

Ekstrudiranje taljenjem kao metoda povećanja topljivosti djelatne tvari

Štokić, Marina

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:149:928172>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-26**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Marina Štokić

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Marina Štokić

Ekstrudiranje taljenjem kao metoda povećanja topljivosti djelatne tvari

DIPLOMSKI RAD

Voditeljica rada: Prof. dr. sc. Gordana Matijašić

Članovi ispitne komisije: Prof. dr. sc. Gordana Matijašić
Izv. prof. dr. sc. Krunoslav Žižek
Prof. dr. sc. Juraj Šipušić

Zagreb, rujan 2019.

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

Veliko hvala najboljoj mentorici prof. dr. sc. Gordani Matijašić.

Prije svega, velik ste čovjek, a isto tako izuzetan stručnjak i pedagog. Nadahnuće ste za daljnji razvoj i učenje i hvala Vam na svemu što ste svojom ljudskošću i profesionalnošću prenijeli na mene.

Bilo je veliko zadovoljstvo i čast učiti od Vas kroz studiranje, završni i diplomski rad.

Hvala najboljem asistentu Matiji Gretiću na izuzetnoj susretljivosti, nesebičnosti, motivaciji, pomoći i pozitivni.

Matija, bilo je zadovoljstvo, mir i sreća raditi s tobom.

Hvala mojim prijateljima i kolegama. Ovo studiranje ne bi imalo smisla da nije bilo vašeg društva. Hvala što ste bili pomoć i podrška u svih teškim, i smijeh, i radost u sretnim događanjima; što smo sve prolazili zajedno, iz prve ruke.

Hvala što ste prijatelji uvijek.

I na kraju, hvala mojoj obitelji koja je moj temelj i oslonac za sve što jesam, što gradim i postižem. Hvala što ste uz mene u svim trenucima i što ste bezuvjetna ljubav i vjetar u leđa.

Tata, znam da si ti Negdje najponosniji.

Veliko HVALA svima!

SAŽETAK

Glavni izazov u formuliranju farmaceutskih oralnih oblika leži u slaboj bioraspoloživosti lijeka koja se najčešće pripisuje njegovoj slaboj topljivosti. Odabir metode poboljšanja topljivosti ovisi o svojstvima lijeka, mjestu apsorpcije i potrebnim karakteristikama dozirnog oblika. Zadatak ovog rada je povećanje topljivosti djelatne tvari, celekoksiba, metodom ekstrudiranja taljenjem.

U eksperimentu su za dobivanje ekstrudata korišteni Soluplus, poli(etilen-glikol) (PEG) te celekoksib kao djelatna tvar. Pripremljene su mješavine te dobiveni ekstrudati pri određenim temperaturama (CLX-SOL-170, CLX-SOL-120 i CLX-PEG-57-61).

Pripremljenim uzorcima ispitan je sadržaj, topljivost, profili oslobađanja te su provedene DSC i XRD metode karakterizacije. Topljivost je provedena tzv. metodom potresanja te ispitana UV/Vis spektrofotometrijom. *In vitro* ispitivanje otpuštanja celekoksiba provedeno je u USP2 uređaju prema propisanim uvjetima. Sve korištene tvari, fizičke mješavine i ekstrudati analizirani su DSC i XRD metodama karakterizacije. Primjenom programskog dodatka *DDSolvera*, odnosno metodom usporedbe parova – faktorom sličnosti i faktorom razlike uspoređeni su profili otpuštanja djelatne tvari.

Rezultati su pokazali uspješnost u povećanju topljivosti, kao i brzine otpuštanja celekoksiba. Zaključno, prema dobivenim rezultatima pokazalo se da je najveće povećanje topljivosti dobiveno uz Soluplus pri temperaturi ekstruzije od 170 °C (CLX-SOL-170). Kao potvrda tomu, XRD difraktogramima je utvrđen amorfní oblik CLX što direktno utječe na njegovu topljivost.

Ključne riječi: celekoksib, topljivost, ekstrudiranje taljenjem, Soluplus, faktor razlike, faktor sličnosti

ABSTRACT

The main challenge in the formulation of pharmaceutical oral dosage forms lies in the low bioavailability of the drug, which is most often attributed to its poor solubility. Selection of solubility improving method depends on drug property, site of absorption, and required dosage form characteristics. The aim of the work described in this thesis is to increase the solubility of the active substance, celecoxib, by using hot melt extrusion (HME) technique.

To obtain extrudates, in the experiment were used Soluplus, poly(ethylene glycol) (PEG) and celecoxib as the active substance. Mixtures were prepared and extrudates were obtained at certain temperatures (CLX-SOL-170, CLX-SOL-120 and CLX-PEG-57-61).

The prepared samples were analysed for their content, solubility, release profiles and characterized by DSC and XRD methods. Solubility was measured by using the so-called shake-flask method and tested by using UV/Vis spectrophotometer. *In vitro* testing of celecoxib release was studied in USP 2 device under prescribed conditions. All substances used, physical mixtures and extrudates were analyzed by using DSC and XRD characterization methods. By applying DDSolver, an Excel add-in software package, i.e. the pairwise comparison method – the release profiles of the active substance were compared by using the similarity factor and the difference factor.

The results showed that solubility and release rates of celecoxib successfully increased. In conclusion, according to the results obtained, it was shown that the highest solubility was achieved with Soluplus at the extrusion temperature of 170°C (CLX-SOL-170). To confirm this, the amorphous structure of the resulting extrudate, which directly affects the solubility, was determined by using XRD methods.

Key words: celecoxib, solubility, hot melt extrusion (HME), Soluplus, difference factor, similarity factor

SADRŽAJ

1.	UVOD.....	1
2.	TEORIJSKI DIO	2
2.1.	Ekstrudiranje taljem.....	2
2.1.1.	Podjela ekstrudera	3
2.2.	BCS klasifikacija lijekova.....	6
2.3.	Topljivost	7
2.3.1.	Mjerenje topljivosti	8
2.3.2.	Metode povećanja topljivosti	9
2.4.	Oslobađanje djelatne tvari.....	10
2.4.1.	Profili oslobađanja djelatne tvari.....	10
2.4.2.	<i>In vitro</i> ispitivanje oslobađanja djelatne tvari	11
3.	EKSPERIMENTALNI DIO.....	13
3.1.	Materijali.....	13
3.1.1.	Celekoksib	13
3.1.2.	Soluplus	14
3.1.3.	Poli(etilen-glikol)	14
3.2.	Priprema mješavina i ekstrudiranje	15
3.2.1.	Priprema mješavina	15
3.2.2.	Ekstrudiranje taljenjem.....	16
3.3.	Metode karakterizacije.....	18
3.3.1.	Razlikovna pretražna kalorimetrija	18
3.3.2.	Rendgenska strukturna analiza.....	18
3.3.3.	UV/Vis spektrofotometrija.....	19
3.4.	Određivanje sadržaja i topljivosti celekoksiba	19
3.4.1.	Priprema standardnih otopina i umjerni pravac.....	19
3.4.2.	Određivanje sadržaja celekoksiba u uzorcima.....	20
3.4.3.	Određivanje topljivosti celekoksiba	20
3.5.	Ispitivanje <i>in vitro</i> oslobađanja celekoksiba	21
3.6.	Obrada rezultata	22
4.	REZULTATI I RASPRAVA	23
5.	ZAKLJUČCI	32
6.	LITERATURA	33

1. UVOD

Biofarmaceutika je znanstvena disciplina koja *in vitro* istraživanjima fizičkih i kemijskih svojstava lijekova daje informacije za primjenu i ponašanje u organizmu. Glavni cilj ove discipline je formulacija djelatne tvari u optimalan farmaceutski pripravak visoke učinkovitosti i sigurnosti. Najčešći i najpovoljniji način primjene lijekova je oralno doziranje, a glavni izazov u formulaciji oralnih oblika leži u slaboj bioraspoloživosti. Bioraspoloživost podrazumijeva brzinu i raspoloživost primijenjene doze lijeka na određenom mjestu biološkog učinka. Više od 40% novih lijekova razvijenih u farmaceutskoj industriji su netopljivi u vodi, a svaki lijek kako bi se apsorbirao mora biti u obliku otopine. BCS klasifikacija lijekova najčešće uzroke niske bioraspoloživosti pripisuje slaboj topljivosti i niskoj propusnosti te na temelju njih klasificira lijekove za lakše predviđanje terapijskog učinka i daljnjeg formulacijskog razvoja. Za tvari klase II (niska topljivost i visoka propusnost), bioraspoloživost se može poboljšati povećanjem topljivosti i brzine oslobađanja lijeka. Tijekom godina se koncept isporuka lijekova razvio od trenutnog oslobađanja lijeka do lijekova s ciljanim oslobađanjem pa je nužnost kontrole nad profilom oslobađanja lijeka postala neophodna. Da bi se poboljšala topljivost slabo topljivih lijekova koriste se različite tehnike koje uključuju fizičke i kemijske modifikacije lijeka. Odabir metode poboljšanja ovisi o svojstvima lijeka, mjestu apsorpcije i potrebnim karakteristikama oblika doziranja. Jedna od metoda je ekstruzija taljenjem kojom se komponente pretvaraju u amorfan proizvod jednoličnog oblika i gustoće čime se povećava profil otapanja slabo topljivog lijeka u vodi. Za razliku od uobičajenih farmaceutskih tehnika prerade, ekstruzijom je skraćeno vrijeme proizvodnje, moguće je postići kontinuiran rad, ne koristi otapala, omogućuje jednolikost sadržaja ekstrudata i dobru stabilnost pri promjeni pH.^[1, 2, 3]

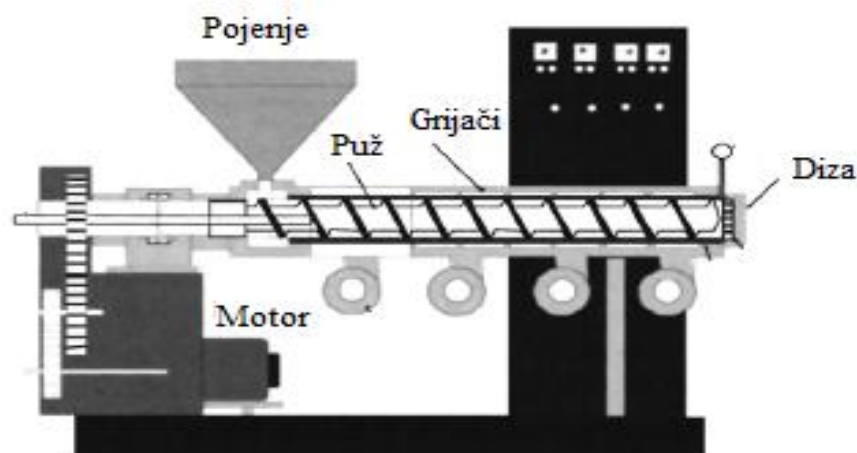
Cilj ovog rada je ispitati sadržaj, profile oslobađanja te u konačnosti metodom ekstrudiranja taljenjem povećati topljivost djelatne tvari, celekoksiba. Lijek se ispituje u uzorcima ekstrudata s polimerima dobivenim pri različitim temperaturama.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Ekstrudiranje taljem

Ekstrudiranje taljenjem (engl. *Hot Melt Extrusion* – HME) je mehanički i termički proces oblikovanja mekih i plastičnih materijala protiskivanjem rastaljenog polimera kroz mlaznicu čime se mogu dobiti poluproizvodi kao i gotovi proizvodi. Proces ekstrudiranja prisutan je u različitim granama industrije; od početaka primjene krajem 17. stoljeća u proizvodnji cigli, kasnije za proizvodnju olovnih cijevi, a daljnjim razvojem najrašireniji u tehnologiji prerade plastike, gume te u prehrambenoj industriji. Najčešće dobivani proizvodi su cijevi, štapovi, filmovi, folije i ploče, puni i šuplji profili, vlakna, izolirani kablovi. U farmaceutskoj industriji primjenjuje se od 70-ih godina prošlog stoljeća, i to u formulaciji i razvoju proizvoda. ^[1, 4]

