlet i Formfutura. PVA filament tvrtke Technology Outlet ima indeks tečenja taline 1,5 – 3,5 g/ 10 min, talište između 160 i 170 °C, staklište 85 °C, a gustoću 1,25 do 1,35 g/cm³. Filament tvrtke Formfutura ima indeks tečenja taline 14 – 20 g/ 10 min te talište 163 °C. Oba filamenta topljiva su u hladnoj vodi.

3.2. Izrada modela

Trodimenzionalni modeli tiskanih oblika izrađeni su u besplatnom *CAD* programu otvorenog koda specijaliziranom za izradu modela za 3D-tisak pod nazivom *FreeCAD*. Vanjska površina i unutarnji volumen dobiveni su izračunavanjem i sumiranjem vrijednosti površina, odnosno volumena njihovih dijelova. Dizajnirana su četiri modela čiji je izgled prikazan u tablici 2.

Tablica 2. Prikaz izrađenih oblika i njihovih značajki

Oblik	Debljina stijenke, mm	Dimenzije, mm
KAPSULA		
	0,750	9,50 x 9,50 x 19,50
	1,125	10,15 x 10,15 x 20,25
	1,500	10,90 x 10,90 x 21,00
TABLETA A		
	0,750	8,00 x 15,50 x 16,50
TABLETA B		
	0,750	8,00 x 15,50 x 18,81
PEZ		
	0,750	8,50 x 11,50 x 19,50

3.3. 3D-tisak

Program korišten za pripremu modela za tisak (tzv. *slicing*) i definiranje postavki tiska je *FlashPrint*. Tablica 3 sadrži definirane postavke printa svih modela.

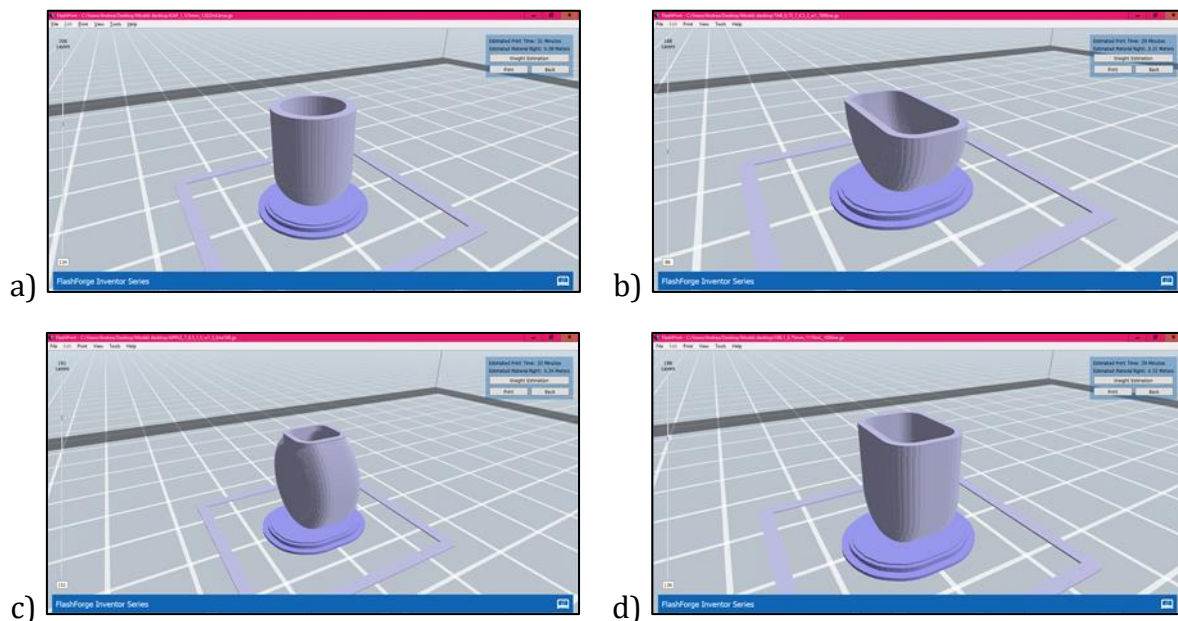
Tablica 3. Postavke tiska svih modela

Rezolucija	Visoka
Podloga	DA
Visina sloja	0,10 mm
Ispuna	Linijaska, 100 %
Brzina printa	20 mm/s
Temperatura mlaznice	185 °C
Temperatura podloge	50 °C

Prilikom pripreme za tisak, ovisno o obliku, definiran je sloj na kojem će se tisak paузirati u svrhu doziranja smjese ulja i djelatne tvari (slika 10). Tablica 4 prikazuje postotke dobivene dijeljenjem definiranog sloja ukupnim brojem slojeva za svaki oblik.

Tablica 4. Postotak tiska pri kojem je izvedeno zaustavljanje i doziranje

Kapsula	Tableta A	Tableta B	PEZ Model
65 %	51 %	79 %	68 %



Slika 10. Prikaz modela a) kapsule; b) tablete A; c) tablete B i d) PEZ modela odrezanih na sloju pri kojem je izvedeno zaustavljanje tiska i doziranje

U eksperimentu je korišten 3D printer *FlashForge Inventor* prikazan na slici 11 čiji je princip rada taložno sraščivanje.



Slika 11. 3D printer *FlashForge Inventor*

3.4. Metode karakterizacije

3.4.1. Određivanje sadržaja dronedarona

Sadržaj dronedarona u smjesi ulja i dronedarona određen je gravimetrijskom metodom; šprica za doziranje smjese vagana je prije i poslije doziranja na analitičkoj vagi. Uz pretpostavku homogenosti smjese, prema odnosu masa komponenata, izračunata je masa dronedarona dodana u svaki oblik.

3.4.2. Ispitivanje brzine otpuštanja dronedarona

Brzina oslobađanja dronedarona iz tiskanih oblika ispitana je metodom *in vitro*, a korišten je uređaj za ispitivanje otpuštanja djelatne tvari *RC-6D*, *Zhengzhou Nanbei Instrument* (slika 12).



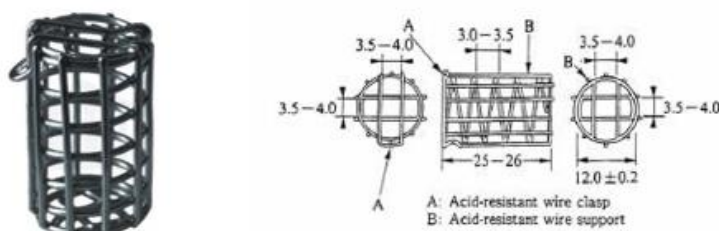
Slika 12. Uređaj za ispitivanje oslobađanja djelatnih tvari *RC-6D*, *Zhengzhou Nanbei Instrument*

Uvjeti ispitivanja brzine otpuštanja dronedarona propisani su pravilnikom od strane FDA, a navedeni su u tablici 5. Pri izvedbi dijela eksperimenata korištene su tzv. japanske

košarice za potapanje (slika 13). Pomoću njih je osigurana uronjenost oblika u medij tijekom eksperimenta kako bi oblici bili izloženi najpovoljnijim hidrodinamičkim uvjetima.

Tablica 5. Uvjeti *in vitro* ispitivanja brzine otpuštanja dronedarona

Medij	Vrsta	Fosfatni pufer
	pH	4,5
	Volumen	1 L
Temperatura		37 ± 0,5 °C
USP aparatura		II (lopatice)
Broj okretaja		75 o/min
Preporučeno vrijeme uzorkovanja		10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120 min



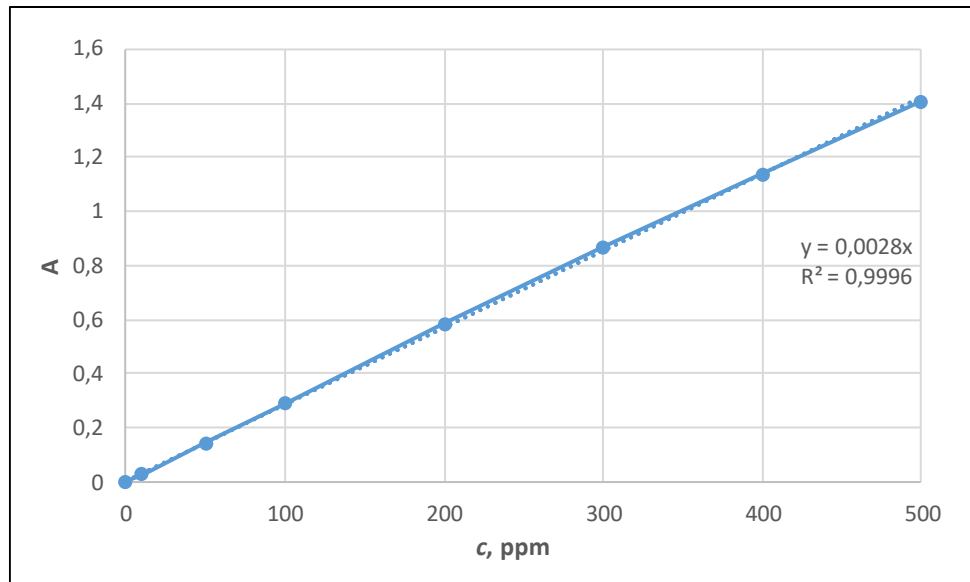
Slika 13. Košarica za potapanje sa dimenzijama

Uzorci su filtrirani pomoću filtra *Chromafil Xtra H-PTFE-45/25* veličine pora od 0,45 µm i analizirani na UV/Vis spektrofotometru *Shimadzu UV-1280* (slika 14) pri valnoj duljini 289,8 nm što odgovara maksimumu apsorbanije dronedarona u fosfatnom puferu. Za analizu je korištena protočna kiveta od kvarca.



Slika 14. UV/Vis spektrofotometar *UV-1280*, *Shimadzu*

Za određivanje umjernog pravca pripremljene su standardne otopine dronedarona u fosfatnom puferu koncentracije 10, 50, 100, 200, 300, 400 i 500 ppm. Na temelju umjernog pravca (slika 15) moguće je odrediti koncentraciju otpuštenog dronedarona u eksperimentu.



Slika 15. Umjerni pravac dronedarona u fosfatnom puferu

3.5. Obrada podataka

Podaci dobiveni ispitivanjem brzine otpuštanja obrađeni su u besplatnom dodatku za Microsoft Excel, DDSolver. Dodatak je namijenjen upravo analizi kinetike otpuštanja djelatne tvari s već unaprijed ugrađenim kinetičkim modelima korištenim u farmaceutskoj industriji.

Ispitana je primjenjivost Makoid-Banakarovog modela s vremenskom zadržskom i Peppas-Sahlinovog 2 modela s vremenskom.

Makoid-Banakarov model s vremenskom zadržskom:

$$\frac{c}{c_0} = k_{MB}(t - T_{lag})^n e^{(-k(t-T_{lag}))} \quad (8)$$

Peppas-Sahlinov 2 model s vremenskom zadržskom:

$$\frac{c}{c_0} = k_1 (t - T_{lag})^{0.5} + k_2 (t - T_{lag}) \quad (9)$$

Pri usporedbi modela koji nemaju isti broj parametara obično se koristi vrijednost R_p^2 koja pokazuje koliko se dobro model slaže s eksperimentalnim podacima, a izračunava se iz izraza:

$$R_p^2 = 1 - \frac{(n-1)}{(n-p)} (1 - R^2) \quad (10)$$

gdje je p broj parametara modela, a n broj eksperimentalnih podataka.

Metode neovisne o modelima koriste se za usporedbu profila otpuštanja i ne zasnivaju se na kinetičkim modelima. Jednostavan neovisni model pristupa koristi faktor razlike (f_1) kako bi se usporedili profili otpuštanja. Faktor razlike izračunava razliku u postotku između dviju krivulja u svakoj vremenskoj točki i mjera je relativne greške između dviju krivulja. Izražava se kao:

$$f_1 = \left\{ \frac{\left[\sum_{t=1}^n (R_t - T_t) \right]}{\sum_{t=1}^n R_t} \right\} \cdot 100 \quad (11)$$

gdje je n broj vremenskih točaka, R je vrijednost otapanja referentne serije u vremenu t , a T_t je vrijednost otapanja ispitivane serije T u vremenu t . Ovaj model neovisne metode je najpogodniji za usporedbe profila otpuštanja kada su na raspolaganju tri do četiri ili više točaka vremena otpuštanja.

