

Proizvodnja farmaceutskih peleta

Štanfel, Mateja

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:892986>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-22**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Mateja Štanfel

PROIZVODNJA FARMACEUTSKIH PELETA
DIPLOMSKI RAD

Voditelj rada: Prof. dr. sc. Gordana Matijašić

Članovi ispitnog povjerenstva:

Prof. dr. sc. Gordana Matijašić

Izv. prof. dr. sc. Krunoslav Žižek

Prof. dr. sc. Vesna Tomašić

Zagreb, rujan 2019.

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

Veliku zahvalnost, u prvom redu, dugujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Gordani Matijašić koja mi je omogućila svu potrebnu opremu i pomogla svojim savjetima pri izradi ovog diplomskog rada, i što je uvijek imala strpljenja i vremena za moje brojne upite.

Također, zahvaljujem asistentu Matiji Gretiću, mag. ing. cheming. na trudu i strpljenju oko provedbe eksperimentalnog dijela rada.

Hvala mojim prijateljima i kolegama tigrovima koji su uvijek bili uz mene, a bez kojih ovaj vijek i tijek mog studiranja ne bi bio toliko zabavan.

Posebnu zahvalnost iskazujem svojoj obitelji koja mi je bila velika podrška i snaga tijekom studiranja!

SAŽETAK

Ideja za ovim istraživanjem potaknuta je razvojem novih sustava za dostavu lijeka. Većina djelatnih tvari odmah se oslobađa iz lijeka te je njihovo djelovanje trenutno, zbog toga se nastoji pronaći formulacija koja će kontrolirano oslobađati djelatnu tvar i na taj način djelovati u tijelu kroz duži vremenski period. Nakon pripreve lijeka, bitno je da je lijek stabilan i da oslobađa djelatnu tvar u točno određenom dijelu gastrointestinalnog trakta.

U ovom radu istraživanje je provedeno u nekoliko koraka, a to je priprava peleta pomoću dvije različite metode. Impregnirane pelete pripremljene su miješanjem mikrokristalne celuloze i natrijeva klorida u masenom omjeru 70:30 te ekstrudiranjem i sferoniziranjem, a potom ispiranjem destiliranom vodom do porozne strukture. Dronedaron-hidroklorid (DNR) kao djelatna tvar u obliku nanosuspencije, vakuumski je impregniran u pore peleta. Pelete označene kao 100 mg i 400 mg pripremljene su direktnim ugrađivanjem dronedaron-hidroklorida u pelete mikrokristalne celuloze tijekom ekstrudiranja, a potom su sferonizirane. Peletama je određena specifična površina, raspodjela veličina pora, raspodjela veličina čestica i morfologija te je određen sadržaj djelatne tvari. Ispitana je brzina oslobađanja dronedarona iz peleta metodom *in vitro*. Dobiveni profili oslobađanja opisani su modelom procesa prvoga reda.

Rezultati su pokazali da je metoda direktnim ugrađivanjem DNR u pelete djelotvornija metoda nanošenja djelatne tvari u odnosu na vakuumsku impregnaciju jer daje mogućnost postizanja većih doza lijeka. Kinetika oslobađanja DNR iz peleta opisana je modelom prvog reda, a konstanta brzine oslobađanja potvrdila je najsporije oslobađanje DNR iz 100 mg peleta. Oblaganjem peleta dodatno je usporeno oslobađanje djelatne tvari. Profili oslobađanja DNR iz peleta 400 mg 60c najbliži su profilima oslobađanja Multaq tablete, a dodatne modifikacije mogu se postići oblaganjem. Ovim istraživanjem pokazano je da je različitom pripravom peleta te nanošenjem djelatne tvari i obloge moguće postići bolju kontrolu oslobađanja. Mogu se pripremiti dozirni oblici različitih sadržaja djelatne tvari i iskoristiti višestruke prednosti peleta u odnosu na tablete kao dozirni oblik.

Ključne riječi: dronedaron-hidroklorid, pelete, kontrolirano oslobađanje, kinetika oslobađanja

ABSTRACT

The idea behind this research was inspired by the development of new drug delivery systems. Most of the active substances are released from the drug immediately and their action is immediate, therefore, an effort is made to find a formulation that will release the active substance in a controlled way over a long period. After the preparation of the drug, it is important that the drug is stable and releases the active substance in a specific part of the gastrointestinal tract.

In this paper, the research was carried out in several steps, which is the preparation of pellets using two different methods. The impregnated pellets were prepared by mixing microcrystalline cellulose and sodium chloride in a mass ratio of 70:30, extruding the mixture, spheronizing and then washing to remove NaCl to achieve a porous structure of pellets. Dronedarone hydrochloride (DNR), in form of nanosuspension, is vacuum-impregnated into the pellet pores. Pellets marked as 100 mg and 400 mg were prepared by direct incorporation of dronedarone hydrochloride into microcrystalline cellulose pellets during extrusion, and then spheronized. The specific surface area, pore size distribution, particle size distribution and morphology of pellets were examined and the content of active substance was determined. The release rate of dronedarone from the pellets was investigated by *in vitro* method. A first-order model describes the resulting release profiles.

The results showed that the method of direct incorporation of DNR into pellets is a more effective method of application of the active substance over vacuum impregnation because it gives the possibility of obtaining higher doses of the drug. A first-order model described the kinetics of DNR release, and the release rate constant confirmed the slowest DNR release from 100 mg pellets. The coating of the pellets furthermore slows down the release of the active substance. The DNR release profiles of 400 mg 60c pellets are closest to the release profiles of the Multaq tablet, and additional modifications can be achieved by coating. This study showed that different pellet preparation and application of DNR and coating material could achieve better release control. Dosage forms of various active substance contents can be prepared and the multiple advantages of pellets over tablets as a dosage form can be utilized.

Key words: dronedaron hydrochloride, pellets, controlled release, kinetics profiles

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. Višečestični dozirni oblici	2
2.2. Pelete kao dozirni oblik	3
2.2.1. Postupci izrade peleta	4
2.2.2. Uklapanje djelatne tvari.....	5
2.3. Profili oslobađanja i kontrola oslobađanja djelatne tvari	7
2.3.1. Ispitivanje oslobađanja lijeka <i>in vitro</i>	9
2.3.2. Kinetika oslobađanja	10
3. EKSPERIMENTALNI DIO	16
3.1. Materijali	16
3.1.1. Dronedaron-hidroklorid.....	16
3.1.2. Mikrokristalna celuloza	16
3.1.3. Hidroksipropil-metil-celuloza	16
3.1.4. Poli(etilen-glikol) (PEG)	17
3.2. Tijek provedbe eksperimentalnog dijela	17
3.3. Priprema poroznih peleta.....	17
3.3.1. Priprema mješavina	17
3.3.2. Ekstrudiranje i sferoniziranje	18
3.3.3. Ispiranje peleta	19
3.4. Nanošenje dronedaron-hidroklorida.....	20
3.4.1. Priprema nanosuspenzija dronedaron-hidroklorida	20
3.4.2. Vakuumska impregnacija	21
3.5. Priprava peleta s ugrađenim DNR.....	22
3.5.1. Pelete 100 mg DNR.....	22
3.5.2. Pelete 400 mg DNR.....	22
3.6. Oblaganje.....	23
3.7. Metode karakterizacije	24
3.7.1. Pretražna elektronska mikroskopija.....	24
3.7.2. Raspodjela veličina čestica	24
3.7.3. Adsorpcijsko-desorpcijske izoterme dušika	25
3.7.4. Karakterizacija nanosuspenzije	26
3.8. Ispitivanje <i>in vitro</i> brzine oslobađanja dronedarona iz peleta	26
3.8.1. UV/Vis spektrofotometrija	27
3.9. Obrada rezultata	30
4. REZULTATI	31

4.1. Morfologija peleta	32
4.2. Raspodjela veličina čestica peleta	38
4.3. Specifična površina i raspodjela veličina pora	40
4.4. Karakterizacija nanosuspenzije DNR-a.....	40
4.5. Djelotvornost uklapanja DNR-a	41
4.6. Ispitivanje brzine oslobađanja DNR-a iz peleta	42
5. RASPRAVA	46
6. ZAKLJUČCI	51
7. SRAĆENICE I SIMBOLI	52
8. LITERATURA	53

1. UVOD

Farmaceutska istraživanja sve više su usredotočena na proizvodnju višestrukih sustava za isporuku lijekova kako bi se poboljšali željeni terapijski ciljevi, a smanjile nuspojave. Višestruki sustavi uglavnom su oralni oblici doziranja koji se sastoje od mnoštva malih diskretnih jedinica, a svaka ima određene karakteristike koje sveukupno daju željenu kontrolu oslobađanja djelatne tvari.

Pelete su jedan od najpopularnijih višestrukih oblika za doziranje lijekova. Proizvode se aglomeriranjem sitnih prašaka djelatne tvari u male sferične ili polusferične čestice veličine od 0,05 mm do 2 mm. Višestruka priroda peleta pruža važne terapijske, farmakološke i tehnološke prednosti u odnosu na konvencionalne oblike doziranja te je zato i interes za peletama u kontinuiranom rastu. Jednolikost ugrađivanja djelatne tvari u pelete smanjuje rizik od visoke koncentracije lijeka, tj. prekomjerne doze te nadraživanja želučane sluznice i mogućnosti raznih komplikacija.

Oralno doziranje peleta maksimizira apsorpciju lijeka u gastrointestinalnom dijelu zbog ravnomjernog raspršivanja čestica po cijelom volumenu. Zbog sferonizacije, pelete imaju optimalnu veličinu i ravnomjernu raspodjelu veličina. Zbog dobrih mehaničkih svojstava pelete mogu postići željeno oslobađanje lijeka.

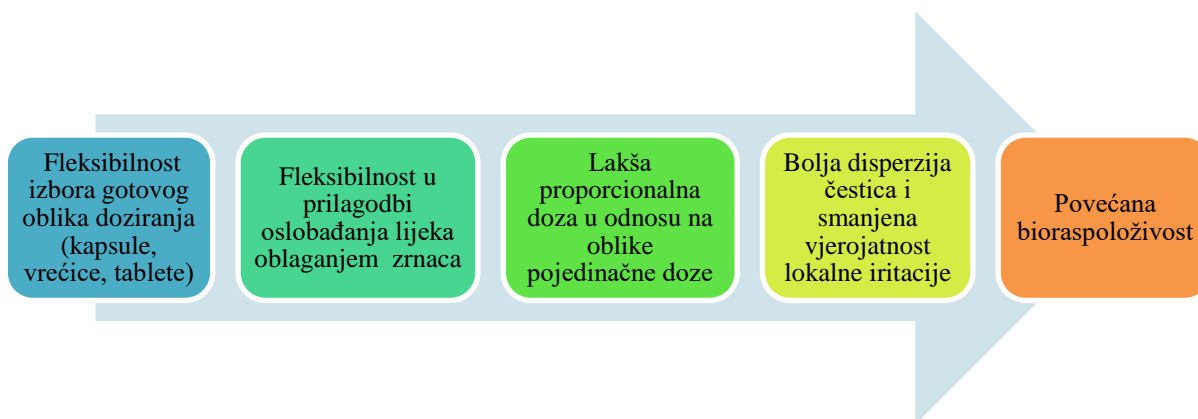
Cilj ovog rada bio je proizvesti farmaceutske pelete različitim metodama pripreme te ispitati njihov potencijal kao nosača djelatne tvari.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Višečestični dozirni oblici

U današnje vrijeme farmaceutska tehnologija je vrlo razvijena i svi farmaceutski oblici izrađuju se prema unaprijeđenim tehnološkim postupcima kako bi se osigurala povećana iskoristivost lijeka ili produžilo trajanje djelovanje lijeka. Ljekoviti oblik sastoji se od djelatne tvari (lat. *remedium*), koja je nositelj terapijskog djelovanja i pomoćnih tvari (lat. *excipientia*), koje su nositelji fizičkih osobina ljekovitih pripravaka pa tako osiguravaju bolje djelovanje i podnošljivost lijeka te pomažu pri oblikovanju željenih ljekovitih oblika. [1] Proizvodnja visokokvalitetnih farmaceutskih oblika podrazumijeva cjeloviti proizvodni postupak kako bi se omogućilo željeno djelovanje lijeka, a nuspojave moraju biti svedene na najmanju moguću mjeru.

Oralni višečestični ljekoviti sustavi su oblici doziranja koji se sastoje od mnogo malih diskretnih jedinica za dostavu lijekova. Poznati su pod mnogim terminologijama kao što su više jedinica, pelete, granule, mikrogranule, sferoide te mini ili mikro tablete. Njihovi rasponi veličina variraju i mogu biti od 150 μm do 2–3 mm. Formulacija višečestičnih oblika može sadržavati jednu djelatnu tvar ili više kombinacija djelatnih tvari, od oralnih otapajućih čestica s neposrednim oslobađanjem do različitih formulacija s modificiranim oslobađanjem. Na tržištu mnogi višečestični proizvodi sastoje se od obloženih sfera s trenutnim oslobađanjem ili kontroliranim oslobađanjem djelatne tvari. Sustavi s više čestica pouzdani su ljekoviti oblici koji se doziraju pomoću kapsula s tvrdom školjkom ili nakon miješanja s dodatnim pomoćnim tvarima i komprimiranja u obliku tableta [2]. Sustavi za dostavu lijekova s više čestica nude jedinstvene prednosti formulatorima, pružateljima skrbi i pacijentima. Neke od ključnih prednosti prikazane su na slici 1. [3]



Slika 1. Shematski prikaz prednosti višečestičnih dozirnih oblika

2.2. Pelete kao dozirni oblik

Pelete kao dozirni oblici sastoje se od mnoštva malih čestica od kojih svaka čestica pridonosi željenoj kontroli oslobađanja djelatne tvari. Pelete su male sferične čestice proizvedene aglomeriranjem sitnih prašaka ili granula, postupcima vlažnog ekstrudiranja i sferoniziranja. Pelete kao višestručni sustavi [4] za primjenu lijeka imaju potencijalno mnogo prednosti u odnosu na pojedinačne oblike doziranja kao što su predvidljivo oslobađanje lijeka, mali rizik od prebrzog ili predugačkog oslobađanja lijeka, raznolikost profila oslobađanja te povećanu bioraspoloživost uz manja odstupanja između ispitivanja *in vitro* i *in vivo*.

Pelete, kao sustav za dostavu lijeka, nude ne samo terapijske i farmakološke prednosti nego i tehnološke prednosti u odnosu na konvencionalne metode doziranja lijekova [5]:

Ujednačenost doze. Tehnike oblaganja, ekstrudiranja i sferoniziranja nude veliku točnost prilikom doziranja lijeka u pelete.

Dobra tecivost. Sfere imaju dobra svojstva tecivosti. Ovo svojstvo je posebno dobro u automatiziranim procesima ili u procesima gdje je potrebna točno određena doza lijeka, poput tabletiranja, punjenja kapsula i raznih ambalaža.

Sprječavanje stvaranja prašine. Sprječavanje stvaranja prašine rezultira u povećanoj sigurnosti procesa jer udisanje prašine može uzrokovati probleme sa zdravljem te fina prašina prašaka može eksplodirati.

Velika specifična površina. Postiže se kontrolirano oslobađanje lijeka zbog sferičnog oblika peleta koji predstavlja idealan omjer površine i volumena čestica za primjenu film-prevlaka.

Mogućnost doziranja nekompatibilnih lijekova. Pelete mogu nositi različite vrste lijekova pa čak i one koji su međusobno nekompatibilni. Takve čestice mogu imati različite profile oslobađanja te se lijekovi mogu otpuštati u različitim dijelovima gastrointestinalnog trakta.

Terapeutska prednost peleta jest ta da se pelete mogu slobodno raspršiti kroz gastrointestinalni trakt nakon uzimanja lijeka, čime je maksimizirana apsorpcija lijeka. Široka raspodjela sferičnih čestica u gastrointestinalnom traktu ograničava lokalizaciju nakupine lijeka, izbjegavajući tako nadražujući učinak nekih lijekova na želučanu sluznicu. Također, višestručni oblici doziranja s modificiranim oslobađanjem manje su osjetljivi na naglo smanjenje doze nego pojedinačni dozirni oblici.

Nedostatak peleta je taj što ih je teško komprimirati u tablete jer su jako krute. Zato se pelete isporučuju kapsulirane u čvrste kapsule od želatine, tzv. spansule prikazane na slici 2. Peletiranje zahtijeva velika ulaganja, te je kao proces vrlo skup zbog visoko sofisticirane i specijalizirane opreme, dok je također sami proces vrlo kompliciran za kontroliranje zbog velike količine procesnih i formulacijskih varijabli.

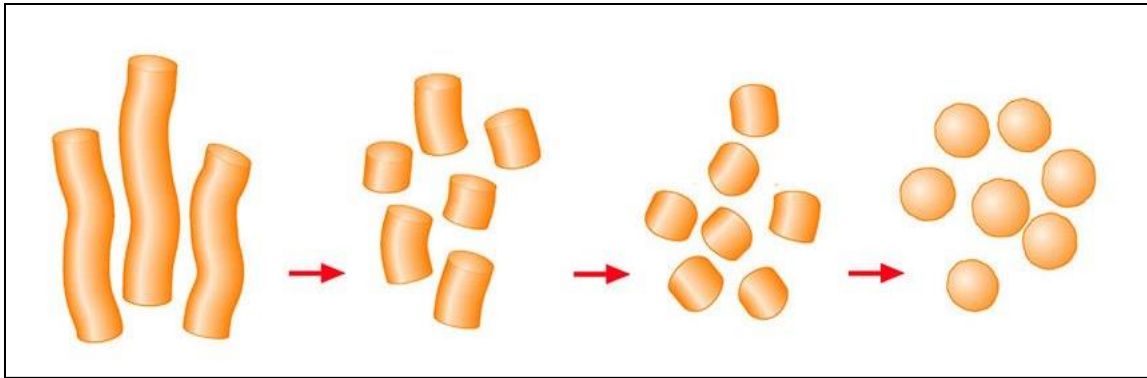


Slika 2. Pelete kapsulirane u čvrste kapsule od želatine - Spansule

2.2.1. Postupci izrade peleta

Za proizvodnju peleta u farmaceutskoj industriji koriste se razne tehnike peletiranja kao što su ekstrudiranje i sferoniziranje, nanošenje djelatne tvari u slojevima te direktno peletiranje. Kako bi se proizvele pelete sferičnog oblika, glatke površine i uske raspodjele veličina čestica najčešće se koriste tehnike ekstrudiranja i sferoniziranja. Svojstva peleta znatno ovise o načinu pripreme, procesnim uvjetima, postupku sušenja, formulaciji čvrste tvari i otopine.