Proces ekstrudiranja uključuje postupke punjenja, miješanja, formiranja i sušenja (slika 1). Materijal se kroz lijevak za doziranje, dizu, puni u cilindar. Pomoću klipa (stapa) ili jednog ili dva rotirajuća puža u stacionarnom kućištu pod tlakom dolazi do miješanja i smicanja materijala kroz ekstruder pri čemu se čestice materijala smanjuju, oblikuju i homogeniziraju. Materijal se istovremeno zagrijava i tali pri kontroliranoj temperaturi te uz određeni pritisak istiskuje kroz mlaznicu. ^[5]



Slika 1. Shematski prikaz ekstrudera ^[6]

Prema tome, rad ekstrudera se može podijeliti u tri zone: zonu punjenja (uvlačna zona) u kojoj se materijal dodaje i miješa pomoću vijka koji uvlači materijal i potiskuje ga do druge zone, zone stlačivanja. Tu se stvara tlak zbog povećanja temperature, grijanja zavojnice i trenja te se materijal stlačuje, pretvara u taljevinu i u istisnoj zoni izlazi kao homogenizirana

taljevina. Procesom ekstrudiranja mijenjaju se parametri procesa u različitim fazama obrade materijala, što rezultira različitim karakteristikama dobivenog proizvoda. U procesu ekstrudiranja ključnu ulogu ima optimalna brzina rotacije pužnog vijka koja omogućava kontinuirano miješanje i zadržavanje materijala kao i temperatura koja se određuje na osnovi temperature staklišta i temperature taljenja materijala, a sama promjena temperature tijekom istiskivanja ovisi o brzini ekstruzije, početnoj temperaturi, prijenosu topline i trenju. [7, 8]

Ekstrudiranje taljenjem ima veliku važnost u proizvodnji farmaceutskih oblika. Ovim postupkom se lijek i pomoćne tvari spajaju u amorfan proizvod jednoličnog oblika i gustoće. U odnosu na tradicionalne tehnike za proizvodnju farmaceutskih oblika, ova tehnologija daje veće prednosti:

- više operacija (miješanje, taljenje, homogeniziranje)
- nizak gubitak materijala i energije
- mogućnost korištenja prašaka s rasponom veličina čestica
- omogućuje kontrolirano oslobađanje lijeka i povećava profil otapanja slabo topljivih lijekova u vodi
- kraće i učinkovitije vrijeme za postizanje konačnog proizvoda
- ekološka učinkovitost zbog uklanjanja upotrebe otapala kao i male količine otpada (nusproizvoda)
- visoka produktivnost i kontinuiranost procesa. [1,9]

2.1.1. Podjela ekstrudera

Ekstruderi se mogu podijeliti na više načina. Prema termodinamičkim uvjetima rada razlikuju se:

- **Autogeni (adijabatski) ekstruderi** koji rade pri približno adijabatskim uvjetima postignutim tako da se toplina razvija konverzijom mehaničke energije uslijed gibanja materijala. U pravilu nema dovođenja niti odvođenja topline.
- **Izotermni ekstruderi** kod kojih se održava konstantna temperatura hlađenjem, tj. odvođenjem topline nastale pretvorbom mehaničke energije.
- **Politropski ekstruderi** čiji rad je između adijabatskih i izotermnih uvjeta. [5]

Najčešća podjela ekstrudera je prema konstrukciji cilindra za taljenje. Ova podjela je zasnovana na različitom principu protiskivanja polimerne taljevine. Razlikuje se klipni (vijčani) ekstruder i ekstruder s jednim pužnim vijkom ili više, najčešće dva.

- **Klipni ekstruderi**

Klipni ekstruder (engl. *Ram Extruder*) (slika 2) je jednostavne izvedbe sastavljen od klipa i kućišta. Ovakav tip ekstrudera istiskuje polimernu mješavinu pomoću klipa, ima dobre karakteristike protiskivanja i može razviti vrlo velike tlakove, ali uz relativno malu brzinu istiskivanja i kapaciteta taljenja. Postoje dvije vrste izvedbe ovog tipa ekstrudera – s vodoravnim i okomitim klipom. Kvaliteta ekstrudata ovisi o dizajnu ekstrudera, svojstvima prašaka, brzini istiskivanja, tlaku i temperaturi. Ovaj tip ekstrudera se ne koristi često, uglavnom za specijalizirane ekstruzije. ^[10, 11]



Slika 2. Klipni ekstruder ^[12]

- **Pužni (vijčani) ekstruderi**

Pužni ekstruderi (engl. *Screw Extruder*) (slika 3) su najvažniji u farmaceutskoj industriji jer omogućavaju kontinuiranu pretvorbu sirovine do gotovog oblika. Razlikuju se jednopužni i višepužni ekstruderi. Bez obzira na vrstu, funkciju ili složenost procesa, ekstruderi moraju omogućavati vrtnju vijka pri određenoj radnoj brzini. ^[1]



Slika 3. Pužni (vijčani) ekstruder ^[13]

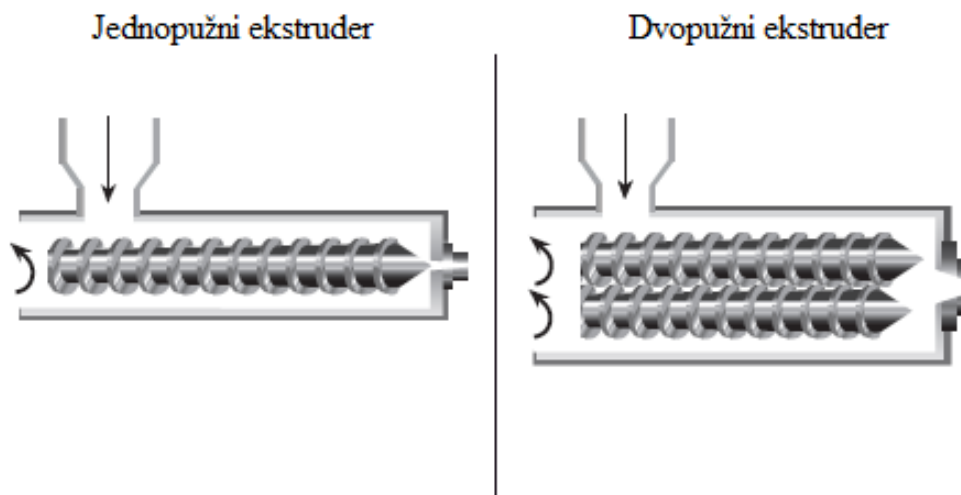
Kod **jednpužnog ekstrudera** (engl. *Single Screw Extruder*) (slika 4) miješanje i protiskivanje polimerne mješavine unutar cilindra se ostvaruje rotacijom pužnog vijka, a samo zagrijavanje je rezultat smicanja materijala i dovedene topline u cilindar. Ekstruder pruža značajno vrijeme boravka, omogućava odgovarajući stupanj miješanja s kontinuiranom vrtnjom vijka što daje stabilan tlak za istiskivanje te u konačnici kvalitetan materijal. Izlazna brzina ekstrudera je funkcija geometrije i brzine vijka te viskoznosti taline. Tlak razvijen u sustavu ekstrudera ovisi o viskoznosti taline, izvedbi vijka, cijevi i mlaznice. Ovo je najčešće korišteni tip ekstrudera. ^[1, 6, 10]

Dvopužni ekstruder (engl. *Twin Screw Extruder*) (slika 4) se sastoji od dva paralelno postavljena vijka koji se mogu rotirati u istom ili suprotnom smjeru. U praksi se češće koriste protusmjerni ekstruderi zbog boljih karakteristika protiskivanja.

U odnosu na jednpužne ekstrudere, dvopužni imaju nekoliko prednosti:

- poboljšano miješanje i ujednačena raspodjela temperature
- često se koriste u radu s viskoznim, masnim i ljepljivim materijalima
- imaju mogućnost samočišćenja zbog prisutnosti dva vijka
- manje je izraženo pulsiranje materijala na izlazu
- omogućuju manje vrijeme boravka, a radni parametri se mogu mijenjati lako i kontinuirano za promjenu istiskivanja

Međutim, nedostaci su visoka cijena i troškovi održavanja. ^[1, 14, 15]



Slika 4. Shematski prikaz jednopužnog i dvopužnog ekstrudera ^[16]

2.2. BCS klasifikacija lijekova

Biofarmaceutička ispitivanja omogućuju oblikovanje i razvoj farmaceutskih oblika na temelju fizičkih i kemijskih svojstava djelatne tvari, načina i mjesta primjene, farmakodinamičkog učinka (primjerice trenutni ili produljeni), toksikoloških svojstava lijeka kao i učinka pomoćnih tvari na primjenu lijeka.

Sustav klasifikacije biofarmaceutika (eng. *Biopharmaceutical classification system* – BCS) razvijen je kako bi omogućio predviđanje učinka lijekova mjerenjima propusnosti i topljivosti. BCS je prihvaćen od strane regulatornih tijela (Europske agencije za lijekove – EMA; Američke agencije za hranu i lijekove – FDA; Svjetske zdravstvene organizacije – WHO) u postavljanju bioekvivalencijskih standarda za odobravanje oralnih farmaceutskih oblika. ^[2]

Klasifikacija biofarmaceutika kategorizira molekule lijeka u četiri grupe na temelju topljivosti i profila propusnosti (slika 5).

Do 90 % svih sastojaka za potencijalni farmaceutski oblik su kategorizirani kao klasa II ili klasa IV. Za lijekove klase II, formulacijski cilj je povećanje topljivosti, i to najčešće smanjenjem veličine čestica, čvrstim otopinama i disperzijama, otopinama koje koriste otapala i/ili površinski aktivne tvari. Za lijekove klase III i IV dodatni cilj je povećanje

propusnosti što uključuje korištenje raznih pojačivača propusnosti. Smatra se da je lijek "vrlo propusan" kada je opseg apsorpcije veći od 90 % primijenjene doze.



Slika 5. Klasifikacija lijekova prema klasama Biofarmaceutskog klasifikacijskog sustava

Ova podjela, osim klasificiranja na temelju biorasploživosti *in vitro* ispitivanjima ima i bitnu ulogu u strukturnim promjenama na molekuli čime u ranim fazama razvoja optimizira farmakokinetičke parametre. Osim toga, prvi je korak pri odobravanju proizvoda, a potom i usmjeravanju dizajna sustava za transport i dostavu lijeka.^[17-21]

2.3. Topljivost

Topljivost se s kvalitativnog pogleda može definirati kao spontana interakcija dviju ili više tvari koje oblikuju homogenu molekulsku disperziju. U sklopu kvantitativnog gledišta, topljivost se definira kao koncentracija otopljene tvari u otopini gdje je postignuta ravnoteža, odnosno maksimalna količina djelatne tvari koja se može otopiti u određenom volumenu pri konstantnoj temperaturi. Rezultirajuća otopina naziva se zasićenom otopinom, a definirana je ravnotežnom topljivošću djelatne tvari u određenom otapalu.

U dvokomponentnom sustavu, komponenta prisutna u većem omjeru se naziva otapalom, a ona u manjem, otopljena tvar. Tvar u kontaktu s otapalom teži prelasku u otopinu, tj. povećanju entropije sustava. Topljivost nije isto svojstvo tvari kao i proces otapanja kojim

se opisuje brzina otapanja tvari u otapalu. Dakle, topljivost je koncept ravnoteže, a otapanje je kinetička pojava. Oboje ovise o eksperimentalnim uvjetima. Brzina otapanja otopljene tvari u otapalu izravno je proporcionalna njegovoj topljivosti. Loša topljivost u vodi dovodi do poteškoća u kliničkom razvoju pa je naglašena važnost u preciznom mjerenju slabo topljivih spojeva. Topljivost se izražava u jedinicama koncentracije i postotnim udjelima, odnosno izrazima maksimalnog volumena ili mase otopljene tvari u zadanom volumenu ili masi otapala. Dobra apsorpcija tvari postignuta je onda kada je topljivost u vodi iznad 1 % (10 mg mL⁻¹) tijekom pH vrijednosti 1 – 7 na 37 °C. [2, 21-24]

2.3.1. Mjerenje topljivosti

Prilikom mjerenja topljivosti moraju biti zadovoljeni uvjeti čistoće otapala i tvari koja se otapa, temperatura mora biti kontrolirana, a uzorak se analizira nakon postizanja zasićenja otopine pouzdanom i ponovljivom metodom.