4. REZULTATI

4.1. Geometrijske značajke modela

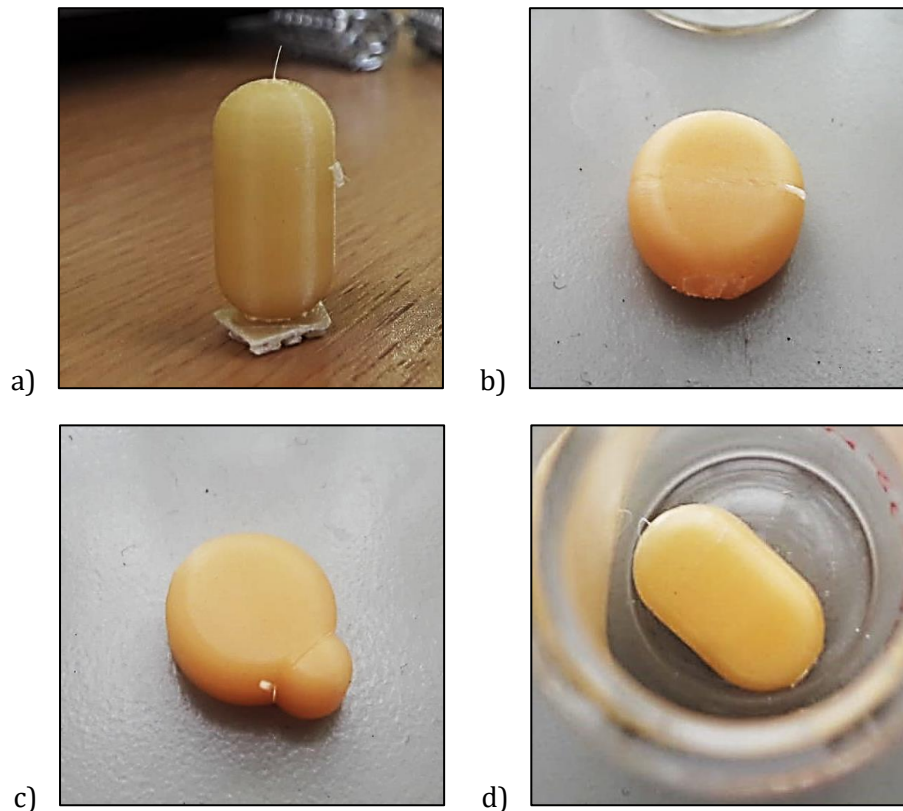
U tablici 6 prikazane su vrijednosti vanjske površine i unutarnjeg volumena za svaki model.

Tablica 6. Prikaz izračunatih geometrijskih značajki

Oblik	Vanjska površina, mm ²	Unutarnji volumen, mm ³
KAP 0,750 mm	595	790
KAP 1,125 mm	675	790
KAP 0,500 mm	740	790
TAB A 0,750 mm	820	850
TAB B 0,750 mm	810	850
PEZ 0,750 mm	585	810

4.2. 3D-tiskani oblici

Na slici 16 prikazani su 3D-tiskani modeli, a u tablici 7 njihova masa.



Slika 16. Fotografije modela a) KAP; b) TAB A; c) TAB B i d) PEZ

Tablica 7. Masa isprintanih modela

Oblik	Masa, mg
KAP 0,750 mm	580
KAP 1,125 mm	1040
KAP 0,500 mm	1380
TAB A 0,750 mm	850
TAB B 0,750 mm	900
PEZ 0,750 mm	870

4.3. Sadržaj dronedarona u doziranoj disperziji

U tablici 8 prikazane su vrijednosti masa disperzije koja je dozirana u određeni printani uzorak te vrijednosti masa dronedarona u disperziji

Tablica 8. Prikaz iznosa mase dozirane disperzije i mase dronedarona u doziranoj disperziji

MODEL	Uzorak	Masa dozirane disperzije, mg	Masa dronedarona, mg
KAP 0,750 mm	1	451,00	256,25
	2	454,70	258,35
	3	461,40	262,16
KAP 1,125 mm	1	465,61	264,55
	2	473,00	268,75
	3	431,70	245,28
KAP 1,500 mm	1	470,50	267,30
	2	472,90	268,00
	3	478,50	271,00
TAB A 0,750 mm	1	359,10	204,03
	2	382,10	217,10
	3	383,00	217,61
TAB B 0,750 mm	1	764,00	434,09
	2	693,00	393,75
	3	718,90	408,47
PEZ 0,750 mm	1	682,80	388,00
	2	667,30	379,10
	3	686,10	389,80

4.4. Profili otpuštanja

U tablicama 9 i 10 prikazane su vrijednosti koncentracije otpuštenog dronedarona u vremenu određene spektrofotometrijskom metodom za sve uzorke printanih modela.

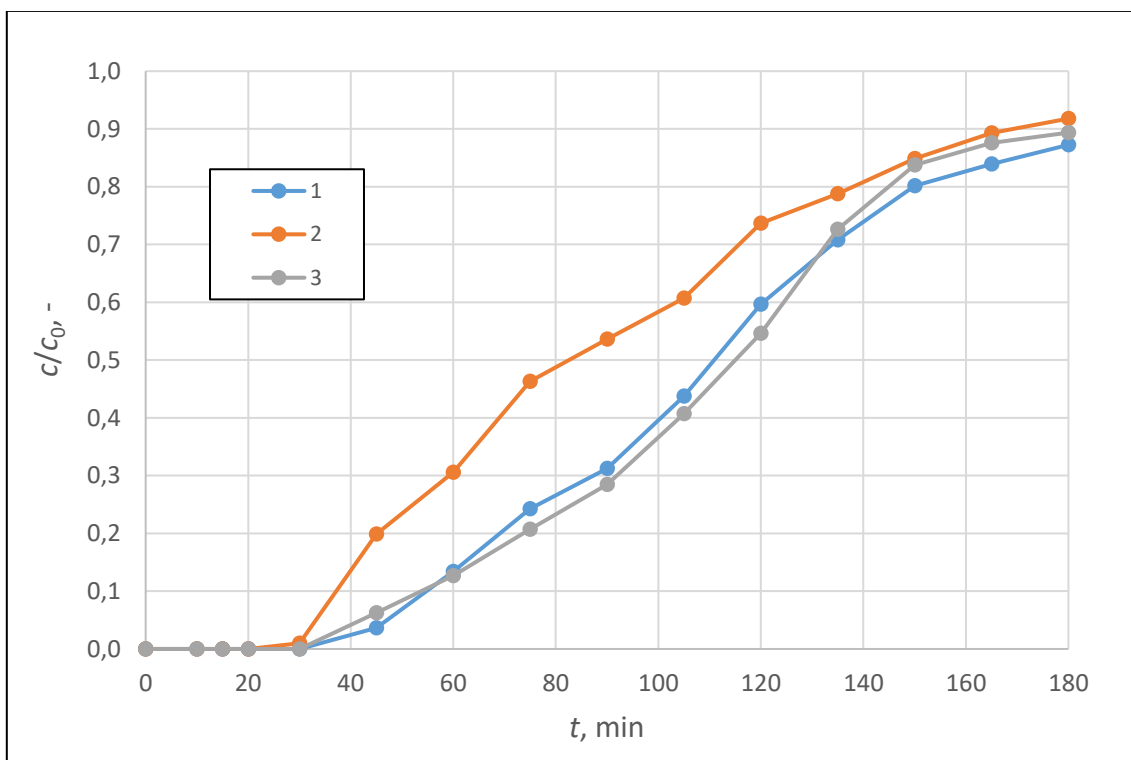
Tablica 9. Prikaz promjene koncentracije dronedarona u vremenu kod ispitivanja otpuštanja iz uzoraka modela KAP 0,750 mm, KAP 1,125 mm i KAP 1,500 mm

MODEL	KAP 0,750 mm			KAP 1,125 mm			KAP 1,500 mm		
UZORAK	1	2	3	1	2	3	1	2	3
c_0, mg/L	256,25	258,35	262,16	264,55	268,75	245,28	267,30	268,00	271,00
t, min	c, mg/L								
15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
30	0,00	2,50	0,00	0,00	0,00	2,14	0,00	0,00	0,00
45	9,29	51,43	16,43	3,57	2,86	2,86	0,00	0,00	0,00
60	34,29	78,93	33,21	7,50	5,71	6,07	1,79	1,43	1,43
75	62,14	119,64	54,29	15,71	48,21	12,86	3,93	2,14	1,79
90	80,00	138,57	74,64	52,86	70,36	52,50	7,86	3,93	3,21
105	112,14	156,79	106,79	87,14	98,21	76,07	16,07	12,50	19,29
120	152,86	190,36	143,21	106,79	131,79	99,64	24,64	61,79	57,86
135	181,43	203,57	190,36	140,36	155,00	119,29	48,57	103,21	77,86
150	205,36	219,29	219,64	175,36	177,14	147,14	62,86	131,07	93,57
165	215,00	230,71	229,64	191,07	192,86	164,64	71,07	144,29	99,29
180	223,57	237,14	234,29	203,57	225,71	182,14	97,14	168,21	108,21

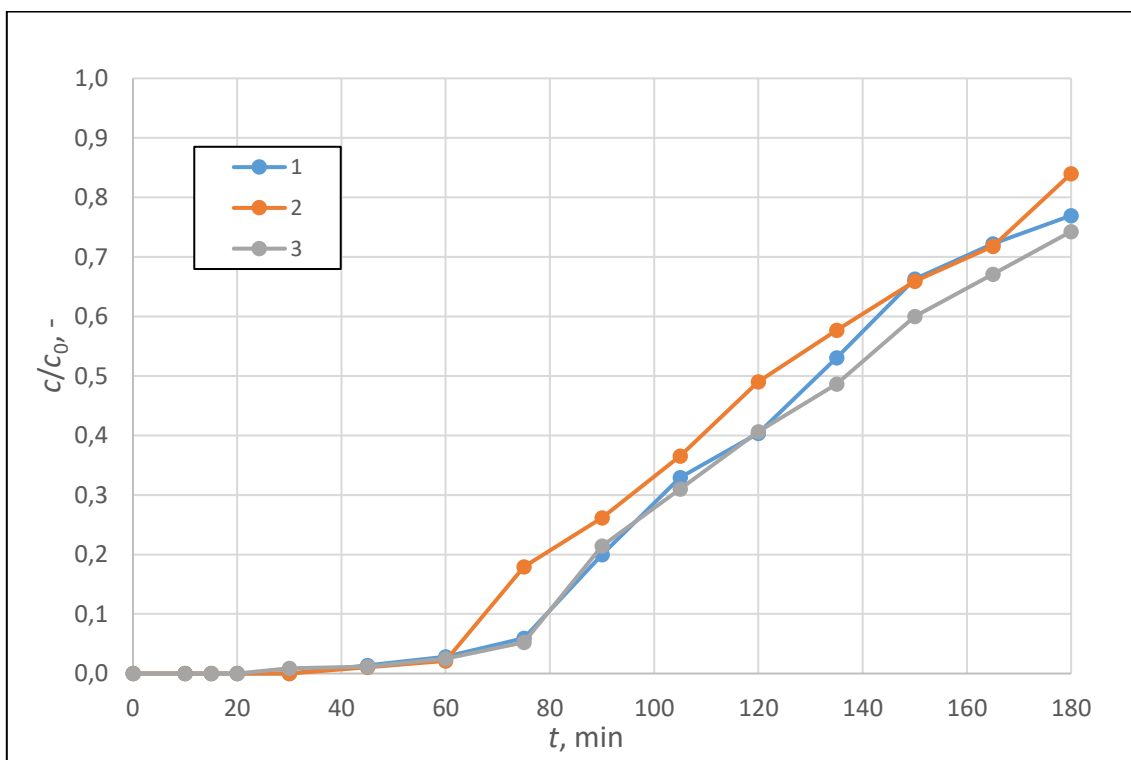
Tablica 10. Prikaz promjene koncentracije dronedarona u vremenu kod ispitivanja otpuštanja iz uzoraka modela TAB A, TAB B i PEZ 0,750 mm

