

Primjena liofilizacije i granuliranja u povećanju topljivosti djelatne tvari

Subotičanec, Valentino

Master's thesis / Diplomski rad

2020

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:149:099463>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-17**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Valentino Subotičanec

**PRIMJENA LIOFILIZACIJE I GRANULIRANJA
U POVEĆANJU TOPLJIVOSTI DJELATNE TVARI**

DIPLOMSKI RAD

Voditelj rada:

Izv. prof. dr. sc. Krunoslav Žižek

Članovi ispitnog povjerenstva:

Izv. prof. dr. sc. Krunoslav Žižek

Prof. dr. sc. Gordana Matijašić

Prof. dr. sc. Zvezdana Findrik Blažević

Zagreb, rujan 2020.

*Eksperimenti u ovom istraživanju provedeni su u
Zavodu za mehaničko i toplinsko procesno inženjerstvo i
Zavodu za reakcijsko inženjerstvo i katalizu
Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.*

*Karakterizacija čvrstih disperzija izvodi se u
Zavodu za anorgansku kemijsku tehnologiju i nemetale i
Zavodu za inženjerstvo površina polimernih materijala
Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.*

*Karakterizacija raspadljivih tableta provodi se u
Zavodu za mehaničko i toplinsko procesno inženjerstvo
Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu
i tvrtki Dechra Pharmaceuticals PLC Group.*

SAŽETAK

PRIMJENA LIOFILIZACIJE I GRANULIRANJA U POVEĆANJU TOPLJIVOSTI DJELATNE TVARI

Lurasidon-hidroklorid je djelatna tvar izrazito male topljivosti u vodenom mediju što otežava njegovu primjenu u liječenju psihičkih poremećaja. S ciljem povećanja njegove topljivosti pripremljeni su granulati djelatne tvari i čvrste disperzije djelatne tvari u matrici hidrofilnog polimera, poli(etilen-glikol) (PEG) procesom liofilizacije.

Dobivene čvrste disperzije karakterizirane su diferencijalnom pretražnom kalorimetrijom, rendgenskom difrakcijskom analizom praha i infracrvenom spektroskopijom. Testirana je prividna topljivost djelatne tvari u čvrstim disperzijama.

U pripravi raspadljivih tableta promjera 8 mm korišteni su liofilizati i granulirane mješavine s ugrađenom djelatnom tvari. Korišteni su manitol, natrijeva kroskarmeloza te mikrokristalna celuloza kao pomoćne tvari. Karakterizacija raspadljivih tableta uključivala je ispitivanje ujednačenosti masa te testiranje njihove raspadljivosti. Vrijeme raspadljivosti za sve tablete manje je od 3 minute.

Profili oslobađanja ukazuju na brže oslobađanje djelatne tvari iz raspadljivih tableta pripremljenih iz čvrstih disperzija u odnosu na one koje sadrže čisti netretirani lurasidon-hidroklorid (LRS HCl) i one s granuliranom mješavinom djelatne tvari i polimera. Testirana je primjenjivost modela u opisu profila oslobađanja lurasidon-hidroklorida.

Ključne riječi:

lurasidon-hidroklorid, poboljšanje topljivosti lijeka, čvrsta disperzija, liofilizacija, granuliranje, raspadljiva tableta za usta, oslobađanje djelatne tvari

ABSTRACT

APPLYING LYOPHILIZATION AND GRANULATION FOR DRUG SOLUBILITY ENHANCEMENT

Lurasidone hydrochloride is an active substance of extremely low solubility in an aqueous medium, which makes it difficult to use in the treatment of mental disorders. In order to increase its solubility, granules of the active substance and solid dispersions of drug in a hydrophilic polymer matrix, poly (ethylene glycol) (PEG) were prepared by the lyophilization process.

Obtained solid dispersions were characterized by differential scanning calorimetry, X-ray powder diffraction analysis and infrared spectroscopy. The apparent solubility of drug was tested in solid dispersions.

Lyophilisates and granulated mixtures with incorporated active substance were used in the preparation of disintegrating tablets with 8 mm in diameter. Mannitol, croscarmellose sodium and microcrystalline cellulose were used as excipients. Characterization of disintegrating tablets involved testing the mass uniformity and its disintegration. The disintegration time for all tablets is less than 3 minutes.

Release profiles indicate faster drug release from disintegrating tablets prepared from solid dispersions in comparison to those containing pure untreated lurasidone hydrochloride (LRS HCl) and those with granulated mixture of drug and polymer. The applicability of models was tested to describe release profiles for lurasidone hydrochloride.

Keywords:

lurasidone hydrochloride, drug solubility improvement, solid dispersion, lyophilization, granulation, orally disintegrating tablet, drug release

ZAHVALA

Zahvaljujem mentoru, izv. prof. dr. sc. Krunoslavu Žižeku na prihvaćenom mentorstvu, uloženoj trudu, konstruktivnim savjetima te prenesenom znanju prilikom izrade ovog rada.

Također, zahvaljujem se asistentu Jošku Barbariću, mag. ing. cheming. na pomoći i savjetima prilikom izrade eksperimentalnog dijela rada.

Zahvaljujem se prijateljima koji su proživjeli sa mnom teške i zabavne trenutke mog podosta dugog fakultetskog puta.

Najveće zahvale idu mojoj obitelji i djevojci, koji su bili uz mene u onim najtežim trenucima i davali mi snage da idem dalje.

Hvala vam svima!

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO.....	2
2.1. Lijek – opći pojmovi.....	2
2.1.1. Pomoćne tvari.....	2
2.2. Dozirni oblici lijeka	3
2.3. Oralni dozirni oblici lijeka.....	4
2.4. Raspadljive tablete za usta.....	6
2.5. Topljivost djelatne tvari.....	8
2.5.1. Značaj topljivosti djelatne tvari.....	8
2.5.2. Načini poboljšanja topljivosti djelatne tvari	9
2.6. Čvrste disperzije.....	10
2.6.1. Priprava čvrstih disperzija	12
2.7. Liofilizacija - sušenje smrzavanjem.....	15
2.7.1. Smrzavanje	15
2.7.2. Primarno sušenje	16
2.7.3. Sekundarno sušenje	16
2.8. Granuliranje	17
2.8.1. Granuliranje u fluidiziranom sloju.....	18
3. METODIKA	21
3.1. Djelatna tvar.....	21
3.2. Polimer.....	21
3.3. Pomoćne tvari	22
3.4. Provedba ispitivanja.....	22
3.4.1. Priprava otopina.....	26
3.4.2. Liofilizacija.....	26
3.4.3. Granuliranje u fluidiziranom sloju s taljenjem	27
3.4.4. Tabletiranje	28
3.5. Karakterizacija čvrstih disperzija	29
3.5.1. Rendgenska difrakcijska analiza praha	29
3.5.2. Fourier-transformirana infracrvena spektroskopija	30
3.5.3. Diferencijalna pretražna kalorimetrija	31
3.5.4. Testovi topljivosti	32