Ravnotežna topljivost pri određenoj pH vrijednosti i temperaturi se najčešće određuje tzv. *shake-flask* metodom koja se sastoji od nekoliko koraka. Prema ovoj metodi spoj se dodaje u određenom iznosu u nizu zasebnih sustava skupa s otapalom te potresa, odnosno miješa pri određenom broju okretaja (slika 6). Postupak se provodi u zadanom vremenu, najčešće 24 sata ili duže, pri konstantnoj temperaturi do uspostavljanja ravnoteže, odnosno zasićenosti koja je vidljiva po ostatku neotopljene tvari u otopini. Nakon filtriranja suspenzija, uzima se uzorak za analizu koji se najčešće razrjeđuje kako bi se spriječio proces kristalizacije. Količina otopljene tvari koja se nalazi u uzorku određuje se uobičajenim metodama: UV-Vis spektroskopijom, kromatografskim i gravimetrijskim ili volumetrijskim metodama.



Slika 6. Prikaz uređaja za mjerenje topljivosti [25]

Ova metoda se može koristiti za gotovo sve spojeve, ali zbog sve veće potrebe bržeg određivanja topljivosti razvijene su automatizirane metode. [24, 26]

2.3.2. Metode povećanja topljivosti

Topljivost je jedan od važnijih parametara za postizanje željene koncentracije lijeka u sustavu. Tehnike povećanja topljivosti mogu biti fizičke i kemijske prirode.

U tehnike koje se baziraju na fizičkim promjena ubrajaju se metode:

- **Smanjenja veličine čestica** – može se postići mikronizacijom i nanosuspencijama. Mikronizacijom se povećava brzina otapanja lijeka povećanjem površine, ali se ne povećava ravnotežna topljivost, a nanosuspencijom se stvara dvofazni sustav nano veličina čestica lijeka koje su stabilizirane površinski aktivnim tvarima.
- **Modifikacije kristalne strukture** – dobivanje polimorfa i pseudopolimorfa (različiti tipovi kristala su rezultat hidratacije ili solvatacije).
- **Disperzije lijeka u nosačima** – disperzija jednog ili više aktivnih sastojaka u inertnom nosaču u čvrstom stanju. Metodom fuzije i ekstruzije taljenjem dobivaju se čvrste disperzije. **Metoda fuzije** predstavlja zagrijavanje smjese lijeka i nosača sve dok se ne rastale. Dobivena čvrsta smjesa se drobi i usitnjava, a dalje se može prešati u tablete. Talište sustava ovisi o njegovom sastavu, tj. omjeru lijeka i nosača, a uvjet za stvaranje čvrste krutine je njihova mješljivost u rastaljenom obliku, kao i termostabilnost. **Metoda ekstruzije** je u osnovi ista kao i postupak fuzije uz razliku intenzivnog miješanja komponenata pomoću ekstrudera. U usporedbi s fuzijom, ova tehnika nudi mogućnost kontinuirane proizvodnje s lakšim rukovanjem jer se oblik na izlazu može prilagoditi sljedećem koraku bez mljevenja.
- **Solubilizacije surfaktanata** – solubilizacija površinski aktivnim tvarima koje se sastoje od izrazito polarnog i nepolarnog dijela

Tehnike kemijske izmjene podrazumijevaju:

- **Prilagodbu pH** – djelatne tvari baznih svojstava su topljivije u kiseloj sredini jer stvaraju topljive soli, a one kiselih svojstava u bazičnoj sredini. Topljivost se može poboljšati dodatkom kiselih ili bazičnih pomoćnih tvari.
- **Uporabu pufera**

- **Derivatizaciju** kojom se kemijski spoj pretvara u proizvod slične kemijske strukture, derivat.

Osim navedenih metoda često se dodaju aditivi koji povećavaju topljivost ili se upotrebljava otapalo ili sustavi otapala koji moraju biti dovoljno isparljivi i ne smiju degradirati lijek, primjerice kombinacija organskog otapala poput alkohola i inertne, hidrofilne matrice kao što je škrob ili mikrokristalna celuloza. ^[26]

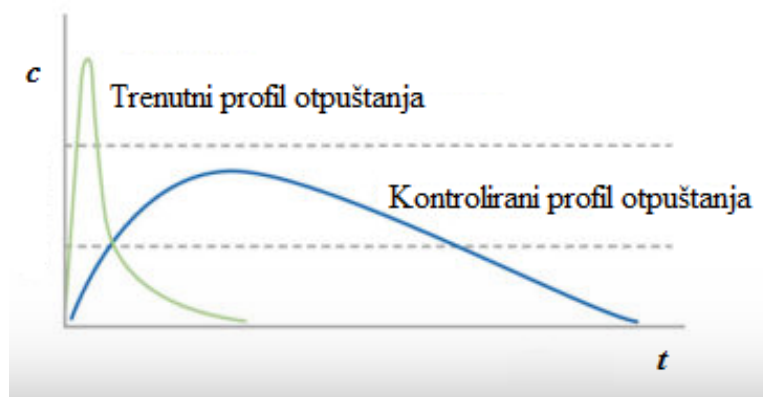
2.4. Oslobađanje djelatne tvari

Oslobađanje djelatne tvari je postupak njenog otapanja i prelaska u otopinu. Teorijski se može opisati u dvije faze: prva u kojoj otapalo razgrađuje krutu tvar, odnosno kristalnu strukturu te čvrsta tvar prelazi u otopljenu, a u drugoj fazi se molekule prenose preko graničnog sloja procesom difuzije ili konvekcije u otopinu pri čemu se stvara gradijent koncentracije. Ukupna brzina otapanja ovisi o najsporijem koraku, difuziji kroz granični sloj.

Otapanje ovisi o unutarnjim i vanjskim čimbenicima. Vanjski faktori, kao što su hidrodinamika i uvjeti procesa (pH, temperatura) se moraju održavati konstantnima za čistu tvar kako bi se postigla željena brzina otapanja. Unutarnji čimbenici su definirani svojstvima čvrstog stanja i tu se obraja: kristalnost, amorfizam, polimorfizam, pseudopolimorfizam, veličina čestica i površina. ^[24]

2.4.1. Profili oslobađanja djelatne tvari

Oslobađanje lijeka je postupak kojim se djelatna tvar otapa i podvrgava apsorpciji, distribuciji, metabolizmu, izlučivanju i postaje dostupna za djelovanje. Može se opisati na nekoliko načina: trenutno, izmijenjeno, odgođeno, produženo, kontrolirano i impulsno oslobađanje (slika 7). Većina lijekova s trenutnim oslobađanjem su formulirana tako da djelatnu tvar otpuštaju odmah nakon primjene i uglavnom rezultiraju brзом apsorpcijom i djelovanjem. Izmijenjeno, odnosno modificirano oslobađanje uključuje namjerno odgođeno ili produženo otapanje i apsorpciju radi postizanja željenog terapijskog učinka. Proizvodi s produženim oslobađanjem su formulirani za dostupnost lijeka u dužem razdoblju od trenutka primjene i omogućuju barem dvostruko smanjenje učestalosti doziranja u usporedbi s uobičajenim oblikom. Impulsno oslobađanje podrazumijeva vremenske intervale oslobađanja od početka doziranja lijeka. Kontrolirano oslobađanje uključuje impulsno i produženo. ^[27]



Slika 7. Prikaz profila oslobađanja djelatne tvari ^[28]

2.4.2. *In vitro* ispitivanje oslobađanja djelatne tvari

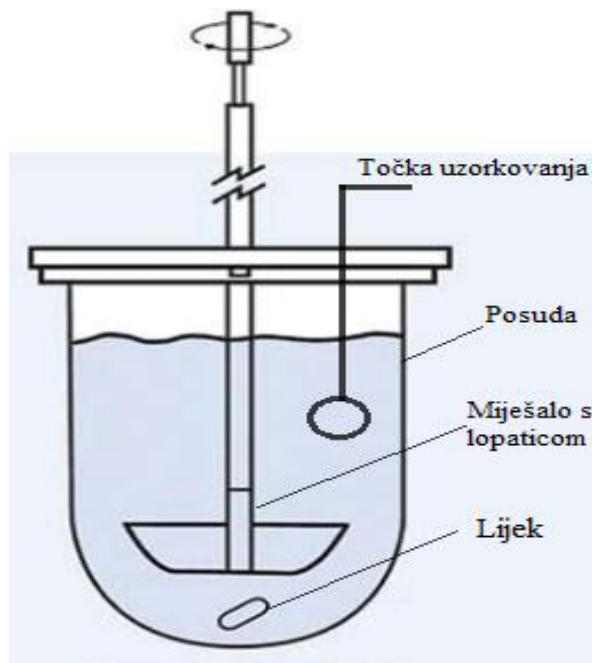
In vitro ispitivanje oslobađanja djelatne tvari je mjera oslobađanja lijeka u kontroliranom laboratorijskom okruženju koje simulira *in vivo* uvjete. Ovom metodom se mjeri brzina otapanja djelatne tvari u propisanim uvjetima, odnosno, kontrolira se otapanje lijeka koje je ključno za procjenu razvoja farmaceutskog oblika i kontrolu kvalitete. Otapanje definira fizičke promjene u djelatnoj tvari, a označava pretvaranje čvrstih čestica u molekularno disperzno stanje. Metoda se koristi u svim fazama razvoja proizvoda, a ciljevi su predviđanje bioraspodjelivosti i mogućih promjena u proizvodnom procesu te ispitivanje sigurnosti i stabilnosti lijeka u određenom obliku doziranja. Simulacija *in vivo* uvjeta, koja uključuje izbor uređaja i parametara kao što su sastav medija, pH, učestalost uzorkovanja, ovisi o općoj namjeni testa i obliku doziranja. Osim simuliranja *in vivo* uvjeta, ovim ispitivanjem se želi postići što veća raznolikost primjene i dobra ponovljivost. Brzina oslobađanja može biti odraz nekoliko fizičkih i kemijskih parametara kao što su topljivost, veličina čestica djelatne tvari i reološka svojstva farmaceutskog oblika.

Uvjeti ispitivanja i oslobađanja djelatne tvari uključuju:

- tip uređaja i način pokretanja sustava
- točno određenu temperaturu, sastav i volumen medija za ispitivanje
- brzinu okretaja ili protoka medija
- vremenski interval, postupak i metodu uzimanja uzoraka
- postupak analize
- količinu djelatne tvari koja se mora otpustiti u određenom vremenu

Medij mora biti prikladan za jednostavnu i preciznu analitičku metodu određivanja sadržaja. Važno je osigurati stalnu temperaturu koja uglavnom iznosi 37 °C s mogućim odstupanjima $\pm 0,5$ °C. Sustav mora osigurati istu koncentraciju oslobođenog lijeka u svakom mjestu u mediju pa je potrebno osigurati hidrodinamiku procesa koja uključuje optimalan broj okretaja miješalice, košarice ili tikvice te brzinu potresanja posude, odnosno pokretanja cilindra. Miješanje može biti okomito, rotacijsko i vibracijsko, a lječkoviti oblik se ne smije dodirivati s miješalicom ili stijenkom posude. Uređaj mora biti izrađen od prikladnog materijala koji odbacuje mogućnost otapanja ili reagiranja s medijem. Vrijeme ispitivanja ovisi o osobinama pripravka, odnosno učinku djelovanja djelatne tvari.