MODEL	TAB A 0,75 mm			TAB B 0,750 mm			PEZ 0,750 mm		
UZORAK	1	2	3	1	2	3	1	2	3
c_0, mg/L	204,03	217,10	217,61	434,09	393,75	408,47	388,00	379,10	389,80
t, min	c, mg/L								
15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
45	1,43	0,00	1,43	0,00	30,36	5,36	14,29	28,57	9,64
60	2,50	1,43	1,79	5,00	67,50	13,57	56,43	71,43	60,71
75	7,86	8,21	6,07	26,07	104,64	57,50	122,86	152,86	150,00
90	21,79	57,50	31,43	72,86	131,07	193,57	179,29	249,29	250,36
105	37,50	101,07	85,00	181,07	177,86	246,43	216,07	289,29	302,86
120	67,14	129,64	120,00	266,07	242,14	271,07	238,93	303,93	316,07
135	97,50	146,07	147,50	302,14	267,14	287,50	271,79	317,14	321,79
150	135,36	162,50	160,36	322,14	286,07	298,57	286,79	320,71	327,14
165	147,14	168,21	166,79	334,64	297,14	306,79	302,50	323,57	330,36
180	157,14	172,14	173,57	343,93	312,86	313,93	304,29	325,71	333,21

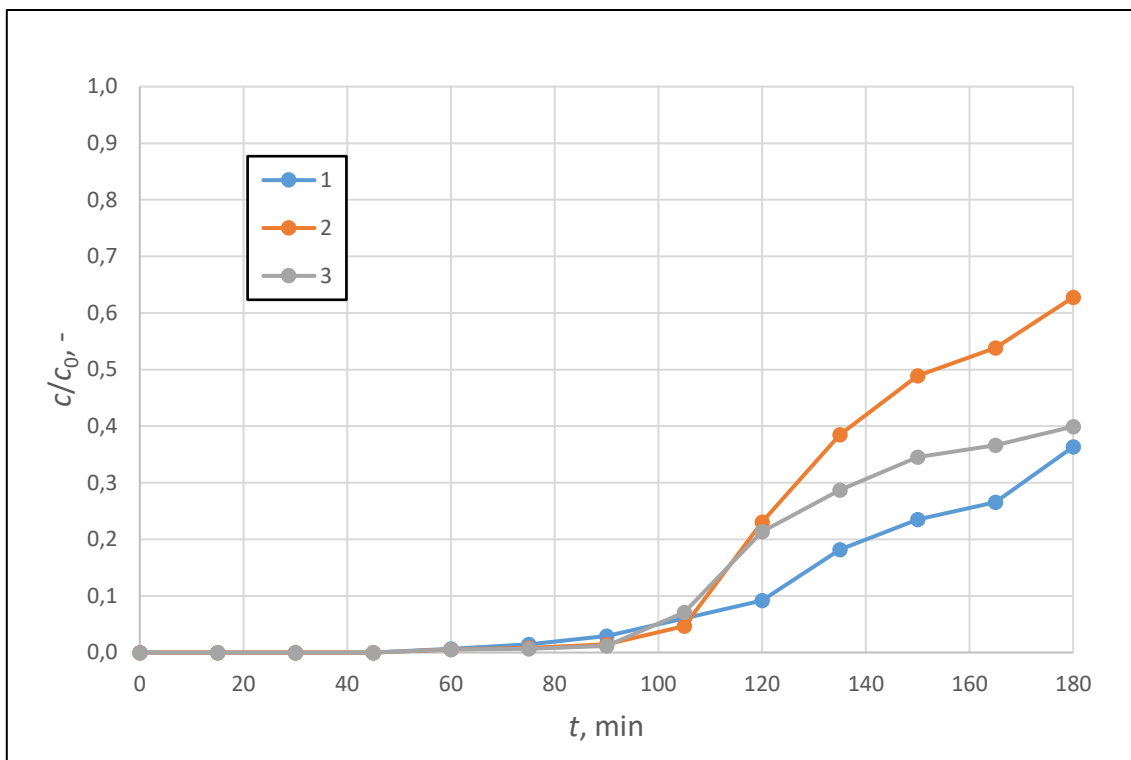
Na slikama 17. – 22. prikazani su profili otpuštanja dronedarona iz printanih modela.



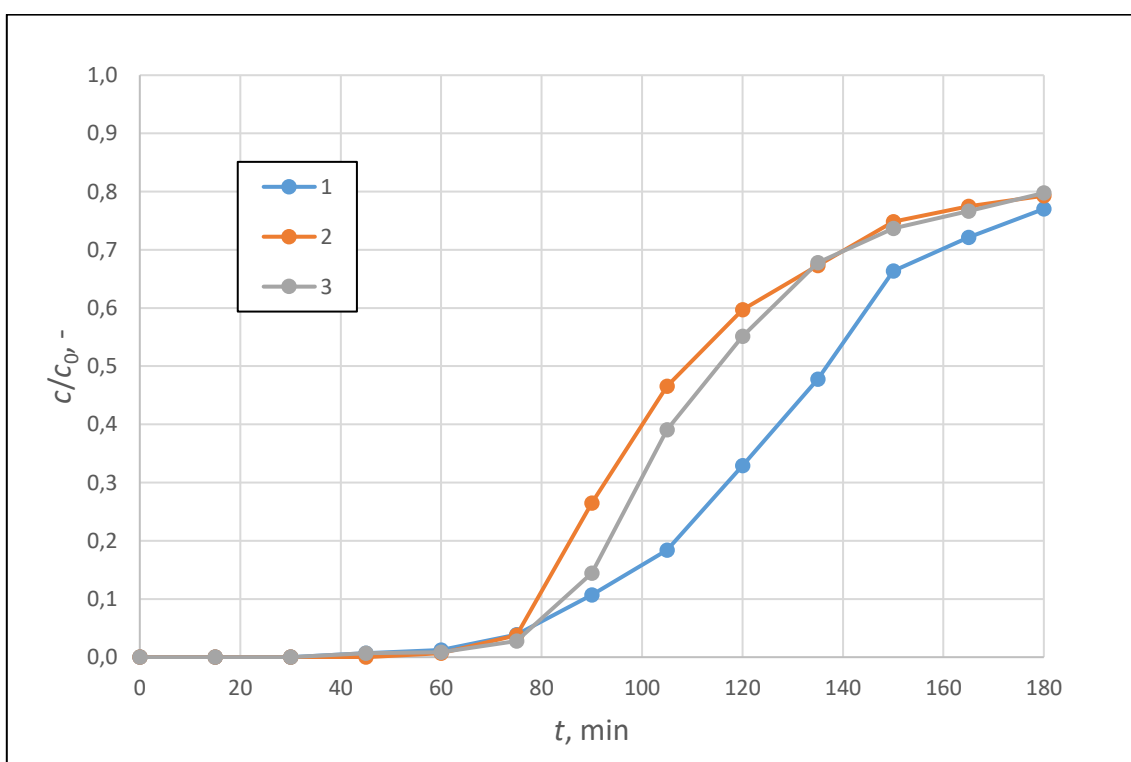
Slika 17. Usporedba profila otpuštanja dronedarona iz uzoraka modela KAP 0,750 mm



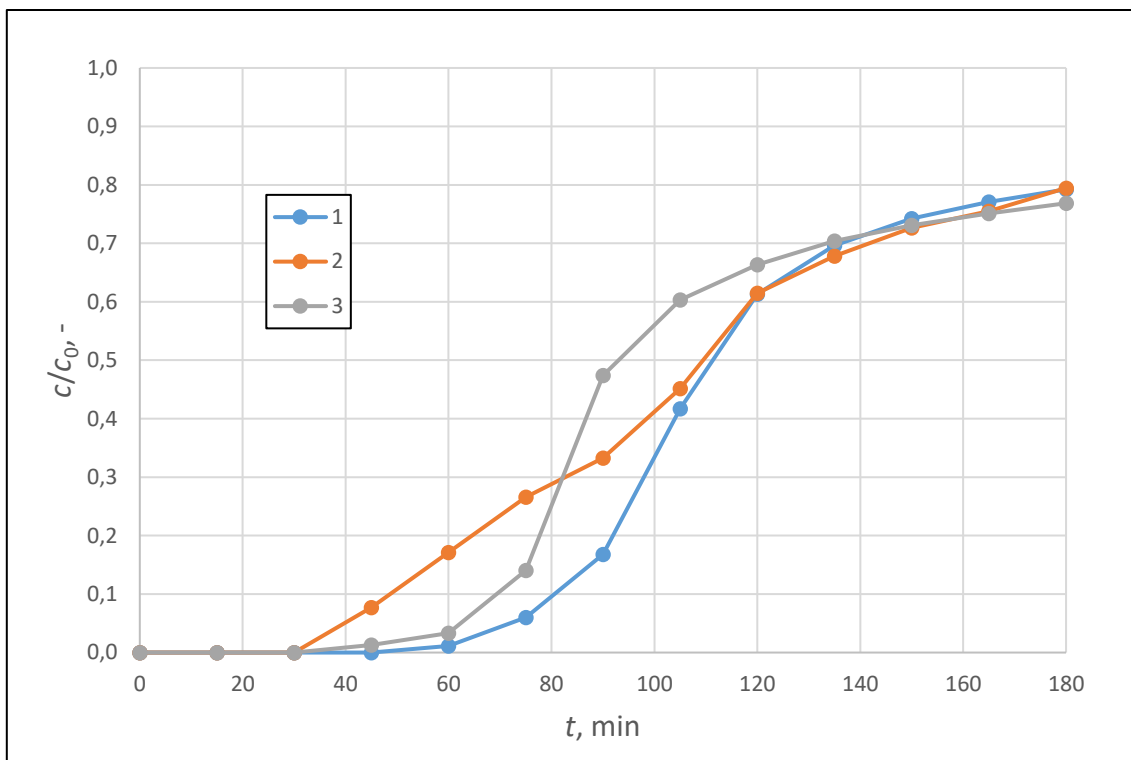
Slika 18. Usporedba profila otpuštanja dronedarona iz uzoraka modela KAP 1,125 mm



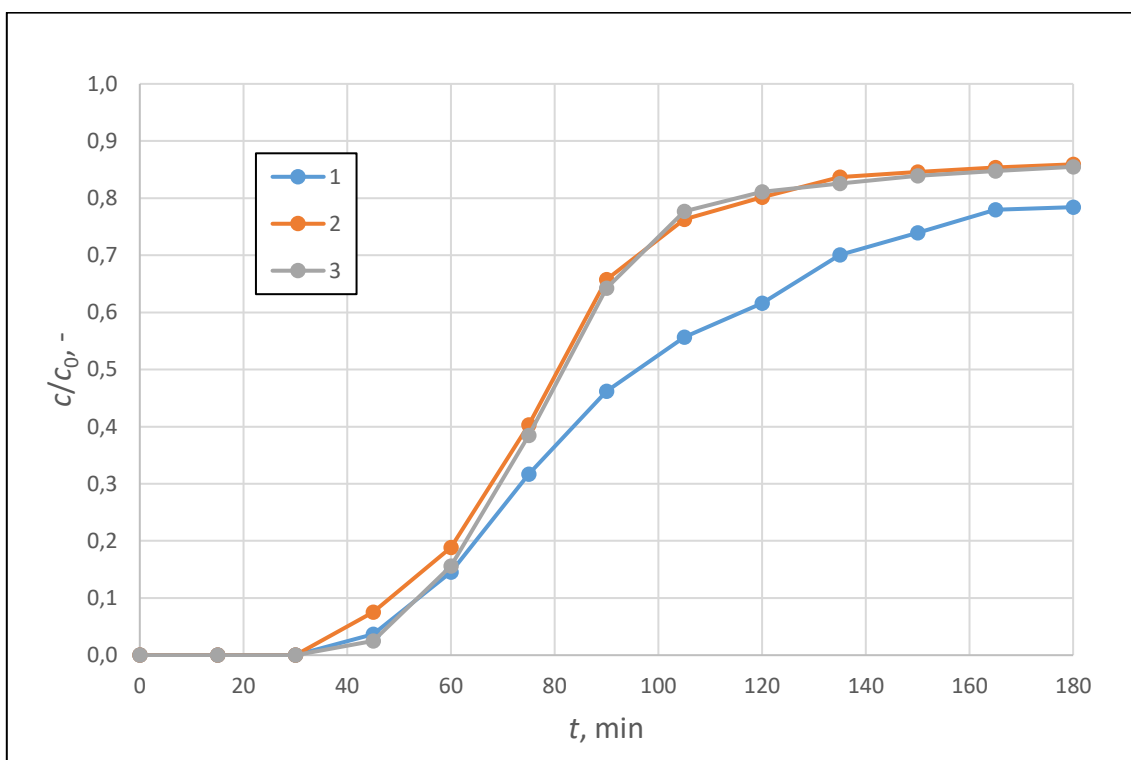
Slika 19. Usporedba profila otpuštanja dronedarona iz uzoraka modela KAP 1,500 mm