3.6.	Karakterizacija raspadljivih tableta za usta.....	33
3.6.1.	Ujednačenost masa tableta	33
3.6.2.	Raspadljivost tableta	33
3.6.3.	Sadržaj djelatne tvari u tabletama	34
3.6.4.	Oslobađanje djelatne tvari iz tableta.....	35
4.	REZULTATI I RASPRAVA.....	36
4.1.	Karakterizacija čvrstih disperzija dobivenih liofilizacijom.....	36
4.1.1.	Fourier-transformirana infracrvena spektroskopija	36
4.1.2.	Diferencijalna pretražna kalorimetrija	37
4.1.3.	Rendgenska difrakcijska analiza.....	38
4.1.4.	Testovi topljivosti	40
4.2.	Karakterizacija raspadljivih tableta.....	42
4.2.1.	Ujednačenost masa tableta	42
4.2.2.	Testovi raspadljivosti	43
4.2.3.	Sadržaj lurasidon-hidroklorida u raspadljivim tabletama.....	44
4.2.4.	Oslobađanje lurasidon-hidroklorida iz raspadljivih tableta	47
5.	ZAKLJUČAK	52
6.	LITERATURA	53
7.	POPIS SIMBOLA I AKRONIMA.....	55

1. UVOD

Lurasidon-hidroklorid je djelatna tvar koja se primjenjuje u liječenju shizofrenije i bipolarnih poremećaja. Karakterizira je loša topljivost u vodenom mediju i posljedično slaba apsorpcija u organizmu te loša bioraspoloživost lijeka. Time, djelovanje lijeka nije pogodno u liječenju poremećaja shizofrenije i bipolarnosti. Primjenjuje se u obliku konvencionalnih tableta kao, za sada, jedinog dozirnog oblika za dostavu ove djelatne tvari.

Topljivost lurasidon-hidroklorida, u ovom istraživanju, nastoji se povećati pripravom čvrstih disperzija s hidrofilnom polimernom matricom. U pripravi čvrstih disperzija koristi se liofilizacija te poli(etilen-glikol) kao inertni nosioc lijeka. U pripravi konačnog dozirnog oblika, raspadljivih tableta za usta koristi se i procesna tehnologija granuliranja.

U karakterizaciji disperzija primjenjuju se analitičke tehnike kojima se uspješno detektiraju svojstva dokazanog i značajnog učinka na topljivost tvari, ali i dokazuje uspješna priprava disperzija. Uzorci disperzija različitih sastava karakteriziraju se diferencijalnom pretražnom kalorimetrijom, rendgenskom difrakcijskom analizom praha i infracrvenom spektroskopijom s Fourierovim transformacijama. Dodatno, testira se prividna topljivost disperzija.

Raspadljivi dozirni oblici lijeka, s i bez čvrstih disperzija, pripravlja se tabletiranjem te testiraju na svojstva karakteristična i propisana za ovakav dozirni oblik: ujednačenost masa, raspadljivost, sadržaj i oslobađanje djelatne tvari.

Liofilizacija i granuliranje, očekuje se, doprinijet će povećanju topljivosti i osigurati brže oslobađanje lurasidon-hidroklorida iz raspadljivih tableta za usta. Dodatno, testirat će se primjenjivost postojećih modela u opisu profila oslobađanja lurasidon-hidroklorida iz raspadljivih tableta.

2. OPĆI DIO

2.1. Lijek – opći pojmovi

Lijek je zakonom definiran kao svaka tvar ili kombinacija tvari prikazana sa svojstvima liječenja bolesti kod ljudi ili kao svaka tvar ili kombinacija tvari koja se može upotrijebiti ili primijeniti na ljudima u svrhu obnavljanja, ispravljanja ili prilagodbe fizioloških funkcija farmakološkim, imunološkim ili metaboličkim djelovanjem ili za postavljanje medicinske dijagnoze.¹ Svaki lijek sastoji se od dvije osnovne skupine tvari, djelatne tvari i pomoćnih tvari. Djelatna tvar (*engl. Active Pharmaceutical Ingredient, API*) je tvar ili smjesa tvari namijenjena za proizvodnju lijeka koja postaje djelatni sastojak lijeka s farmakološkim, imunološkim ili metaboličkim djelovanjem u svrhu obnavljanja, ispravljanja ili prilagodbe fizioloških funkcija ili postavljanja medicinske dijagnoze. Pomoćna tvar (*eng. Excipient*) je sastojak lijeka koji nije djelatna tvar niti materijal spremnika.¹

2.1.1. Pomoćne tvari

Pomoćne tvari su one tvari koje se koriste u formulacijama lijekova za oralnu primjenu. Svaka tvar ima odgovarajuću ulogu, a podijeljene su u 6 različitih grupa:

1. Mazivo sredstvo (*engl. lubricant*): sprječava neželjeno lijepljenje mješavine partikulativne tvari za elemente procesne jedinice
2. Punilo (*engl. filler/diluents/bulk-up agent*): osigurava dostatnu voluminoznost matrice tablete
3. Sredstvo za poboljšanje tecivosti (*engl. glidant*): Poboljšava tecivost/reološka svojstva mješavine za tabletiranje
4. Sredstvo za raspadanje (*engl. disintegrant*): doprinosi učinkovitom raspadanju matrice tablete
5. Stabilizator (*engl. stabiliser*): doprinosi stabilnosti aktivne tvari djelujući na sadržane ravnoteže
6. Vezivo (*engl. binder*): doprinosi vezivanju jedinki u matricama tablete

Pomoćne tvari i njihove uloge u formulacijama oralnih dozirnih oblika prikazane su u tablici 1.

Tablica 1. Pregled pomoćnih tvari i njihovih uloga u formulacijama tableta.