In vitro otapanje je važan element u razvoju lijekova. Metoda se obično primjenjuje u ispitivanju tableta, kapsula, suspenzija, masti, krema i sličnog. Tablete s trenutnim, modificiranim i produljenim oslobađanjem uglavnom se ispituju u cilindričnoj posudi s lopaticom (aparat 2) prikazanoj na slici 8. Oslobađanje se opisuje kinetičkim modelima. ^[29- 32]



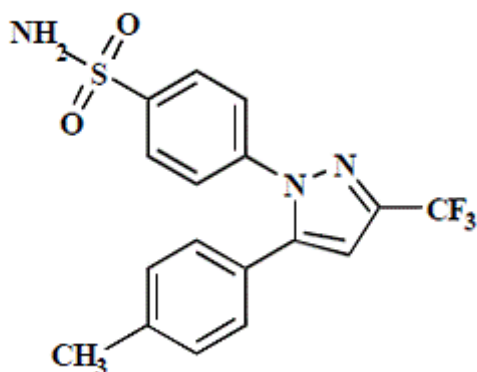
Slika 8. Prikaz aparature s lopaticom ^[33]

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

3.1.1. Celekoksib

Celekoksib je djelatna tvar koja se koristi za ublažavanje simptoma reumatoidnog artritisa, osteoartritisa i ankilozantnog spondilitisa. Po BCS klasifikaciji pripada klasi II - visoke propusnosti i niske topljivosti u vodi. Otapa se u metanolu, etanolu, butanolu, acetonu, acetonitrilu, butil i etil acetatu, dimetilsulfoksidu. Pri sobnoj temperaturi je u praškastom obliku, izuzetne kohezivnosti. Molekularna formula je $C_{17}H_{14}F_3N_3O_2S$, a molekularna masa iznosi $381,38 \text{ g mol}^{-1}$. Točka taljenja ima vrijednosti od 159 do 161 °C. ^[9] Kemijska struktura prikazana je na slici 9.



Slika 9. Kemijska struktura celekoksiba ^[34]

U radu je korišten celekoksib dobiven iz tvrtke PLIVA Hrvatska d.o.o. (slika 10).



Slika 10. Celekoksib

3.1.2. Soluplus

Soluplus je polimerni stabilizator koji može djelovati kao matrični polimer za čvrste otopine i kao stabilizator slabo topljivih lijekova u vodenom mediju koji povećava njihovu bioraspoloživost. Soluplus je polivinil kaprolaktam-polivinil acetat-polietilen glikol graft kopolimer, zrnastog oblika, bijele boje i karakterističnog mirisa. Toplinski je stabilan, topljiv u vodi, u acetonu (do 50 %), metanolu (do 45 %), etanolu (do 25 %) i dimetilformamidu (do 50 %). Prosječna molekulska masa je u rasponu 90 000 – 140 000 g mol⁻¹, a temperatura staklišta iznosi oko 70 °C.

Soluplus se može ekstrudirati pri temperaturama od oko 120 °C do 220 °C, a kemijski se ne razgrađuje ni nakon ekstrudiranja na 220 °C. Ovisno o karakteristikama tališta lijeka s kojim se miješa može doći do ekstruzije pri temperaturama nižim od 120 °C. Ekstrudati Soluplusa se mogu koristiti za punjenje završnih kapsula te se mogu prešati u tablete. Soluplus se koristi i za isušivanje organskih otopina. ^[19, 35, 36] U radu je korišten Soluplus proizvođača BASF (slika 11).



Slika 11. Soluplus

3.1.3. Poli(etilen-glikol)

Poli(etilen-glikol) (PEG) je sintetički, hidrofilni, biokompatibilni polimer široke primjene, često za biomedicinske svrhe. Opća molekularna formula je H(OCH₂CH₂)_nOH (n = 4 – 180) gdje n predstavlja broj etilen-glikol jedinica sadržanih u PEG polimeru. Molarna masa se kreće od 300 do 10 000 000 g mol⁻¹ pa se može naći u obliku viskozne bezbojne tekućine do čvrste tvari u obliku voska. Temperatura taljenja PEG-a je od 58 do 63 °C, a gustoća iznosi 1,2 g cm⁻³ pri temperaturi od 20 °C. Netoksičan je bez mirisa i boje, topljiv u vodenim i organskim otapalima. Visoka hidrofilnost PEG-a povećava topljivost hidrofobnih lijekova. PEG se koristi u industrijskim, prehrambenim i farmaceutskim svrhama. ^[37- 39]

U radu je korišten PEG molarne mase $20\,000\text{ g mol}^{-1}$, proizvođača Merck KGaA (slika 12).



Slika 12. Poli(etilen-glikol)

3.2. Priprema mješavina i ekstrudiranje

3.2.1. Priprema mješavina

Za postupak ekstrudiranja pripremljene su tri mješavine, dvije sa Soluplusom i jedna s poli(etilen-glikolom). U sva tri slučaja je dodan celekoksib kao djelatna tvar. Masa svake mješavine je 30 g. Sastav mješavina prikazan je u tablici 1, a fizičke mješavine pokazane su na slikama 13 i 14.

Tablica 1. Sastav pripremljenih mješavina

	#1, #2		#3	
	Celekoksib	Soluplus	Celekoksib	PEG
Masa, g	3	27	3	27
Maseni omjer, -	1	9	1	9



Slika 13. Fizička mješavina celekoksiba i Soluplusa



Slika 14. Fizička mješavina celekoksiba i poli(etilen-glikola)

3.2.2. Ekstrudiranje taljenjem

U radu je korišten jednopužni ekstruder *Noztek Pro* promjera dize 1,75 mm (slika 15). Pripremljene mješavine su miješane u ekstruderu uz broj okretaja puža od 60 min^{-1} . Oznake dobivenih ekstrudata i temperature ekstrudiranja prikazani su u tablici 2.



Slika 15. Ekstruder *Noztek Pro*

Tablica 2. Oznake ekstrudata i temperature ekstrudiranja

Uzorci	Temperatura, °C
Celekoksib – Soluplus (CLX-SOL-170)	170
Celekoksib – Soluplus (CLX-SOL-120)	120
Celekoksib – Poli(etilen-glikol) (CLX-PEG-57-61)	57 – 61



Slika 16. Uzorak CLX-SOL dobiven ekstrudiranjem pri 170 °C (CLX-SOL-170)



Slika 17. Uzorak CLX-SOL dobiven ekstrudiranjem pri 120 °C (CLX-SOL-120)



Slika 18. Uzorak CLX-PEG dobiven ekstrudiranjem pri 57 – 61 °C (CLX-PEG-57-61)

3.3. Metode karakterizacije

Uzorci Soluplusa, PEG-a, fizičke mješavine CLX-SOL i CLX-PEG (200 mg CLX + 1,8 g SOL/PEG), ekstrudata CLX-SOL-170, CLX-SOL-120 i CLX-PEG-57-61 podvrgnuti su DSC i XRD analizi.

3.3.1. Razlikovna pretražna kalorimetrija

Razlikovna pretražna kalorimetrija (engl. *Differential Scanning Calorimetry – DSC*) je jedna od najučinkovitijih tehnika termičke analize kojom se utvrđuje energija koju uzorak apsorbira ili oslobađa tijekom zagrijavanja ili hlađenja, odnosno mjeri endotermne i egzotermne prijelaze u funkciji temperature. U praksi se prati razlika topline u referentnoj ćeliji i ćeliji s uzorkom. Rezultati mjerenja prikazani su na DSC termogramu, prema kojemu se određuje: staklište, temperatura taljenja i kristalizacije, entalpija taljenja i kristalizacije, specifični toplinski kapacitet itd. ^[40] Toplinska svojstva Soluplusa, celekoksiba, PEG-a i njihovih mješavina ispitana su tehnikom razlikovne pretražne kalorimetrije (engl. *Differential Scanning Calorimetry – DSC*), na uređaju *TA Instruments Discovery DSC*. Ispitivanja su provedena u inertoj struji dušika protoka 50 mL min⁻¹, zagrijavanjem u intervalu od 25 do 300 °C brzinom 10 °C min⁻¹.

3.3.2. Rendgenska strukturalna analiza

Analiza rendgenske difrakcije praška (XRPD) provedena je pri sobnoj temperaturi korištenjem uređaja Malvern X'Pert Pro (Malvern Panalytical Ltd., Velika Britanija).

Difraktometar koristi zračenje iz Cu anode ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$) (uvjeti: 40 kV i 40 mA, X'celerator-ove detekcijska cijev). Rendgenski difraktogrami su snimljeni u području od 5 do $35^\circ 2\theta$ pri koraku skeniranja od $0,02^\circ$ i vremenu po koraku od $0,6 \text{ s}$.

3.3.3. UV/Vis spektrofotometrija

UV/Vis spektrofotometar je instrument kojim se mjeri intenzitet svjetlosti koja prođe kroz analizirani uzorak te uspoređuje s intenzitetom upadnog svjetla. Sastoji se od kivete s uzorkom, monokromatora, detektora i izvora svjetlosti.

U radu je korišten UV/Vis spektrofotometar *Shimadzu UV-1280* (slika 19) s kivetom i protočnom ćelijom. Radno područje korištenog spektrofotometra je od 190 do 1100 nm .

UV/Vis spektrofotometrija je korištena za određivanje sadržaja celekoksiba u otopini, za određivanje koncentracije, odnosno topljivosti celekoksiba te tijekom *in vitro* ispitivanja oslobađanja celekoksiba za određivanje njegove koncentracije u vremenskim intervalima.



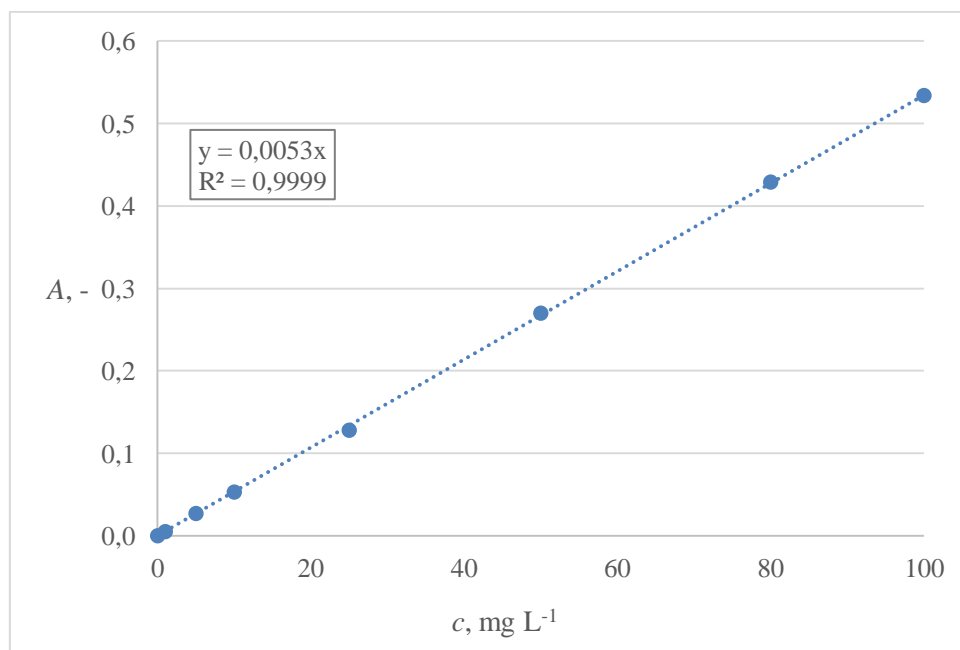
Slika 19. UV/Vis spektrofotometar (*UV-1280, Shimadzu*)

3.4. Određivanje sadržaja i topljivosti celekoksiba

3.4.1. Priprema standardnih otopina i umjerni pravac

Pripremljene su standardne otopine celekoksiba za dobivanje umjernog pravca (slika 20) potrebnog za određivanje sadržaja, odnosno koncentracije celekoksiba u otopini. Izvagana masa uzorka je otopljena u poznatom volumenu pufera i potom su razrjeđivanjem pripremljene ostale standardne otopine koncentracija: $1, 5, 10, 25, 50, 80, 100 \text{ mg L}^{-1}$. Mjerenje je provedeno redoslijedom od najmanje prema najvećoj koncentraciji otopina pri maksimalnoj valnoj duljini, a dobivena ovisnost apsorbancije o koncentraciji pojedine

otopine, odnosno umjerni pravac je osnova za određivanje nepoznate koncentracije celekoksiba u otopini.