Postoje različite vrste ekstruzije za proizvodnju peleta kao što su ekstruzija taljenjem te vlažna ekstruzija koja se najčešće upotrebljava u farmaceutskoj industriji. Vlažna smjesa priprema se miješanjem praškaste smjese do homogene smjese zajedno s odgovarajućim tekućim medijem kako bi imala željena svojstva koja bi omogućila lakši prolazak kroz otvore matrice ekstrudera i tako oblikovala u željeni ekstrudat različitih duljina. Nakon toga, vlažni ekstrudat prenosi se u sferonizator s rotirajućom pločom specijalizirane površinske strukture koja cilindrični ekstrudat razbija u kratke cilindre koji s vremenom potpuno poprimaju pravilan sferični oblik (Slika 3). [6]



Slika 3. Mehanizam nastajanja peleta iz ekstrudata procesom sferonizacije

Prednosti ekstrudiranja i sferoniziranja:

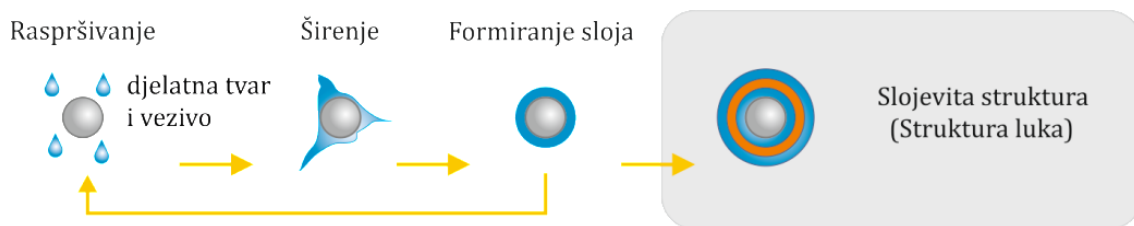
- moguće je postići veliki maseni udio djelatne tvari ($\leq 80\%$ w/w)
- kao medij za vlaženje najčešće se koristi voda (nema potrebe za organskim otapalima)
- uska raspodjela veličine čestica peleta u usporedbi s drugim tehnikama peletizacije
- oblik čestica peleta je gotovo sferičan
- pelete imaju malu krhkost i visoku vlačnu čvrstoću
- proces je robustan i može se odvijati kontinuirano

Nedostaci ekstrudiranja i sferoniziranja:

- za pripremu vlažne smjese koriste se pomoćne tvari
- potrebna je velika količina vode što vodi duljem postupku sušenja
- potrebna je visoko specijalizirana oprema i kontroliranje procesa
- oblik peleta može odstupati od sferičnosti

2.2.2. Uklapanje djelatne tvari

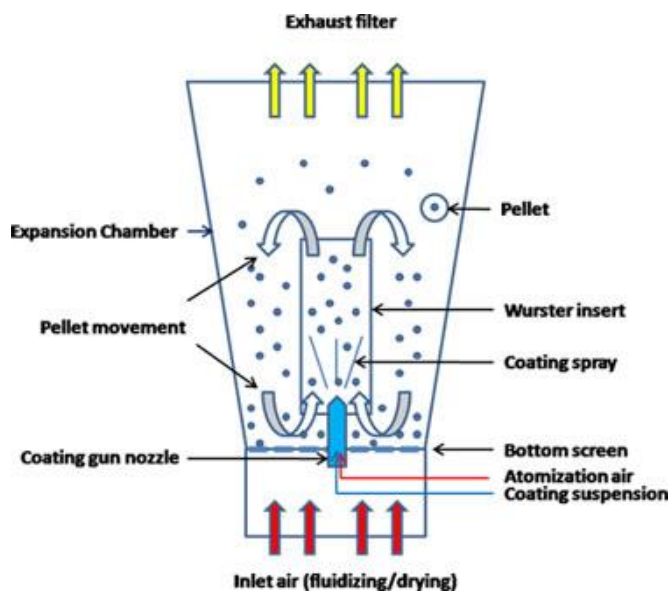
Djelatna tvar nanosi se na inertnu jezgru peleta u obliku suspenzije ili otopine lijeka. Tehnika uklapanja lijeka u pore peleta sastoji se od prskanja porozne strukture peleta suspenzijom lijeka nakon čega lijek prodire u unutrašnju strukturu pora i poslije sušenja taloži u pore peleta. Na taj način lijek je ravnomjerno raspoređen u unutrašnjosti i na površini peleta. Na primjeru ibuprofena, spektroskopski je dokazano da peleta s najvećim udjelom lijeka pokazuje da je lijek deponiran na površini, kao i unutrašnjosti pelete. [7]



Slika 4. Primjer uklapanja djelatne tvari na peletu iz otopine djelatne tvari i veziva

Na slici 4 prikazan je jedan od načina nanošenja djelatne tvari na površinu peleta raspršivanjem.

Oslobađanje lijeka iz peleta moguće je kontrolirati oblaganjem peleta, a njihova maksimalna obložena dimenzija može biti do 2 mm. [8] Tipična veziva su polimeri niske viskoznosti, topljivi u vodi poput hidroksipropil-metil-celuloze (HPMC), hidroksipropil-celuloze (HPC) ili poli(vinil-pirolidona) (PVP). Pokazano je da HPMC vezivno sredstvo poboljšava vlažnost, brzinu otapanja i topljivost slabo topljivih lijekova, sprječava rekristalizaciju te tako produljuje zasićenje u širokom rasponu formulacija. [9] Otopina za oblaganje priprema se u obliku otopine s pogodnim otapalima, pomoćnim tvarima te se pelete nasprejaju odgovarajućom opremom procesom u fluidiziranom sloju.



Slika 5. Shematski prikaz procesa u fluidiziranom sloju pomoću Wursterove cijevi

Na slici 5. prikazan je shematski prikaz procesa u fluidiziranom sloju u kojem dolazi do stvaranja vrtložnog sloja čestica kako bi se povećao prostor između čestica te tako omogućilo ravnomjerno raspršivanje otopine veziva.

Fluidizatori su opremljeni posebno konstituiranim sapnicama koje raspršuju otopinu veziva ovisno o namjeni. S obzirom na položaj sapnice tri su vrste uređaja, tako da raspršena otopina može strujati istosmjerno, protustrujno ili mješovito s pogonskim plinom. [10]

2.3. Profili oslobađanja i kontrola oslobađanja djelatne tvari

Farmaceutska istraživanja sve više su usredotočena na sustave isporuke lijeka koji poboljšavaju željene terapijske ciljeve, a smanjuju nuspojave. Posljednja istraživanja pokazuju da su višestručni sustavi za isporuku lijekova pogodni za postizanje oralnih formulacija s kontroliranim ili odgođenim oslobađanjem ljekovite tvari s malim rizikom odlaganja doze.

Oslobađanje djelatne tvari je proces u kojem se djelatna tvar otpušta iz lijeka, podvrgava apsorpciji, distribuciji, metabolizmu i izlučivanju te postaje dostupna farmakološkom djelovanju. Oslobađanje tvari može se opisati na nekoliko načina: trenutno, modificirano, odgođeno, produženo, kontrolirano i impulsno oslobađanje. **Trenutno** je oslobađanje ono u kojem se djelatna tvar otapa u što kraćem razdoblju bez namjere za odlaganjem ili produljenjem oslobađanja djelatne tvari. **Modificirano** oslobađanje djelatne tvari uključuje odgođeno i produženo oslobađanje. Kod **odgođenog** oslobađanja dolazi do kontroliranog oslobađanja kojem je cilj postizanje dostupnosti lijeka tijekom duljeg vremenskog razdoblja, održavanje konstantne razine koncentracije djelatne tvari kroz vrijeme ili oslobađanje u točno određenom dijelu probavnog trakta. **Produženo** oslobađanje podrazumijeva oslobađanje djelatne tvari tijekom duljeg vremenskog razdoblja. Naposljetku, **kontrolirano** oslobađanje uključuje produženo i impulsno oslobađanje. **Impulsno** oslobađanje uključuje oslobađanje djelatne tvari u točno određenim vremenskim intervalima, nakon konzumiranja lijeka, koji su programirani samim ljekovitim pripravkom. [11]

Otapanje je farmaceutski definirano kao brzina prijenosa tvari s čvrste površine u otapalo pod standardiziranim uvjetima granice tekuće-čvrsto, temperature i sastava otapala. Osnovni korak otapanja lijeka je reakcija krute tvari s otopinom i/ili komponentama medija za otapanje. Ova reakcija se odvija na međufaznoj površini i stoga kinetika otapanja ovisi o tri faktora: protoku medija za otapanje, brzini reakcija na granici faza te molekulskoj difuziji molekula lijeka od granice faza u masu otopine.

Mnogo je faktora koji mogu utjecati na otapanje tableta. To su primjerice brzina miješanja, temperatura, viskoznost, pH vrijednost, sastav otapala te kombinacija različitih pomoćnih tvari u dozirnom obliku. Iako postavljeni za tablete, fizički modeli se mogu primjenjivati i za druge oblike. Tri su modela prema Higuchiju koji, samostalno ili međusobno kombinirani, mogu opisati mehanizam oslobađanja.

Model difuzijskog sloja – ovaj model pretpostavlja da sloj tekućine, određene debljine, ostaje nepokretan uz čvrstu površinu kako većina tekućine prelazi preko površine određenom brzinom. Pretpostavlja se da reakcijom dolazi do trenutnog stvaranja zasićene otopine krute tvari u mirujućem difuzijskom sloju.

Brzina otapanja je tada u cijelosti kontrolirana difuzijom čvrstih molekula iz difuzijskog sloja u masu otopine prema prvom Fickovom zakonu:

$$J = -D_f \frac{dc}{dx} \quad (1)$$

gdje J predstavlja količinu tvari u jediničnom vremenu koja prolazi kroz površinu, D_f je difuzijski koeficijent, a dc/dx koncentracijski gradijent. Jednom kada čvrste molekule prijeđu u otopinu, pretpostavlja se da je miješanje brzo i da koncentracijski gradijent nestaje.

Model površinske barijere – u ovom modelu pretpostavlja se da reakcija na granici faza nije trenutna zbog velike energetske barijere koja se mora nadvladati da bi se krutina mogla otopiti. Nakon toga mehanizam otapanja je isti kao u modelu difuzijskog sloja. Brzina difuzije je relativno veća u usporedbi s prevladavanjem energetske barijere koja ograničava brzinu u procesu otapanja.

Danckwertov model – pretpostavlja da makroskopski paketi otapala dosegnu granicu faza vrtložnom difuzijom na neki slučajan način. Na granici faza paket apsorbira otoplenu tvar u skladu sa zakonima difuzije, a zatim je zamijenjen novim paketom otapala. Ovaj površinski proces obnavljanja se odnosi na brzinu transporta otopljene tvari, a time i na otapanje.

Ovisno o fizikalnim i kemijskim karakteristikama polimernih materijala, mehanizam oslobađanja aktivne tvari iz polimerne matrice se može karakterizirati u skladu s tri glavna procesa:

1. Difuzija djelatne tvari iz **nedegradiranog** polimera (difuzijski kontroliran proces).
2. Poboľšana difuzija lijeka zbog bubrenja polimera (proces kontroliran bubrenjem).
3. Oslobađanje tvari zbog degradacije polimera i erozije (proces kontroliran erozijom).

Difuzija je uključena u sva tri procesa. Kod polimera koji nisu biorazgradivi, oslobađanje djelatne tvari se događa difuzijom ili bubrenjem zbog koncentracijskog gradijenta između otopine i polimera. Kod biorazgradivih polimera oslobađanje je kontrolirano hidrolitičkim cijepanjem polimernih lanaca zbog kojeg dolazi do erozije matrice, iako difuzija može biti i dalje dominantan proces kada je erozija spora. [12-14]

2.3.1. Ispitivanje oslobađanja lijeka *in vitro*

Tijekom razvoja novih ljekovitih pripravaka primjenjuje se *in vitro* metoda za određivanje oslobađanja lijeka. *In vitro* metoda podrazumijeva ispitivanje izvan živog organizma u umjetno stvorenim uvjetima dok metoda *in vivo* znači ispitivanje u živom organizmu. Prva ispitivanja su uvijek *in vitro* kako bi se pokazala određena svojstva ljekovitog oblika, ali nikako ne daju pouzdane pretpostavke o oslobađanju *in vivo* te se zbog toga trebaju provoditi dodatna *in vivo* ispitivanja.

In vitro određivanje oslobađanja djelatne tvari nikako nije zamjena za studije bioraspoloživosti, ali može dati korisne informacije za razvitak određenog oblika lijeka, a nakon dobivanja usporedbe s pokusima *in vivo* i za nadziranje proizvodnje. Ako se nakon zaključenih *in vivo* istraživanja utvrdi da novi pripravak posjeduje traženi produženi učinak, tada se mogu pokušati korelirati rezultati *in vitro* i *in vivo* eksperimenata. Bitni parametri u korelacijama su, s jedne strane, udio oslobođenog lijeka nekom standardnom *in vitro* metodom nakon određenog vremena te, s druge strane, postignute koncentracije lijeka u plazmi, vrijeme potrebno da se postigne maksimalna koncentracija, kumulativni udio lijeka izlučenog u urin, površina ispod krivulja, mjerljivi farmakološki učinak ili koji drugi parametar. Ako se uspije naći bitna korelacija, tada se pri vrednovanju određenog pripravka i dalje može upotrebljavati *in vitro* metoda umjesto *in vivo* metode.

Ispitivanja oslobađanja lijeka iz peroralnih pripravaka omogućuju proizvođaču odabrati najprikladnije tehnologije obrade. S analitičkog i biofarmaceutskog stajališta na tehniku ispitivanja *in vitro* postavljaju se sljedeći uvjeti: principijelna sličnost postupaka u odnosu *in vivo*, što veća raznolikost primjene, dostatna diferencijacija za različite pripravke i dobra reproducibilnost. Za procjenu brzine oslobađanja *in vitro* primjenjuje se niz metoda, a njihova su glavna obilježja:

- primjena medija za ispitivanje prikladnog sastava i volumena
- provođenje pokusa u određenom vremenskom intervalu pri konstantnoj temperaturi
- različito pokretanje pripravaka, te geometrijski oblik posude za ispitivanje
- kontinuirano ili diskontinuirano određivanje sadržaja lijeka [1,10]

2.3.2. Kinetika oslobađanja

Svestrana je primjena formulacija s kontroliranim oralnim oslobađanjem lijeka. Svrha sustava kontroliranog oslobađanja tvari je održavanje koncentracije djelatne tvari u krvi ili u ciljanim tkivima što je duže moguće. Suvremeni koncept terapijskog liječenja čiji je cilj između ostalih i povećanje učinkovitosti lijeka te smanjenje nuspojava povezanih s doziranjem, upotrebljava matematičko modeliranje kao koristan pristup za predviđanje kinetike oslobađanja, što omogućuje mjerenje nekih važnih fizikalnih parametara poput koeficijenta difuzije tvari te omogućava prilagodbu modela prema eksperimentalnim podacima oslobađanja. Matematičko modeliranje ima vrlo važnu vrijednost u procesu optimiranja takvog pripravka, a za slične potrebe koristi se u različitim disciplinama kao što su genetika, medicina, psihologija, ekonomija, biologija, inženjerstvo, tehnologija i dr.

Osnovni princip za procjenu kinetike oslobađanja dali su Noyes i Whitney 1897. godine kao jednadžbu:

$$\frac{dM}{dt} = KS(c_s - c_t) \quad (2)$$

gdje M predstavlja količinu prenesene tvari, otapanjem iz krute čestice površine S , pod utjecajem prevladavajućih koncentracija pokretačke sile ($c_s - c_t$), pri čemu je c_t koncentracija u vremenu t , a c_s je ravnotežna koncentracija otopljene tvari pri određenoj temperaturi. Brzina otapanja dM/dt predstavlja količinu otopljene tvari u jedinici vremena..

Brunner i Nerst su koristeći Fickov zakon difuzije uspostavili relaciju između konstanti jednadžbe i koeficijenta difuzije:

$$K = \frac{DS}{h\gamma} \quad (3)$$

gdje je D koeficijent difuzije, S površina otapanja ili površina difuzijskog sloja, γ volumen otopine i h debljinu difuzijskog sloja. U formuliranju svoje teorije, Nerst i Brunner pretpostavili su da se proces na površini odvija puno brže nego prijenos tvari te da je linearni koncentracijski gradijent ograničen na sloj otopine vezane za čvrstu površinu. Idealno stanje ne može se nikada postići zbog stalne promjene površine napretkom procesa oslobađanja tvari. Prema Noyes-Whitneyjevoj jednadžbi proces oslobađanja tvari je proces prvog reda.

Postoji nekoliko kinetičkih modela koji opisuju ukupno oslobađanje lijeka iz dozirnog oblika. Zbog kvalitativne i kvantitativne promjene u formulaciji može doći do promjene u oslobađanju lijeka i *in vivo* ponašanja, pa je razvijanje alata koji olakšava razvoj proizvoda smanjujući potrebu za biološkim studijama uvijek poželjan. U tom pogledu, korištenje podataka *in vitro* otapanja lijeka za predviđanje *in vivo* biološkog ponašanja može se smatrati kao racionalni razvoj formulacija s kontroliranim oslobađanjem.

Metode pristupa istraživanja kinetike oslobađanja iz pripravaka s kontroliranim učinkom mogu se klasificirati u tri kategorije:

1) Statističke metode

- istraživačka metoda analize podataka – ovaj postupak se može koristiti u prvom stupnju za usporedbu podataka o profilu otapanja, na oba načina, grafički i numerički,
- ponovljena mjerenja
- raznoliki pristup – ove metode temelje se na dizajnu ponavljanja mjerenja, gdje je vrijeme ponavljajući faktor, a postotak otopljenog predstavlja zavisnu varijablu.

2) **Metode ovisne o modelima** dobivene su iz empirijskih korelacija s provedenim eksperimentima u kojima se nalaze parametri koji ukazuju na sama svojstva oslobađanja djelatne tvari te omogućuju procjenu konstante brzine oslobađanja. Statističke metode i metode neovisne o modelu dobivene su potpuno statističkim i numeričkim postupcima izrade modela.

Dijele se na:

a) **Model nultog reda** - oslobađanje lijeka iz dozirnog oblika koji se ne razdvaja i sporo otpušta lijek, može se prikazati jednadžbom:

$$Q_0 - Q_t = K_0 t \quad (4)$$

Sređivanjem slijedi jednadžba:

$$Q_t = Q_0 - K_0 t \quad (5)$$

gdje Q_t predstavlja količinu lijeka otopljenog u vremenu t , Q_0 početnu količinu lijeka u otopini, a K_0 konstantu oslobađanja nultog reda izraženu u jedinicama koncentracija/vrijeme. Dobiveni podaci iz *in vitro* studije oslobađanja lijeka prikazuju se kao kumulativna količina otpuštenog lijeka u odnosu na vrijeme. Ovaj odnos se može koristiti za opisivanje topljivosti nekoliko tipova modificiranih farmaceutskih oblika oslobađanja kao što su obložene tablete s niskom topljivosti lijekova, osmotski sustavi, transdermalni sustavi itd.

b) **Model prvog reda** - koristi se za opisivanje apsorpcije i/ili eliminacije nekih lijekova. Oslobađanje lijeka, koji slijedi kinetiku prvog reda može se izraziti jednadžbom:

$$\frac{dc}{dt} = -Kc \quad (6)$$

gdje K predstavlja konstantu oslobađanja prvog reda izraženu u jedinici vremena. Gornja jednadžba može se izraziti kao:

$$\ln c = \ln c_0 - Kt \quad (7)$$

gdje je c_0 početna koncentracija lijeka, a t vrijeme. Dobiveni podaci prikazani su kao logaritam ukupnog postotka preostalog lijeka u odnosu na vrijeme. Ovaj odnos se može koristiti za opisivanje topljivosti lijeka u farmaceutskim oblicima doziranja kao što su oni koji sadrže vodotopljive lijekove u poroznim matricama.

c) **Higuchijev model** – ovaj model se temelji na sljedećim pretpostavkama:

- (1) početna koncentracija lijeka je u matrici mnogo veća od topljivosti lijeka,
- (2) difuzija lijeka odvija se samo u jednoj dimenziji,
- (3) čestice lijeka su puno manje od debljine dozirnog oblika,
- (4) oticanje i topljenje matrice je zanemarivo,
- (5) difuzivnost lijeka je konstantna,

prema tome, izraz modela dan je jednadžbom:

$$f_t = Q = A\sqrt{D(2c - c_s)c_s t} \quad (8)$$

gdje Q predstavlja količinu lijeka koja je oslobođena u vremenu t po jedinici površine A , c je početna koncentracija lijeka, c_s je topljivost lijeka u matičnom mediju, a D je difuzivnost molekule lijeka (koeficijent difuzije) u matičnom sadržaju. Ovaj odnos vrijedi cijelo vrijeme, osim kada je postignuto ukupno iscrpljivanje lijeka u terapijskom sustavu. Proučavanje otapanja od planarnog heterogenog sistema matrice, pri čemu je koncentracija lijeka u matrici niža od topljivosti i oslobađanje se događa kroz pore u matrici, daje jednadžbu:

$$f_t = Q = A\sqrt{\frac{D\delta}{\tau}(2c - c_s)c_s t} \quad (9)$$

gdje je D difuzijski koeficijent molekule lijeka u otapalu, δ poroznost matrice, τ zakrivljenost matrice, a Q , A , c_s i t imaju gornje značenje. Općenito, moguće je pojednostaviti Higuchijev model kao:

$$f_t = Q = K_H \cdot t^{1/2} \quad (10)$$

gdje K_H predstavlja Higuchijevu konstantu otapanja. Ovaj odnos može se koristiti za opisivanje topljivosti nekoliko vrsta modificiranih farmaceutskih oblika oslobađanja, kao što su tablete s vodotopljivim lijekovima i neki transdermalni sustavi.

d) **Hixson-Crowellov model** – Hixson i Crowell su uočili da je redovno područje čestica proporcionalno korijenu volumena kocke. Izveli su jednadžbu:

$$W_0^{1/3} - W_t^{1/3} = \kappa \cdot t \quad (11)$$

gdje W_0 predstavlja početnu količinu lijeka u farmaceutskom obliku doziranja, W_t preostalu količinu djelatne tvari u farmaceutskom obliku doziranja u vremenu t i κ konstantu ugradnje površno-volumnog odnosa. Jednadžba opisuje oslobađanje iz sustava gdje postoji promjena površine i promjera čestice ili tableta. Ovaj izraz se odnosi na farmaceutske oblike za doziranje kao što su tablete, gdje se otapanje odvija u ravninama koje su paralelne s površinom lijeka ako se dimenzije tableta smanjuju proporcionalno, na način da se početni geometrijski oblik održava konstantnim kroz cijelo vrijeme.

e) **Korsmeyer-Peppasov model** – Korsmeyer i suradnici izveli su jednostavnu jednadžbu koja opisuje oslobađanje lijeka iz polimernog sustava:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = Kt^n \quad (12)$$

gdje je M_t/M_∞ dio otpuštenog lijeka u vremenu t , K konstanta brzine oslobađanja, a n eksponent oslobađanja. Vrijednost n se koristi za karakterizaciju različitih oslobađanja za cilindrične oblike matrica.

f) **Baker-Lonsdaleov model** – ovaj model razvijen je od strane Bakera i Lonsdalea iz Higuchijevog modela i opisuje oslobađanje lijeka iz sferne matrice prema jednadžbi:

$$f_1 = \frac{3}{2} \left[1 - \left(1 - \frac{M_t}{M_\infty} \right)^{2/3} \right] \frac{M_t}{M_\infty} = kt \quad (13)$$

gdje konstanta brzine oslobađanja k , odgovara nagibu. Ova jednadžba se koristi za linearizaciju podataka oslobađanja iz nekoliko formulacija mikrokapsula ili mikrosfera.

g) **Weibullov model** – ovaj model vrijedi za različite procese otapanja, a izražen je jednadžbom:

$$M = M_0 \left[1 - e^{-\frac{(t-T)^b}{a}} \right] \quad (14)$$

U ovoj jednadžbi, M je količina lijeka otpuštenog u vremenu t , a M_0 je ukupna količina otpuštenog lijeka. T je zaostalo vrijeme mjereno kao rezultat procesa otapanja. Parametar a označava parametar skale koji opisuje vremensku ovisnost, a b opisuje oblik krivulje pomaka topljivosti. Za $b = 1$, oblik krivulje odgovara eksponencijalnom obliku s konstantom $k = 1/a$.

$$M = M_0 \left[1 - e^{-k(t-T)} \right] \quad (15)$$

Kada je $b > 1$ krivulja dobiva sigmoidalan oblik sa zakrivljenim vrhom, a kada je $b < 1$ krivulja pokazuje strmi porast. Weibullov model je koristan za uspoređivanje profila oslobađanja lijeka iz matrica.