GRUPACIJA	ULOGA	POMOĆNA TVAR
Mazivo sredstvo (<i>lubricant</i>)	Sprječavanje neželjenog lijepljenja mješavine partikulativne tvari za elemente procesne jedinice	Talk Natrij stearil fumarat Magnezijev stearat*
Punilo (<i>filler/diluent/bulk-up agent</i>)	Osiguravanje dostatne voluminoznosti matrice tablete	Laktoza monohidrat Mikrokristalna celuloza* Manitol*
Sredstvo za poboljšanje tecivosti (<i>glidant</i>)	Poboljšanje tecivosti/reoloških svojstava mješavine za tabletiranje	Koloidalni silicij dioksid
Sredstvo za raspadanje (<i>disintegrant</i>)	Doprinosu učinkovitom raspadanju matrice tablete	Umreženi poli(vinil-pirolidon) Natrijev glikolat Natrijeva kroskarmeloza*
Stabilizator (<i>stabiliser</i>)	Doprinosu stabilnosti djelatne tvari djelujući na sadržane ravnoteže	Natrijev karbonat
Vezivo (<i>binder</i>)	Doprinosu vezivanju jedinki u matricama tablete	Poli(vinil-pirolidon) Gelatirani škrob Hidroksipropil celuloza Poli(etilen-glikol)*

* - koriste se u ovom istraživanju

2.2. Dozirni oblici lijeka

Dozirni oblici lijeka predstavljaju put dostave lijeka u organizam. Dijelevaju se u šest osnovnih skupina: parenteralni, dozirni oblici za inhalaciju, oftalmološki, nazalni i transdermalni. Parenteralni dozirni oblici u organizam se unose pomoću injekcija, a najčešći putevi dostave su: intravenozno, intramuskularno i potkožno injektiranje.

Dozirni oblici za inhalaciju u organizam se unose u obliku različitih inhalatora npr. pumpica za astmu, gdje pritiskom na gumb uređaja dolazi do otpuštanja lijeka u usnu šupljinu. Koriste se za liječenje različitih plućnih oboljenja.

Oftalmološki oblici koriste se kod liječenja različitih očnih poremećaja i bolesti, a put dostave im je kroz oči kapanjem ili mazanjem, ovisno radi li se o kapima ili mastima. Nazalni dozirni oblici dostavljaju se u organizam udisanjem različitih kapi i sprejeva kroz nosnu

šupljinu, učinkoviti su za ublažavanje dišnih tegoba kao što je npr. začepljenje nosne šupljine. Transdermalni oblici kao što su masti, kreme, gelovi i ulja unose se u organizam preko kože. Djeluju lokalno, odnosno samo na područje na koje su naneseni.

Oralni dozirni oblici predstavljaju posljednju skupinu lijekova s obzirom na put dostave u organizam. Njihova primjena započinje u usnoj šupljini, otkuda djelatna tvar prolazi dalje kroz gastrointestinalni trakt ljudskog organizma. Primjena im je univerzalna, koriste se za liječenje velikog broja različitih bolesti i poremećaja.² Na slici 1 (a), b), c), d) i f)) prikazani su pojedinačni dozirni oblici lijekova.



Slika 1. Dozirni oblici lijekova

2.3. Oralni dozirni oblici lijeka

Svi oralni dozirni oblici u čvrstom su agregatnom stanju, različitih su oblika, dimenzija i boja te se koriste za enteralnu primjenu lijeka, odnosno putem gastrointestinalnog trakta. Primjena lijeka oralnim putem danas se smatra „zlatnim standardom“ za otpuštanje lijeka.

Neke od prednosti korištenja čvrstih oralnih dozirnih oblika lijekova su: točnost doziranja lijeka, konvencionalni načini pripreme i razvoja tableta i kapsula uz već postojeća postrojenja za proizvodnju, kratko vrijeme proizvodnje s visokim prinosima.

Oralni dozirni oblici dijele se monojedinične (*engl. single-unit dosage forms*) i višejedinične dozirne oblike (*engl. multiparticulate dosage forms*). Primjeri monojediničnih dozirnih oblika su tablete i kapsule, a višejediničnih dozirnih oblika su minitablete, granule, mikrotablete, pelete, sferoidi, itd. Na slici 2 prikazani su određeni predstavnici monojediničnih i višejediničnih dozirnih oblika.³



Slika 2. Čvrsti dozirni oblici lijekova (tablete – gore lijevo, kapsule – gore desno, minitablete - dolje lijevo, granule – dolje desno)

Postoje i oralni dozirni oblici koji ne prolaze gastrointestinalnim traktom. Sublingvalni i bukalni oblici primjeri su takvih oblika. Lijekovi koji se primjenjuju sublingvalno, stavljaju se ispod jezika, gdje se otapaju i apsorbiraju (npr. nitroglicerina). Ne dolazi do njihove razgradnje u jetri niti do njihove destrukcije od strane gastrointestinalne tekućine. Bukalni oblici podrazumijevaju primjenu između sluznice usne šupljine i desni. Također se vrlo brzo apsorbiraju (npr. bukalni fentanil).⁴

2.4. Raspadljive tablete za usta

Raspadljive tablete za usta (*engl. Orally Disintegrating Tablets, ODTs*) su čvrsti dozirni oblici lijeka koji se brzo (unutar 3 minute) raspada u usnoj šupljini bez primjene vode.⁵ Smatra se da su raspadljive tablete za usta bolje rješenje od konvencionalnih oralnih dozirnih poput tableta ili kapsula budući da potonje predstavljaju problem kod određenih skupina bolesnika. Ciljana populacija za korištenje takvih tableta su: ljudi starije životne dobi, adolescenti, žrtve srčanih i moždanih udara, teško bolesni pacijenti vezani uz krevet, pacijenti koji boluju od disfagije (poremećaj otežanog gutanja), fagofobije (strah od gutanja) i pnigofobije (strah od gušenja) te psihijatrijski pacijenti. Pacijenti preferiraju korištenje ove vrste tableta zbog niza razloga, a neki od njih su: lako gutanje, lako rukovanje, brz raspad, nije potrebna voda za raspad tablete, dobar osjećaj u ustima te učinkovito maskiranje okusa tablete.

Izvedba raspadljive tablete za usta uvelike ovisi o tehnologiji koja se koristi tijekom njihove proizvodnje. Svojstvo brzog otapanja tablete se može prepisati mogućnošću vode da brzo prodre u matricu tablete što dovodi do njezine brze raspadljivosti. Osnovni pristup razvoja raspadljivih tableta za usta je maksimalno povećati poroznost strukture matrice tablete, ugraditi prikladno sredstvo za raspadanje i koristiti pomoćne tvari dobre topljivosti u vodenom mediju.

Mogu se pripremiti na različite načine: sušenjem raspršivanjem, izravnom kompresijom, granuliranjem s taljenjem, kalupljenjem, liofilizacijom. Idealna raspadljiva tableta za usta je ona koja: ne zahtijeva primjenu vode, raspada se unutar 3 minute, ugodnog je okusa u ustima, otporna je na temperaturu i vlagu te dovoljne tvrdoće za rastročljivosti za naknadno rukovanje i distribuciju. Raspadljivost tablete predstavlja značajan parametar kvalitete ovakvih dozirnih oblika.