Slika 20. Umjerni pravac celekoksiba u fosfatnom puferu

3.4.2. Određivanje sadržaja celekoksiba u uzorcima

Pripremljeno je 10 otopina za svaki uzorak CLX-SOL-170, CLX-SOL-120 i CLX-PEG-57-61. U 40 mL pripremljenog 0,4 M fosfatnog pufera s 1 % SLS-a (natrij lauril sulfat) dodano je 100 mg uzorka. Uzorci su podvrgnuti miješanju na magnetskoj miješalici pri 400 min⁻¹. Nakon 24 sata, uzorci su filtrirani pomoću filtra Chromafil Xtra H-PTFE-45/25 veličine pora od 0,45 μm te razrijeđeni i pripremljeni za analizu. Analiza je provedena pomoću UV/Vis spektrofotometra pri valnoj duljini od 252,6 nm. Na temelju umjernog pravca, mjerenjem apsorbancije je određen sadržaj celekoksiba u otopini.

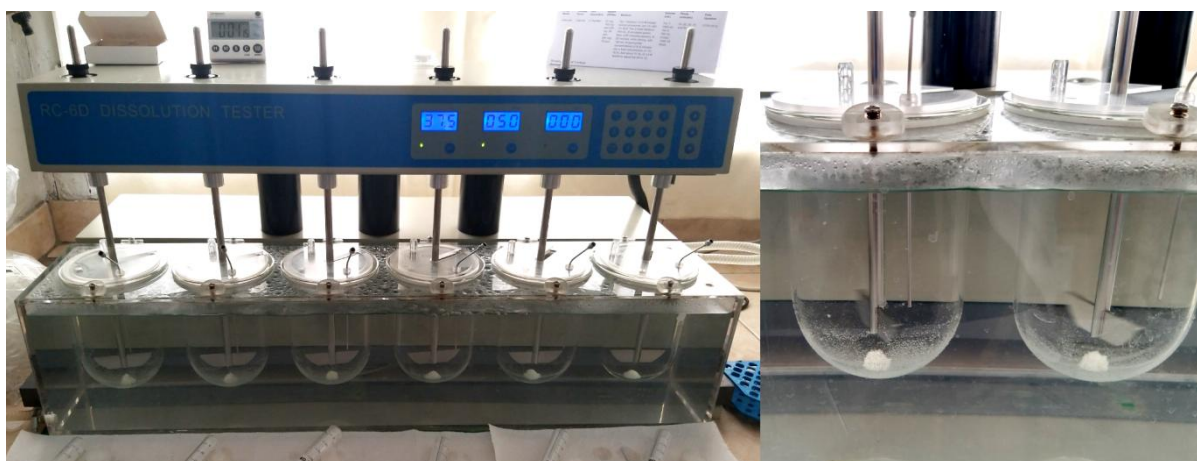
3.4.3. Određivanje topljivosti celekoksiba

Kako bi se odredila topljivost, potrebno je pripremiti zasićenu otopinu. Izvagano je 100 mg čistog celekoksiba (5 mjerenja) i 1 g uzorka CLX-SOL-170, CLX-SOL-120 i CLX-PEG-57-61 (8 mjerenja). U 1 g ekstrudiranih uzoraka očekivano je približno 100 mg celekoksiba. Uzorcima je dodano 40 mL pufera te su otopine miješane na magnetskoj miješalici 24 sata pri broju okretaja 400 min⁻¹. Nakon filtriranja Chromafil Xtra H-PTFE-45/25 filtrom veličine pora 0,45 μm i razrjeđenja, uzorci su spremni za analizu UV/Vis

spektrofotometrom pri valnoj duljini od 252,6 nm. Mjerenjem apsorbancije, odnosno iz podataka o koncentraciji celekoksiba u otopinama i usporedbi sa stvarnim koncentracijama, moguće je odrediti njegovu topljivost.

3.5. Ispitivanje *in vitro* oslobađanja celekoksiba

Oslobađanje celekoksiba je ispitano *in vitro* metodom pomoću uređaja *RC-6D*, *Zhengzhou Nanbei Instrument* (slika 21). Medij je fosfatni pufer volumena 1000 mL, pH-vrijednosti 12, a temperatura mu je postavljena na $37 \pm 0,5$ °C. Miješanje se provodi lopaticama prema metodi 2 definiranoj farmakopejom.^[32]



Slika 21. Uređaj za ispitivanje oslobađanja djelatnih tvari (*RC-6D*, *Zhengzhou Nanbei Instrument*)

Uzorkovanje je provedeno u vremenima 10, 20, 30, 45 i 60 min, prema uvjetima za ispitivanje oslobađanja celekoksiba prikazanim u tablici 3.^[41]

Tablica 3. Procesni uvjeti ispitivanja brzine oslobađanja celekoksiba *in vitro* metodom

Dozirni oblik	prah
USP aparatura	II (lopaticice)
Broj okretaja (o/min)	50
Medij	Fosfatni pufer, pH = 12
Volumen pufera	1000 mL
Preporučeno vrijeme uzorkovanja (min)	10, 20, 30, 45, 60

Oslobađanje je provedeno u 3 mjerenja za uzorke čistog celekoksiba, CLX-SOL-170, CLX-SOL-120 i CLX-PEG-57-61. Uzorci su analizirani UV/Vis spektrofotometrom pri valnoj duljini od 254,0 nm. Na temelju mjerenja apsorbancije, odnosno podataka o koncentraciji celekoksiba u mediju tijekom vremena, dobiva se profil oslobađanja, odnosno udio oslobođenog celekoksiba.

3.6. Obrada rezultata

Analiza profila oslobađanja provedena je u dodatku za Microsoft Excel, DDSolver.^[42] Tri su metode pristupa analizi kinetike oslobađanja sadržane u DDSolver-u: statističke metode, metode ovisne o modelu i metode neovisne o modelu. 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.

Faktor razlike (f_1) i faktor sličnosti (f_2)

Za određivanje ovih faktora, prvo se odrede profili oslobađanja referentnog (R) i ispitivanog uzorka (T), u tri do četiri ili više vremenskih točaka. Općenito, vrijednosti f_1 do 15 % (0 – 15) i f_2 veće od 50 % (50 – 100) pokazuju ekvivalentnost između dva profila.^[43, 44]

Računaju se po formulama:

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

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

4. REZULTATI I RASPRAVA

U okviru ovog istraživanja provedena su ispitivanja djelatne tvari, celekoksiba. Cilj je povećati njegovu topljivost korištenjem metode ekstrudiranja taljenjem. Pripremljene su mješavine celekoksiba i Soluplusa u omjerima prikazanim u tablici 1. Ekstrudiranje je provedeno pri temperaturama prikazanim u tablici 2 te su dobiveni ekstrudati oznaka CLX-SOL-170, CLX-SOL-120 i CLX-PEG-57-61. Ispitivan je sadržaj celekoksiba u dobivenim ekstrudatima, njegova topljivost te brzina oslobađanja *in vitro* (tablica 3).

U tablici 4 su prikazane srednje vrijednosti sadržaja celekoksiba u uzorcima i topljivosti u fosfatnom puferu. Sadržaj je ispitivan u 10 uzoraka pojedinačne mase 100 mg. Za ispitivanje topljivosti celekoksiba potrebno je pripremiti zasićenu otopinu. Izvagano je 100 mg čistog celekoksiba (5 mjerenja) i 1 g uzoraka ekstrudata (8 mjerenja). U 1 g ekstrudiranih uzoraka očekivano je približno 100 mg celekoksiba, odnosno maseni udio od 10 %. Ispitivanja su provedena tzv. *shake-flask* metodom opisanom u eksperimentalnom dijelu.

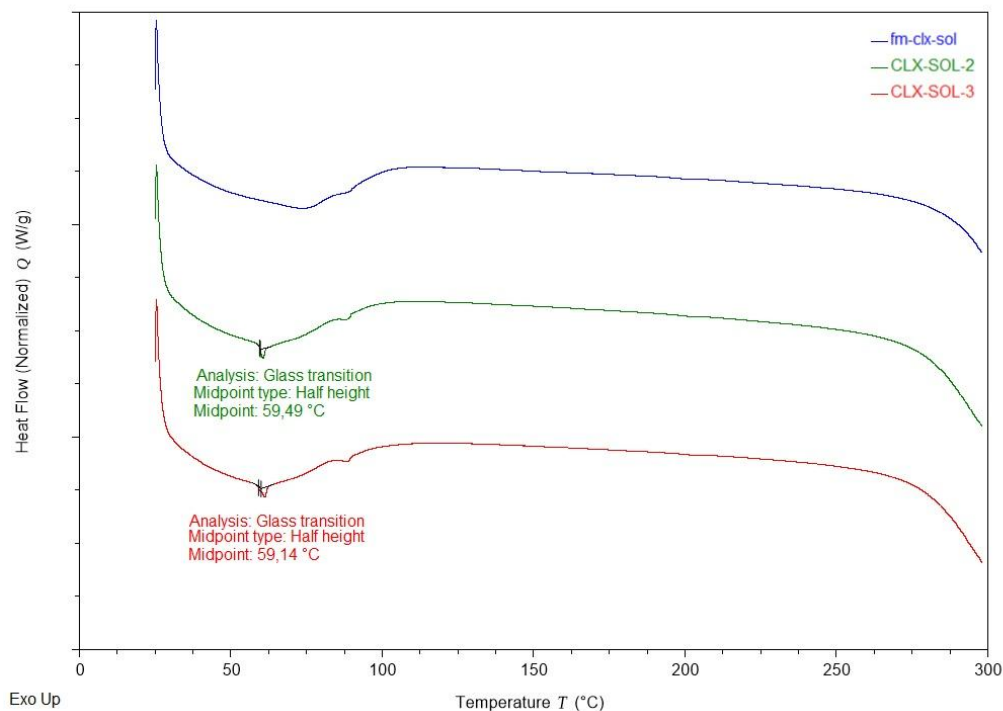
Tablica 4. Sadržaj i topljivost celekoksiba u uzorcima

	CLX	CLX-SOL-170	CLX-SOL-120	CLX-PEG-57-61
Sadržaj, mg CLX / 100 mg uzorka		12,9	11,3	11,1
Topljivost, mg L ⁻¹	402,7	461,8	446,1	417,5

Uzorci su filtrirani i analizirani UV/Vis spektrofotometrijskom metodom. Uz pripremljeni umjerni pravac određeni su sadržaji i topljivosti u uzorcima. Najveću vrijednost sadržaja celekoksiba, kao i njegovu topljivost u puferu pokazuje uzorak CLX-SOL-170, a najmanju vrijednost CLX-PEG-57-61. Topljivost celekoksiba povećana je u uzorcima ekstrudata u odnosu na čisti celekoksib.

Osim određivanja sadržaja i topljivosti, provedena je karakterizacija uzoraka Soluplusa, PEG-a, njihovih fizičkih mješavina te ekstrudata. DSC analizom istražena su topljivost i svojstva materijala. XRD analizom dan je uvid u strukturu uzoraka.

Na slici 22 i 23 prikazani su rezultati DSC analize, odnosno DSC termogrami usporedbe fizičke mješavine CLX-SOL i uzoraka CLX-SOL-170, CLX-SOL-120, kao i fizičke mješavine CLX-PEG i ekstrudiranog uzorka CLX-PEG-57-61.