Odabir najboljeg modela provodi se određivanjem koeficijenta determinacije R^2 kako bi se utvrdilo kakvo je slaganje modela i eksperimentalnih podataka. Međutim, vrijednost R^2 je

često veća što model sadrži više parametara te se stoga za usporedbu modela koji ne sadrže jednak broj parametara koristi prilagođena vrijednost koeficijenta determinacije R^2_{adj} :

$$R^2_{\text{adj}} = 1 - \frac{(n-1)}{n-p} (1 - R^2) \quad (16)$$

gdje je n broj eksperimentalnih podataka, a p broj parametara modela. Dakle, najbolji model je onaj koji ima najveću vrijednost R^2_{adj} . [13]

3) **Metode neovisne o modelima** - ove metode koriste se za usporedbu profila otapanja i ne zasnivaju se na kinetičkim modelima. Jednostavan neovisni model pristupa koristi faktor razlike (f_1) i faktor sličnosti (f_2) kako bi se usporedili profili otapanja. Faktor razlike izračunava razliku u postotku između dviju krivulja u svakoj vremenskoj točki i mjera je relativne greške između dviju krivulja. Izražava se kao:

$$f_1 = \left\{ \frac{\left[\sum_{t=1}^n (R_t - T_t) \right]}{\sum_{t=1}^n R_t} \right\} \cdot 100 \quad (17)$$

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 .

Faktor sličnost je logaritamska vrijednost recipročnog kvadrata korijena transformacije od zbroja kvadrata pogreške, te je mjera sličnosti u postotnom raspadu između dviju krivulja.:

$$f_2 = 50 \cdot \log \left\{ \left[1 + \left(\frac{1}{n} \right) \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2 \right]^{-0,5} \cdot 100 \right\} \quad (18)$$

Ovaj model neovisne metode je najpogodniji za usporedbe profila otapanja kada su na raspolaganju tri do četiri ili više točaka vremena otapanja. [15]

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

3.1.1. Dronedaron-hidroklorid

Dronedaron-hidroklorid je derivat benzofurana vezanog na amiodaron. U farmaceutskoj industriji je poznat kao lijek za srčane aritmije. Kemijski naziv dronedarona je N-(2-butil-3-(p-(3-(dibutilamino)propoksi)benzoil)-5-benzofuranil) metan sulfonamid. Njegova molekulska formula je $C_{31}H_{45}ClN_2O_5S$. Molekulska masa dronedaron-hidroklorida iznosi $593,22 \text{ g mol}^{-1}$, a gustoća 1143 kg m^{-3} . Dronedaron-hidroklorid se topi pri temperaturi od 141 do $143 \text{ }^\circ\text{C}$. Dronedaron-hidroklorid korišten je kao modalni lijek koji je nanošen na pelete impregnacijom u vakuumu i direktnim ugrađivanjem u pelete. Proizvođač je PLIVA Hrvatska d.o.o. , a pripremljen je u obliku nanosuspenzije mljevenjem u vodenom mediju pomoću mlina Dyno-mill Research Lab (*WAB, Švicarska*).

3.1.2. Mikrokrystalna celuloza

Mikrokrystalna celuloza (MCC) je celulozni materijal visokog stupnja kristaličnosti, a ima ulogu prirodnog stabilizatora. To je sipki, bijeli prah, bez okusa i mirisa, lako se preša pa se stoga koristi kao nosač lijekova u tabletama. Za pripremu peleta korišten je Avicel PH 101 (mikrokrystalna celuloza) dobiven od tvrtke Pliva Hrvatska d. o. o. Natrijev klorid dodan je kao sredstvo za formiranje pora.

3.1.3. Hidroksipropil-metil-celuloza

Hidroksipropil-metil-celuloza (HPMC) pripada skupini celuloznih etera u kojima su hidroksilne skupine suspsitirane s jednom ili više od tri hidroksilne grupe prisutne u celuloznom prstenu. HPMC je hidrofilni, biorazgradiv i biokompatibilan polimer koji ima široku primjenu u proizvodnji lijekova. U ovom radu korištena je HPMC kao sredstvo za oblaganje peleta.

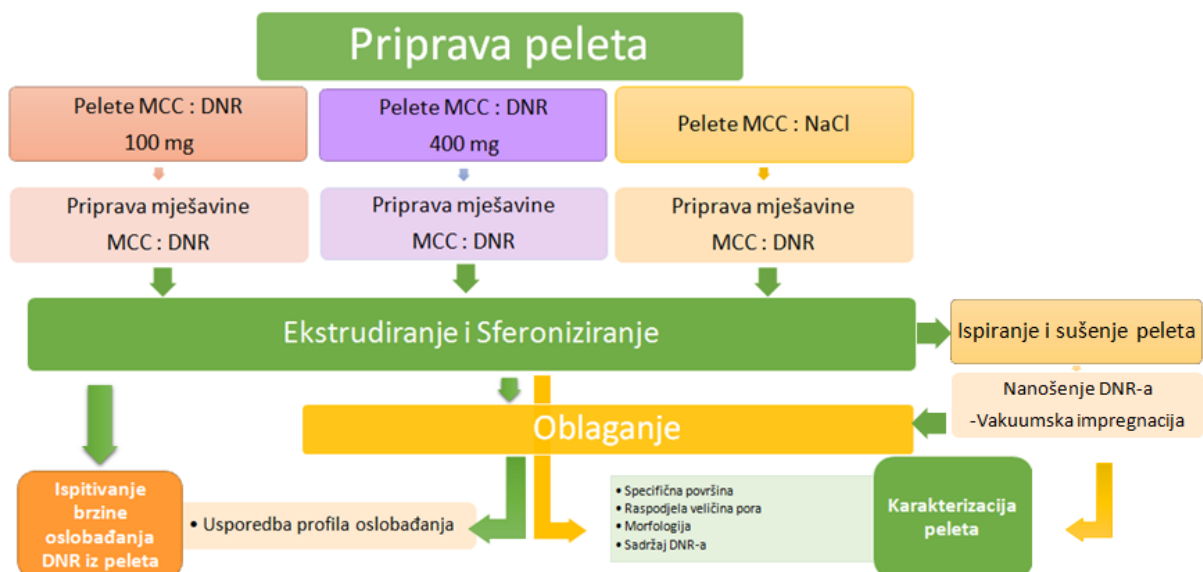
3.1.4. Poli(etilen-glikol) (PEG)

Poli(etilen-glikoli) su polimerizacijski produkti etilen-oksida. Mogu biti nosači djelatne tvari, a mogu i služiti kao otapalo ili sredstvo za poboljšanje apsorpcije djelatne tvari. Pri izradi peleta ima funkciju veziva kako bi se olakšalo oblikovanje mješavine s djelatnom tvari.

3.2. Tijek provedbe eksperimentalnog dijela

Eksperimentalni dio proveden je u nekoliko koraka pripreve peleta, njihove karakterizacije, nanošenja i određivanje udjela nanosene djelatne tvari.

Slika 6 prikazuje tijek eksperimentalnog dijela rada.



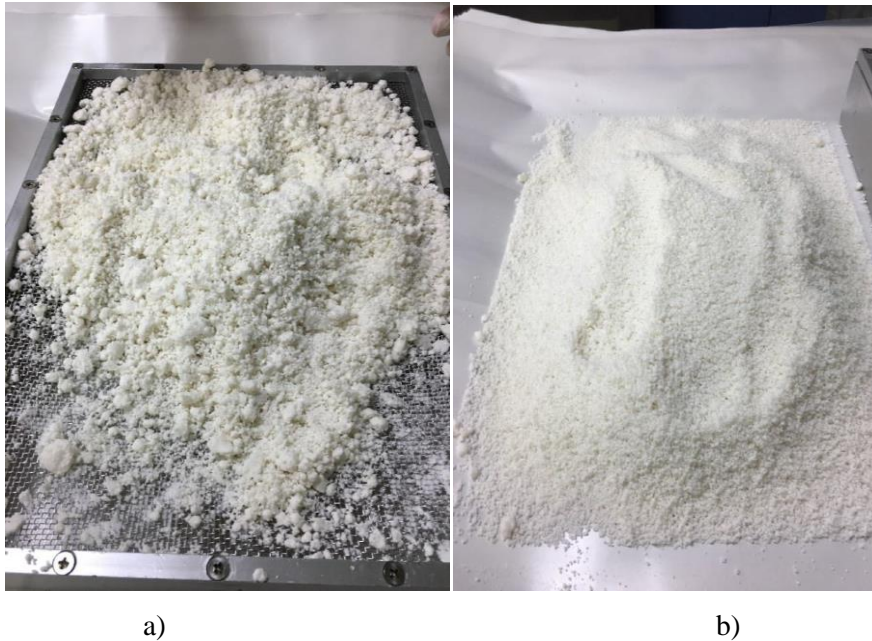
Slika 6. Tijek provedbe eksperimentalnog dijela

3.3. Priprema poroznih peleta

3.3.1 Priprema mješavina

Mješavina Avicela PH 101 i NaCl pripremljena je u masenim omjerima 30:70 [16], a potom miješana u smičnom granulatoru pri brzini miješala od 200 o/min tijekom 2 minute.

Destilirana voda (maseni udio 42 %) dodana je kao vezivno sredstvo. Brzina sjekača tijekom miješanja i dodavanja veziva bila je 500 o/min, a nakon dodatka veziva povećana je na 750 o/min. Sjekačem je regulirana veličina nastalih granula (Slika 7a) koje su po završetku procesa prosijane kroz otvor očice sita od 2 mm da bi se dobile ujednačene veličine granula (Slika 7b).



Slika 7. Mješavina dobivena u granulatoru: a) prije prosijavanja, b) nakon prosijavanja

3.3.2. Ekstrudiranje i sferoniziranje

150 do 200 grama pripremljenih granula ekstrudirano je u aksijalnom ekstruderu MG-55 (*Fuji Paundal, Japan*) (Slika 8a) pri brzini od 50 o/min i sobnoj temperaturi, te je protisnuto kroz otvore promjera 1 mm. Dobiveni ekstrudat sferoniziran je 2 minute u sferonizatoru QJ-230T-1 (*Fuji Paundal, Japan*) (Slika 8b) pri 1000 o/min kako bi se dobile pelete sferičnog oblika. Nakon sferoniziranja, vlažne pelete sušene su 24 sata pri sobnoj temperaturi.



a)



b)

Slika 8. a) Ekstruder, b) Sferonizator

3.3.3. Ispiranje peleta

Porozna struktura peleta postignuta je ispiranjem NaCl iz inertnih peleta destiliranom vodom. Pelete su najprije potopljene 24 sata u destiliranoj vodi, a nakon toga ispirane preko Büchnerovog lijevka. Uklanjanje klorida provjereno je dodatkom nekoliko kapi 0,25 M AgNO₃ u filtrat koji u prisustvu klorida stvara bijeli talog (AgCl). U slučaju pojave taloga, pelete su dodatno ispirane destiliranom vodom. Isprane pelete stavljene su na sušenje 48 sati pri sobnoj temperaturi i nakon toga odvojene na sitima u rasponu veličina 500 – 1250 µm.

3.4. Nanošenje dronedaron-hidroklorida

3.4.1. Priprema nanosuspenzija dronedaron-hidroklorida

Prije samog mljevenja djelatne tvari, provedeno je nekoliko preliminarnih testova pomoću magnetske mješalice (Slika 9) za odabir najpogodnijeg stabilizatora za pripremu nanosuspenzije.



Slika 9. Magnetska mješalice i dobiveni uzorci vodenih suspenzija dronedarona i stabilizatora

Mljevenje dronedarona provedeno je u mlinu Dyno-mill Research Lab (*WAB, Švicarska*) komore volumena 300 mL (Slika 10). Uzorak je pripremljen u masenim omjerima: 20 % dronedaron-hidroklorida, 1 % stabilizatora (Poloxamer 407) i 79 % destilirane vode. Uzorak je homogeniziran prije samog mljevenja pomoću propelerske miješalice pri 700 o/min.

Uređaj za mljevenje sastoji se od komore za mljevenje, osovine i recirkulirajuće komore. Komora za mljevenje puni se medijem za mljevenje (kuglicama), vodom, djelatnom tvari i stabilizatorima. Mljevenje se odvija pri strogo kontroliranim temperaturnim uvjetima dok kuglice rotiraju velikom brzinom. Velike sile trenja i udara omogućavaju visok stupanj usitnjavanja. Prilikom mljevenja korišteno je 5 mL keramičkih kuglica (ZY-P), veličine 0,1 – 0,2 mm pri 4000 o/min i temperaturi od 40 °C.



Slika 10. Mlin Dyno-mill Research Lab (*WAB, Švicarska*)

3.4.2. Vakuumska impregnacija

Svrha impregnacije pod vakuumom je uklanjanje zraka iz uzorka kako bi se omogućilo potpuno prodiranje nanosuspenzije dronedarona u pore peleta. Porozne pelete impregnirane su dobivenom nanosuspenzijom u uređaju za vakuumsku impregnaciju Cito Vac (*Struers, Njemačka*) (Slika 11).

Uzorci peleta stavljeni su u staklenu posudu, postavljeni u komoru uređaja i vakuumirani. Nakon postizanja vakuuma, nanosuspenzija dronedarona propuštena je staklenu posudu do potpunog prekrivanja peleta. Vakuumiranje je zaustavljeno kako bi tlak zraka potisnuo otopinu dronedarona u pore peleta, a nakon nekoliko minuta tlak je vraćen na atmosferski. Nakon impregniranja, višak suspenzije je dekantiran i pelete su stavljene na sušenje 24 sata pri sobnoj temperaturi.



Slika 11. Uređaj za vakuumsku impregnaciju Cito Vac (*Struers*)

3.5. Priprava peleta s ugrađenim DNR

3.5.1. Pelete 100 mg DNR

Vezivno sredstvo PEG 4000, u masenom omjeru 8,4 % otopljeno je u destiliranoj vodi pomoću magnetske mješalice. Nakon toga je pripremljena mješavina Avicela PH 101 masenog udjela 76,6 % i 15 % dronedarona te miješana 2 minute u smičnom granulatoru pri brzini miješala od 200 o/min. PEG 4000, otopljen u vodi, dodan je kao vezivno sredstvo. Brzina sjekača tijekom miješanja i dodavanja veziva bila je 500 o/min, a nakon dodatka veziva povećana je na 750 o/min. Kako bi se dobile ujednačene veličine granula, granule po završetku procesa prosijane su kroz otvor očice sita od 2 mm.

Pripremljene granule ekstrudirane su u aksijalnom ekstruderu MG-55 (*Fuji Paundal, Japan*) (Slika 8a) pri brzini od 50 o/min i sobnoj temperaturi, te su protisnute kroz otvore sita promjera 1 mm. Dobiveni ekstrudat sferoniziran je 2 minute u sferonizatoru QJ-230T-1 (*Fuji Paundal, Japan*) (Slika 8b) pri 1000 o/min kako bi se dobile sferične pelete. Dobivene pelete sušene su 24 sata pri sobnoj temperaturi i nakon toga odvojene na sitima u rasponu veličina 500 – 1250 μm .

3.5.2. Pelete 400 mg DNR

Mješavina Avicela PH 101 masenog udjela 38,65 % i 57,15 % DNR miješana je u smičnom granulatoru pri brzini miješala od 200 o/min. PEG 4000, masenog udjela 4,2 % otopljen je u destiliranoj vodi te dodan kao vezivno sredstvo. Brzina sjekača tijekom miješanja i dodavanja veziva bila je 500 o/min, a nakon dodatka veziva povećana je na 750 o/min. Dobivene granule protisnute su kroz otvor očice sita od 2 mm.

Pripremljene granule ekstrudirane su u aksijalnom ekstruderu MG-55 (*Fuji Paundal, Japan*) (Slika 8a) pri brzini od 50 o/min i sobnoj temperaturi, te su protisnute kroz otvore sita promjera 1 mm. Dobiveni ekstrudat sferoniziran je 2 minute u sferonizatoru QJ-230T-1 (*Fuji Paundal, Japan*) (Slika 8b) pri 600 o/min kako bi se dobile sferične pelete. Dobivene pelete sušene su 24 sata pri sobnoj temperaturi nakon toga odvojene na sitima u rasponu veličina 500 – 1250 μm .

3.6. Oblaganje

Oblaganjem peleta dodatno se može utjecati na brzinu oslobađanja djelatne tvari, odnosno može se dobiti bolja kontrola njezinog oslobađanja. Stoga su pelete nakon nanošenja djelatne tvari obložene otopinom HPMC u vodi, masenog udjela 5 % uz dodatak bojila kako bi se vizualizirala obloga.

Oblaganje je provedeno u fluidiziranom sloju uz dodatak Wursterove cijevi u uređaju UniGlatt (*Glatt GmbH, Njemačka*) (Slika 12). Uzorak peleta volumena 140 mL stavlja se u komoru uređaja te se podešava ulazna struja zraka kako bi čestice peleta fluidizirale. Temperatura u komori bila je 80 °C, tlak zraka za raspršivanje veziva 1,5 bar, a otvor mlaznice podešen je a tip mlaznice jednak je 2 okretaja. Vezivo se do mlaznice dovodi peristaltičkom pumpom i raspršuje u komoru u kojoj fluidiziraju pelete. Protok otopine za oblaganje iznosio je 6,5 mL/min. Oblaganje se odvija u ciklusima: 30 s doziranje veziva, 2 min sušenje. Pelete koje imaju oznaku 30c oblagane su kroz 30 ciklusa, a one s oznakom 60c kroz 60 ciklusa.