Za postizanje ciljanih karakteristika i brzog raspada, raspadljive tablete za usta uključuju sljedeće mehanizme:

- a) Voda mora brzo ući u matricu tablete kako bi uzrokovala brz raspad i trenutačno otapanje tablete
- b) Sjedinjavanje odgovarajućeg sredstva za raspadanje i pomoćnih tvari dobrih topljivosti u formulaciji tablete
- c) Postoje mehanizmi kojima se tableta razgrađuje u manje čestice, a potom rezultira otopinom ili suspenzijom lijeka, to su: kapilarnost, kemijska reakcija, znatno bubrenje

Sastojci koji se koriste u formulaciji raspadljivih tableta za usta trebali bi omogućiti brz raspad lijeka, a to rezultira bržim otapanjem. To uključuje djelatnu i pomoćne tvari. Najčešće pomoćne tvari koje su prisutne u raspadljivim tabletama su: sredstvo za raspadanje (*disintegrant*), mazivo sredstvo (*lubricant*), sredstvo za okus (*flavouring agents*), zaslađivač (*sweeteners*).

Idealne pomoćne tvari za raspadljive tablete pokazuju svojstva:

- a) raspršiti se i otopiti u ustima u nekoliko sekundi bez ostavljanja ostatka
- b) pružiti dovoljnu čvrstoću lijekova i ostati relativno nepromijenjeni prilikom promjena vlažnosti ili temperature
- c) maskirati neugodan okus lijeka i omogućiti bolji okus u ustima

Raspadljive tablete mogu se uspješno pripremiti procesom liofilizacije. Tehnologija liofilizacije je korisna kod termolabilnih tvari i tvari biološkog porijekla. Tablete nastale tim procesom su veoma lagane i imaju poroznu strukturu koja omogućava brzo otapanje i brz raspad. Kada se stavi na jezik, liofilizirani oblik se otopi skoro trenutno, jer porozna struktura omogućava brzo prodiranje sline u pore unutrašnje površine tablete.

Proces liofilizacije se ne provodi na povišenoj temperaturi kako bi eliminirali utjecaj povišene temperature na stabilnost djelatne i pomoćnih tvari prisutnih u formulaciji. Tijekom procesa mogućnost stvaranja amorfnе strukture pomoćnih tvari ili djelatne tvari dovodi do poboljšanog profila topljivosti. Osim što se poboljšava topljivost, ovom tehnologijom se povećava apsorpcija i bioraspoloživost farmakološke aktivne tvari. Glavni nedostatak procesa liofilizacije je cijena proizvodnje, a konačni proizvod je nestabilan pri visokim temperaturama.^{6,7}

2.5. Topljivost djelatne tvari

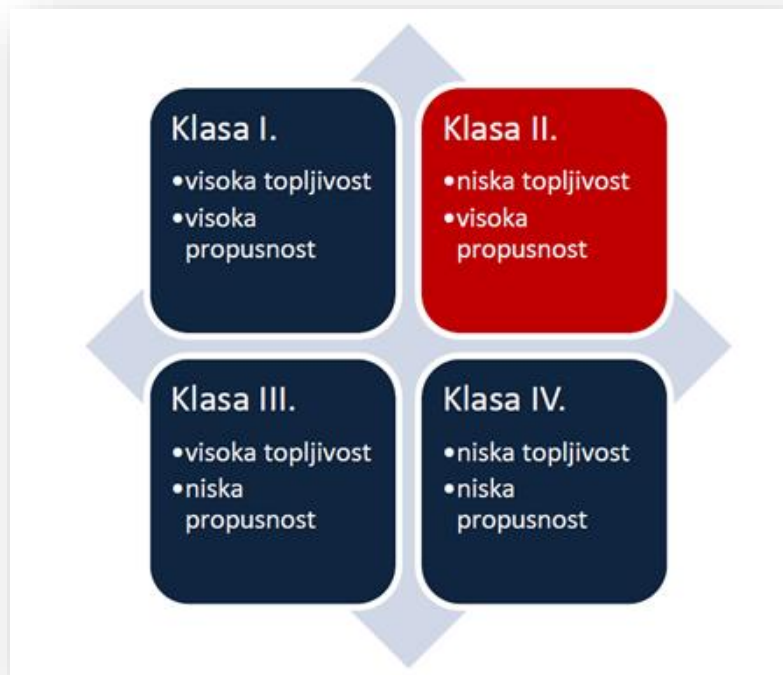
2.5.1. Značaj topljivosti djelatne tvari

Topljivost je svojstvo tvari u plinovitom, čvrstom ili kapljevitom stanju da se otopi u otapalu tvoreći homogenu smjesu. Otapalo je najčešće kapljevine ili smjesa kapljevine.⁸ Također, topljivost je važan parametar za postizanje željenog oslobađanja djelatne tvari iz oralnog dozirnog oblika. Kako je topljivost lijeka često vrlo niska u vodi, to postaje jedan od glavnih problema koje je potrebno riješiti prilikom formulacije lijeka.

Topljivost djelatne tvari značajno utječe na apsorpciju djelatne tvari i bioraspoloživost lijeka odnosno udio date doze lijeka koji dopijeva u sistemsku cirkulaciju i dostupan je za djelovanje. Kao vodič za predviđanje intestinalne apsorpcije djelatne tvari smatra se Biofarmaceutski sustav klasifikacije djelatnih tvari (*engl. Biopharmaceutics Classification System, BCS*). U tu svrhu značajna su dva parametra, topljivost u vodenom mediju i propusnost (permeabilnost) kroz crijevnu membranu. Djelatne tvari kategorizirane su u četiri skupine na temelju tih dvaju parametara. Djelatne tvari prve BCS skupine dobro su topljive i dobro propusne. U drugu BCS skupinu svrstavaju se djelatne tvari koje su slabo topljive, ali dobro propusne. Dakle, Biofarmaceutski sustav klasifikacije lijekova je općepriznati znanstveni okvir za podjelu svih djelatnih tvari u oralnim dozirnim oblicima na temelju njihove topljivosti u vodenom mediju i intestinalne permeabilnosti.

Posebnost djelatnih tvari u trećoj skupini je dobra topljivost, ali slaba propusnost, a u četvrtoj, slaba topljivost i slaba propusnost. Djelatna tvar se smatra dobro topljivom ukoliko se njena najveća doza otapa u 250 ml ili manje vodenog medija u pH području 1,2 - 6,8 pri 37 °C. Definicija dobre topljivosti od strane WHO-a zahtijeva smanjenje pH sa 7,5 koje je inače prisutno u FDA smjernicama na 6,8. Dobro propusna djelatna tvar jest ona kod koje je opseg intestinalne apsorpcije u ljudi 90 % ili veći.⁹ Karakteristike lijekova unutar BCS klasifikacije prikazane su na slici 3.