Slika 20. Usporedba profila otpuštanja dronedarona iz uzoraka modela TAB A 0,750 mm



Slika 21. Usporedba profila otpuštanja dronedarona iz uzoraka modela TAB B 0,750 mm



Slika 22. Usporedba profila otpuštanja dronedarona iz uzoraka modela PEZ 0,750 mm

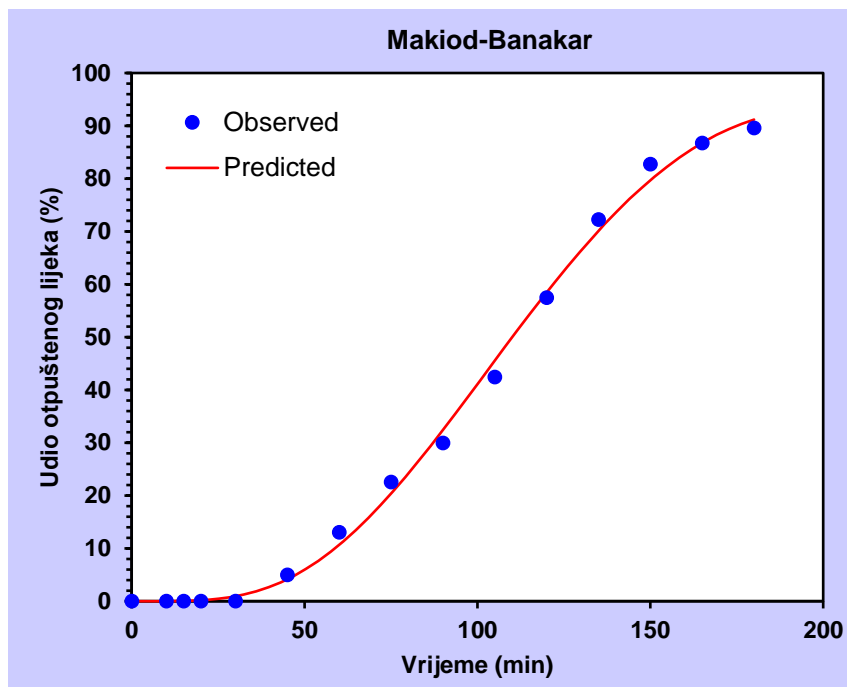
4.5. Kinetički modeli

U tablici 11 prikazani su parametri kinetičkih modela korištenih za opis profila otpuštanja dronedarona iz uzoraka printanih oblika.

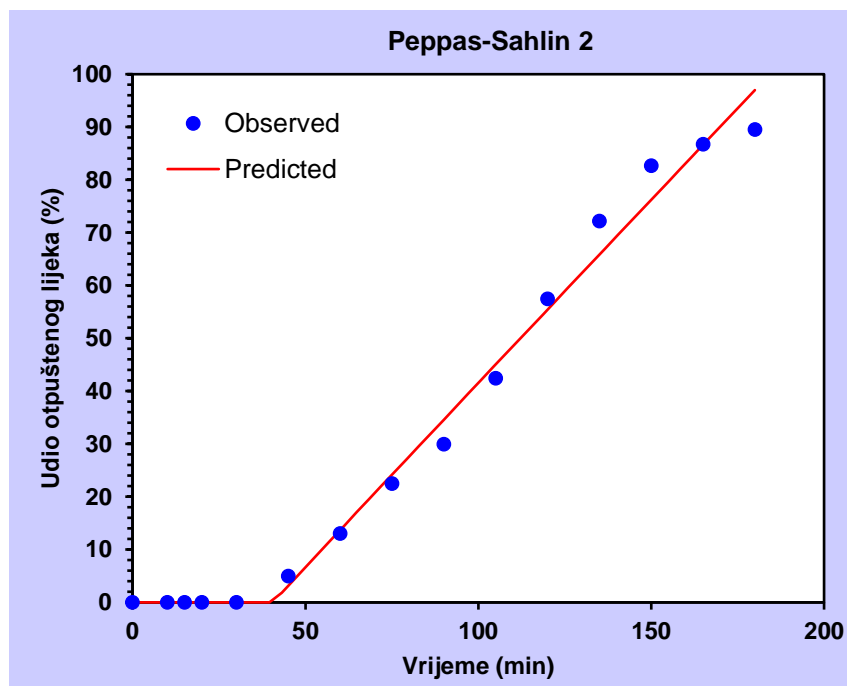
Tablica 11. Prikaz parametara kinetičkih modela korištenih za opis ispitivanja otpuštanja dronedarona iz uzoraka printanih oblika

MODEL	Parametri kinetičkog modela				
	Makoid-Banakarov model s vremenskom zadržskom				
	k_{MB}, min^{-n}	n	k, min	T_{lag}, min	R_p^2
KAP 0,750 mm	2,087E-06	4,118	0,021	3,092	0,9975
KAP 1,125 mm	6,537E-06	3,885	0,021	24,338	0,9974
KAP 1,500 mm	2,264E-13	8,407	0,061	37,158	0,9925
TAB A 0,750 mm	2,258E-13	8,251	0,052	5,481	0,9983
TAB B 0,750 mm	1,094E-13	8,339	0,051	-6,691	0,9940
PEZ 0,750 mm	1,195E-08	5,636	0,037	-9,196	0,9902
	Peppas-Sahlinov 2 model s vremenskom zadržskom				
	$k_1, \text{min}^{-0.5}$	k_2, min	T_{lag}, min	R_p^2	
KAP 0,750 mm	0,108	0,688	40,798	0,9899	
KAP 1,125 mm	3,381	0,405	73,051	0,9980	
KAP 1,500 mm	5,892	0,007	104,046	0,9983	
TAB A 0,750 mm	12,400	-0,404	87,091	0,9983	
TAB B 0,750 mm	10,685	-0,264	74,231	0,9940	
PEZ 0,750 mm	14,762	-0,606	58,734	0,9902	

Na slikama 23 – 28 prikazana je usporedba srednjih profila otpuštanja s kinetičkim modelima.

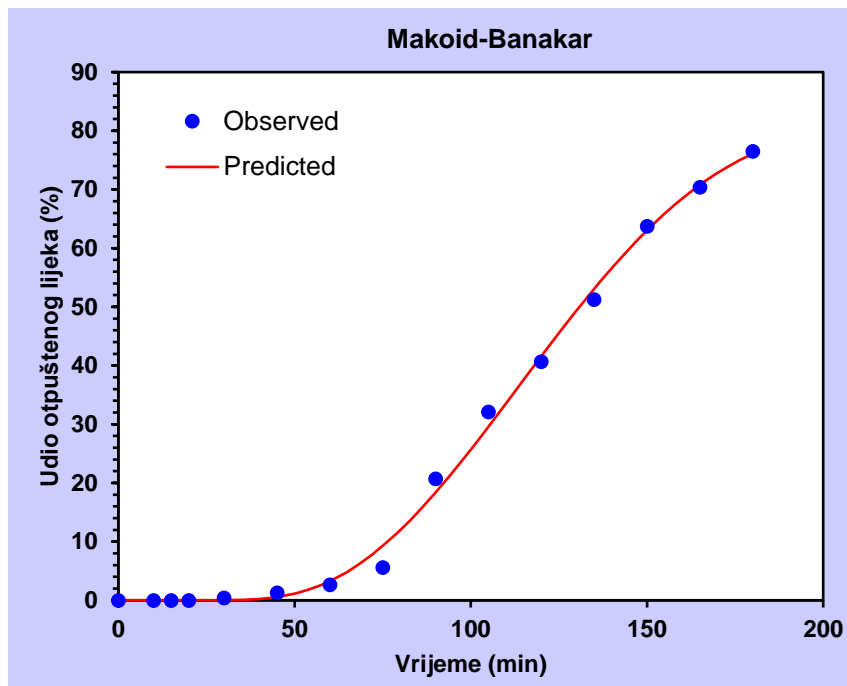


a)

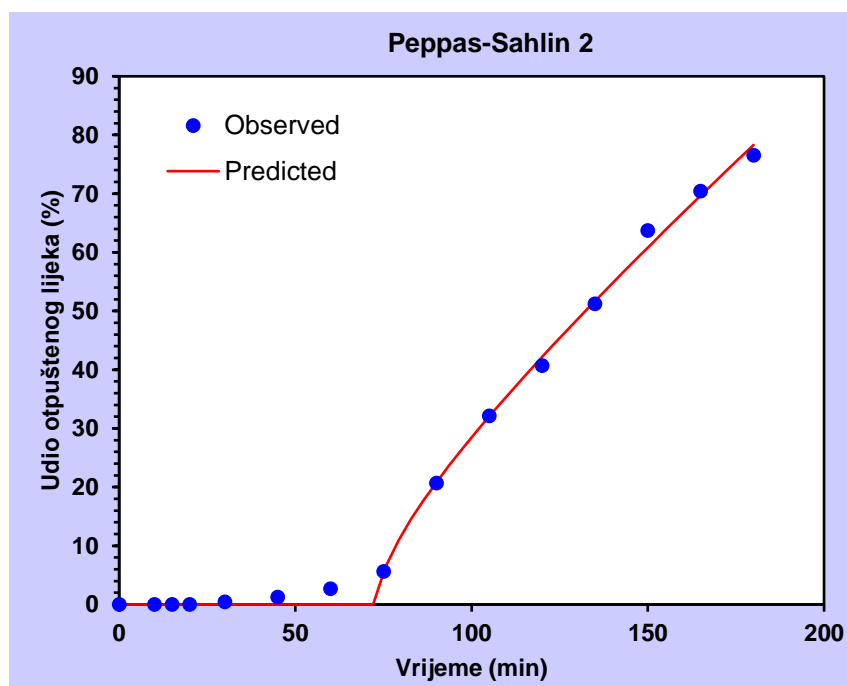


b)

Slika 23. Usporedba srednjih eksperimentalnih vrijednosti uzoraka oblika KAP 0,750 mm i a) Makoid-Banakarovog modela s vremenskom zadržskom; b) Peppas-Sahlinovog 2 modela s vremenskom zadržskom

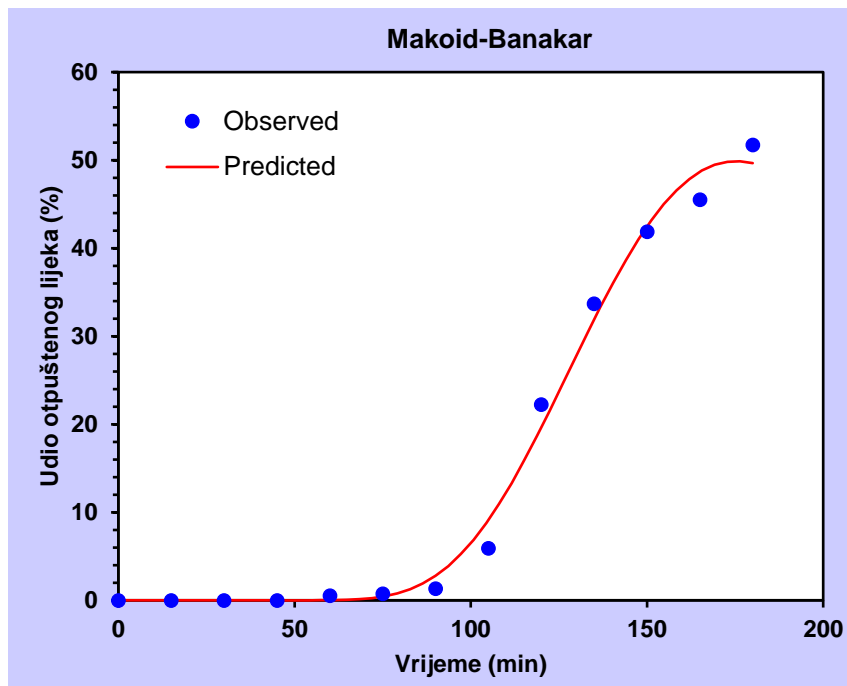


a)