Slika 12. UniGlatt uređaj za oblaganje u fluidiziranom sloju (*Glatt GmbH, Njemačka*)

3.7. Metode karakterizacije

3.7.1. Pretražna elektronska mikroskopija

Morfologija peleta analizirana je pomoću pretražnog elektronskog mikroskopa (SEM), uređaja Vega 3 (*Tescan, Češka*) (Slika 13). Prije analize morfologije uzorka, potrebno je izvršiti njegovu pripremu. Uzorak se nanosi na vodljivu vrpcu te se fiksira na metalni nosač, koji se potom stavlja u komoru naporivača (*sputter coater*) Quorum SC7620 u atmosferu inertnog plina (Ar). Radna komora mora biti pod tlakom $< 10^{-2}$ mbar, koji se ostvaruje uključivanjem rotacijske pumpe. Katoda, omotač komore, građena je od platine i rodija te služi za oblaganje uzorka ovim metalima. Kada se elektrode priključe na visoki napon (800 – 1200 V), električno polje ionizira argon te njegovi ioni udaraju u katodu i izbijaju atome platine i rodija koji oblažu uzorak te time uzorak postaje vodljiv i spreman za analizu elektronskim mikroskopom. Ovakvi uređaji namijenjeni su uvidu u strukturu površine sve do nanometarske razine i s mogućnošću povećanja do milijun puta.



Slika 13. Pretražni elektronski mikroskop Vega 3 (*Tescan, Češka*)

3.7.2. Raspodjela veličina čestica

Raspodjela veličina peleta izmjerena je pomoću uređaja CAMSIZER X2 (*Retsch Technology GmbH*) (Slika 14) koji se temelji na analizi slike projekcija čestica. Dobivene veličine čestica predstavljaju ekvivalentni promjer projicirane površine čestica.



Slika 14. Uređaj za mjerenje raspodjele veličina čestica (CAMSIZER X2, *Retsch Technology GmbH*)

Camsizer X2, koristi princip digitalne analize slike. Princip rada zasniva se na tome da raspršene čestice padaju između LED izvora svjetlosti i dviju digitalnih kamera. Sjene čestica se snimaju digitalnim kamerama od kojih je jedna optimirana za analizu manjih čestica s visokom rezolucijom, a druga za detekciju većih čestica s većim vidnim poljem. Odgovarajućim pripadnim programom analizirana je veličina i oblik pojedine čestice, a kao rezultat se dobije krivulja raspodjele veličina peleta. Obradom podataka mogu se dobiti sve karakteristične veličine raspodjele. [17]

3.7.3. Adsorpcijsko-desorpcijske izoterme dušika

Specifična površina određena je snimanjem adsorpcijsko-desorpcijskih izotermi dušika pomoću uređaja ASAP 2000 (*Micromeritics, SAD*) prikazanog na slici 15. Pomoću ove metode može se odrediti specifična površina, veličina pora i raspodjela veličina pora.

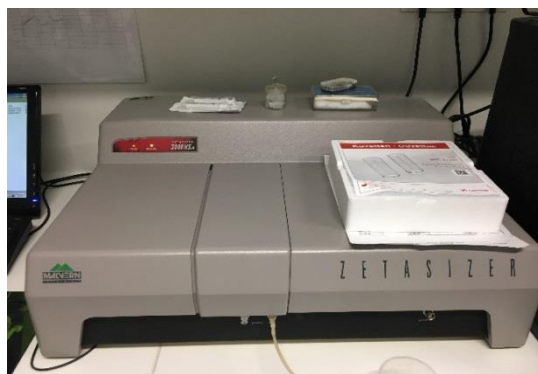


Slika 15. ASAP 2000 (*Micromeritics, SAD*)

Uzorak je smješten u vakuumskoj komori pri konstantnoj i vrlo niskoj temperaturi, najčešće temperaturi tekućeg dušika ($-195,6\text{ }^{\circ}\text{C}$). Uzorak se podvrgava širokom rasponu tlakova da bi se dobile izoterme adsorpcije i desorpcije. Mjeri se volumen plina, u ovom slučaju dušika, adsorbiranog u porama u ovisnosti o parcijalnom tlaku i konstantnoj temperaturi. Adsorpcijska izoterma opisuje se najčešće BET jednačbom. Volumen adsorbiranog dušika proporcionalan je specifičnoj površini tijela. Specifična površina je realna površina u kojoj su uključene sve mikroskopski male neravnine i pore. Prije analize uzorak je otplinjavan pri $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ kako bi se uklonile nečistoće iz pora.

3.7.4. Karakterizacija nanosuspenzije

Raspodjela veličina čestica i zeta potencijal pripremljenih nanosuspenzija određeni su pomoću uređaja Zetasizer 3000 HSA (*Malvern Instruments, SAD*) (Slika 16). Uređaj se koristi za mjerenje veličine čestica i molekula od nanometra do nekoliko mikrometara pomoću dinamičkog raspršenja svjetlosti; zeta potencijal i elektroforetsku mobilnost uporabom elektroforetskog raspršenja svjetlosti; i molekularne težine upotrebom statičkog raspršenja svjetlosti.



Slika 16. Zetasizer 3000 HSA (*Malvern Instruments, SAD*)

3.8. Ispitivanje *in vitro* brzine oslobađanja dronedarona iz peleta

Ispitivanje je provedeno na uređaju za ispitivanje oslobađanja djelatnih tvari RC-6D (*Zhengzhou Nanbei, Kina*) (Slika 17). Kao medij je korišten fosfatni pufer volumena 1000 ml, pH 4,5, a za miješanje su korištene lopatice (USP II). Temperatura pufera podešena je na $37 \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, a broj okretaja lopatica na 75 o/min.

Tvrde kapsule dimenzija 00 napunjene su s 430 mg peleta. Napunjene kapsule stavljene su u košarice za potapanje i dodane u medij. Uzorkovanje je provedeno u intervalima 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90 i 120 minuta u skladu s FDA metodom za ispitivanje oslobađanja dronedarona iz tableta. Prilikom uzorkovanja uzorci su filtrirani kroz filtar CHROMAFIL® Xtra H-PTFE-45/25 nakon čega su analizirani na UV/Vis spektrofotometru UV-1280.



Slika 17. Uređaj za ispitivanje brzine oslobađanja djelatne tvari RC-6D (*Zhengzhou Nanbei, Kina*)

3.8.1. UV/Vis spektrofotometrija

UV/Vis spektrofotometar je instrument koji mjeri intenzitet svjetlosti koja je prošla kroz analizirani uzorak te ga uspoređuje s intenzitetom upadnog svjetla. Osnovni dijelovi spektrofotometra su izvor svjetlosti, kiveta u kojoj je smješten uzorak, monokromator i detektor.

UV/Vis spektrofotometrija korištena je pri analizi sadržaja dronedaron-hidroklorida u peletama te tijekom ispitivanja *in vitro* za određivanje koncentracije dronedaron-hidroklorida u vremenu. UV/Vis spektrofotometar UV-1280 (*Shimadzu, Japan*) prikazan je na slici 18. Mjerenja su provedena pri valnoj duljini od 289,5 nm što odgovara maksimumu apsorbancije dronedaron-hidroklorida u metanolu i u fosfatnom puferu (pH =4,5).



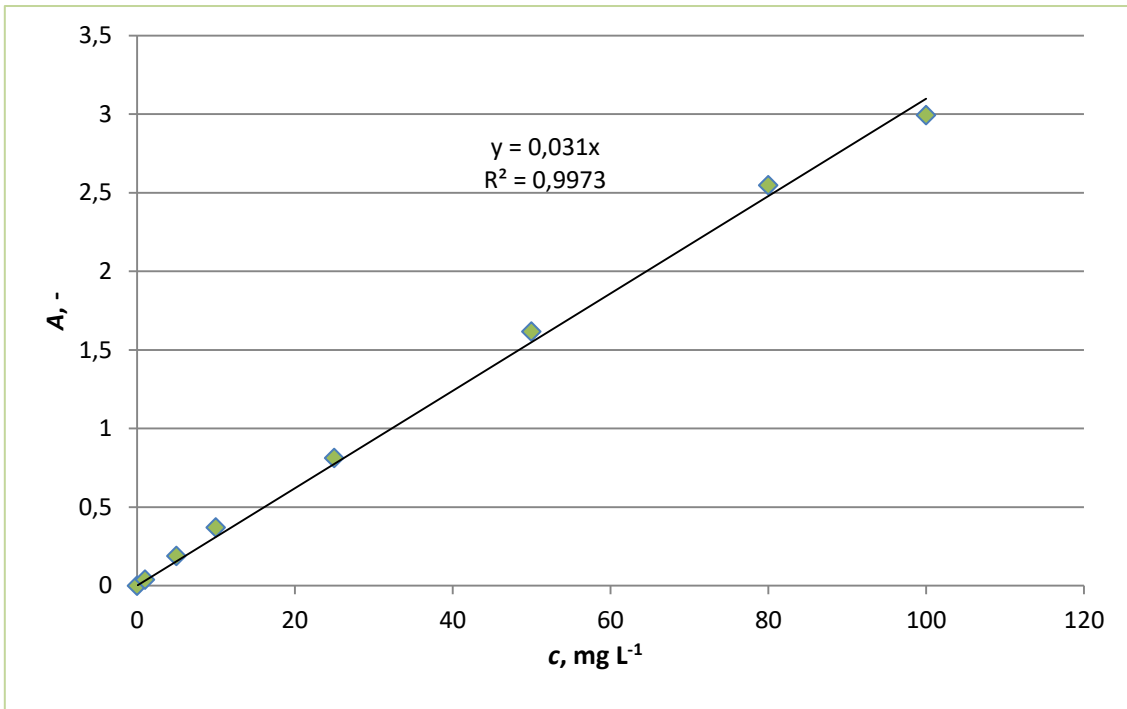
Slika 18. Spektrofotometar UV-1280 (*Shimadzu, Japan*)

Priprema i analiza uzoraka

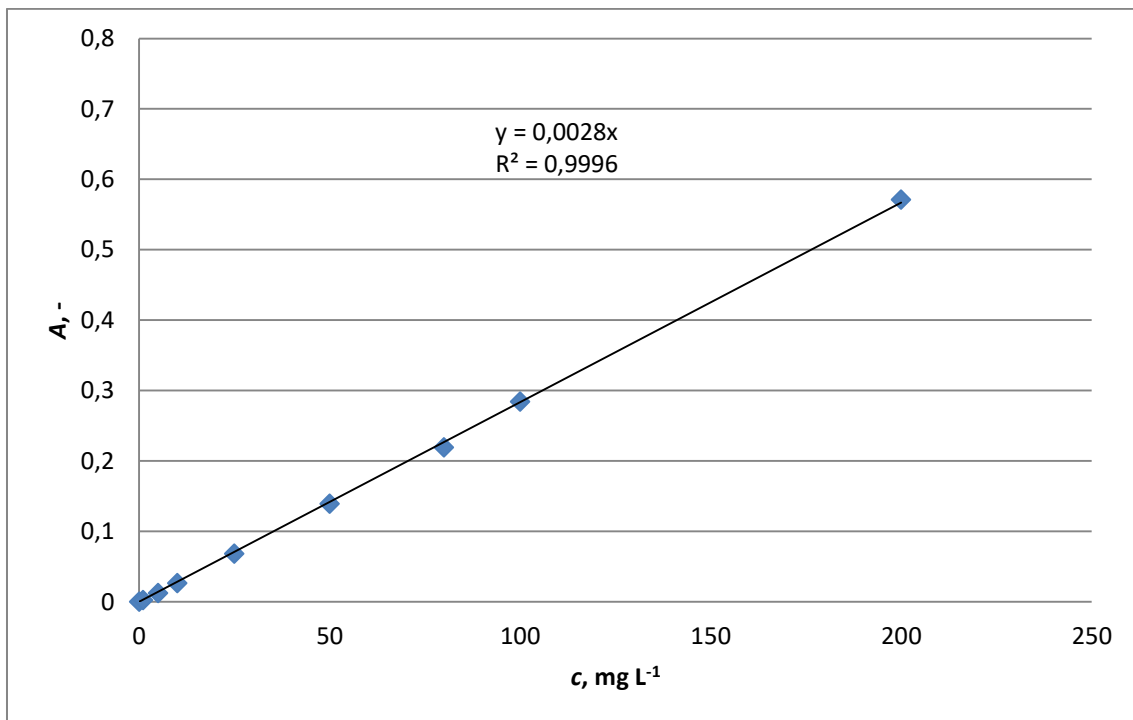
Za određivanje sadržaja dronedaron-hidroklorida u peletama odvagano je 450 mg peleta (odgovara jednoj dozi u kapsuli) koje su otopljene u metanolu. Pripremljena su po tri uzorka dozirne količine. Nakon otapanja uzorci su filtrirani pomoću filtra *Chromafil Xtra H-PTFE-45/25* veličine pora od 0,45 μm .

Prije analize uzoraka pripremljene su standardne otopine dronedaron-hidroklorida i to u metanolu te u fosfatnom puferu kako bi se dobili umjerni pravci (Slike 19 i 20) potrebni za određivanje njegove koncentracije u uzorcima. Prvo su pripremljene standardne otopine koncentracije 100 mg L^{-1} , a potom su razrjeđivanjem sa slijepom probom pripremljene ostale standardne otopine nižih koncentracija.

Količina dronedarona u svakom pojedinom uzorku peleta i tijekom *in vitro* ispitivanja određena je iz prethodno konstruiranih umjernih pravaca.



Slika 19. Umjerni pravac dronedaron-hidroklorida u metanol



Slika 20. Umjerni pravac dronedaron-hidroklorida u fosfatnom puferu (pH = 4,5)

3.9. Obrada rezultata

Analiza profila oslobađanja provedena je u dodatku za Microsoft Excel, DDSolver. [18] Tri su metode pristupa analizi kinetike oslobađanja sadržane u DDSolver-u: statističke metode, metode ovisne o modelu i metode neovisne o modelu. Metode ovisne o modelu uključuju upotrebu empirijskih i poluempirijskih kinetičkih modela. Za obradu profila oslobađanja korišten je model procesa prvoga reda (jedn. 6). U metode neovisne o modelima spadaju tzv. omjer-testovi i testovi u kojima se provodi usporedba parova podataka. Usporedba parova podataka uključuje, pak, Rescignov indeks te Moore-Flannerove indekse, odnosno faktore sličnosti i razlike. Profili oslobađanja uspoređeni su izračunom faktora razlike (jedn. 17) i faktora sličnosti (jedn. 18).

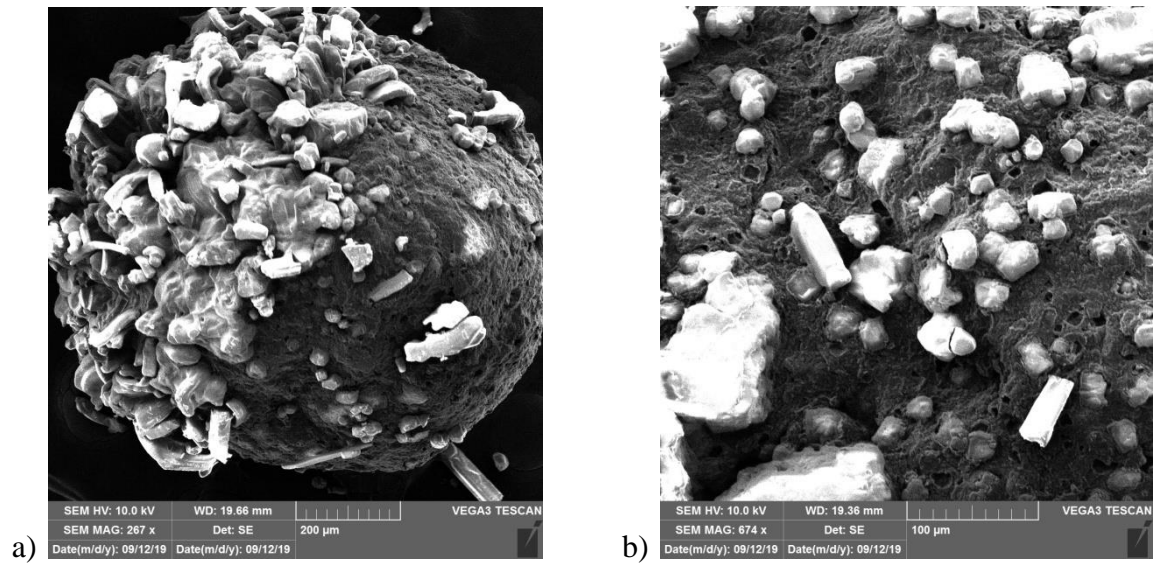
4. REZULTATI

U ovom poglavlju prikazani su rezultati provedenih eksperimenata.

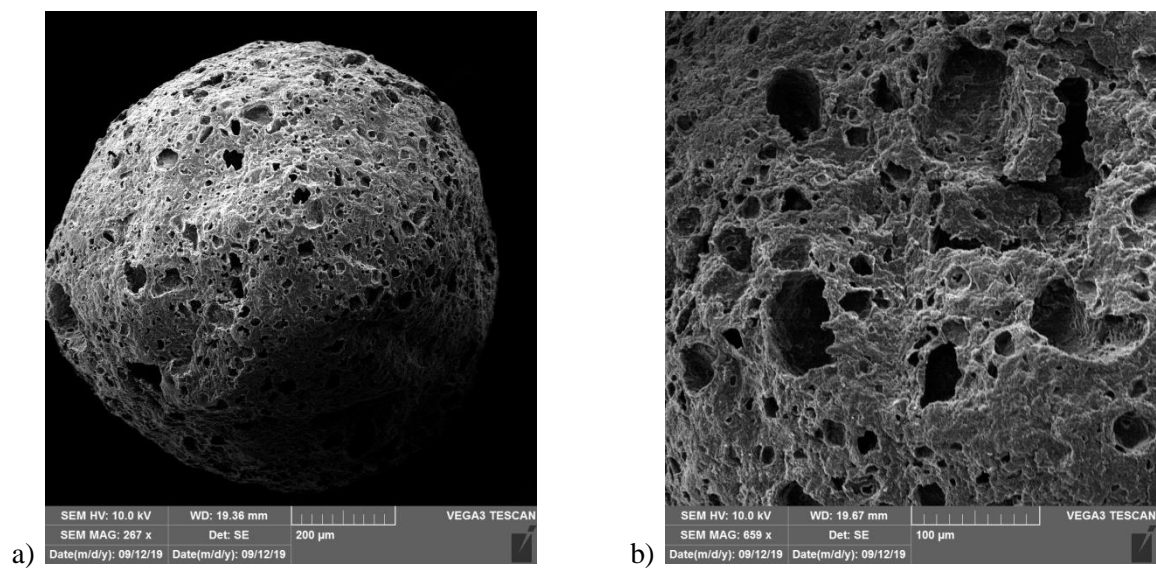
Na slikama 21 – 32 prikazane su SEM-mikrografije peleta. Slike 33 – 36 prikazuju raspodjelu veličina peleta, dok je raspodjela veličina pora dana na slici 37. U tablici 1 dane su vrijednosti specifične površine, volumena pora i srednjeg promjera pora peleta prije i nakon ispiranja. U tablici 2 dane su karakteristike nanosuspenzije dronedaron-hidroklorida, a na slici 38 prikazana je njegova raspodjela veličina čestica. Sadržaj dronedarona u peletama prikazan je u tablici 3.

Obložene pelete prikazane su na slici 39, a profili oslobađanje dronedarona iz različitih peleta na slikama 40 – 43. Na slici 44 prikazan je usporedni profil oslobađanja za pelete 400 mg 60c i komercijalnu tabletu Multaq. U tablici 4 dane su konstante brzine oslobađanja modela prvoga reda i koeficijenti determinacije.