Lurasidon-hidroklorid, djelatna tvar korištena u ovom istraživanju, klasificiran je kao lijek klase II prema BCS klasifikaciji što znači da ga karakteriziraju visoka permeabilnost, odnosno propusnost kroz crijevnu membranu ($\log P = 5,6$) i niska topljivost (topljivost u vodi = 0,165 mg ml⁻¹). Posljedica toga je niska bioraspoloživost (9 - 19 %) koja se može povećati ukoliko se lijek primjenjuje s hranom.⁶



Slika 3. Svojstva topljivosti i propusnosti djelatnih tvari unutar BCS klasifikacije¹⁰

2.5.2. Načini poboljšanja topljivosti djelatne tvari

Slabo topljivim lijekovima u vodi moguće je poboljšati topljivost različitim pristupima. Tehnike se biraju s obzirom na svojstva lijeka odnosno prirodu djelatne tvari te odabranih pomoćnih tvari.¹¹ Dije se u tri skupine:

1. Fizikalne modifikacije: - redukcija veličine čestica (mikronizacija, nanosuspendiranje), modifikacije kristalnog oblika, priprema čvrstih disperzija, kriogene formulacije

2. Kemijske modifikacije: - promjena pH, primjena pufera, kompleksiranje, derivatizacija, dobivanje soli

3. Ostale metode: - proces superkritičnog fluida, primjena površinski aktivne tvari, primjena sredstva za otapanje, hidrotropija.¹²

Mnoge djelatne tvari dolaze u kristalnom obliku te je stoga potrebno uložiti znatno više energije za otapanje lijeka. Nastajanje amorfnog strukture lijeka može znatno poboljšati njegovu topljivost, a time otpuštanje djelatne tvari i bioraspodjeljivost. Takav sustav je moguće dobiti pripremom čvrstih disperzija uz primjenu amorfnog polimernog nosača što kao posljedicu daje manje potreban utrošak energije za otapanje.

2.6. Čvrste disperzije

1961. godine Sekiguchi i Obi su prvi predložili korištenje čvrstih disperzija u svrhu povećanja topljivosti i apsorpcije djelatnih tvari slabo topljivih u vodi. Deset godina kasnije Chiou i Riegelman definiraju čvrste disperzije u farmaceutskom smislu kao disperzne sustave u kojima je jedna ili više djelatne tvari bolje ili lošije raspodijeljena u matrici inertnog, polimernog nosača lijeka. Polimerni nosač može biti kristalan ili amorfan, a unutar nosača tvar može biti raspršena na molekulskoj razini, može postojati u amorfnim nakupinama (klasterima) ili kristalima.¹³ Dakle, čvrsta disperzija je sustav čvrstoga u kojem je djelatna tvar (ili više njih) bolje ili lošije dispergirana, po mogućnosti na molekulskoj razini, u matrici hidrofilnog polimera.

Disperzni sustavi mogu doći u raznim formama (tablica 2) kao što su eutektičke smjese (homogene smjese tvari čija je temperatura tališta niža od temperature tališta ostalih komponenti u smjesi), kristalinične/staklene suspenzije i amorfne/kristalinične suspenzije.¹⁴ Ipak, najčešći postupak pripremljanja čvrstih disperzija jest dvo-komponentni sustav djelatna tvar/polimer.

Eutektička smjesa jest ona koja se u potpunosti miješa u kapljevitom stanju, te u vrlo ograničenom obimu u čvrstom stanju. U slučaju eutektičke smjese koju čine djelatna tvar i matrica, matrica dovodi do slabljenja kristalne rešetke aktivne tvari, što rezultira smanjenjem točke taljenja u odnosu na čistu supstancu. Kada se eutektička smjesa nađe u kontaktu s vodenim medijem, dolazi do stvaranja hidrofilne matrice, dok se djelatna tvar oslobađa u obliku disperzije finih kristala, koji zbog povećane slobodne površine pokazuju veću brzinu otapanja.

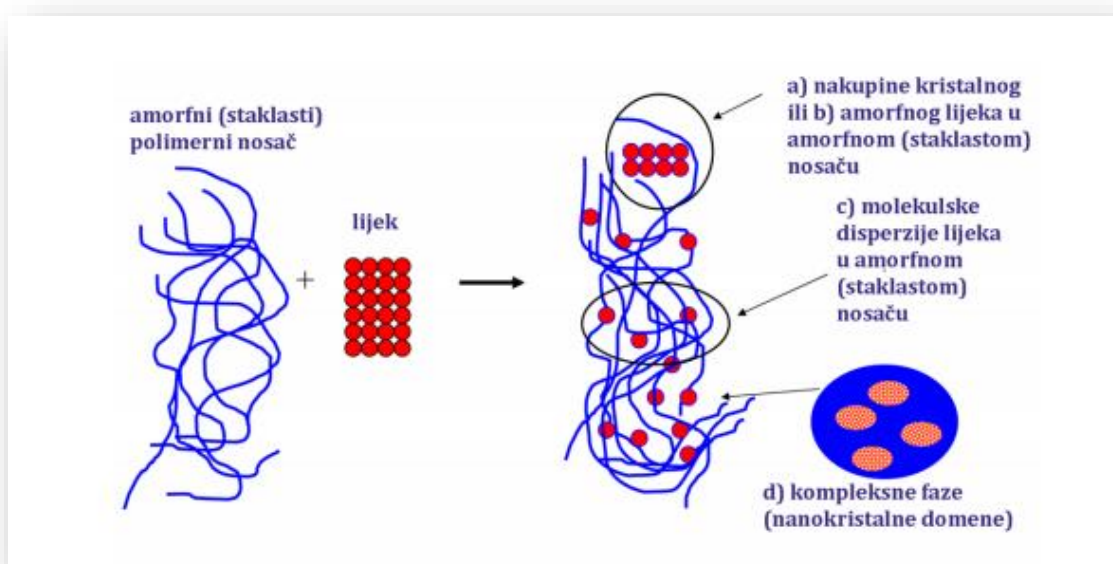
Čvrste otopine predstavljaju najčešće jednofazne sustave u kojima je djelatna tvar dispergirana do molekuskog nivoa. Kako je djelatna tvar otopljena u matrici, brzina otapanja u vodenom mediju određena je brzinom otapanja same matrice. U ovisnosti o stupnju miješanja djelatne tvari s matricom, čvrste otopine mogu biti kontinuirane (kod kojih se komponente miješaju u svim omjerima) te diskontinuirane (kod kojih je topljivost jedne komponente u drugoj ograničena).