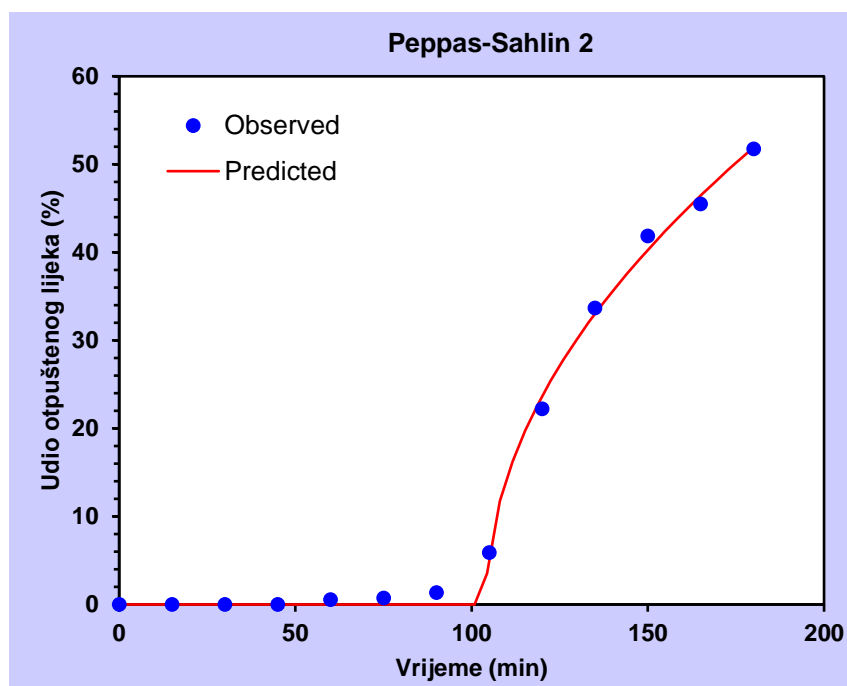


b)

Slika 24. Usporedba srednjih eksperimentalnih vrijednosti uzoraka oblika KAP 1,125 mm i a) Makoid-Banakarovog modela s vremenskom zadržkom; b) Peppas-Sahlinovog 2 modela s vremenskom zadržkom

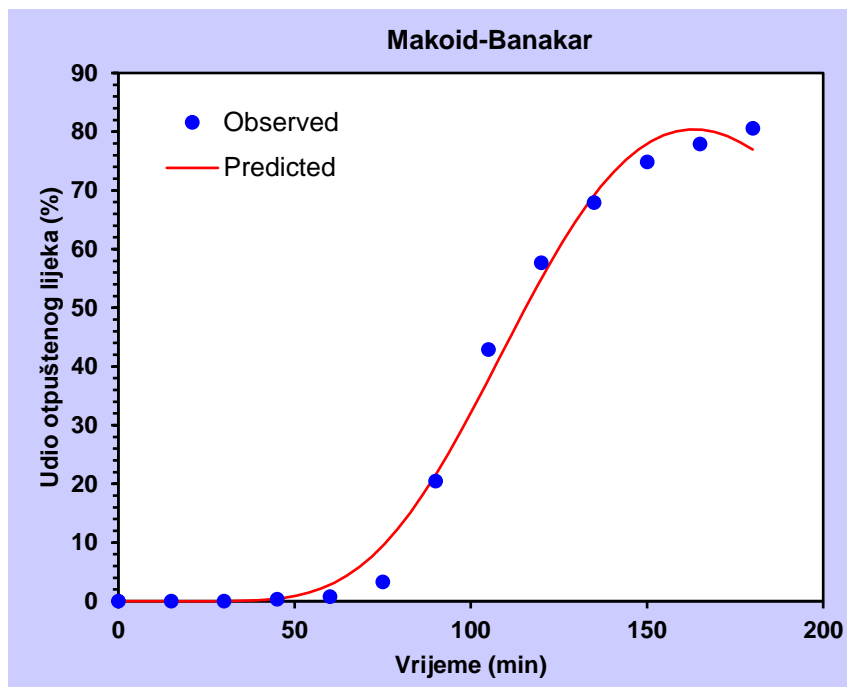


a)

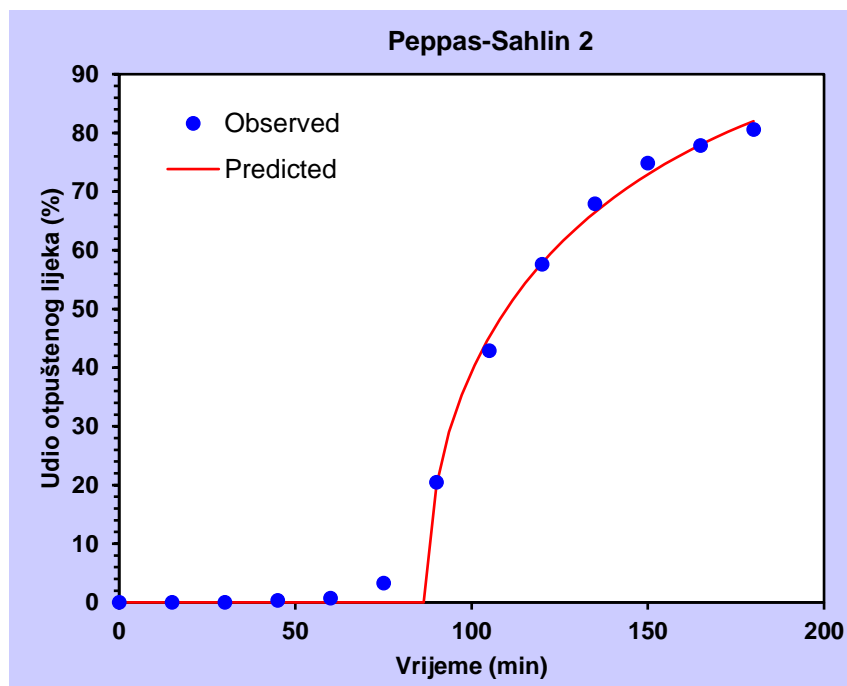


b)

Slika 25. Usporedba srednjih eksperimentalnih vrijednosti uzoraka oblika KAP 1,500 mm i a) Makoid-Banakarovog modela s vremenskom zadržkom; b) Peppas-Sahlinovog 2 modela s vremenskom zadržkom

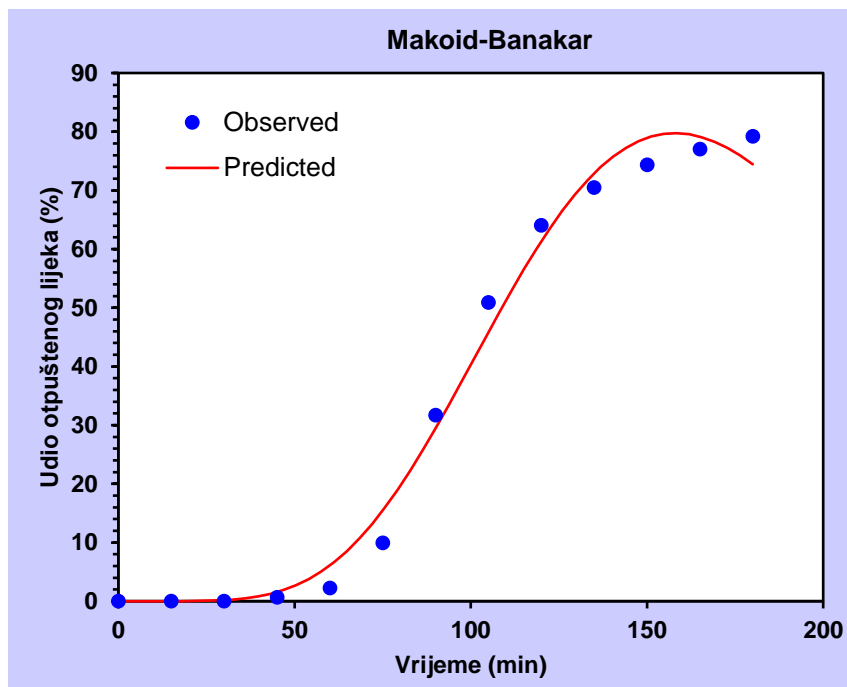


a)

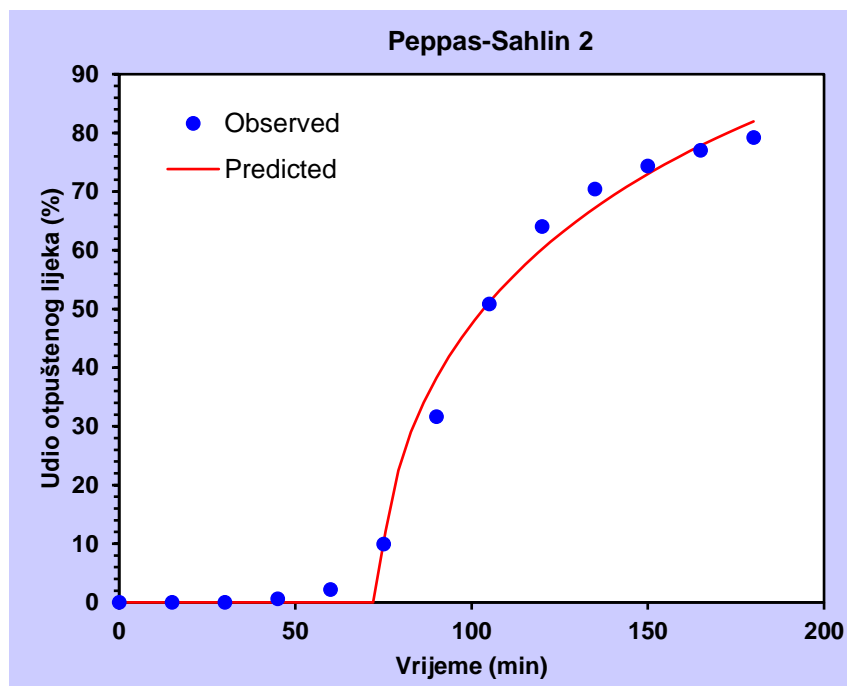


b)

Slika 26. Usporedba srednjih eksperimentalnih vrijednosti uzoraka oblika TAB A 0,750 mm i a) Makoid-Banakarovog modela s vremenskom zadržkom; b) Peppas-Sahlinovog 2 modela s vremenskom zadržkom

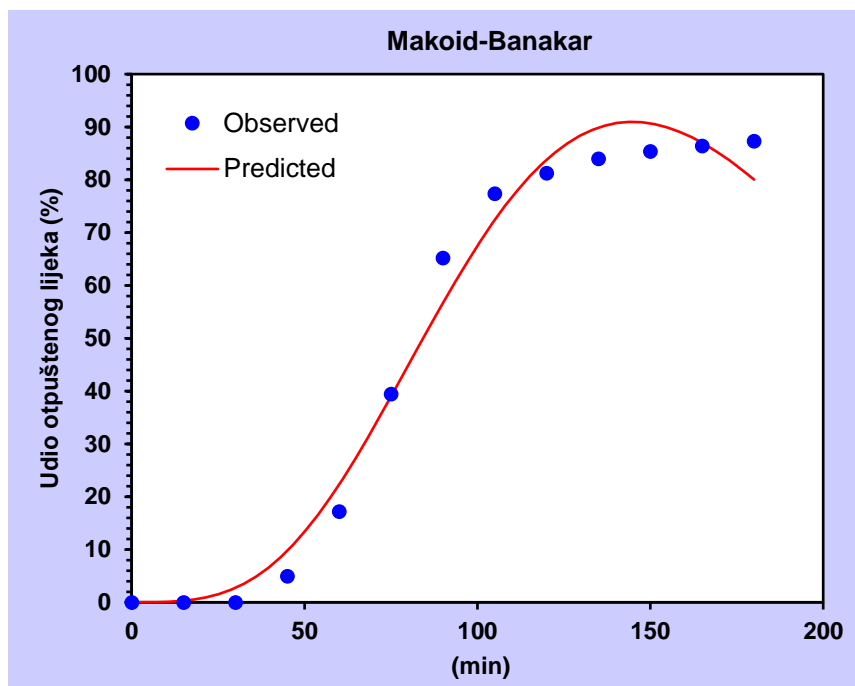


a)