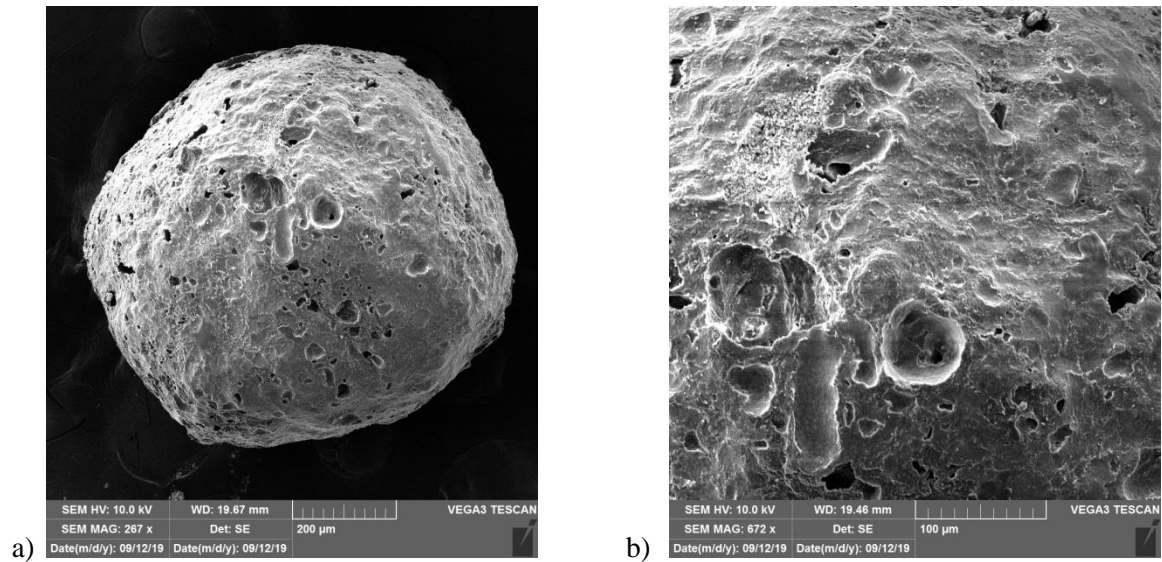
4.1. Morfologija peleta



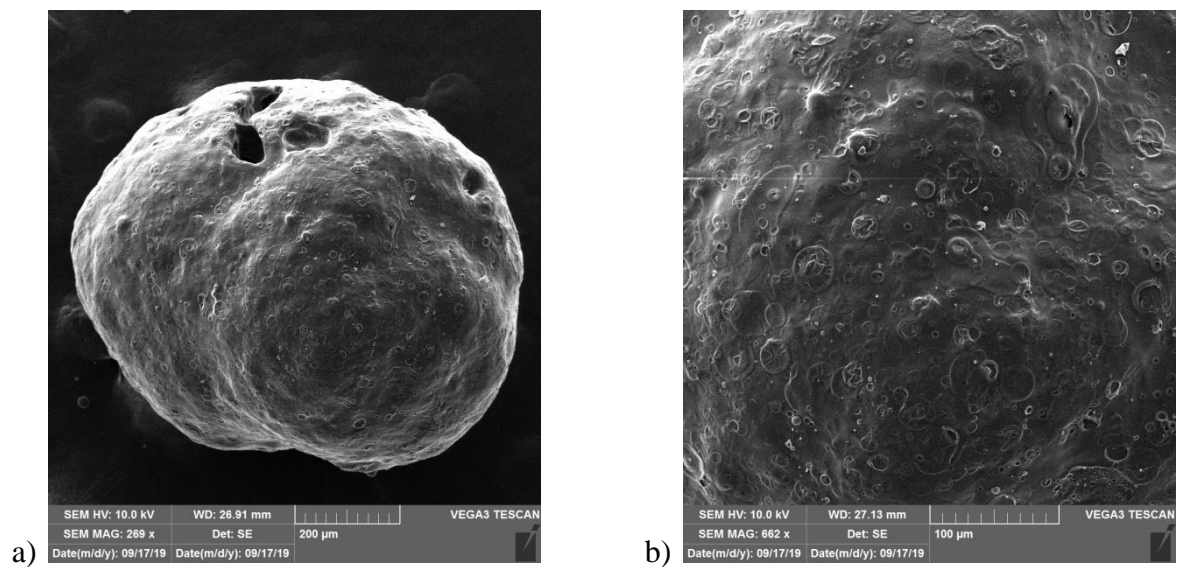
Slika 21. SEM-mikrografija: pelete prije ispiranja NaCl pri uvećanju: a) 200x; b) 500x



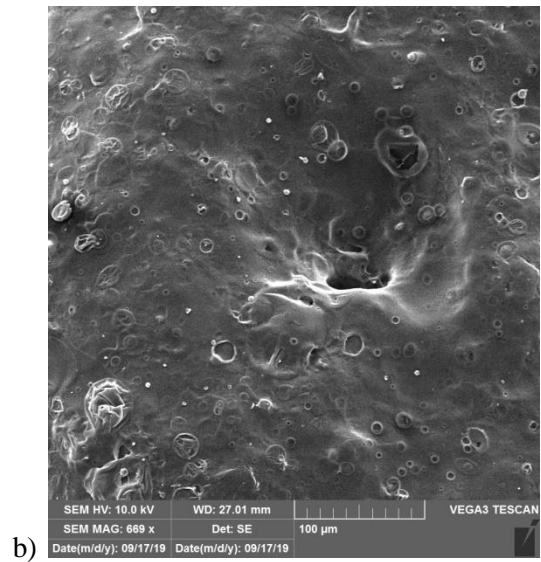
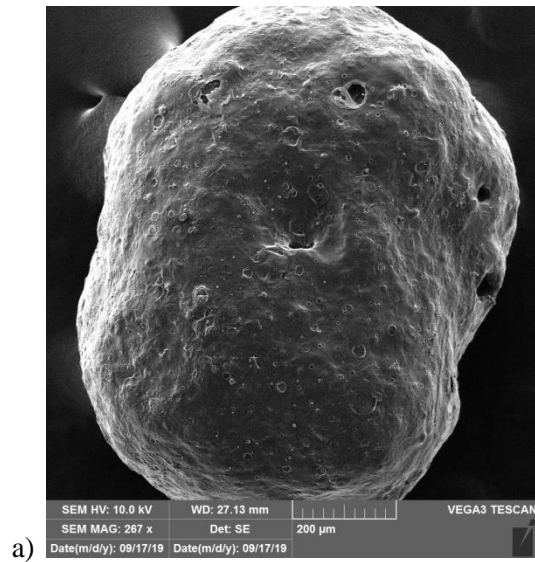
Slika 22. SEM-mikrografija: pelete nakon ispiranja kristala NaCl pri uvećanju: a) 200x; b) 500x



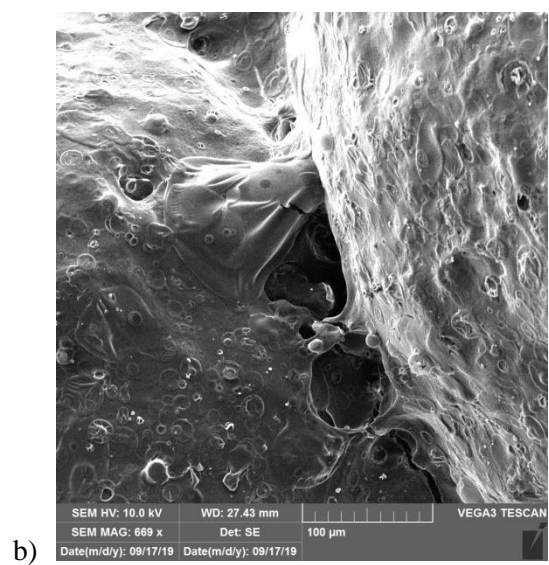
Slika 23. SEM-mikrografija: impregnirane pelete pri uvećanju: a) 200x; b) 500x



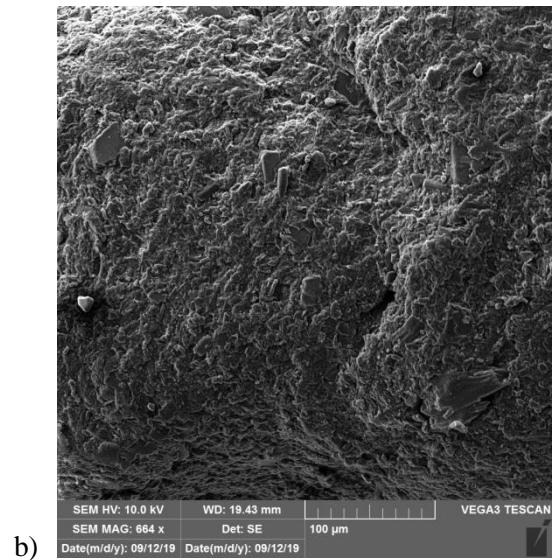
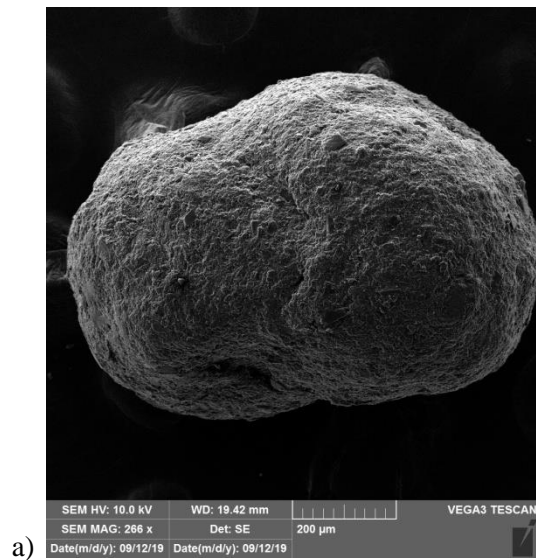
Slika 24. SEM-mikrografija: impregnirane pelete nakon oblaganja (30c) pri uvećanju: a) 200x; b) 500x



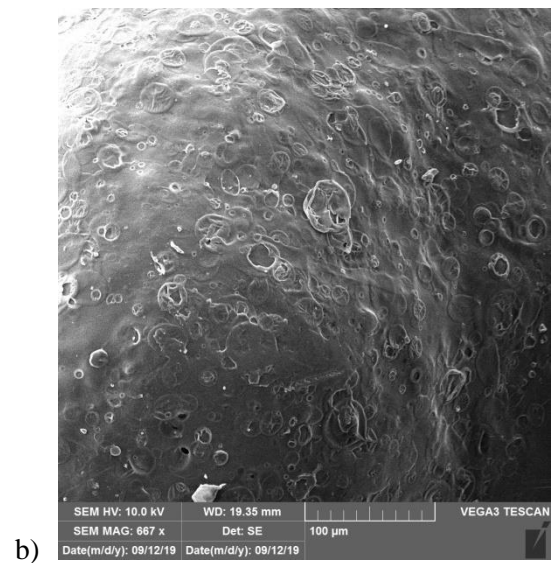
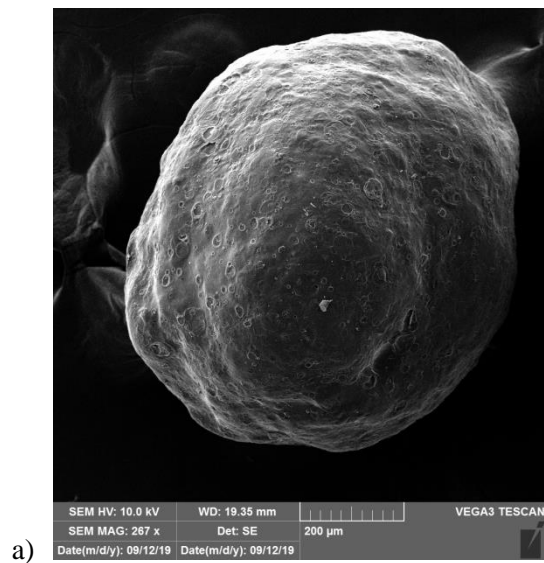
Slika 25. SEM-mikrografija: impregnirane pelete nakon oblaganja (60c) pri uvećanju: a) 200x; b) 500x



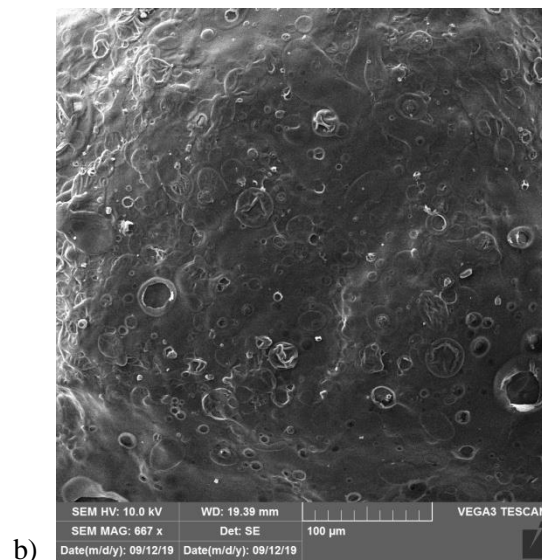
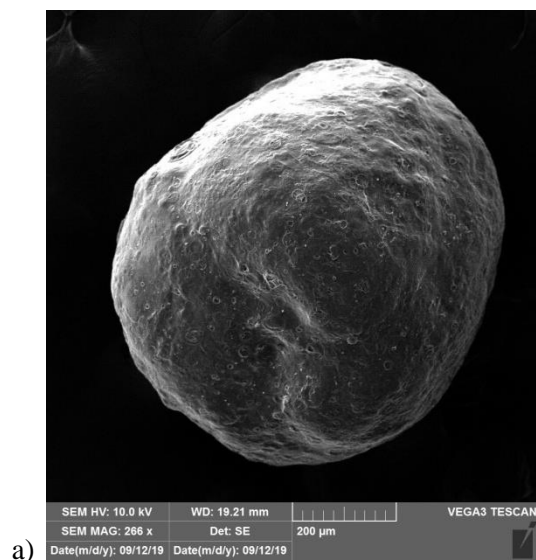
Slika 26. SEM-mikrografija: impregnirane pelete nakon oblaganja (60c) pri uvećanju: a) 200x; b) 500x



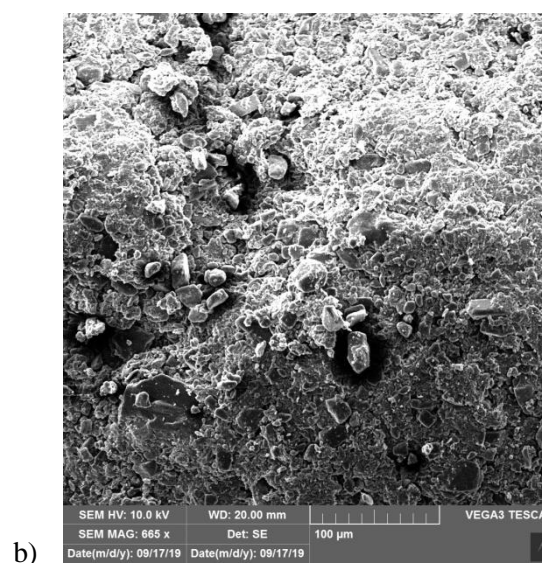
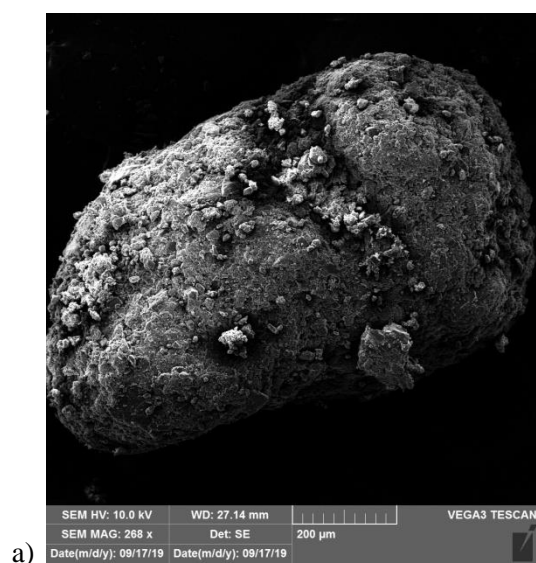
Slika 27. SEM-mikrografija: 100 mg pelete pri uvećanju: a) 200x; b) 500x



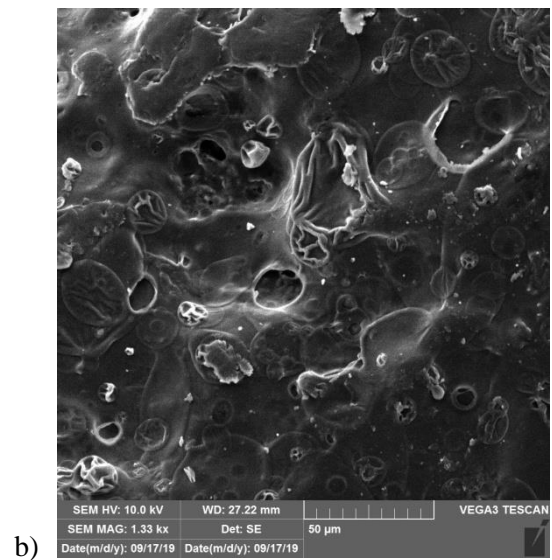
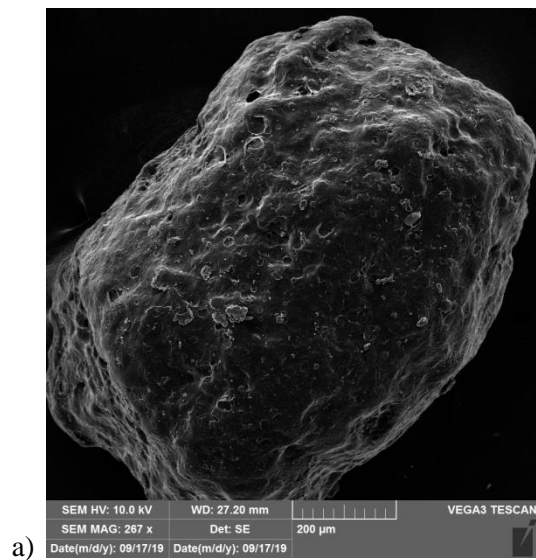
Slika 28. SEM-mikrografija: 100 mg pelete obložene (30 c) pri uvećanju: a) 200x; b) 500x



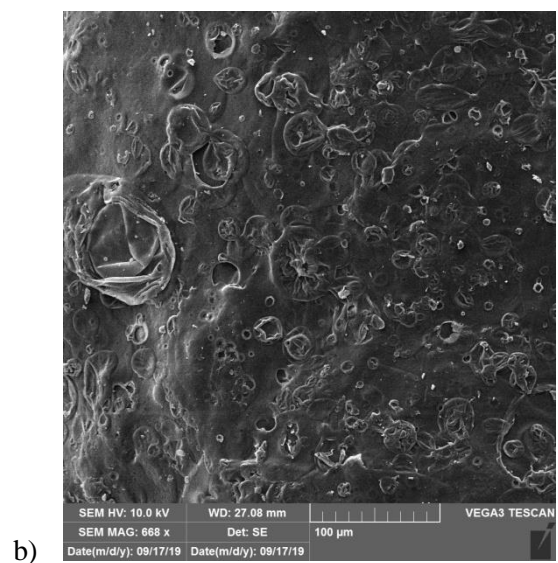
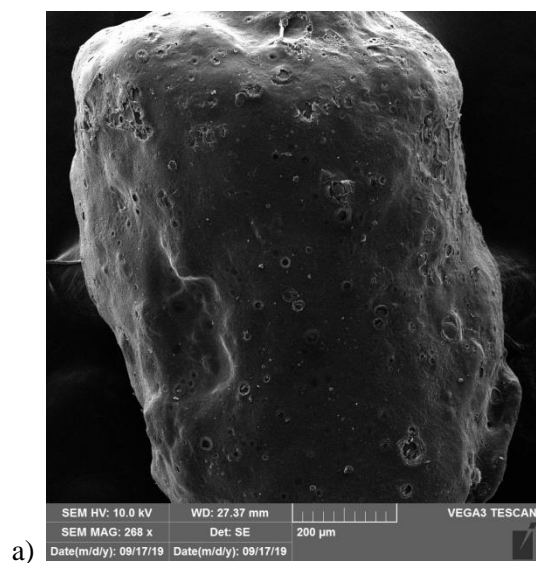
Slika 29. SEM-mikrografija: 100 mg pelete obložene (60c) pri uvećanju: a) 200x; b) 500x