Veličina molekule djelatne tvari je ključan faktor o kojem će ovisiti koji će od prethodna dva tipa čvrstih otopina biti zastupljen. Kod amorfnih čvrstih otopina, molekule aktivne tvari su nepravilno distribuirane u amorfnoj matrici. Ovaj tip čvrstih otopina je najčešći, budući da je većina polimera koji se koriste u izradi čvrstih disperzija, amorfne

strukture (slika 4). Za određivanje točne kategorije čvrstih disperzija potrebno je primijeniti složene analitičke metode, zbog čega se one često klasificiraju samo na osnovu fizičkog stanja djelatne tvari i to na: čvrste amorfne suspenzije, čvrste kristalne suspenzije i čvrste otopine.¹⁴

Tablica 2. Tipovi čvrstih disperzija¹⁴

TIP ČVRSTE DISPERZIJE	NOSAČ	LIJEK	BROJ FAZA
1. eutektička smjesa	kristalni	kristalni	2
2. amorfni precipitati lijeka u kristalnom nosaču	kristalni	amorfni	2
čvrste otopine			
kontinuirane čvrste otopine	kristalni	molekulski raspršen	1
3. diskontinuirane čvrste otopine	kristalni	molekulski raspršen	2
supstitucijske čvrste otopine	kristalni	molekulski raspršen	1 ili 2
intersticijske čvrste otopine	kristalni	molekulski raspršen	2
4. staklaste suspenzije	amorfni	kristalni	2
5. staklaste suspenzije	amorfni	amorfni	2
6. staklaste otopine	amorfni	molekulski raspršen	1



Slika 4. Shematski prikaz čvrste disperzije s amorfnim nosačem

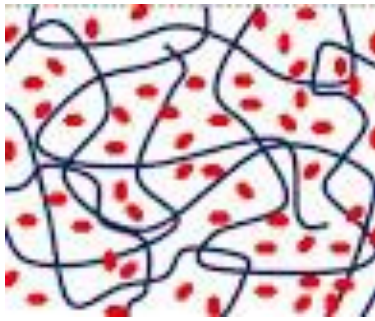
Vasconcelos i suradnici identificirali su četiri povoljna svojstva pripreve čvrstih disperzija.¹⁵ Značajke su:

1. Priprava čvrstih disperzija rezultira česticama smanjene veličine, čime se povećava specifična površina te postiže povećana brzina otapanja. Krajnji rezultat je poboljšana bioraspoloživost.
2. Mogućnost vlaženja poboljšana je kod čvrste disperzije. Ovdje nosači imaju glavnu ulogu u poboljšanju vlažnosti čestice.
3. Otkriveno je da čestice u čvrstoj disperziji imaju veći stupanj poroznosti. Povećani stupanj poroznosti krute čestice ubrzava profil otpuštanja lijeka.
4. U čvrstim disperzijama lijekovi su prezasićene otopine za koje se smatra da su metastabilni polimorfni oblik.

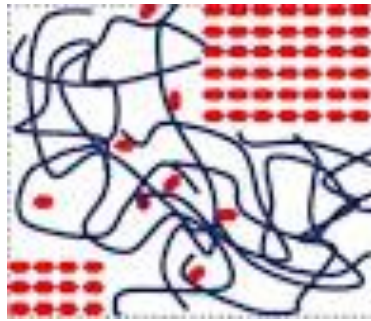
Serajuddin (1999)¹⁰ identificirao je neke probleme koji ograničavaju komercijalnu primjenu čvrstih disperzija, a one uključuju: njezinu metodu pripreve, obnovljivost fizikalno-kemijskih svojstava, formulaciju u oblike doziranja, *scale-up* proizvodnog procesa te fizikalno-kemijsku stabilnost lijekova. Čvrste disperzije se uglavnom ne koriste u komercijalnim proizvodima zbog problema kristalizacije komponenata iz amorfnog stanja tijekom obrade (mehanički stres) ili skladištenja (temperatura i vlaga). Vlaga može povećati pokretljivost lijeka i njegovu kristalizaciju te na taj način ugroziti stabilnost. Odvajanje faza, rast kristala ili pretvorba proizvoda u stabilniju strukturu također se smatraju glavnim preprekama komercijalizaciji čvrstih disperzija.¹⁶

2.6.1. Priprava čvrstih disperzija

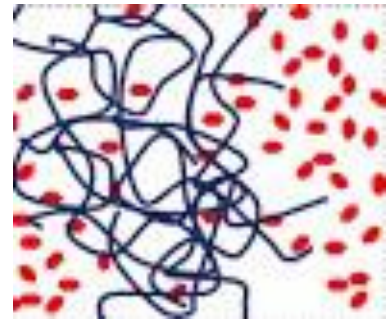
Interakcije između polimerne matrice i djelatne tvari od temeljne su važnosti za razumijevanje ponašanja tako pripremljenog disperznog sustava. Međutim, djelatna tvar i polimer mogu formirati brojne različite strukture tijekom procesa ovisno o njihovom sastavu (slike 5-7).



Slika 5. Čvrsta disperzija u kojoj je djelatna u potpunosti dispergirana u polimernoj matrici



Slika 6. Čvrsta disperzija u kojoj je došlo do kristalizacije djelatne tvari

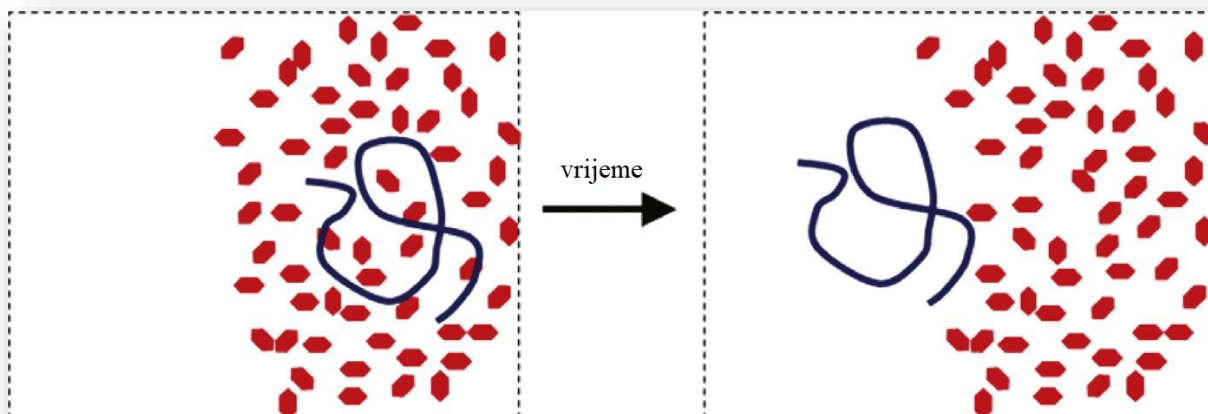


Slika 7. Čvrsta disperzija u kojoj su amorfni agregati djelatne tvari dispergirani u polimernoj matrici