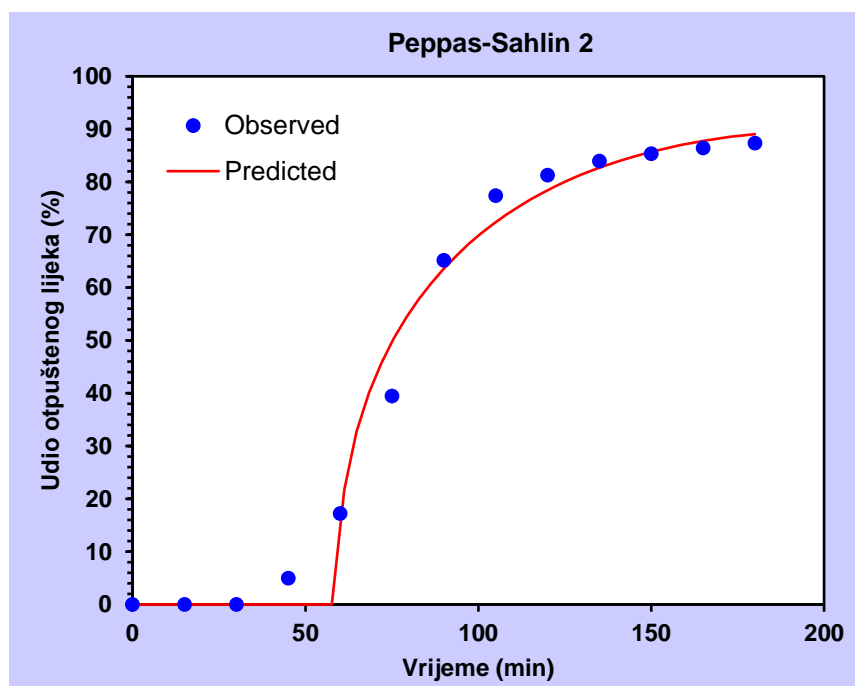


b)

Slika 27. Usporedba srednjih eksperimentalnih vrijednosti uzoraka oblika TAB B 0,750 mm i a) Makoid-Banakarovog modela s vremenskom zadržkom; b) Peppas-Sahlinovog 2 modela s vremenskom zadržkom



a)

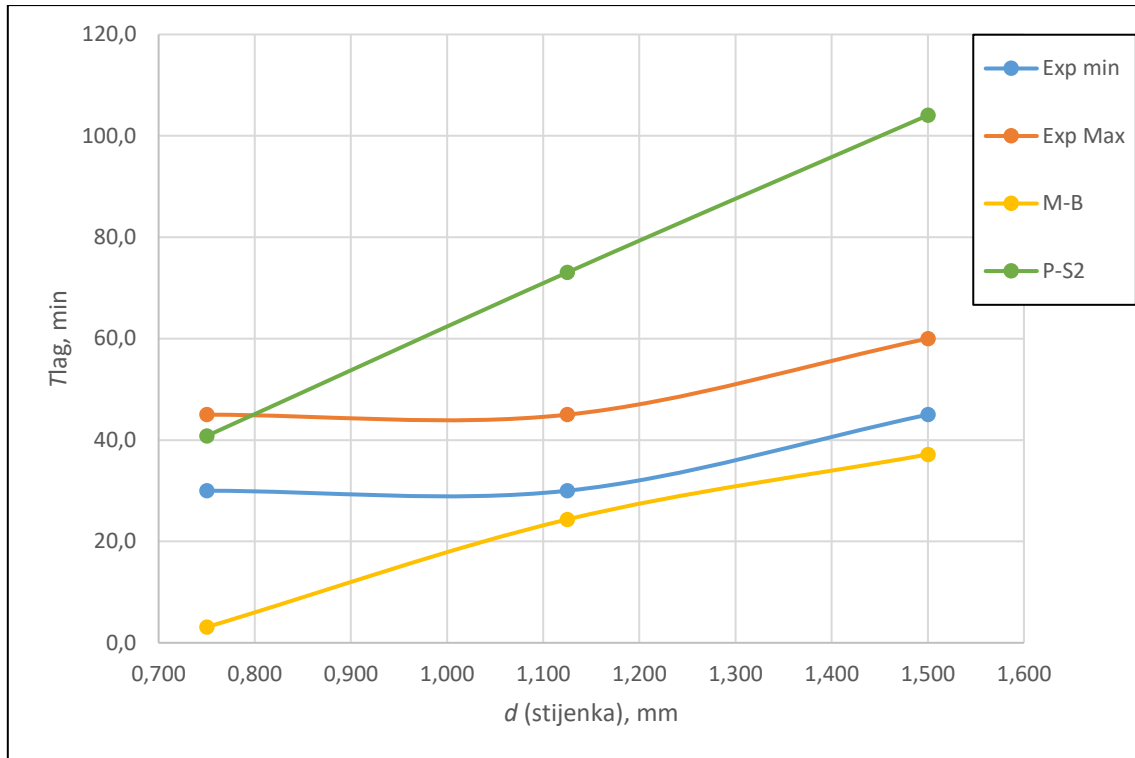


b)

Slika 28. Usporedba srednjih eksperimentalnih vrijednosti uzoraka oblika PEZ 0,750 mm i a) Makoid-Banakarovog modela s vremenskom zadržskom; b) Peppas-Sahlinovog 2 modela s vremenskom zadržskom

4. 5. 1. Utjecaj debljine stijenke na vremensku zadržku

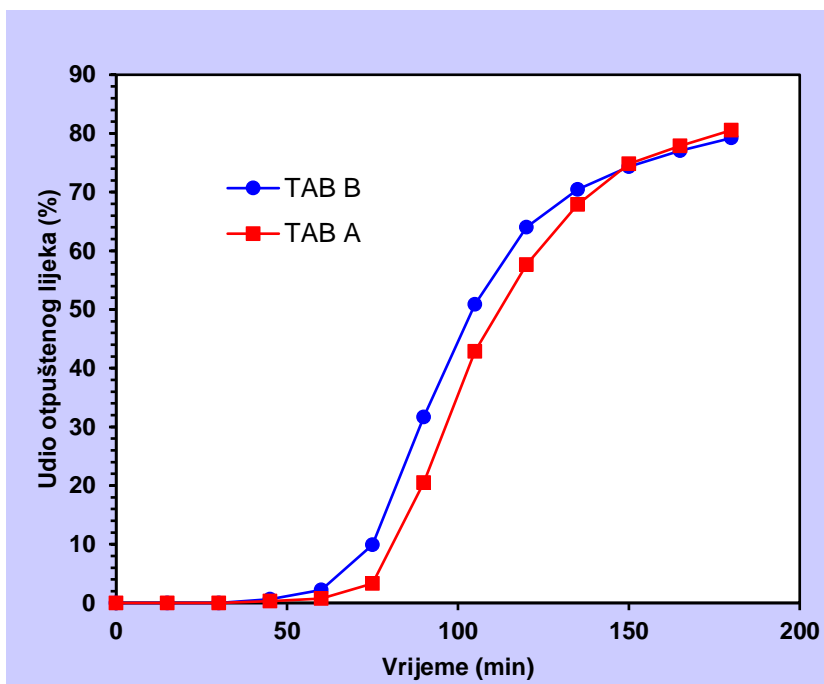
Na slici 29 prikazana je usporedba vrijednosti vremenske zadržke određene modelom i eksperimentalne vremenske zadržke ovisno o debljini stijenke za oblik KAP. Vrijednosti *Exp Min* i *Exp max* predstavljaju vremena uzorkovanja između kojih je započelo otpuštanje.



Slika 29. Usporedba vrijednosti vremenske zadržke određene modelom i eksperimentalne vremenske zadržke ovisno o debljini stijenke za oblik KAP

4. 5. 2. Utjecaj početne koncentracije na kinetiku otpuštanja

Usporedba utjecaja početne koncentracije na otpuštanje dronedarona na modelima TAB A i TAB B putem određivanja faktora razlike prikazana je na slici 30. Modeli se neznatno razlikuju u geometriji, a model TAB B sadrži dvostruko veću koncentraciju dronedarona od modela TAB A (tablica 12).



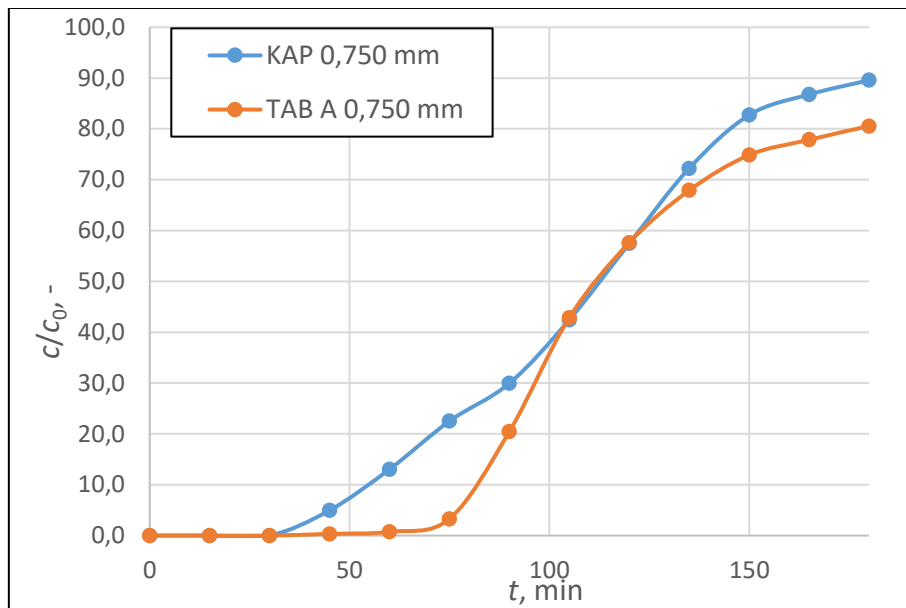
Slika 30. Usporedba profila otpuštanja modela TAB A i TAB B

Tablica 12. Prikaz srednjih vrijednosti početne koncentracije modela TAB A i TAB B i vrijednosti faktora razlike

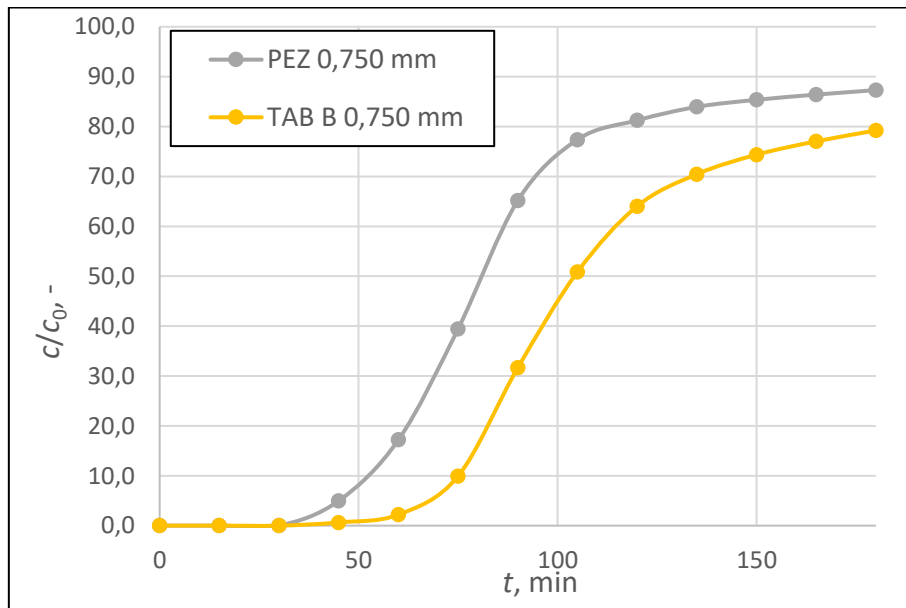
c_0 , mg/L		f_1
TAB A	TAB B	
217,36	421,28	8,52

4. 5. 3. Utjecaj površine i faktora oblika na kinetiku otpuštanja

Na slikama 31 i 32 prikazana je usporedba profila otpuštanja dronedarona ovisno o obliku.