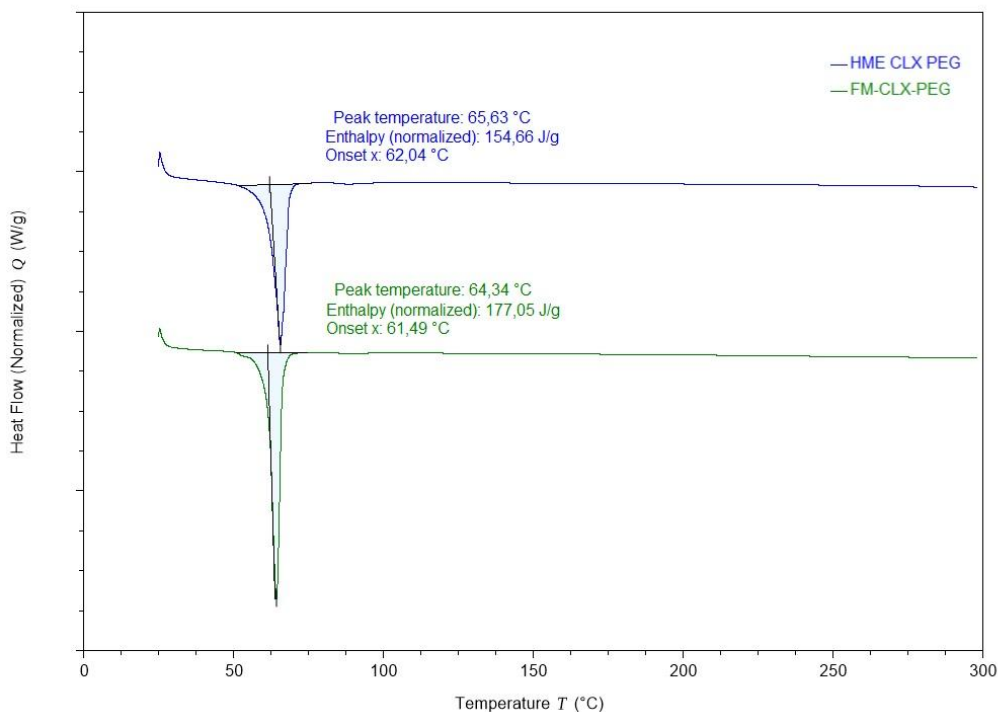


Slika 22. DSC termogram fizičke mješavine (fm-clx-sol) i ekstrudiranih mješavina CLX-SOL-170 (CLX-SOL-2) i CLX-SOL-120 (CLX-SOL-3)

Plava linija (slika 22) prikazuje DSC termogram fizičke mješavine CLX-SOL. Usporedbom termograma fizičke mješavine i ekstrudiranih uzoraka (CLX-SOL-170 i CLX-SOL-120) uočava se pojava endotermnog pika pri temperaturi oko 59 °C. Pomak osnovne linije prema endotermnom smjeru ukazuje na staklasti prijelaz koji je karakterističan za amorfne ili djelomično amorfne tvari. Pik koji se pojavljuje pri 59 °C odgovara temperaturi staklastog prijelaza amorfnog CLX. ^[45]

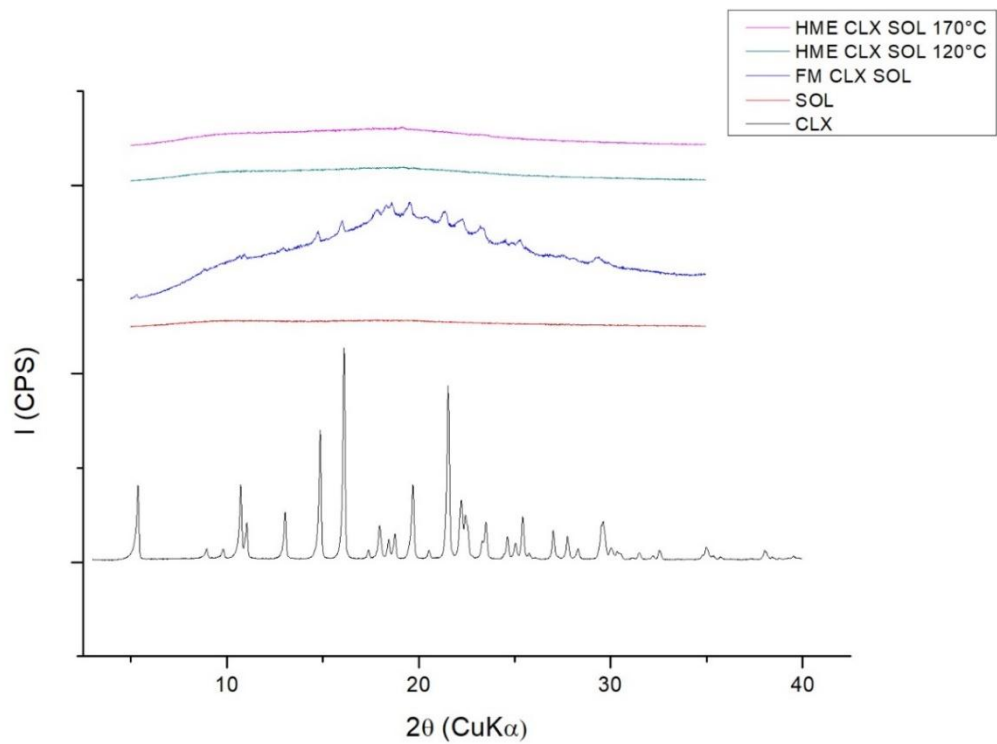
Na slici 23 prikazani su DSC termogrami fizičke i ekstrudirane mješavine CLX i PEG. Veliki endotermni pik pri 62 °C odgovara talištu PEG-a. Talište je karakteristika kristalnih sustava iz čega se može zaključiti da je korišteni PEG kristalne strukture te da ekstrudiranjem nije došlo do pretvorbe faza. Oblik DSC krivulje na termogramu Soluplusa (slika 22) pak ukazuje da se radi o amorfnoj strukturi. Pik celekoksiba koji bi ukazivao na njegovo talište

nije prisutan u termogramima fizičkih mješavina CLX-PEG i CLX-SOL što može ukazivati da je došlo do njegovog otapanja u polimeru. [45]

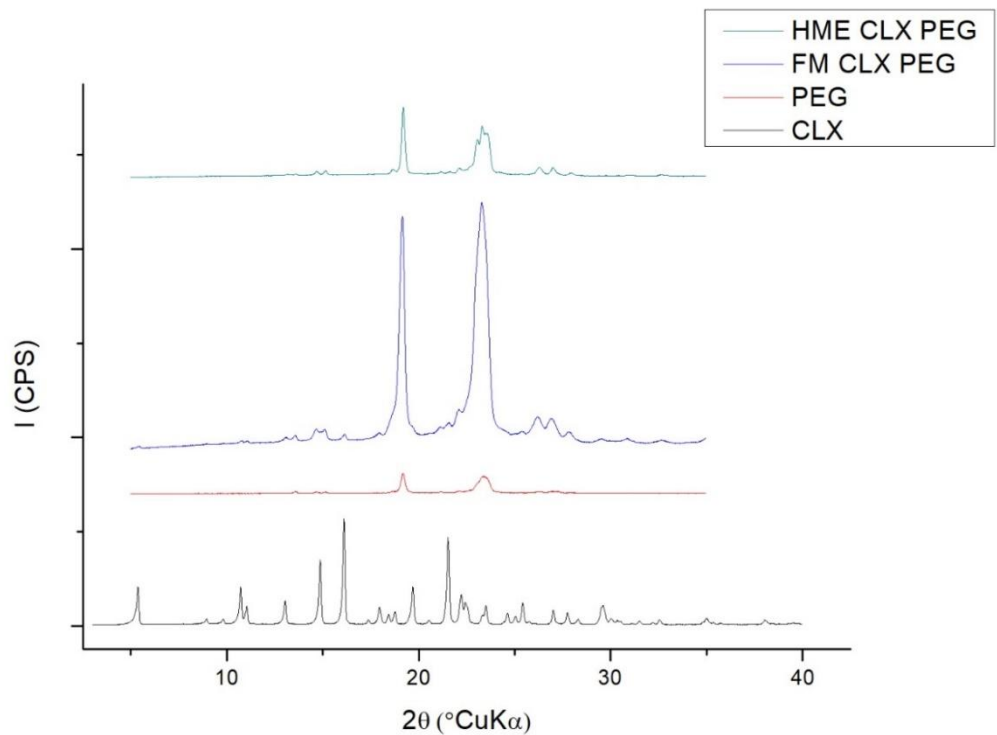


Slika 23. DSC termogram fizičke mješavine (FM-CLX-PEG) i ekstrudirane mješavine CLX-PEG-57-61 (HME CLX-PEG)

Na slici 24 i 25 prikazani su XRD difraktogrami. Svaki difraktogram prikazuje čiste komponentne celekoksiba (CLX), odnosno polimera (SOL/PEG), njihove fizičke mješavine (FM CLX-SOL / FM CLX-PEG) i uzorke ekstrudata (CLX-SOL-170, CLX-SOL-120, CLX-PEG-57-61). Rezultati dobiveni difrakcijskom analizom pokazuju oštre difrakcijske maksimume za CLX što ukazuje na njegovu kristalnu strukturu (slike 24 i 25). Difraktogrami polimera pokazuju da je Soluplus amornog oblika (slika 24) dok je PEG (slika 25) kristalne strukture. Ekstrudati CLX-SOL-170 i CLX-SOL-120 pokazuju prema difraktogramima (slika 24) da je nastala amorfna faza što znači da je došlo do pretvorbe kristalne strukture CLX u amorfnu. Ovi rezultati u skladu su s DSC termogramima koji su ukazali na pojavu endoternog pika staklišta CLX. Najznačajnija prednost amorfna u odnosu na kristalnu strukturu je njegova bolja topljivost, a samim time i bolja bioraspoloživost lijeka. [46, 47] Kako je prikazano ranije, topljivost CLX u ovim uzorcima je povećana za više od 10 % (tablica 4).



Slika 24. XRD difraktogrami čistih komponenta (SOL i CLX), fizičke mješavine (FM CLX SOL) i ekstrudiranih mješavina CLX-SOL-170 (HME CLX SOL 170°C) i CLX-SOL-120 (HME CLX SOL 120°C)

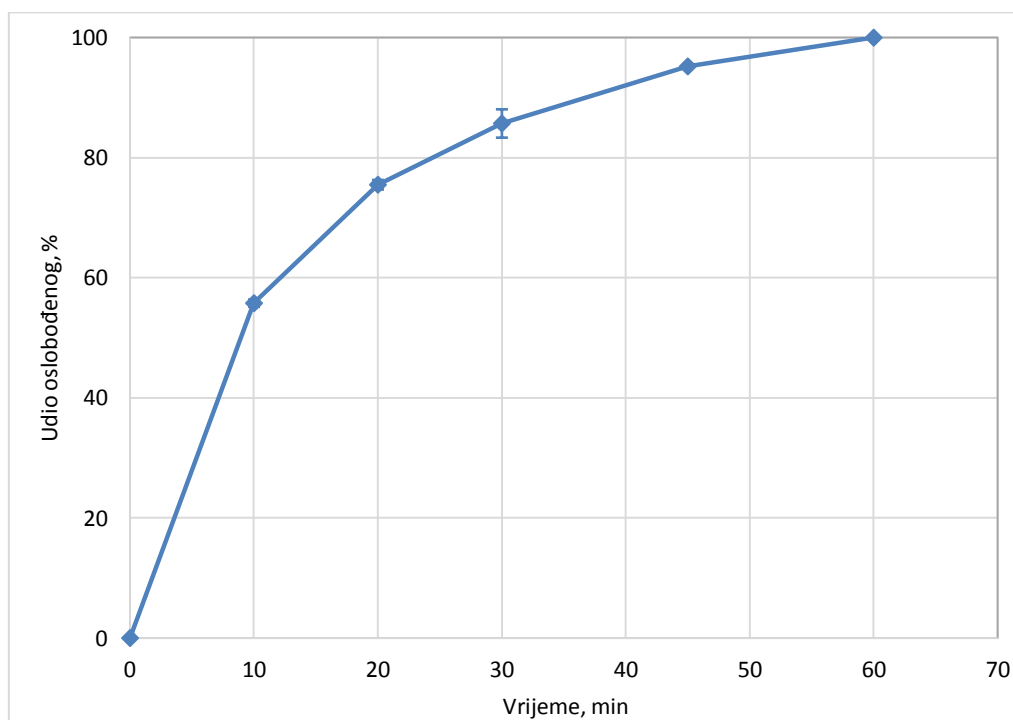


Slika 25. XRD difraktogrami čistih komponenta (PEG i CLX), fizičke mješavine (FM CLX PEG) i ekstrudirane mješavine CLX-PEG-57-61 (HME CLX PEG)