Slika 30. SEM-mikrografija: 400 mg pelete pri uvećanju: a) 200x; b) 500x

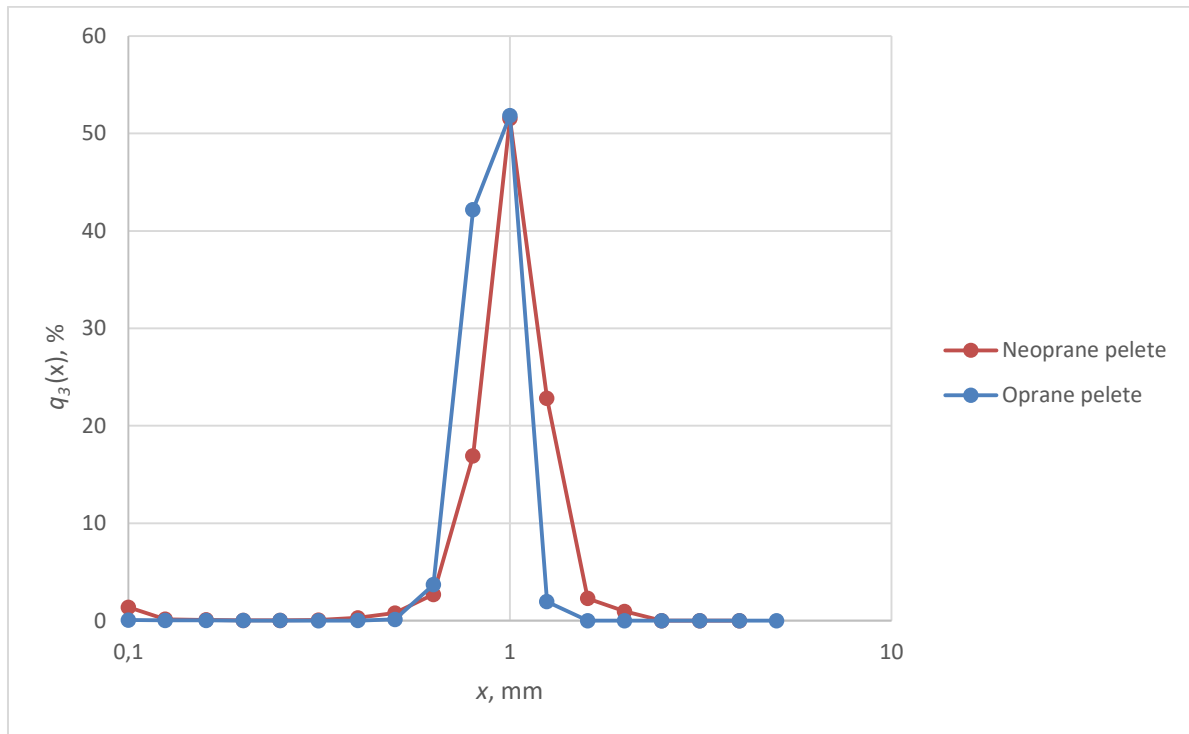


Slika 31. SEM-mikrografija: 400 mg pelete obložene (30c) pri uvećanju: a) 200x; b) 1000x

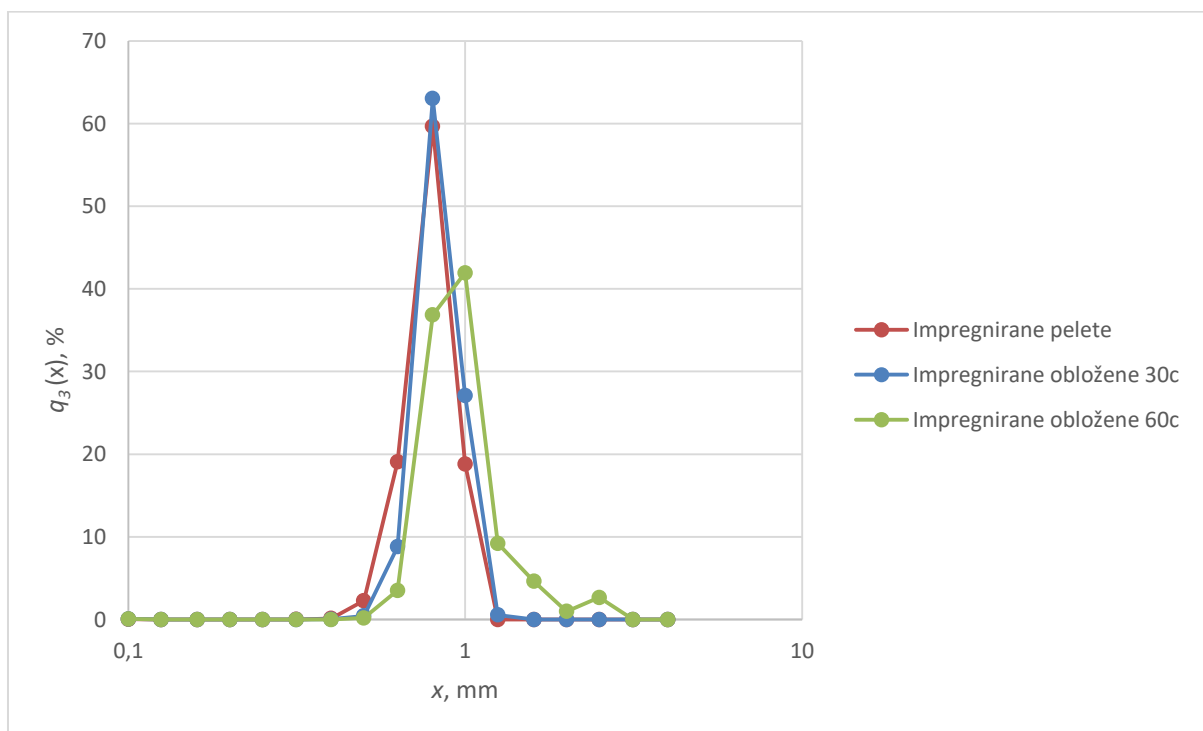


Slika 32. SEM-mikrografija: 400 mg pelete obložene (60c) pri uvećanju: a) 200x; b) 1000x

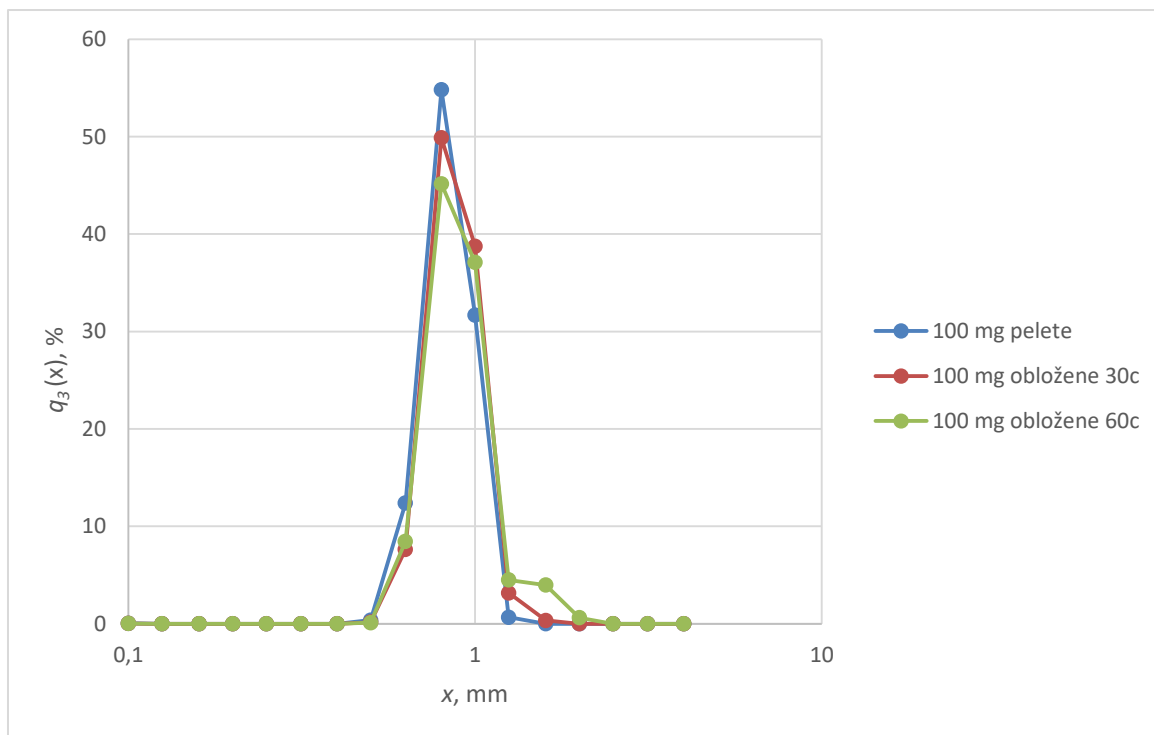
4.2. Raspodjela veličina čestica peleta



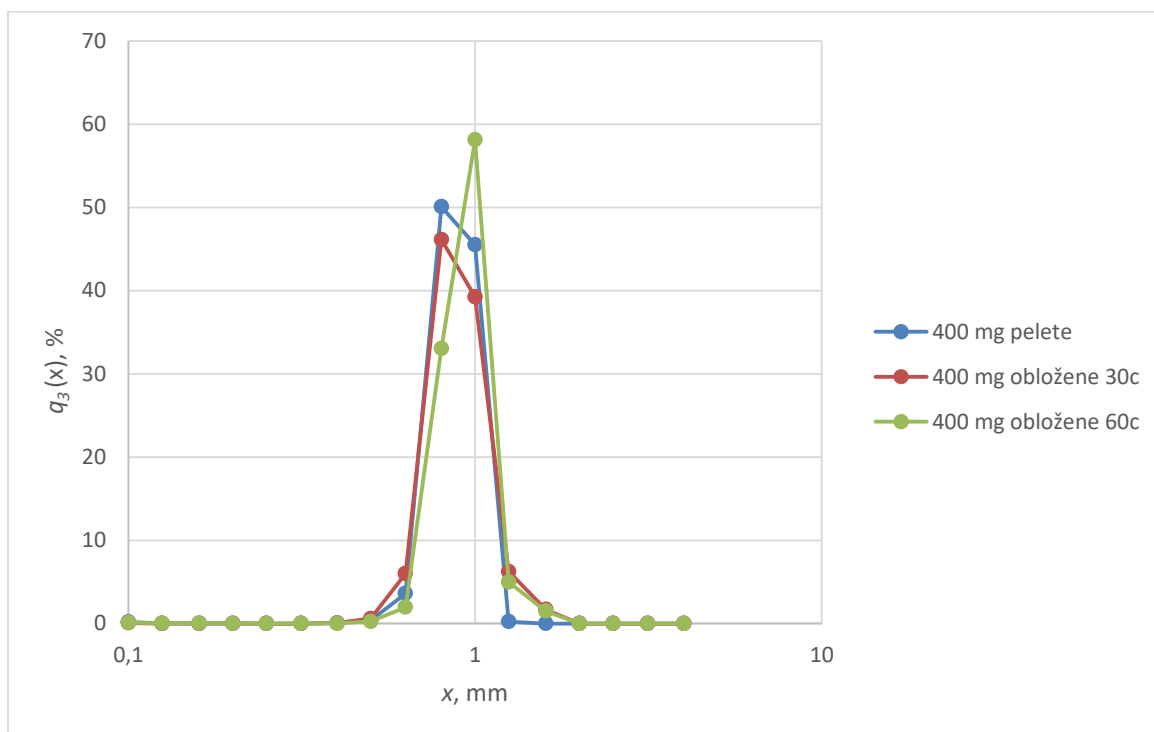
Slika 33. Raspodjela veličina peleta prije i nakon ispiranja



Slika 34. Raspodjela veličina impregniranih peleta prije i nakon oblaganja u 30 i 60 ciklusa



Slika 35. Raspodjela veličina 100 mg peleta prije i nakon oblaganja u 30 i 60 ciklusa

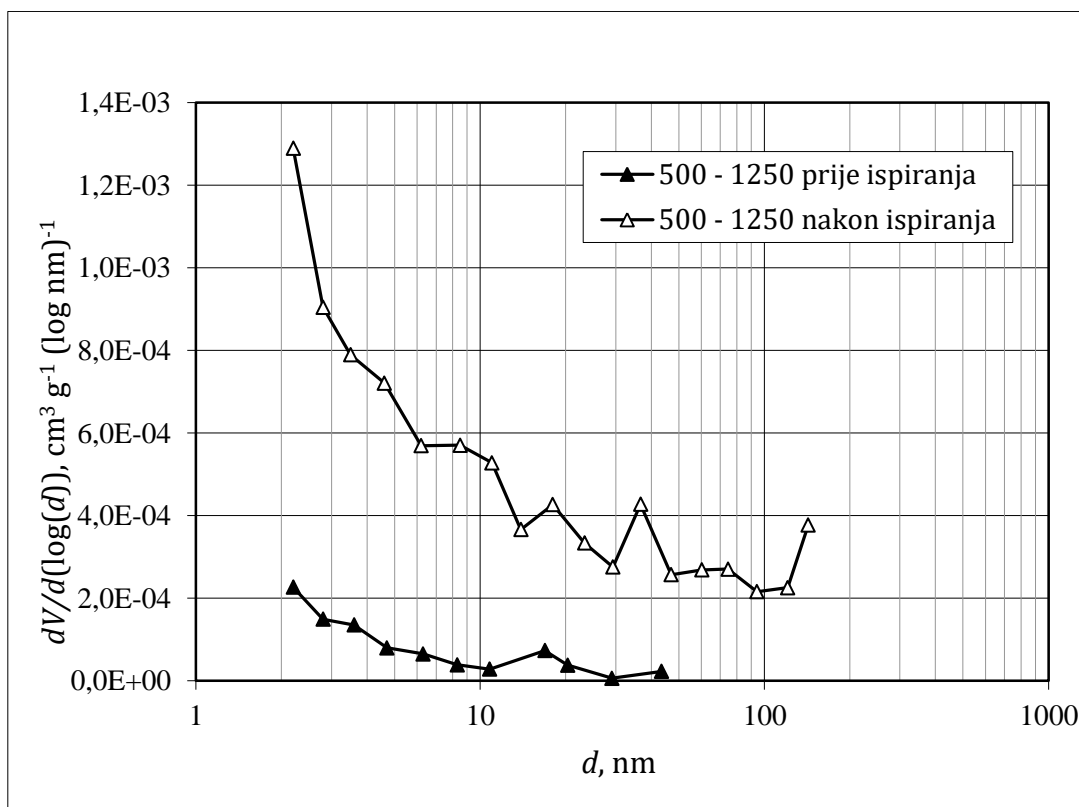


Slika 36. Raspodjela veličina 400 mg peleta prije i nakon oblaganja u 30 i 60 ciklusa

4.3. Specifična površina i raspodjela veličina pora

Tablica 1. Vrijednosti specifične površine, volumena pora i srednjeg promjera pora peleta

UZORAK	S_{BET} , $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$	V_{pora} , $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$	d_{srednji} , nm
Prije ispiranja	0,149	$9,8 \times 10^{-5}$	3,53
Nakon ispiranja	0,940	$1,6 \times 10^{-3}$	4,56

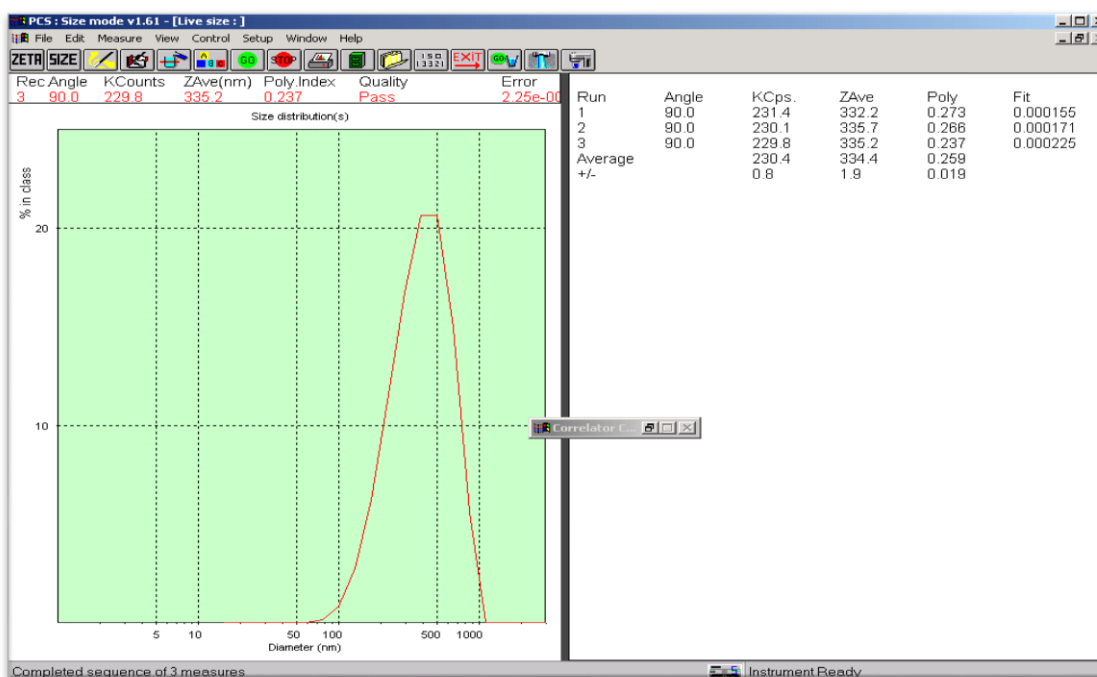


Slika 37. Dijagram usporedbe raspodjele veličina pora peleta prije i nakon ispiranja

4.4. Karakterizacija nanosuspenzije DNR-a

Tablica 2. Karakteristike nanosuspenzija

UZORAK	Veličina čestica, nm	Stupanj polidisperznosti	Zeta potencijal, mV
Poloxamer 407	$334,4 \pm 1,9$	$0,259 \pm 0,019$	$5,8 \pm 0,5$



Slika 38. Raspodjela veličina čestica suspenzije (P407) nakon 1 h mljevenja

4.5. Djelotvornost uklapanja DNR-a

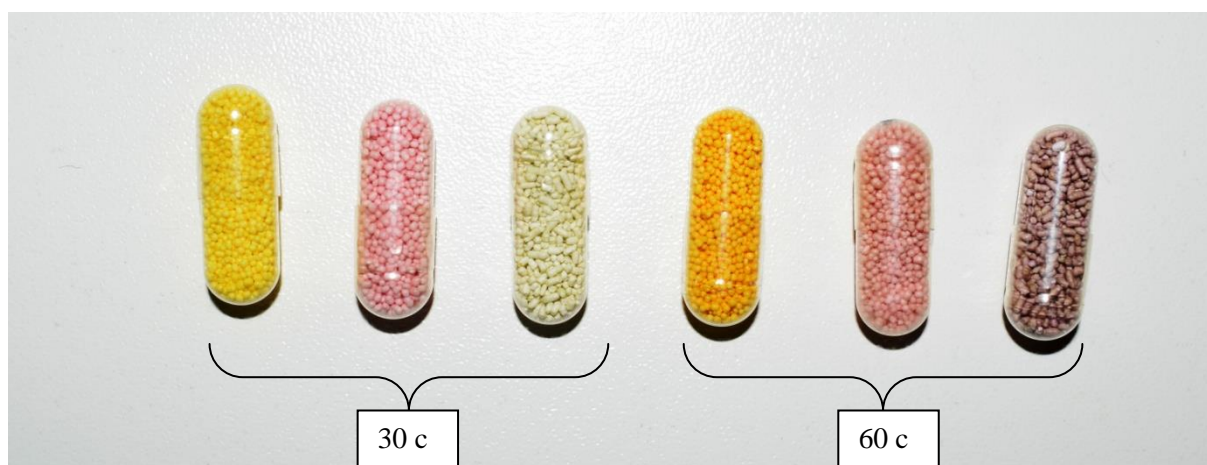
Dronedaron-hidroklorid kao djelatna tvar uklopljen je u pelete ovim metodama:

1. Vakuumskim impregniranjem suspenzijom DNR-a.
2. Direktnim ugrađivanjem DNR-a masene koncentracije 100 mg.
3. Direktnim ugrađivanjem DNR-a masene koncentracije 400 mg.