Slika 31. Usporedba profila otpuštanja iz dvaju različitih oblika iste početne koncentracije



Slika 32. Usporedba profila otpuštanja iz dvaju različitih oblika iste početne koncentracije

5. RASPRAVA

5.1. Početne postavke

Kao cilj ovog istraživanja definirana je primarno izrada različitih dozirnih oblika tehnologijom 3D-tiska, doziranje djelatne tvari tijekom same izrade modela – zaustavljanjem i nastavljanjem 3D-tiska te ispitivanje kinetike otpuštanja djelatne tvari iz dobivenih dozirnih oblika.

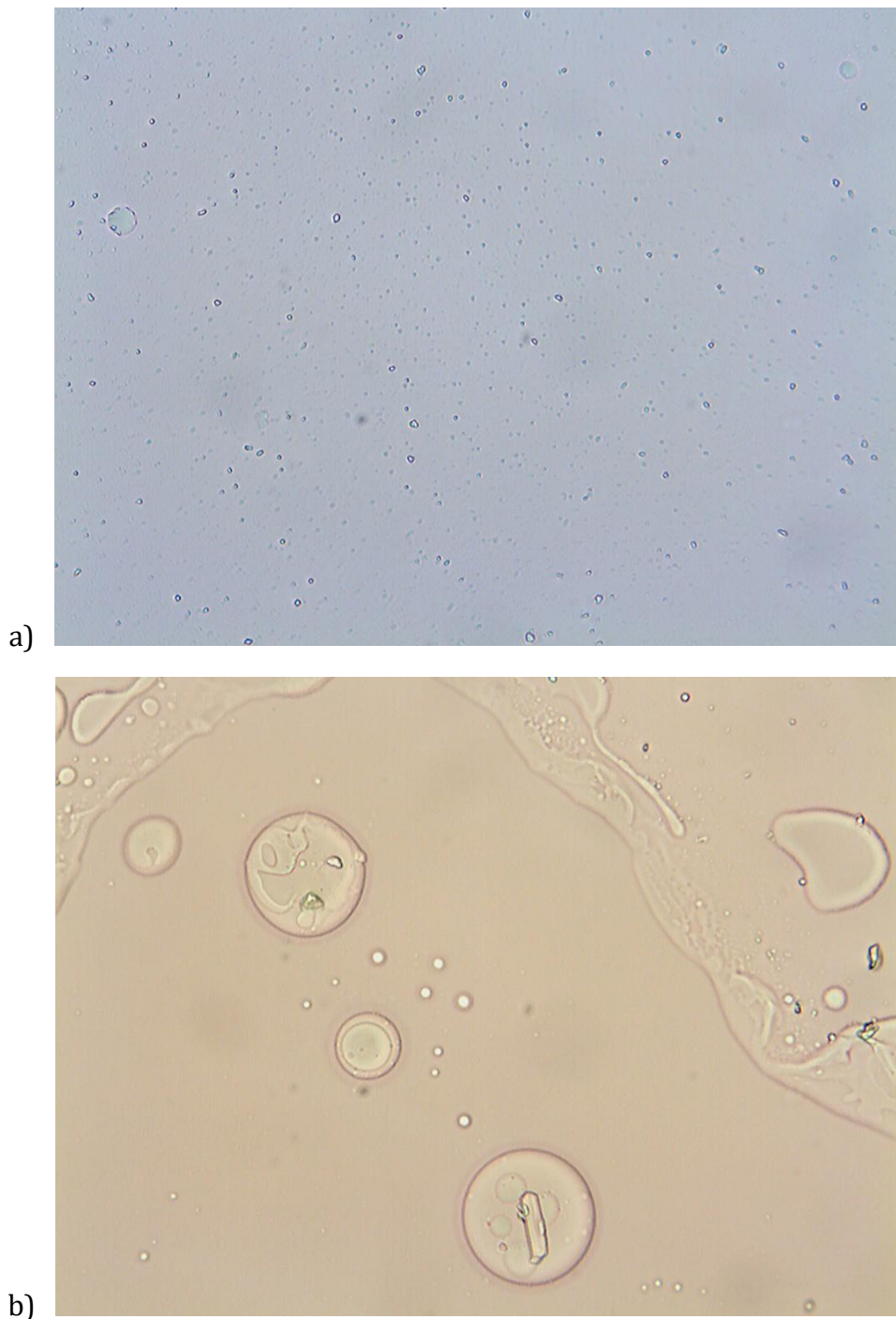
Na početku istraživanja ispitane su dvije vrste komercijalnih PVA filamenata proizvođača Technology Outlet i Form Futura. Osnovu navedenih filamenata čini poli(vinil-) alkohol uz dodatke poput plastifikatora koji nisu navedeni u dostupnoj dokumentaciji, a mogu značajno utjecati na svojstva gotovih proizvoda. Budući da su dozirni oblici punjeni mješavinom djelatne tvari i ulja, u prvom je koraku ispitana pogodnost polimernih materijala za željenu metodu 3D-tiska i spomenuto punjenje.

Oba odabrana filamenta imaju dobru topljivost u vodi što je važno za provedbu ispitivanja otpuštanja djelatne tvari. Modeli prikazani u tablici 2 su printani upotrebom oba filamenta. U određenom trenutku (slika 10) tisak je zaustavljen, kapsule su napunjene disperzijom i zatvorene ponovnim pokretanjem tiska. Ispitivanjem različitih uvjeta tiska utvrđeno je da PVA filament proizvođača Formfutura ima malu elastičnost zbog čega se nije mogao učinkovito nastaviti printati nakon zaustavljanja. Ove su kapsule vrlo lako pucale i nisu bile stabilne. Za istraživanje je odabran PVA filament proizvođača Technology Outlet.

Kapsule su punjene dronedaron-hidrokloridom. Radi lakšeg punjenja kapsula, ali i u svrhu povećanja bioraspoloživosti, pripremljene su dvije disperzije:

1. dronedaron dispergirani u Labrafil ulju i
2. dronedaron otopljen u etanolu, a potom dispergirani u Labrafil ulju.

Očekivano, mikroskopskim ispitivanjem pri uvećanju od 40X (slika 33) pokazalo se kako je u drugoj disperziji dronedaron ugrađen u kapljice ulja znatno bolje nego u prvoj. Međutim, etanol iz druge disperzije je otapao polimerni filament, zbog čega printani oblici punjeni drugom disperzijom nisu bili stabilni duže od dva dana. Sadržaj iz kapsula je istjecao i zbog toga je istraživanje nastavljeno samo s punjenjem u obliku disperzije dronedaron – Labrafil ulje.



Slika 33. Dronedaron a) dispergiran u Labrafil ulju i b) otopljen u etanolu, a potom dispergiran u Labrafil ulju

Disperzija je dozirana u kapsule pomoću šprice. Kako bi se osigurao što veći sadržaj dronedarona u dozirnom obliku pripremane su disperzije velike koncentracije. Odabrana je koncentracija 1200 mg/L kao najveća moguća, jer viskoznost ove disperzije omogućuje tečenje smjese pod pritiskom kroz otvor šprice za doziranje. Izmjerena viskoznost disperzije pri 30 °C iznosi 1,85 Pa s.

Preliminarnim ispitivanjima pokazano je da je PVA filament proizvođača Technology Outlet pogodnih svojstava za odabranu tehnologiju 3D-tiska u kojoj je potrebno pauzirati tisk te da je postojan u disperziji ulja i djelatne tvari što osigurava stabilnost ovakvog dozirnog oblika.

5.2. 3D-tisak

Upotrebom tehnologije taložnog srašćivanja, polimerni filament se tali pri visokim temperaturama prilikom prolaska kroz ekstruder, nakon čega se istiskuje kroz mlaznicu na radnu površinu sloj po sloj. Glavni izazov pri izradi oblika tehnologijom taložnog srašćivanja bio je nastavljavanje tiska nakon zaustavljanja. Elastičnost polimer koji neprekinuto teče iz visokotemperaturne mlaznice, prilikom zaustavljanja je formirao nit filameta koju je bilo potrebno odstraniti. U slučaju da se ova nit ne uklanja, zatvaranje dozirnog oblika nastavkom tiskanja je neuspješno. Svaka nepravilnost ili ostatak predstavljaju prepreku dobrom zatvaranju kapsule. Nadalje, opaženo je kako je potrebno izvesti zaustavljanje i nastavljavanje tiska u što kraćem vremenu kako temperatura mlaznice ne bi počela padati. U tom slučaju dolazi do smanjenja tecivosti polimera što uzrokuje nehomogen tok rastaljenog filameta. Opaženo je i kako je nastavak printa uspješan samo ako su stijenke pri sloju na kojem se odvija zaustavljanje vertikalne. Iz tog je razloga bilo potrebno modificirati model tablete tako što je dodan sloj s vertikalnim stijenkama dužine 1 mm na sredini (model TAB A, slika 10b) ili otvor u obliku čepa sa vertikalnim stijenkama dužine 1 mm (model TAB B, slika 10c). To je uzrok razlici sadržaja dronedarona između ova dva modela. Oba modela imaju isti unutarnji volumen, 850 mm³. Tisak je u modelu TAB A zaustavljen na 51 % visine, a u modelu TAB B na 79 %. Zahvaljujući položaju zaustavnog sloja u model TAB B je dozirana dvostruko veća količina disperzije, a time i dronedarona..

5.3. Kinetika otpuštanja

3D-tiskanjem su dobivena po tri uzorka svakog od modela prikazanog na slici 16. Provedena su *in vitro* ispitivanja kako je opisano u poglavlju 3.4.2. Na temelju određenih koncentracija i početne koncentracije dronedarona izračunat je udio otpuštenog dronedarona u vremenu te prikazan kroz profile otpuštanja (slike 17 – 22). Rezultati višestrukih *in vitro* ispitivanja pokazuju odstupanje pojedinih profila kod svih ispitanih modela (broj 2 - KAP 0,750 mm; broj 1 - KAP 1,500 mm; broj 1 - TAB A; broj 2 - TAB B i broj 1 - PEZ). Pretpostavlja se da je kod ovih modela došlo do ranijeg ispuštanja sadržaja zbog nesavršenosti spoja pri nastavku printa (slike 17 i 21) što uzrokuje brže i neujednačeno otpuštanje; ili dio disperzije ostane zatočen u masi polimera dok bubri (slike 19, 20 i 22) što uzrokuje sporije otpuštanje. Ovi su profili zbog toga izuzeti pri opisu podataka kinetičkim modelima.

Analizom nastalih profila (slike 17 – 22) može se uočiti sličnost oblika krivulja otpuštanja:

- Početni period, u kojem nema otpuštanja je tzv. period odgode (T_{lag}), a razlikuje se ovisno o debljini stijenke i geometriji modela;
- Period difuzije, koji se očituje u pojavi niskih koncentracija uzrokovanih mehanizmom difuzije dronedarona kroz nabubrene polimerne lance;
- Period erozije, u kojem dolazi do naglog porasta koncentracije uzrokovanog razaranjem polimera.

In vitro ispitivanja provedena su u periodu od tri sata. Tijekom navedenog perioda udio otpuštenog dronedarona kreće se u rasponu od 80 do 90 % za sve modele čija je stijenka debljine 0,750 mm. Kod modela KAP uočeno je da povećanjem debljine stijenke od 0,750 mm do 1,500 mm udio otpuštenog dronedarona nakon tri sata opada s 90 % na svega 40 %. Ovo je posljedica duljine početnog perioda koji je u direktnoj vezi s debljinom stijenke dozirnog oblika.

Profili otpuštanja opisani su kinetičkim modelima. Odabrana su dva modela – Makoid-Banakarov (jedm. 8) i Peppas-Sahlinov 2 (jedm. 9), oba u varijanti s vremenskom zadržskom (period odgode, T_{lag}) kojom se uzima u obzir početni period ispitivanja u kojem otpuštanje još nije započelo.