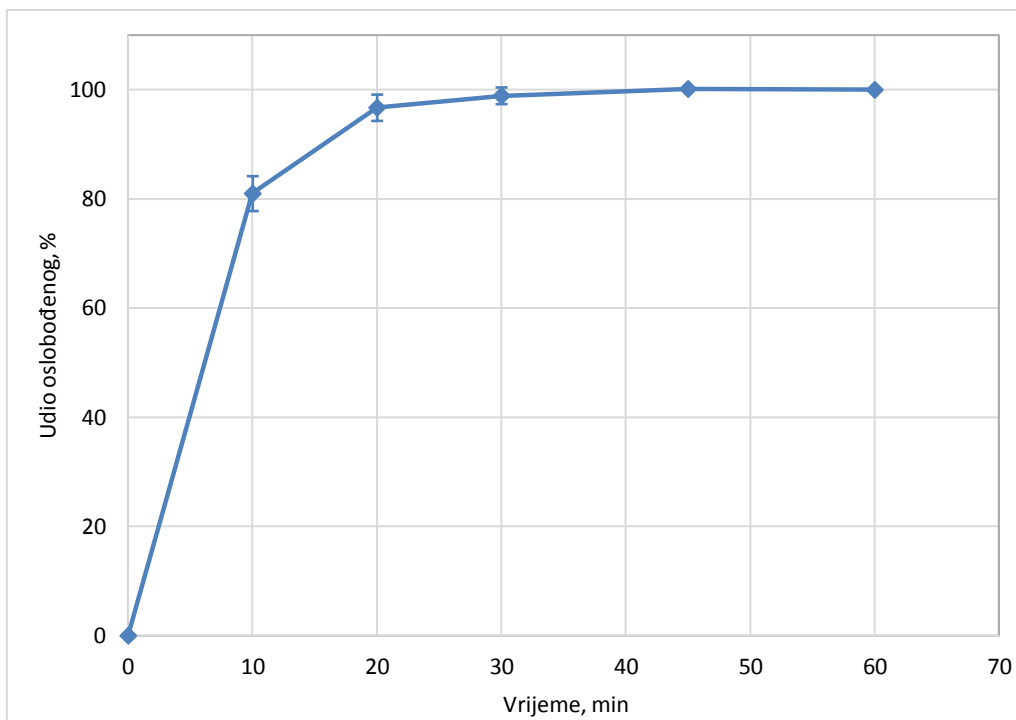
Difraktogrami ekstrudiranog uzorka CLX-PEG-57-61 pokazuju da nije došlo do promjene u odnosu na fizičku mješavinu te da je CLX, kao i PEG, zadržao kristalnu strukturu. Ovakav oblik ekstrudirane mješavine rezultat je preniskih temperatura ekstrudiranja.

Konačno je ispitano oslobađanja celekoksiba *in vitro* metodom točno određenih procesnih uvjeta opisanih u eksperimentalnom dijelu (tablica 3). Čisti celekoksib te uzorci ekstrudata ispitivani su u tri uzastopna mjerenja te su UV/Vis spektrofotometrijskom metodom dobivene promjene koncentracija uzoraka u mediju tijekom vremena. Vrijednost svake koncentracije podijeljena je s konačnom vrijednosti koncentracije na kraju ispitivanja te je na taj način izražena kao udio oslobođenog CLX u ispitivanom vremenu. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost udjela triju mjerenja, a za svaku su točku dana odstupanja koja odgovaraju vrijednostima standardnih devijacija.

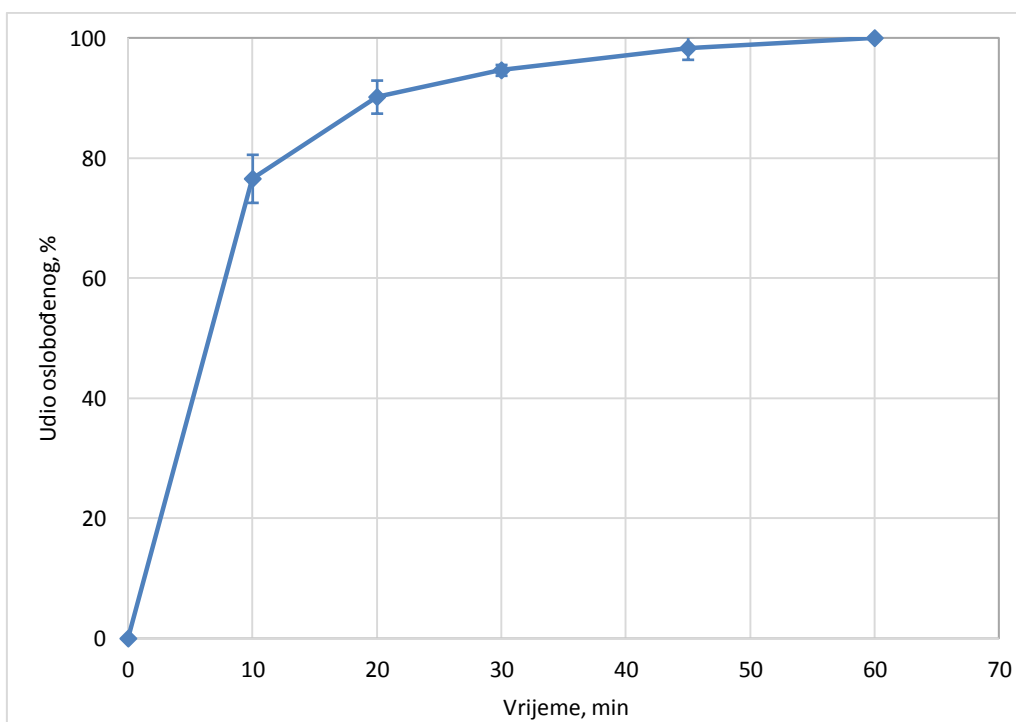
Na slikama 26 – 29 dani su profili oslobađanja CLX, odnosno uzoraka CLX-SOL-170, CLX-SOL-120 i CLX-PEG-57-61. Srednja vrijednost udjela je izražena u postocima kroz definirani vremenski period oslobađanja.



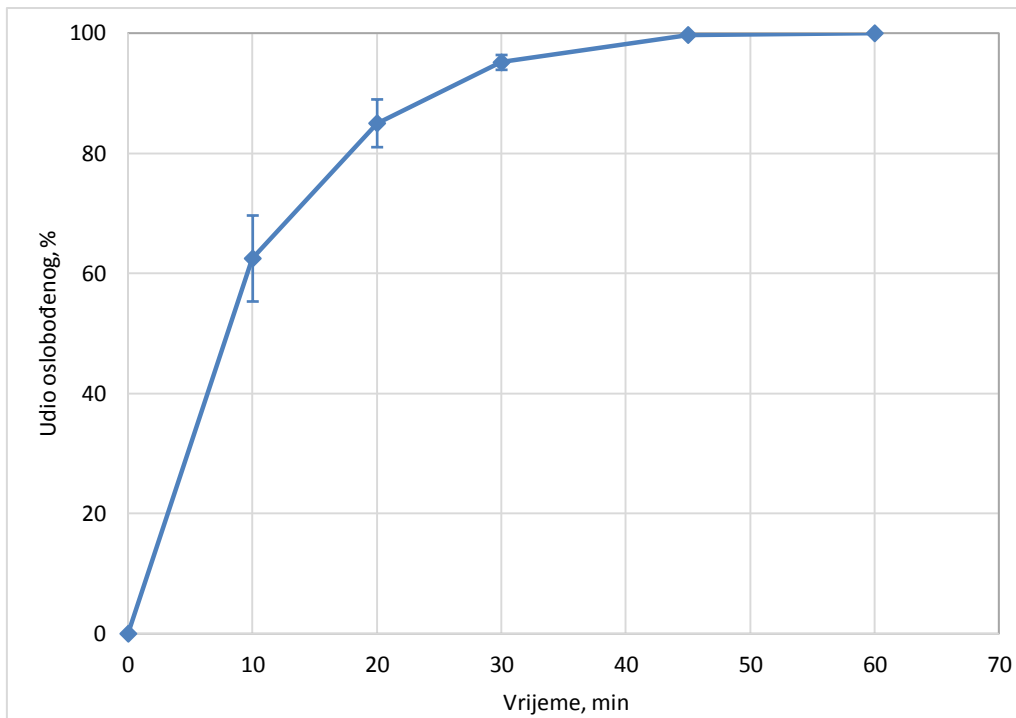
Slika 26. Profil oslobađanja celekoksiba (CLX)



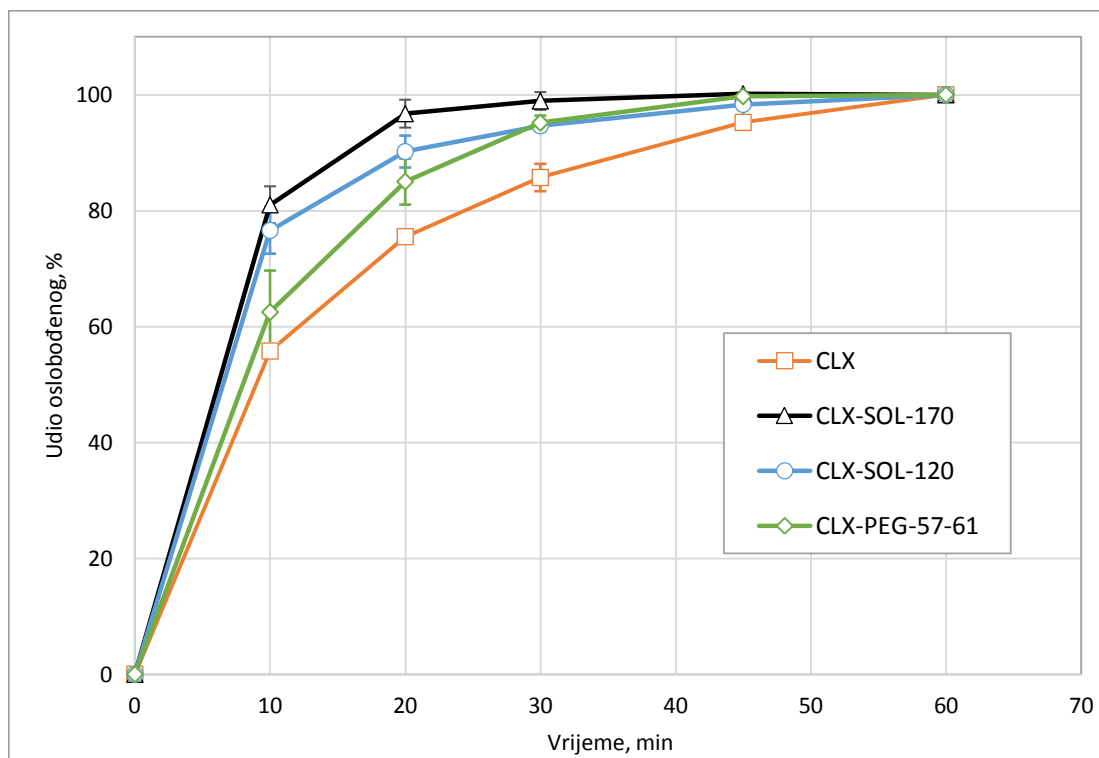
Slika 27. Profil oslobađanja CLX-SOL-170



Slika 28. Profil oslobađanja CLX-SOL-120



Slika 29. Profil oslobađanja CLX-PEG-57-61



Slika 30. Usporedni profili oslobađanja celekoksiba iz dobivenih uzoraka

Na slici 30 prikazana je usporedba profila oslobađanja svih uzoraka kao i čistog celekoksiba. Profili oslobađanja (slika 30) pokazuju nagli skok udjela CLX već nakon 10 minuta, a najveći se dio oslobodi unutar prvih 30 minuta. Najsporije oslobađanje može se vidjeti kod čistog CLX (55 % u 10. minuti), dok je najbrže otpuštanje postignuto kod uzorka CLX-SOL-170 (82 % u 10. minuti), s maksimumom već nakon 30 minuta. Najmanje povećanje otpuštanja u odnosu na čisti CLX daje uzorak CLX-PEG-57-61, a razlog tomu može se pripisati kristalnoj strukturi uzorka, odnosno pre niskim temperaturama ekstrudiranja. Dobiveni rezultati *in vitro* ispitivanjem u skladu su s rezultatima topljivosti, a potvrđuju u brže oslobađanje amornog CLX (CLX-SOL-170 i CLX-SOL-120).