U homogenoj otopini polimer/djelatna tvar, polimerni lanci stvaraju zavojnice koje međudjeluju jedna s drugom i protežu se kroz cijeli sustav, dok je djelatna tvar dispergirana nasumično kroz cijeli sustav. Kada je raspoloživost lijeka manja od ravnotežne topivosti djelatne tvari unutar lijeka, tada će cijela djelatna tvar biti dispergirana u polimernoj matrici te će se formirati termodinamički stabilna, homogena smjesa (slika 5) što je ujedno i najpoželjnija forma čvrste disperzije. Druga formulacija strukture se javlja prilikom smanjenja temperature kada otopina postaje prezasićena djelatnom tvari što ju potiče na izlazak iz polimerne matrice. Ovo može rezultirati procesom kristalizacije jednog djela djelatne tvari u polimeru unutar kojeg koncentracija djelatne tvari odgovara njegovoj ravnotežnoj topivosti pri zadanoj temperaturi (slika 6). Treći formulacija je pojava meta-stabilne strukture tj. međuspoja kada su amorfni agregati djelatne tvari dispergirani u polimeru te održavaju amorfnu topivost lijeka na zadanoj temperaturi (slika 7).

U idealnom slučaju, pripravljena čvrsta disperzija trebala bi biti kinetički stabilna na sobnoj temperaturi što ima veliki utjecaj na profil otpuštanja djelatne tvari. Takva stabilnost može se postići vrlo pažljivim odabirom polimerne pomoćne tvari, odgovarajućim omjerom polimer/djelatna tvar u čvrstoj disperziji te odabirom najpovoljnijih procesnih parametara i uvjeta.

Čest pristup u pripremi čvrstih disperzija jest korištenje inertnih polimera kao što su poli(etilen-glikol) (PEG) i poli(vinil-pirolidon) (PVP) koji su dobro topivi u vodenom mediju. Pri tome se djelatna tvar otpušta, raste površina djelovanja i postižu se veće brzine otpuštanja djelatne tvari, bolja apsorpcija i bioraspoloživost lijeka (slika 8).



Slika 8. Prikaz separacije polimerne matrice od djelatne tvari

Općenito, procesi pripreme čvrstih disperzija koji se najčešće primjenjuju mogu se podijeliti u dvije kategorije: metode taljenja i metode uklanjanja otapala. Metode taljenja podrazumijevaju taljenje djelatne tvari unutar nosača nakon čega slijedi hlađenje i prevođenje sustava u praškasti oblik. Međutim, za ove metode nisu pogodne visoke temperature te je moguća degradacija djelatne tvari tijekom taljenja ili nepotpuna mješljivost djelatne tvari i nosača. Metode uklanjanja otapala temelje se na otapanju djelatne tvari i nosača u hlapljivom otapalu koje se isparava pri čemu se nastaju čvrste disperzije. Otkrićem ovih metoda brojni problemi vezani za metode taljenja su bili riješeni i dugi niz godina je uklanjanje otapala isparavanjem bila primarna metoda za pripremu čvrstih disperzija. Međutim, uzevši u obzir utjecaj organskih polimera na okoliš koje je postalo problematično metoda ekstruzije taljenjem je aktualna metoda pripremu. U tablici 3 nalaze se svi procesi koji se mogu koristiti za pripremu čvrstih disperzija.

Tablica 3. Procesni pripreme čvrstih disperzija

METODE TALJENJA	METODE UKLANJANJA OTAPALA
Kalupljenje kompresijom	Liofilizacija
Ekstruzija	Sušenje raspršivanjem
Ekstruzija s taljenjem	Ekstruzija s otopinom
Granuliranje taljenjem	Parno granuliranje
<i>In situ</i> granuliranje	

2.7. Liofilizacija - sušenje smrzavanjem

Liofilizacija ili sušenje smrzavanjem (*lyophilization, freeze-drying*) je proces uklanjanja vode ili drugih zamrznutih otapala sublimacijom uzorka. Glavni princip liofilizacije je da se materijal najprije zamrzne pri temperaturi nižoj od $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ te se nakon toga smanji tlak u sustavu dajući time potrebnu toplinu kako bi došlo do procesa sublimacije. Ova tehnika je izrazito korisna za lijekove osjetljive na toplinu. U prošlosti je liofilizacija bila ograničena samo na sušenje labilnih farmaceutskih i biofarmaceutskih proizvoda kao što su antibiotici i proteini, no danas se spektar farmaceutskih proizvoda temeljeni na liofilizaciji znatno proširio. Jedan je od najskupljih i najdugotrajnijih tehnoloških postupaka, ali široko upotrebljavan u farmaceutskoj industriji s ciljem poboljšanja stabilnosti uzorka. Prednosti i nedostaci ovakvog postupka pripreme disperzija navode i prikazuju tablicom 4.

Tablica 4. Prednosti i nedostaci procesa liofilizacije

PREDNOSTI	NEDOSTATCI
duže vrijeme skladištenja, stabilnost uzorka	dugotrajnost i ekonomičnost procesa
točnost i ujednačenost sadržaja	potreba za optimalnim parametrima
transport i skladištenje pri normalnoj temperaturi	
mogućnost postizanja sterilnosti produkta	

Proces liofilizacije sastoji se od tri faze: priprema i smrzavanje uzorka, primarno sušenje (sublimacija) te sekundarno sušenje (desorpcija).

2.7.1. Smrzavanje

Tijekom koraka hlađenja, odnosno smrzavanja uzorka, snižava se temperatura kapljevito uzorka i dolazi do prelaska iz kapljevito u kruto stanje – amorfno ili kristalno. Temperatura smrzavanja treba biti jednaka ili niža od temperature eutektičke točke uzorka. Iako je faza smrzavanja jednostavna, jednako je važna u procesu liofilizacije kao i faza sušenja. Prilikom hlađenja vode pri atmosferskom tlaku ne dolazi do spontanog smrzavanja pri ravnotežnoj temperaturi ledišta ($0\text{ }^{\circ}\text{C}$). Kapljevina se nalazi u stanju superhlađenja, odnosno zadržava kapljevito stanje ispod temperature ledišta otopine.