Makoid-Banakarov model s vremenskom zadržskom je izveden empirijski, dobro opisuje krivulje u matematičkom smislu ($R_p^2 > 0,9902$ za sve oblike) i jedini je kinetički model (iz baze DDSolver programa) koji dobro opisuje period difuzije kod profila otpuštanja dobivenih u ovom istraživanju. Međutim, njegovi se parametri zbog toga ne mogu koristiti za fizikalni opis otpuštanja. Primjerice, procjena vremenske zadržske, T_{lag} , kod oblika KAP ima pravilan trend ovisno o debljini stijenke (slika 29), ali vrijednosti nemaju fizikalni smisao (kod oblika TAB B i PEZ su čak negativne). Makoid i suradnici su u radu [26] modificirali Weibullov i Makoidov model tako da dobro opisuju početni period danih podataka, no ističu kako je uvijek bolje koristiti manje kompleksan model ukoliko početni period nije od velike važnosti za samo otpuštanje. Ovaj odabir ovisi o vrsti pripravka i vrsti djelatne tvari.

Peppas-Sahlinov 2 model s vremenskom zadržskom također dobro opisuje sve profile otpuštanja ($R_p^2 > 0,9899$), ali njime se ne može dobro opisati početni period difuzije djelatne tvari, što je vidljivo na grafovima na slikama 22 – 28. Slika 29 prikazuje vrijednosti vremenske zadržske, T_{lag} , ovisno o debljini stijenke dozirnih oblika. Prikazane su maksimalne i minimalne vrijednosti dobivene eksperimentom. Kako je navedeno, vrijednosti dobivene Makoid-Banakarovim modelom ispod su eksperimentalnih vrijednosti pa čak i negativne što nema nikakav fizikalni smisao. S druge strane, vrijednosti dobivene Peppas-Sahlinovim 2 modelom veće su od eksperimentalnih. To je posljedica neprikladnosti modela za opis perioda difuzije. Cijelo područje manjih koncentracija ovaj model vidi kao period u kojem nema otpuštanja i zbog toga su vrijednosti perioda odgode veće od realnih. Prednost Peppas-Sahlinovog 2 modela je mogućnost procjene mehanizma otpuštanja. U prikazanoj jednadžbi (9) prvi član

predstavlja doprinos mehanizma difuzije dok drugi član označava doprinos relaksacije polimerne matrice. Iz tablice 11 vidljivo je kako je konstanta brzine otpuštanja k_1 veća od k_2 kod svih oblika osim kod KAP 0,750 mm. Veće vrijednosti konstante k_1 pokazuju značajniju prisutnost mehanizma difuzije koji postaje sve izraženiji porastom debljine stijenke te kod nepravilnijih oblika (TAB, PEZ) što znači da je difuzijski mehanizam izraženiji kod svih oblika osim onog najpravilnijeg s najtanjom stijenkom. Otpuštanje dronedarona iz dozirnog oblika KAP 0,750 mm kontrolirano je relaksacijom polimerne matrice.

Brzina otpuštanja dronedarona, kao i drugih djelatnih tvari, ovisi između ostalog i o koncentracijskom gradijentu. Kako bi se utvrdio utjecaj početne koncentracije na brzinu otpuštanja uspoređeni su profili dobivenih iz oblika TAB A i TAB B (slika 30). Oblik TAB B sadrži dvostruko veću početnu koncentraciju od oblika TAB A. Podudarnost modela ispitana je tzv. metodama neovisnim o modelima u kojima je korišten faktor razlike, f_1 . Faktor razlike kao statistička metoda često se koristi za usporedbu profila otpuštanja generičkih lijekova s profilom otpuštanja originalnog lijeka. [26, 27] Njegova vrijednost izračunata je prema jednadžbi (11) i za usporedbu dvaju navedenih profila iznosi 8,52. Dobivena vrijednost ulazi u interval $<0, 15>$ koji razliku između profila svrstava u neznatnu. Iz ovoga se može zaključiti da do dva puta veća razlika u početnoj koncentraciji ima neznatan utjecaj na brzinu otpuštanja dronedarona iz printanih oblika.

Slike 31 i 32 prikazuju razliku između profila otpuštanja iz različitih oblika iste debljine stijenke. Početna koncentracija dronedarona u oblicima uspoređenima na slici 31 (KAP 0,750 mm i TAB A 0,750 mm) iznosi oko 200 mg/L, dok u oblicima uspoređenima na slici 32 (PEZ 0,750 mm i TAB B 0,750 mm) iznosi približno 400 mg/L. Uzme li se u obzir zaključak da početna koncentracija ima zanemariv utjecaj na profil otpuštanja, može se napraviti usporedba između svih oblika. Vidljivo je kako najmanje pravilan oblik, TAB, ima najveću vremensku zadržku i najsporije otpuštanje (oko 80 % u 180. minuti). Profil otpuštanja oblika KAP je nepravilan u odnosu na ostale, što se može pripisati blago većem doprinosu relaksacijskog mehanizma ($k_1 < k_2$) dok je kod oblika TAB i PEZ difuzijski mehanizam znatno izraženiji ($k_1 \gg k_2$).

6. ZAKLJUČAK

Tehnologijom 3D-tiska taložnim očvršćivanjem uspješno su izrađeni različiti dozirni oblici, različitih debljina stijenki, u koje je doziran dronedaron u uljnoj disperziji uz zaustavljanje i nastavljanje tiska.

Profili otpuštanja dronedarona iz printanih oblika moguće je dobro opisati upotrebom dva kinetička modela s vremenskom zadržkom: Makoid-Banakarov i Peppas-Sahlinov 2.

Prednost Makoid-Banakarovog modela je dobar opis početne difuzije, kao i dobro slaganje sa svim profilima, a prednost Peppas-Sahlinovog 2 je mogućnost procjene prevladavajućeg mehanizma i procjene vremenske zadržke otpuštanja.

Vrijednosti vremenske zadržke procijenjene Peppas-Sahlinovim 2 modelom pokazuju linearan trend u odnosu na debljinu stijenke, što znači da je moguće postići željenu odgodu otpuštanja djelatne tvari definiranjem debljine stijenke prilikom modeliranja trodimenzionalnih dozirnih oblika.

Pomoću faktora razlike dokazano je kako do dva puta veća početna koncentracija dronedarona nema značajan utjecaj na brzinu otpuštanja.

Analizom oblika profila otpuštanja pomoću parametara Peppas-Sahlinovog 2 modela može se zaključiti kako doprinos difuzijskog mehanizma raste porastom kompleksnosti oblika te porastom debljine stijenke.

Uzevši u obzir sve navedeno, može se zaključiti da bi ova metoda mogla biti dobra podloga za jednostavnu i brzu izradu personaliziranih dozirnih oblika s odgođenim otpuštanjem.

7. POPIS SIMBOLA

C_s	Koncentracija zasićene otopine na granici S/L, kg m^{-3}	n	Eksponent otpuštanja
C_t	Koncentracija na granici difuzijskog sloja, kg m^{-3}	k_0	Konstanta brzine erozije
H	Debljina difuzijskog sloja, m	C_0	Početna koncentracija djelatne tvari u matrici, kg m^{-3}
Q_0	Početna koncentracija djelatne tvari (Kinetika nultog reda), kg m^{-3}	a_0	Početni radijus sfere/cilindra
Q_r	Koncentracija djelatne tvari u vremenu t (Kinetika nultog reda), kg m^{-3}	k_{MB}	Makoid-Banakarova konstanta, min^{-n}
K_0	Konstanta brzine otpuštanja nultog reda, $\text{kg m}^{-3} \text{ s}^{-1}$	T_{lag}	Vremenska zadržska, s
t	Vrijeme, s	k	Vremenska konstanta, min
K	Konstanta brzine otpuštanja prvog reda, mg/L min	k_1	Vremenska konstanta 1, $\text{min}^{-0.5}$
M	Količina lijeka otpuštenog u vremenu t	k_2	Vremenska konstanta 2, min
M_0	Ukupna količina otpuštenog lijeka	R_p^2	Prilagođeni R^2
a	Parametar skale koji opisuje vremensku ovisnost	R^2	Korelacijski koeficijent
b	Oblik krivulje pomaka topljivosti		

8. LITERATURA

- [1] Basit A. W., Gaisford S. 3D Printing of Pharmaceuticals, AAPS Advances in the Pharmaceutical Sciences Series, 2018.
- [2] Trenfield S. J., Awad A., Goyanes A., Gaisford S., Basit A. W. 3D printing pharmaceuticals: drug development to frontline care. Trends Pharmacol Sci. 2018; 39:440–51.
- [3] <https://www.fda.gov/drugs/drug-approvals-and-databases/drugsfda-glossary-terms#D> (pristup 25. 6. 2019.)
- [4] Šokota A., Kalauz Z., Lijekovi – oblici i primjena, Zdravstveno veleučilište, Zagreb, 2008.
- [5] Alhnan, M. A. et al. (2016) Emergence of 3D printed dosage forms: Opportunities and challenges. Pharm. Res. 33, 1817–1832
- [6] https://www.mpo-mag.com/issues/2016-11-01/view_datawatch-column/trends-in-drug-delivery (pristup 25. 6. 2019.)
- [7] <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/new-drug-delivery-systems-market> (pristup 25. 6. 2016.)
- [8] Schartz S. N., Weber R. J. (2015) Adverse drug reactions. Psap, pp. 5-26.
- [9] https://images-na.ssl-images-amazon.com/images/I/51cRNtb3jQL_SY450.jpg (pristup 25. 6. 2019.)
- [10] <https://patents.google.com/patent/US4575330A/en> (pristup 25. 6. 2019.)
- [11] <https://www.techopedia.com/definition/2063/computer-aided-design-cad> (pristup 25. 6. 2019.)
- [12] [https://en.wikipedia.org/wiki/Slicer_\(3D_printing\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Slicer_(3D_printing)) (pristup 25. 6. 2019.)
- [13] <https://i.materialise.com/img/learn/whatIs3DP/3D-printing-explanation.jpg> (pristup 25. 6. 2019.)
- [14] <https://ghr.nlm.nih.gov/primer/precisionmedicine/initiative> (pristup 25. 6. 2019.)
- [15] Khaled S. A., Burley J. C., Alexander M. R., Yang J., Roberts C. J. 3D printing of five-in-one dose combination polypill with defined immediate and sustained release profiles. J Control Release. 2015; 217:308–14.
- [16] <https://biorelevant.com/blog/wp-content/uploads/2015/10/biorelevant-media.png> (pristup 25. 6. 2019.)
- [17] https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/1999_07_71_1305.html (pristup 25. 6. 2019.)
- [18] <https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/routes-of-administration> (pristup 25. 6. 2019.)
- [19] Sibinović P., Optimizacija formulacije i stabilnost tableta karvedilola, Univerzitet u Nišu, 2011.
- [20] Senjković R., Osnove oblikovanja lijekova, Školska knjiga, Zagreb, 2003.
- [21] https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_getallData.cfm (pristup 25. 6. 2019.)
- [22] Singhvi G., Singh M.; Review: In-vitro drug release characterization models; Int. J. Pharm. Stud. Res. 2 (2011) 77–84
- [22] Costa P., Sousa Lobo J. M., Modeling and comparison of dissolution profiles, Eur. J. Pharm. Sci. 13 (2001) 123–133.
- [23] Iram, F., Ali, S., Ahmad, A., Khan, S.A. and Husain, A. (2016) A Review on Dronedarone: Pharmacological, Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Profile. Journal of Acute Disease, 5, 102-108.

- [24] <https://www.gattefosse.com/labrafil-m-1944-cs> (pristup 25. 6. 2019.)
- [25] Makoid M. C., Dufour A. Banakar U. V. Modelling of dissolution behavior of controlled release systems. STP Pharma. 1993; 3:49-58
- [26] Karmoker J. R., Sarkar S., Joydhar P., Chowdhury S. F. Comparative in vitro equivalence evaluation of some Aceclofenac generic tablets marketed in Bangladesh. Pharma Innovation J., 2016.; 5(3): 03-07.
- [27] Kassaye L., Genete G. Evaluation and comparison of in-vitro dissolution profiles for different brands of amoxicillin capsules. Afr. Health Sci. 2013; 13(2):369-75