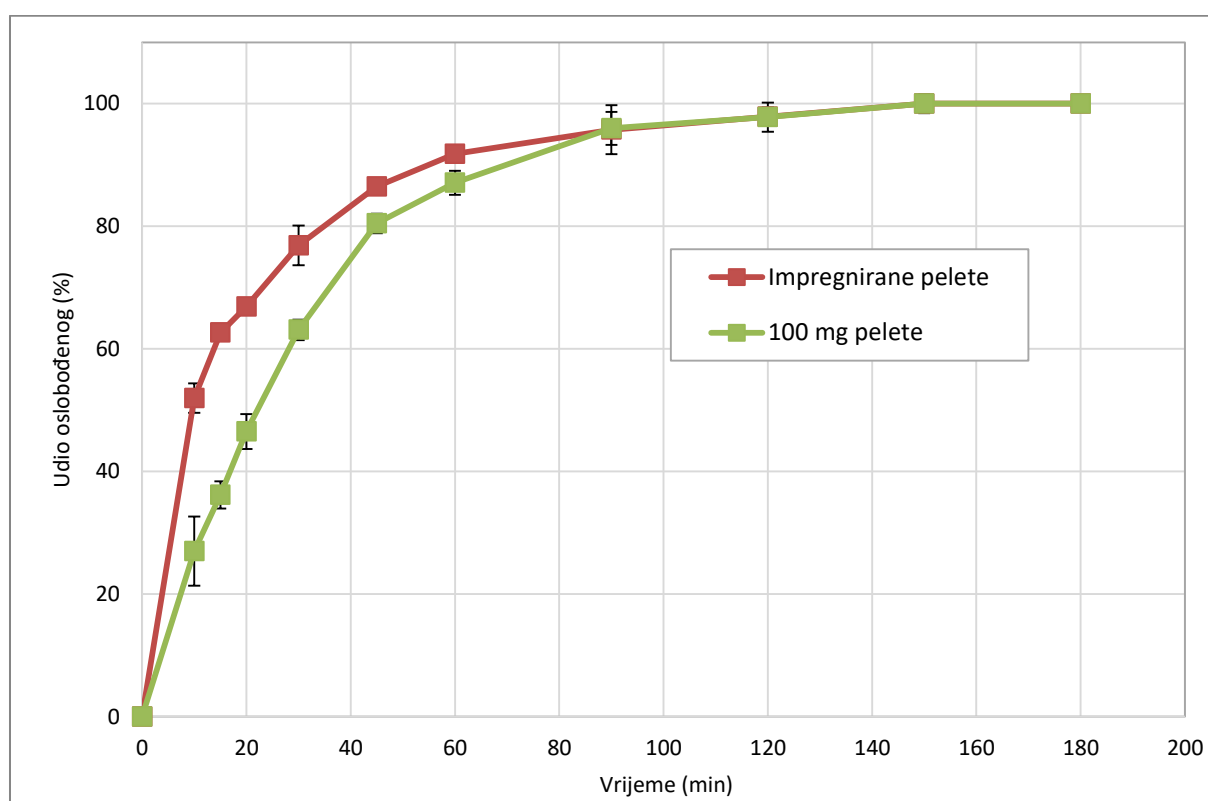
Tablica 3. Sadržaj DNR-a nanosen na 450 mg peleta različitim metodama

Impregnirane pelete		100 mg pelete		400 mg pelete	
mg DNR/450 mg peleta					
	34,29		69,64		285,36
	36,43		71,07		273,21
	35,36		73,93		271,43
SV	35,36	SV	71,55	SV	276,76

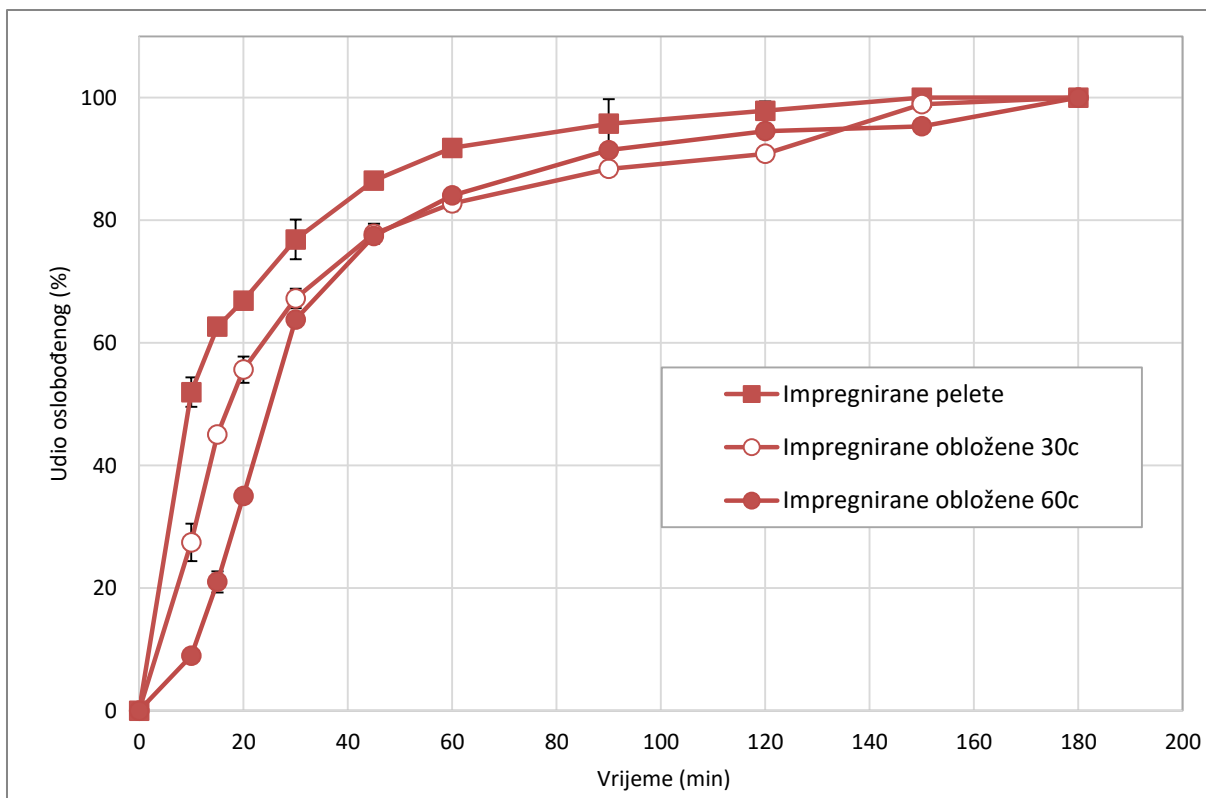
4.6. Ispitivanje brzine oslobađanja DNR-a iz peleta



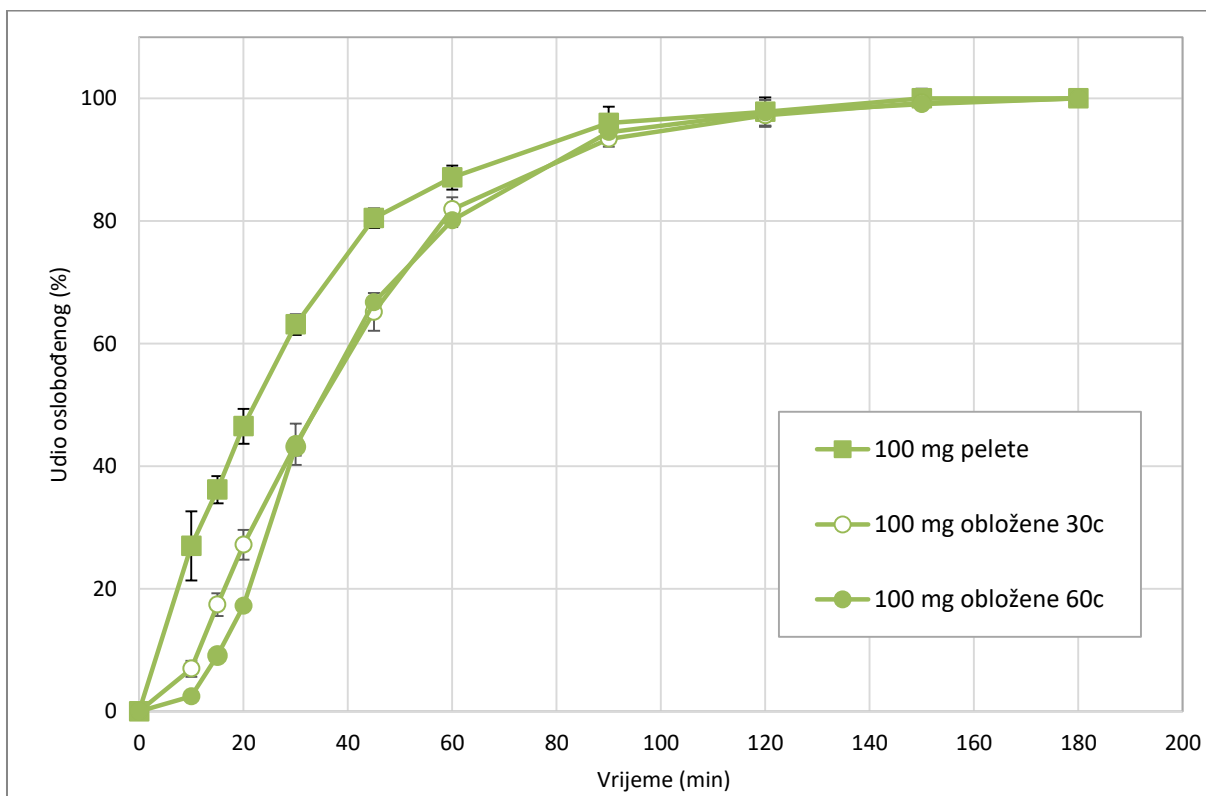
Slika 39. Peleta nakon oblaganja otopinom HPMC slijeva na desno: Impregnirane, 100 mg, 400 mg



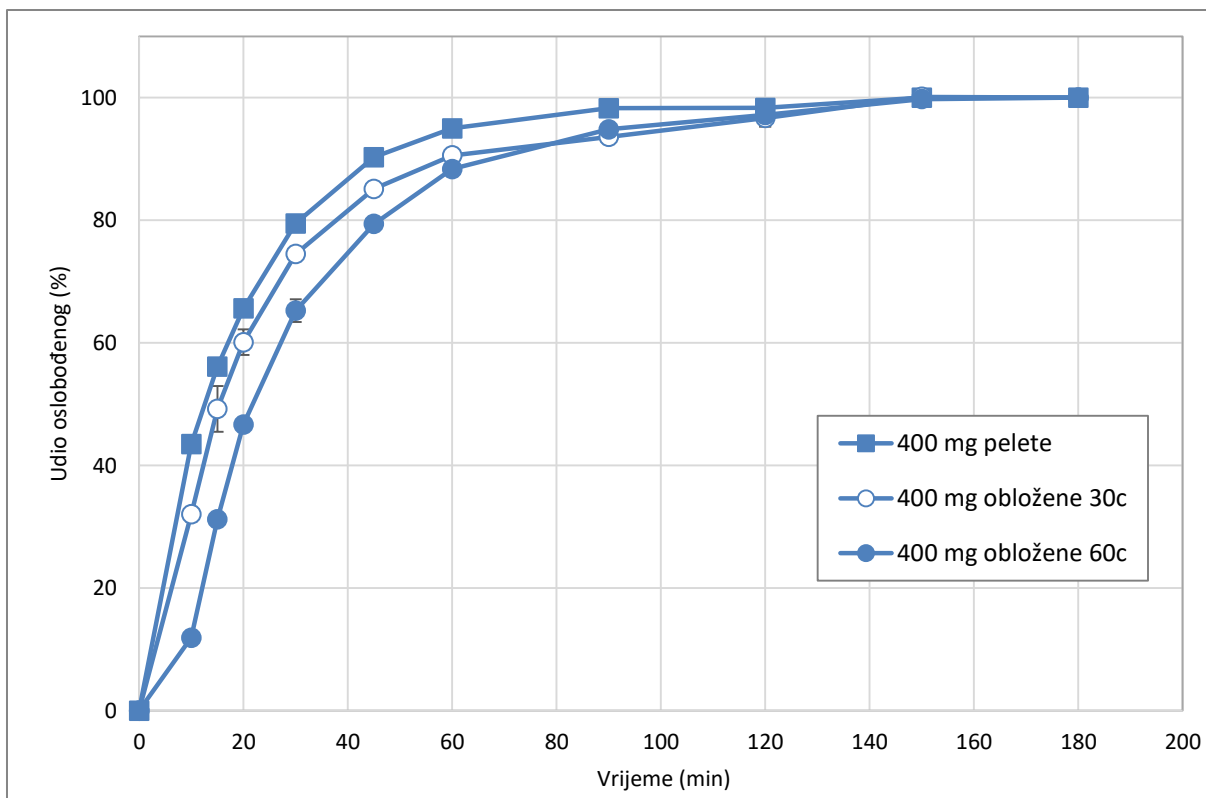
Slika 40. Usporedba profila oslobađanja DNR-a iz impregniranih peleta i peleta s ugrađenim DNR (100 mg)



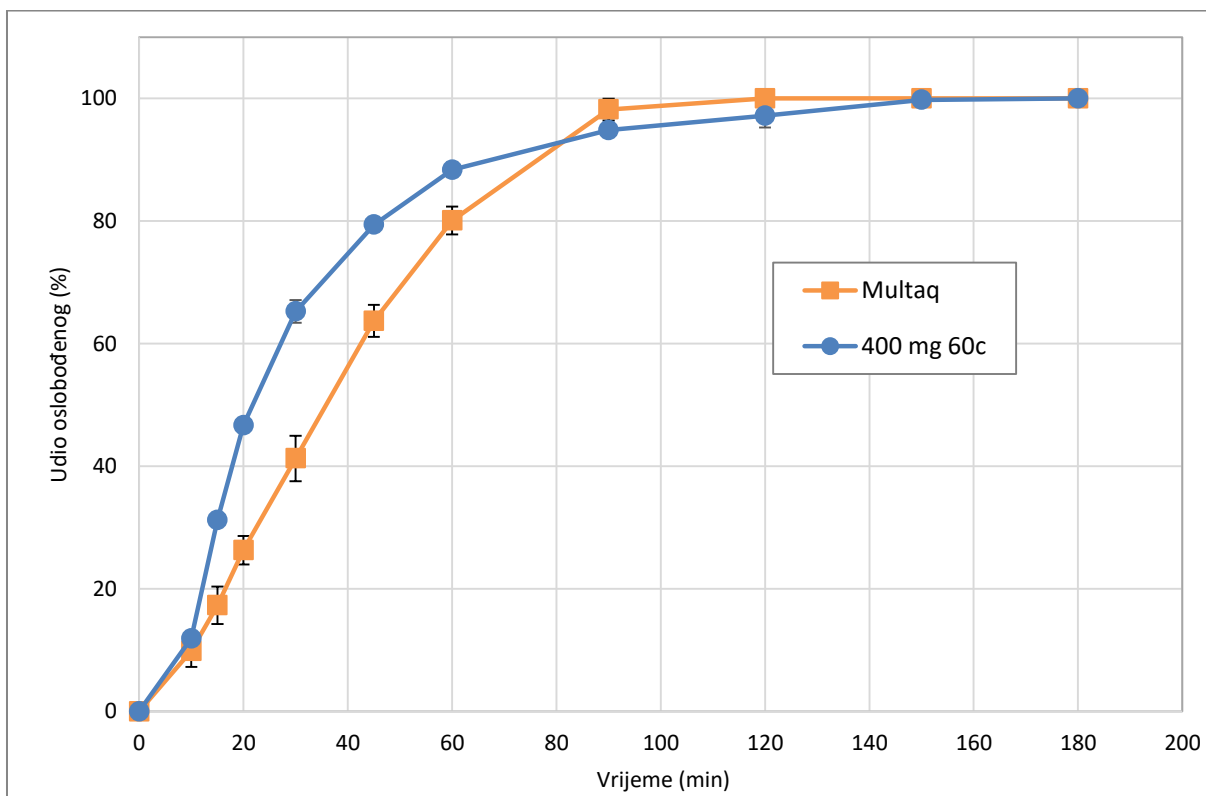
Slika 41. Usporedba profila oslobađanja DNR-a iz impregniranih peleta



Slika 42. Usporedba profila oslobađanja DNR-a iz 100 mg peleta



Slika 43. Usporedba profila oslobađanja DNR-a iz 400 mg peleta



Slika 44. Usporedba profila oslobađanja DNR-a iz 400 mg 60c peleta i Multaq tablete

Tablica 4. Konstante brzine oslobađanja i koeficijent determinacije

Dozirni oblik	K, min^{-1}	R^2_{adj}
Impregnirane pelete	0,058	0,973
Impregnirane pelete 30c	0,038	0,970
Impregnirane pelete 60c	0,024	0,957
Pelete 100 mg	0,031	0,993
Pelete 100 mg 30c	0,019	0,947
Pelete 100 mg 60c	0,005	0,959
Pelete 400 mg	0,052	0,995
Pelete 400 mg 30c	0,045	0,992
Pelete 400 mg 60c	0,033	0,974
Tableta Multaq	0,027	0,963

5. RASPRAVA

U ovom radu ispitivane su različite metode proizvodnje farmaceutskih peleta kao nosača lijeka dronedaron-hidroklorida koji služi za liječenje srčane aritmije. Istraživanje je provedeno u nekoliko koraka koji su se sastojali od pripreme tri vrste peleta:

- poroznih peleta na koje je nanesen DNR vakuumskom impregnacijom, a koje su kasnije u tekstu nazvane impregnirane pelete,
- pelete u koje je DNR ugrađen direktno tijekom ekstrudiranja, a sadrže 100 mg DNR; u tekstu nazvane 100 mg pelete i
- pelete u koje je DNR ugrađen direktno tijekom ekstrudiranja, a sadrže 400 mg DNR; u tekstu nazvane 400 mg pelete.

Sve pripremljene pelete, s nanesenim ili ugrađenim DNR, obložene su hidroksipropil-metilcelulozom kako bi se ispitaio utjecaj obloge na oslobađanje djelatne tvari te istražila mogućnost kontrole oslobađanja. Oblaganje je provedeno u 30 ili 60 ciklusa oblaganje/sušenje, a uzorci su označeni kao 30c i 60c. *In vitro* ispitivanja oslobađanja dronedarona provedena su za pelete prije i nakon oblaganja.

Porozne pelete pripremljene su od mješavine MCC i NaCl uz maseni omjer 30:70 što se pokazalo najpovoljnijim omjerom u formuliranju peleta prema istraživanju Veena i sur. [16] Nakon ekstrudiranja i sferoniziranja pelete su ispirane destiliranom vodom kako bi se uklonio NaCl iz njihove strukture peleta. Time se dobije porozna struktura peleta pogodna za nanošenje djelatne tvari vakuumskom impregnacijom. Na slici 21a vidljiva je pravilna sferična morfologija pelete prije ispiranja, a na slici 21b mogu se uočiti kristali NaCl koji se nalaze na samoj površini i izlaze iz strukture peleta. Na slici 22 prikazana je peleta nakon ispiranja gdje je vidljivo da je sferična morfologija očuvana (slika 22a) te da su uklonjeni kristali NaCl (slika 22b). Usporedbom SEM-mikrografija prije (slika 21) i poslije (slika 22) ispiranja peleta vidljiva je razlika u površini peleta i nastanak porozne strukture. Takva struktura čini pelete pogodnim nosačima za dostavu lijeka. [19, 20] Snimanjem adsorpcijsko-desorpcijskih izoterma dušika ispitana je raspodjela veličina pora peleta prije i nakon ispiranja te je određena specifična površina. Na slici 37 dana je raspodjela veličina pora peleta prije i nakon ispiranja te se može uočiti značajno povećanje udjela pora ispiranjem peleta. Najveći udio pora nalazi se u području do 50 nm što prema IUPAC-ovoj kategorizaciji svrstava pelete

u grupu mezoporoznih nosača [21]. Specifična površina peleta prije ispiranja iznosi tek $0,149 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ dok je ispiranjem ona povećana na $0,940 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. Površina je ispiranjem povećana 5 puta, ali usporede li se ove pelete s drugim mezoporoznim nosačima poput silike [22], njihova je površina značajno manja. Unatoč tome, oblikovanje matičnih sustava, peleta, upotrebom ekstrudiranja i sferoniziranja vrlo je zastupljeno zbog njihove velike specifične površine u odnosu na tablete, a posebno onih od MCC koja ima sposobnost apsorbirati velike količine vode. [23, 24]

Raspodjela veličina peleta prije i nakon ispiranja prikazana na slici 33, a pokazuje da se veličina peleta smanjila nakon ispiranja. Dobiveni rezultati raspodjele veličina odgovaraju veličinskom intervalu peleta $500 - 1250 \text{ }\mu\text{m}$ kako je i odvojeno pomoću sita. Isprane, posušene i izdvojene pelete potom su impregnirane, odnosno vakuumskom je impregnacijom nanosena nanosuspenzija DNR. Karakteristike pripremljene nanosuspenzije prikazane su u tablici 2 i na slici 38. Čestice DNR u nanosuspenziji nalaze se u području od 100 do 1000 nm (slika 38), a njihova je prosječna veličina $334,4 \text{ nm} \pm 1,9 \text{ nm}$.