Profili oslobađanja, odnosno sličnosti i razlike u odnosu na referentni profil čistog celekoksiba, uspoređeni su faktorima sličnosti i razlike. Ovom metodom se dobiva kvantitativni podatak o podudaranju, odnosno ciljanim razlikama u otpuštanju ekstrudiranih uzoraka u odnosu na referentni. Faktor razlike f_1 u rasponu 0 – 15 % i faktor sličnosti f_2 u rasponu 50 – 100 % pokazuju ekvivalentnost između dva profila.^[43, 44]

Usporedba profila oslobađanja pomoću faktora razlike i sličnosti prikazana je u tablici 5.

Tablica 5. Faktori razlike i sličnosti između profila oslobađanja

Faktor	CLX-SOL-170	CLX-SOL-120	CLX-PEG-57-61
f_1 , % (0 – 15)	15,7	11,5	7,3
f_2 , % (50 – 100)	41,7	47,7	59,5

Ispitivani uzorci CLX-SOL-170, CLX-SOL-120 i CLX-PEG-57-61 uspoređeni su s referentnim uzorkom, CLX. S obzirom na prikazane faktore razlike i sličnosti, jedino uzorak CLX-SOL-170 izlazi izvan zahtijevanih granica ekvivalentnosti profila. Faktor razlike (f_1) veći je od dozvoljenih 15 % (15,7 %), a faktor sličnosti manji je od traženog minimuma od 50 % (41,7 %). Ove razlike ukazuju na značajno odstupanje od profila čistog CLX čime je potvrđeno značajno povećanje brzine oslobađanja CLX iz uzorka CLC-SOL-170.

Uzorak CLX-PEG-57-61 zadovoljava tražene kriterije, vrijednosti faktora nalaze se unutar područja koji ukazuju na ekvivalentnost profila što znači da nije postignuta značajno povećanje brzine oslobađanja CLX. To je pak u skladu s dobivenim rezultatima topljivosti kao i XRD difraktogramom koji je pokazao očuvanje kristalne strukture CLX. Uzorak CLX-SOL-120 zadovoljio je kriterij faktora razlike ($f_1 < 15$ %), ali ne i faktora sličnosti ($f_2 > 50$ %).

%) što pokazuje da postoji određena razlika u odnosu na početni CLX te da se profili ne mogu smatrati ekvivalentnima. Općenito, uzorci CLX ekstrudirani sa Soluplusom značajnije odstupaju što je posljedica amorfne strukture CLX koja je nastala ekstrudiranjem. Dobiveni rezultati pokazuju da se ekstrudiranje taljenjem može koristiti kao metoda povećanja topljivosti djelatne tvari. Pri tome je nužan dobar odabir procesnih uvjeta, prvenstveno temperature, te odabir pogodnog polimera kao osnove mješavine za ekstrudiranje.

5. ZAKLJUČCI

Cilj ovog istraživanja je poboljšati topljivost celekoksiba metodom ekstrudiranja. Provedeno je ispitivanje sadržaja i *in vitro* oslobađanja celekoksiba, određivanje njegove topljivosti te su DSC i XRD metodama analizirane čiste komponente, fizičke mješavine i uzorci ekstrudata.

Najveće povećanje topljivosti dobiveno je uz Soluplus, i to pri temperaturi ekstrudiranja 170 °C (CLX-SOL-170) gdje je XRD difraktogramima utvrđena amorfnost CLX kao posljedica ekstrudiranja.

Faktorom razlike (f_1) iznad dozvoljenih vrijednosti i faktorom sličnosti (f_2) ispod dozvoljenih vrijednosti, kvantitativno je dokazano odstupanje profila oslobađanja uzorka CLX-SOL-170 u odnosu na profil čistog CLX, odnosno željeno povećanje brzine oslobađanja.

Uzorak CLX-PEG-57-61 nema značajne promjene u brzini oslobađanja u odnosu na čisti CLX, a XRD difraktogram je pokazao zadržavanje njegove kristalne strukture koja je posljedica preniske temperature ekstrudiranja.

Ekstrudiranje taljenjem pokazalo se pogodnom metodom povećanja topljivosti celekoksiba u fosfatnom puferu čime je povećana brzina njegovog oslobađanja, a time potencijalno i bioraspoloživost.

6. LITERATURA

- [1] H. Patil, R. V. Tiwari, M. A. Repka, Hot-Melt Extrusion: from Theory to Application in Pharmaceutical Formulation, *AAPS PharmSciTech*, 17 (1), 2016, 20-42
- [2] A. Rogar, Mogućnost povećanja topljivosti deksametazona primjenom neionskih površinski aktivnih tvari, Farmaceutsko- biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2015.
- [3] K. T. Savjani, A. K. Gajjar, J. K. Savjani, Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques, International Scholarly Research Network *ISRN Pharmaceutics*, 2012, 1-10
- [4] M. Maniruzzaman, J. S. Boateng, M. J. Snowden, D. Douroumis, A Review of Hot-Melt Extrusion: Process Technology to Pharmaceutical Products, International Scholarly Research Network *ISRN Pharmaceutics*, 2012, 1-9
- [5] A. Jozinović, Svojstva kukuruznih snack proizvoda obogaćenih s nusproizvodima prehrambene industrije, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Sveučilište u Osijeku, 2015.
- [6] S. Ebnesajjad, *Fluoroplastics, Vol. 2, Melt Processible Fluoropolymers - The Definitive User's Guide and Data Book*, Elsevier, Waltham, 2015, str. 282-347
- [7] E. Govorčin Bajsić, Prerada Polimera, Interna skripta, Zavod za polimerno inženjerstvo i organsku kemijsku tehnologiju, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2017.
- [8] L. Guo, H. Yang, Deformation Rules and Mechanism of Large-Scale Profiles Extrusion of Difficult-to-Deform Materials, Northwestern Polytechnical University, Xi'an, Shaanxi, PR China, 2014, 292-319.
- [9] G. P. Andrews, O. Abu-Diak, F. Kusmanto, P. Hornsby, Z. Hui, D. S. Jones, Physicochemical characterization and drug-release properties of celecoxib hot-melt extruded glass solutions, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 62 (2010), 1580-1590
- [10] <https://tirenews4u.wordpress.com/2010/08/16/types-of-extruders/> (pristup 30. 8. 2019.)
- [11] http://www.industrialextrusionmachinery.com/types_of_plastic_extruders_ram_extruder.html (pristup 30. 8. 2019.)
- [12] <https://www.keicher.de/vertical-ram-extruder> (pristup 30. 8. 2019.)
- [13] <https://www.indiamart.com/proddetail/screw-extruder-10997982455.html> (pristup 31. 8. 2019.)
- [14] Mian N. Riaz, Food Extruders, u: M. Kutz, *Handbook of Farm, Dairy and Food Machinery Engineering*, Texas A&M University College Station, Elsevier, Texas, 2015, str. 427- 440
- [15] <https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/ekstrudiranje> (pristup 31. 8. 2019.)
- [16] Particle Sciences, Drug development services, Hot melt extrusion, Technical Brief 3 (2011), 1-2.
- [17] U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System Guidance for Industry, Washington, 2017, str. 1- 16
- [18] C.-Y. Wu, L. Z. Benet, Predicting Drug Disposition via Application of BCS: Transport/Absorption/Elimination Interplay and Development of a Biopharmaceutics Drug Disposition Classification System, *Pharmaceutical Research*, 22 (2015), 1-2

- [19] T. Reintjes, Solubility Enhancement with BASF Pharma Polymers, Solubilizer Compenium, BASF SE, Lempertheim, 2011, str. 1-130
- [20] Particle Sciences, Drug development services, Biopharmaceutical Classification System and Formulation Development, Technical Brief 9 (2011), 1-2.
- [21] N. K. Sachan, A Bhattacharya, S. Pushkar, A Mishra, Biopharmaceutical classification system: A strategic tool for oral drug delivery technology, Asian Journal of Pharmaceutics, (2009), 1-6
- [22] L. Di, E. H. Kerns, Drug-Like Properties Concepts, Structure Design and Methods from ADME to Toxicity Optimization, Academic Press, 2016, str. 313-324
- [23] Y. Qiu, Y. Chen, G. G. Z. Zhang, L. Yu, R. V. Mantri, Developing Solid Oral Dosage Forms Pharmaceutical Theory & Practice, Academic Press, India, 2017, str. 1-1176
- [24] J. Larsson, Methods for measurement of solubility and dissolution rate of sparingly soluble drugs, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Lund University, 2009
- [25] https://www.alibaba.com/product-detail/Mechanical-Vibrator-Laboratory-Orbital-Shaker_60693263356.html pristup (2. 9. 2019.)
- [26] <https://www.slideshare.net/Drzulcaifahmad/solubility-method-for-determination-of-solubility> Prezentacija, A. Zulcaif, Solubility pristup (2. 9. 2019.)
- [27] G. Singhvi, M. Singh, Review: In vitro Drug Release Characterization Models, International Journal of Pharmaceutical Studies and Research, 2 (2011), 77-84
- [28] <https://www.inhatarget.com/our-proprietary-products/cisplatin-based-dpi/> pristup (2. 9. 2019.)
- [29] Particle Sciences, Drug development services, In Vitro Dissolution Testing for Solid Oral Dosage Forms Technical Brief 5 (2010), 1-2.
- [30] <https://www.particlesciences.com/services/drug-release-testing/> pristup (1. 9. 2019.)
- [31] Particle Sciences, Drug development services, Development and Validation of In Vitro Release Testing Methods for Semisolid Formulations, Technical Brief 10 (2009), 1-2
- [32] EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2.9. Pharmaceutical technical procedures, 2.9.3. Dissolution test for solid dosage forms, 8th edition, (2015) str. 285-297
- [33] T. Copley, Dissolution Testing Today: How Advanced Manufacturing Techniques Are Improving Calibration, Pharma, Nov/Dec 2010
- https://www.copleyscientific.com/files/ww/news/COP%20JOB%20106_Dissolution%20Testing%20Today%20How%20Advanced%20Manufacturing%20Techniques%20Are%20Improving%20Calibration.pdf pristup (2. 9. 2019.)
- [34] <https://www.rxlist.com/celebrex-drug.htm#description> pristup (1. 9. 2019.)
- [35] BASF – Nutrition & Health, Technical Information, Soluplus®, Oct 2018, 1-10
- [36] S. D. Han, S. W. Jung, S. W. Jang, H. J. Jung, M. Son, B. M. Kim, M. J. Kang, Preparation of Solid Dispersion of Dronedaron Hydrochloride with Soluplus® by Hot Melt Extrusion Technique for Enhanced Drug Release, 63 (.4), 2015, 295- 299
- [37] E. P Ivanova, K. Bazaka, R. J. Crawford, Advanced synthetic polymer biomaterials derived from organic sources, New Functional Biomaterials for Medicine and Healthcare, (2014), 71–99

- [38] http://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/Polyethylene-glycol-20000,MDA_CHEM-818897 pristup (1. 9. 2019.)
- [39] <https://sciencing.com/polyethylene-glycol-2507.html> pristup (1. 9. 2019.)
- [40] E. Govorčin Bajsić, Karakterizacija materijala, Toplinska analiza, Zavod za polimerno inženjerstvo i organsku kemijsku tehnologiju, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2017
- [41] https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_getallData.cfm pristup (2. 9. 2019.)
- [42] Y. Zhang, M. Huo, J. Zhou, A. Zou, W. Li, C. Yao, S. Xie, DDSolver: An Add-In Program for Modeling and Comparison of Drug Dissolution Profiles, *AAPS J.* 12 (2010) 263–271.
- [43] Y. Qiu, Y. Chen, *Developing Solid Oral Dosage Forms: Pharmaceutical Theory & Practice*, Elsevier, 2017
- [44] J. Dressman, J. Krämer, *Pharmaceutical Dissolution Testing*, Taylor & Francis Group, 2005.
- [45] V. Bhatt, G. Shete, A. K. Bansal, Mechanism of generation of drug nanocrystals in celecoxib: mannitol nanocrystalline solid dispersion, *Int. J. Pharm.* 495 (2015) 132–139
- [46] B. Hancock, G. Zografi, Characteristics and Significance of the Amorphous State in Pharmaceutical Systems, *J. Pharm. Sci.* 86 (1997) 1–12.
- [47] N. Jagadeesh Babu, A. Nangia, Solubility Advantage of Amorphous Drugs and Pharmaceutical Cocrystals, *Crystal Growth & Design* 11 (2011) 2662–2679.