Na slici 23 prikazana je morfologija peleta nakon impregniranja nanosuspenzijom DNR-a. Vidljiva je glatka površina što dokazuje da se DNR zadržao na površini, uz pretpostavku da je također nanosuspenzija DNR ispunila i pore unutar pelete.

Paralelno su postupkom ekstrudiranja pripravljene konvencionalne pelete koje sadrže ugrađen DNR. Ciljana doza DNR u peletama iznosila je 100 mg i 400 mg . Morfologija peleta od 100 mg prikazana je na slici 27, a onih od 400 mg na slici 30. Usporedbom SEM mikrografija za 100 mg pelete (slika 27) i 400 mg pelete (slika 30) vidi se razlika u strukturi peleta. 100 mg pelete imaju kompaktniju strukturu i procesom peletiranja dobivene su pelete sferičnog oblika, dok kod 400 mg peleta struktura je krhka i pelete su cilindričnog oblika što možemo pripisati većem udjelu DNR-a. Pelete od 400 mg sadrže manju količinu MCC zbog čega nije došlo do kvalitetnog vezivanja komponenata, a struktura pelete je krhka.

Sve tri vrste pripremljenih peleta oblagane su otopinom HPMC u 30 i 60 ciklusa oblaganje/sušenje. SEM-mikrografije obloženih peleta nakon 30 ciklusa prikazane su na slici 24 (impregnirane 30c), slici 28 (100 mg 30c) i slici 31 (400 mg 30c). Oblaganje nakon 60 ciklusa prikazano je SEM-mikrografijama peleta na slici 25 (impregnirane 60c), slici 29 (100 mg 60c) i slici 32 (400 mg 60c). Nakon oblaganja impregniranih peleta iz mikrografija na slikama 24 i 25 može se zaključiti da je površina peleta popunjena što dokazuje da se otopina obloge zadržala na peletama. SEM-mikrografijama nije uočena značajna razlika između

površine peleta 30c i 60c. Na slikama 34 – 36 prikazana je raspodjela veličina peleta prije i nakon oblaganja. Na slici 34 može se uočiti da je kod impregniranih peleta oblaganjem došlo do povećanja veličine peleta. Značajnije povećanje može se uočiti prilikom oblaganja u 60 ciklusa čime je potvrđeno da je došlo do njihovog oblaganja. Značajniji porast udjela peleta većih od 1 mm posljedica je sljepljivanja peleta, a ne direktno njihovog oblaganja. To je potvrđeno SEM-mikrografijom (slika 26) na kojoj se mogu uočiti premoštenja između dvije pelete. Obloga je uzrokovala povezivanje peleta što je registrirano povećanjem udjela većih peleta kako je prethodno objašnjeno pri analizi raspodjele njihovih veličina. Ista je promjena uočena i kod obloženih peleta od 100 mg (slika 35) i 400 mg (slika 36).

Direktnim ugrađivanjem DNR-a u pelete postupkom ekstrudiranja i sferoniziranja cilj je bio proizvesti pelete sa 100 mg i 400 mg po jednoj dozi kapsule. Također, ispitivanjem oslobađanja 400 mg peleta nakon 120 minuta došlo je do dezintegracije samih peleta što također ukazuje na vrlo nestabilnu strukturu tako pripremljenih peleta. Da je došlo do povećanja veličina čestica peleta nakon oblaganja (30 c i 60 c) prikazano je dijagramima raspodjele veličina čestica na slikama 35 i 36 a time je potvrđena i uspješnost samog procesa oblaganja.

Kako bi se utvrdila djelotvornost ugrađivanja DNR-a u pelete analiziran je njegov sadržaj (tablica 3). Dobivene vrijednosti sadržaja odgovaraju masi dronedarona u 450 mg peleta što je odabrano na temelju punjenja želatinoznih kapsula veličine 000. Naime, za *in vitro* ispitivanja cilj je bio koristiti isti sadržaj DNR u impregniranim kapsulama i onim s ugrađenim DNR. Impregnirane kapsule su porozne strukture zbog čega je njihova masa najmanja te je ona korištena za prilagodbu doze. Rezultati prikazani u tablici 3 pokazuju da je najmanji sadržaj DNR nanesen impregniranjem te da je maksimalna doza koju je moguće dozirati samo 35 mg po kapsuli. Mala djelotvornost nanošenja DNR posljedica je male specifične površine peleta. Unatoč čestoj upotrebi MCC u proizvodnji farmaceutskih peleta [23, 24] njihova se površina pokazala nedovoljna za nanošenje lijeka vakuumskom impregnacijom. Također, ovdje bi se moglo pretpostaviti čak i da DNR nije uspješno nanesen u same pore što je pak posljedica relativno velikih čestica u nanosuspenziji. Ekstrudiranje i sferoniziranje peleta u koje se direktno ugrađuje DNR pokazalo se boljim po pitanju djelotvornosti te daje mogućnost postizanja većih doza lijeka. Ipak, povećanje udjela DNR uzrokuje veće odstupanje od sferičnosti i krhke pelete.

Sve pripremljene pelete podvrgnute su ispitivanju brzine oslobađanja upotrebom ispitivanja *in vitro*. Kako je ranije spomenuto, pelete su punjene u kapsule veličine 000: 450 mg impregniranih peleta i 225 mg peleta označenih kao 100 mg. Prema sadržaju prikazanom u tablici 3 ove mase peleta sadrže oko 35 mg DNR. Kapsule su maksimalno napunjene peletama nazvane 400 mg jer je cilj bio postići što veći sadržaj djelatne tvari koji bi bio blizak komercijalno dostupnim tabletama DNR, Multaq. Uz maksimalno punjenje, sadržaj DNR u ovim je dozama bio oko 290 mg. Obložene pelete također su punjene u kapsule (slika 39), a njihova je masa proporcionalna povećana za masu obloge.

Brzina oslobađanja DNR ispitana je prema propisanoj FDA metodi za ispitivanje tableta DNR-a [25]. Propisano vrijeme uzorkovanja je 120 minuta. U ovom je ispitivanju uzorkovanje provedeno tijekom 180 minuta.

Na slici 40 prikazan je profil oslobađanja DNR iz impregniranih peleta i onih u koje je ugrađen DNR tijekom ekstrudiranja (100 mg). Pelete su neobložene zbog čega se vidi nagli porast udjela oslobođenog DNR, a posebno kod impregniranih pelete. Već nakon 10 minuta došlo je do oslobađanja 52 % DNR što je posljedica metode nanošenja djelatne tvari koja je dovela do površinskog deponiranja na peletama te brzog oslobađanja. Kod 100 mg tableta vidljivo je sporije oslobađanje. Nakon 10 minuta oslobodi se 27 % DNR. Sporije oslobađanje posljedica je ugradnje DNR u pelete. Tek kada dođe do razgradnje pelete, DNR se počinje oslobađati.

Na slikama 41 – 43 prikazani su profili oslobađanja neobloženih i obloženih peleta. Oblaganjem peleta dobiveno je sporije oslobađanje djelatne tvari. To je posebno izraženo u prvom periodu oslobađanja. Može se uočiti da je kod impregniranih peleta (slika 41) u 10. minuti oslobođeno 51 % DNR, oblaganjem 30c 27 %, a oblaganjem 60c 9 %. Nadalje, kod 100 mg peleta (slika 42) oslobodi se u 10. minuti 27 % DNR što se smanjuje na 7 % (30c), odnosno 2,5 % (60c). Za 400 mg pelete (slika 43) također je postignuto usporavanje oslobađanja i to od 44 % u 10. minuti na 32 % (30c) te 12 % (60c). Prema dobivenim vrijednostima udjela, vidljivo je da je brzina oslobađanja iz 400 mg tableta veća nego kod onih 100 mg što je posljedica njihove krhke strukture, ali i većeg koncentracijskog gradijenta zbog većeg sadržaja DNR. Ove pelete imaju profil oslobađanja vrlo blizak komercijalnoj tableti Multaq (slika 44). Njihova prednost u odnosu na tabletu je ujednačenija distribucija lijeka u probavnom traktu zbog peleta koje se dispergiraju prilikom izlaska iz kapsule, mogućnost prilagodbe doze te mogućnost reguliranja oslobađanja odgovarajućom oblogom

[26]. Također, za formuliranje tableta potrebno je više pomoćnih tvari koje često uzrokuju nuspojave kod pacijenata. Prema izrazima (17) i (18) izračunat je faktor razlike i faktor sličnosti koji kvantificira razliku između profila oslobađanja DNR iz 400 mg peleta 60c i Multaq tablete. Kao referentne vrijednosti uzete su one za tabletu Multaq. Faktor razlike (f_1) iznosi 14,2 %, a faktor sličnosti (f_2) 46,4 %. Općenito, vrijednosti f_1 do 15 % (0 – 15) i f_2 veće od 50 % (50 – 100) pokazuju ekvivalentnost između dva profila. [15, 18, 27, 28] Dobivene vrijednosti pokazuju malo odstupanje profila oslobađanja od referentnog uzorka što bi bilo moguće regulirati dodatnog oblogom na peletama 400 mg 60c čime bi se postigla ekvivalentnost profila.

Profili oslobađanja opisani su modelom prvoga reda (jedn. 6) koji se koristi za opis oslobađanja lijeka iz poroznih matrica. [29] Vrijednosti kinetičkih parametara i prilagođenog koeficijenta determinacije, R^2_{adj} prikazane su u tablici 4. Konstanta brzine oslobađanja potvrdila je brže oslobađanje DNR iz impregniranih peleta. Također, smanjenje brzine vidljivo je i oblaganjem peleta. Visoke vrijednosti koeficijenta determinacije ($< 0,9$) potvrđuju opravdanost primjene ovog kinetičkog modela. Literaturne reference [29, 30] upućuju na upotrebu Korsmeyer-Peppasovog poluempirijskog modela za oslobađanja iz mikrosfera što bi u slučaju 100 mg i 400 mg peleta bilo opravdano. Međutim, vrijednosti koeficijenta determinacije u ovim su slučajevima bile vrlo male što čini ovaj model neprikladnim za opis brzine oslobađanja DNR iz peleta. Korsmeyer-Peppasov model većinom se koristi za opis oslobađanja iz polimernih mikrosfera u kojima je oslobađanje pod kontrolom difuzije što nije slučaj kod MCC peleta gdje je oslobađanje posljedica njihove erozije. Konstanta brzine oslobađanja također je pokazala nešto sporije oslobađanje iz Multaq tableta ($K = 0,027 \text{ min}^{-1}$) u odnosu na pelete 400 mg 60c ($K = 0,033 \text{ min}^{-1}$) što bi bilo moguće regulirati dodatnim oblaganjem peleta.

Rezultati su pokazali da je različitom pripravom peleta te nanošenjem DNR i HPMC kao enteričke obloge moguće kontrolirati oslobađanje te pripremiti dozirne oblike različitih sadržaja djelatne tvari i iskoristiti višestruke prednosti peleta u odnosu na tablete kao oralni dozirni oblik.

6. ZAKLJUČCI

Postupcima ekstrudiranja i sferoniziranja pripravljene su porozne pelete na koje je nanosena suspenzija DNR-a metodom vakuumske impregnacije te pelete s direktno ugrađenim DNR (100 mg i 400 mg).

Korištenjem metode direktnim ugrađivanjem DNR-a dobiven je veći sadržaj djelatne tvari u jednoj dozi kapsule u odnosu na metodu vakuumske impregnacije.

Kinetika oslobađanja DNR opisana je modelom prvoga reda, a konstanta brzine oslobađanja potvrdila je najsporije oslobađanje DNR iz 100 mg peleta.

Oblaganjem peleta dobiveno je sporije oslobađanje DNR iz peleta što je potvrđeno smanjenjem vrijednosti konstante brzine oslobađanja za sve pelete.

Profili oslobađanja 400 mg 60c peleta i Multaq tablete uspoređeni su preko faktora razlike i faktora sličnosti. Faktor razlike (f_1) iznosi 14,2 %, a faktor sličnosti (f_2) 46,4 % što ukazuje da nema ekvivalentnosti profila. Konstanta brzine oslobađanja također je pokazala nešto sporije oslobađanje iz Multaq tableta ($K = 0,027 \text{ min}^{-1}$) u odnosu na pelete 400 mg 60c ($K = 0,033 \text{ min}^{-1}$) što bi bilo moguće regulirati dodatnim oblaganjem peleta.

Različitim metodama pripreme peleta te nanošenjem DNR i HPMC kao enteričke obloge moguće je kontrolirati oslobađanje te pripremiti dozirne oblike različitih sadržaja djelatne tvari i iskoristiti višestruke prednosti peleta u odnosu na tablete kao oralni dozirni oblik.

7. SRAĆENICE I SIMBOLI

Skraćenice

- DNN – dronedaron-hidroklorid
MCC – mikrokristalna celuloza
NaCl – natrijev klorid
PEG – poli(etilen-glikol)
HPMC – hidroksipropil- metil-celuloza
SEM – pretražni elektronski mikroskop

Simboli

- A – površina, m^2
 a – parametar skale koji opisuje vremensku ovisnost
 b – oblik krivulje pomaka topljivosti
 c_0 – početna koncentracija lijeka, $mg L^{-1}$
 c_s – koncentracija lijeka u matričnom mediju, $mg L^{-1}$
 D – difuzijski koeficijent molekule lijeka u otapalu, $m^2 s^{-1}$
 f_1 – faktor razlike
 f_2 – faktor sličnosti
 h – debljina difuzijskog sloja, m
 K – konstanta brzine otpuštanja, $kg m^{-3} s^{-1}$
 K_H – Higuchijeva konstanta otapanja, $kg m^{-3} s^{-1}$
 M – količina lijeka otpuštenog u vremenu, kg
 M_0 – ukupna količina otpuštenog lijeka, kg
 n – eksponent otpuštanja
 n – množina adsorbirane tvari, mol
 N_A – Avogadrova konstanta, mol^{-1}
 P_0 – tlak zasićenja isparavanja, Pa
 P – tlak adsorpcije, Pa
 S – površina difuzijskog sloja, m^2
 Q_0 – početna količina lijeka u otopini, $kg m^{-3}$
 Q_t – količina lijeka otopljenog u vremenu t , $kg m^{-3}$
 t – vrijeme, s
 T – zaostalo vrijeme mjereno kao rezultat procesa otapanja, s
 T_t – vrijednost otapanje ispitivane serije T u vremenu, s
 W_0 – početna količina lijeka u farmaceutskom obliku doziranja, $kg m^{-3}$
 W_t – preostala količina djelatne tvari u farmaceutskom obliku doziranja, $kg m^{-3}$
 δ – poroznost matrice
 κ – konstanta ugradnje površno-volumnog odnosa
 τ – zakrivljenost matrice

8. LITERATURA

- [1] R. Senjković, Osnove oblikovanja lijekova, Školska knjiga, Zagreb, 2003.
- [2] S. Abdul, A. V. Chandewar, S. B. Jaiswal, A flexible technology for modified-release drugs: multiple-unit pellet system (MUPS), *J. Control. Release* 147 (2010) 2–16.
- [3] B. Gandhi, J. Baheti, Multiparticulates drug delivery systems: a review, *Int. J. Pharm. Chem. Sci.* 2 (2013) 1620–1626.
- [4] M. Hirjau, A. C. Nicoara, V. Hirjau, D. Lupuleasa, Pelletization Techniques used in pharmaceutical fields, *Practica Farmaceutica* 4 (2011) 206–211.
- [5] D. Ratul, A. A. Baquee, Pellets and Pelletization techniques: A critical review, *Int. Res. J. Pharm.* 4 (2013) 90–95.
- [6] A. D. Reynolds, A new technique for the production of spherical particles, *Manufacturing Chemist & Aerosol News*; June 1970. p. 40–3.
- [7] S. G. Kazarian, G. G. Martirosyan, Spectroscopy of polymer/drug formulations processed with supercritical fluids: In situ ATR-IR and Raman study of the impregnation of ibuprofen into PVP, *Int. J. Pharm.* 232 (2002) 81–90.
- [8] V. R. Sirisha, K. Vijaya sri, K. Suresh, G. K. Reddy, Multiple unit pellet systems: A review, *Int. J. Pharm.* 2 (2012) 419–425.
- [9] D. M. Jones, Solution and suspension layering, u I. Ghebre-Sellassie (Ed) *Pharmaceutical Pelletization Technology*, Marcel Dekker, pp. 145–164, 1989.
- [10] I. Jalšenjak, V. Jalšenjak, J. Filipović- Grčić, *Farmaceutika*, Školska knjiga, Zagreb, 1998.
- [11] G. Singhvi, M. Singh, *In vitro* drug release characterization models, *Int. J. Pharm. Stud. Res.* 2 (2011) 77–84.
- [12] W. I. Higuchi, Diffusional models useful in biopharmaceutics drug release rate processes, *J. Pharm. Sci.* 56 (1967) 315–324.
- [13] P. Costa, J. M. S. Lobo, Modelling and comparison of dissolution profiles, *Eur. J. Pharm. Sci.* 13 (2001) 123–133.
- [14] R. W. Korsmeyer, R. Gurny, E. Doelker, P. Buri, N. A. Peppas, Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers, *Int. J. Pharm.* 15 (1983) 25–35.
- [15] S. Dash, P. D. Murthy, L. Nath, P. Chowdhury, Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems, *Acta Poloniae Pharm.* 67 (2010) 217–223.
- [16] M. C. Veena, S. K. Senthil Kumar, S. Parthiban, Preparation and evaluation of porous pellets loaded with anti-arrhythmic drug for controlled release, *IJPSR* 3 (2013) 20–31.
- [17] <http://www.retsch-technology.com/products/dynamic-image-analysis/camsizer-xt/function-features> (pristup 14. 9. 2019.)

- [18] Zhang, Y., Huo, M., Zhou, J., Zou, A., Li, W., Yao, C., Xie, S., DDSolver: An Add-In Program for Modeling and Comparison of Drug Dissolution Profiles, *AAPS J.* 12 (2010) 263–271.
- [19] A. Cosijns, D. Nizet, I. Nikolakakis, C. Vervaet, T. De Beer, F. Siepman, J. Siepman, B. Evrard, J. P. Remon, Porous pellets as drug delivery system, *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 35 (2009) 655-662.
- [20] R. S. Byrne, P. B. Deasy, Use of porous aluminosilicate pellets for drug delivery, *J. Microencapsulation* 22 (2005) 423-437.
- [21] G. Ahuja, K. Pathak, Porous Carriers for Controlled/Modulated Drug Delivery, *Indian J Pharm Sci.* 71 (2009) 599–607.
- [22] Z. Wang, B. Chen, G. Quan, F. Li, Q. Wu, L. Dian, Y. Dong, G. Li, C. Wu, Increasing the oral bioavailability of poorly watersoluble carbamazepine using immediate-release pellets supported on SBA-15 mesoporous silica, *Int. J. Nanomedicine* 7 (2012) 5807–5818.
- [23] X. Yu, C.-Y. Shi, J.-G. Fang, W. Wen-Qing, Approaches to developing fast release pellets via wet extrusion-spheronization, *Pharm. Dev. Tech.* 23 (2018) 432–441.
- [24] R. Sidwell, J. Hansell, M. Rane, A. R. Rajabi-Siahboomi, Characterization of Inert Cores for Multiparticulate Dosage Forms, u A. R. Rajabi-Siahboomi (Ed.), *Multiparticulate Drug Delivery; Formulation, Processing and Manufacturing*, Springer, pp. 5–35, 2017.
- [25] Food and Drug Administration, Dissolution Methods Database, Dronedarone HCl tablets, 2015.
URL: https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_getallData.cfm (pristup 30. 8. 2019.)
- [26] A. R. Rajabi-Siahboomi, Overview of Multiparticulate Systems for Oral Drug Delivery, u A. R. Rajabi-Siahboomi (Ed.), *Multiparticulate Drug Delivery; Formulation, Processing and Manufacturing*, Springer, pp. 1–4, 2017.
- [27] Y. Qiu, Y. Chen, *Developing Solid Oral Dosage Forms: Pharmaceutical Theory & Practice*, Elsevier, 2017.
- [28] J. Dressman, J. Krämer, *Pharmaceutical Dissolution Testing*, Taylor & Francis Group, 2005.
- [29] K. H. Ramteke, P. A. Dighe, A. R. Kharat, S. V. Patil, Mathematical Models of Drug Dissolution: A Review, *Sch. Acad. J. Pharm.*, 3 (2014) 388–396.
- [30] M. L. Bruschi, *Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems*, Woodhead Publishing, 2015.