Nakon superhlađenja otopine slijedi nukleacija – nastajanje nestabilnih i kratkoživućih klastera molekula vode, zatim kristalizacija – egzoterman proces uslijed kojega temperatura uzorka malo poraste te uz daljnje hlađenje dolazi do smrzavanja uzorka. Uzorak smrzavanjem gubi vodu jer ona prelazi u del te postaje sve više koncentriran i viskozan. Ekspanzija volumena koja nastaje smrzavanjem zbog anomalije vode uzrokuje mehaničko naprezanje. Također se može javiti i osmotsko naprezanje zbog naglog povećanja koncentracije uzorka. Smrzavanje utječe na oblik, broj i veličinu kristala leda, a time i na trajanje primarnog i sekundarnog sušenja i morfologiju u sadržaj vlage završnog uzorka. Optimizacijom ovog koraka može se smanjiti trajanje procesa liofilizacije.

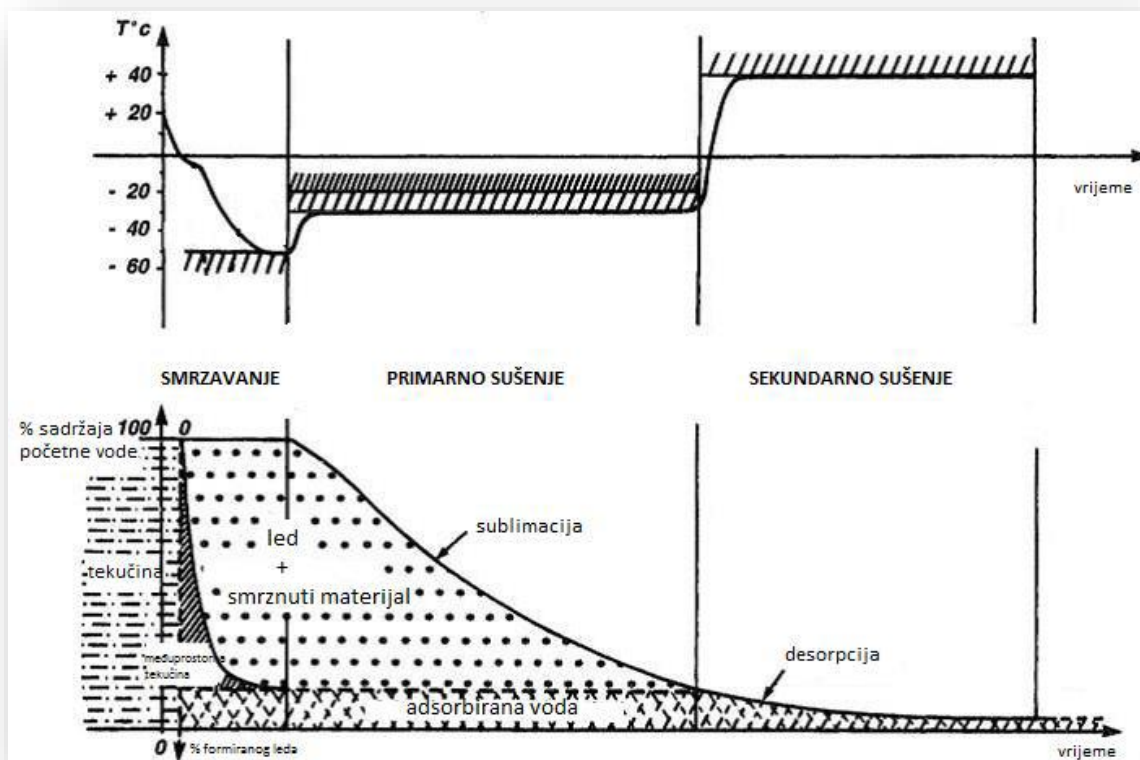
2.7.2. Primarno sušenje

Sljedeći korak je primarno sušenje ili sublimacija zaleđenog uzorka. Pri niskoj temperaturi i pod visokim vakuumom dolazi do uklanjanja zaleđene otopine iz uzorka sublimacijom, odnosno direktnim prijelazom krutog u plinovito stanje, čime zaostaje amorfnu strukturu otopljenog tvari visoke poroznosti. Kada se tlak komore smanji ispod tlaka para leda u proizvodu, može početi sublimacija, odnosno led se uklanja s vrha uzorka i pretvara u paru te se odvodi u ledeni kondenzator i odlaže na zavojnice ili ploče koje se kontinuirano hlade.

Led sublimira najprije s površine uzorka, a zatim i iz dubljih dijelova pri čemu vodena para prolazi kroz uzorak do njegove površine, otkud dalje odlazi do kondenzatora gdje se vodena para kondenzira natrag u vodu. Vodenu paru je potrebno odvoditi jer bi inače rastao tlak u komori. Smrznuti produkt se suši bez velike promjene volumena i oblika. Na mjestima gdje su se nalazili kristali leda ostaju pore. Primarno sušenje je najdulji korak liofilizacije u najviše doprinosi troškovima postupka, no moguće ga je optimirati.

2.7.3. Sekundarno sušenje

Voda koja se u prvom koraku ne smrzne ne može niti sublimirati. Nakon brzog smanjenja udjela vode tijekom sušenja slijedi plato faza (slika 9), gdje se zaostala voda nalazi u ravnoteži sa tlakom vodene pare u komori. Dovođenjem topline, udio vode u uzorku se smanjuje, a brzina se sušenja povećava proporcionalno s povećanjem površine sušenog produkta. To je faza desorpcije koja se odvija pod visokim vakuumom uz povećanje temperature na oko 20 – 50 °C^{10,11,12}



Slika 9. Promjena temperature i sadržaja vode tijekom pojedinih faza liofilizacije¹²

2.8. Granuliranje

Granuliranje je proces fizičke pretvorbe tvari do krajnje formulacije (konačnog proizvoda ili međuproizvoda) željenih svojstava (tvrdoća, topljivost, hlapljivost, reološka svojstva, itd.), u kojem dolazi do okrupnjavanja jedinki primjenom vezivnog sredstva. Ulaznu struju materijala čine praškasta tvar i vezivo dok izlaznu struju čini kolektiv jedinki željenih svojstava (granulat) koji se sastoji od granula i neokrupnjenog materijala.

Istraživanja fenomena granuliranja započeta su sredinom prošlog stoljeća, a začetnicima istraživačkog rada vezanog za granuliranje smatraju se Newitt i Conway-Jones te Capes i Danckwerts. Razvoj procesne tehnologije granuliranja započeo je okrupnjavanjem pijeska u bubnjastom granulatoru.¹⁷

Granuliranjem se mogu poboljšati i kontrolirati mnoga svojstva partikulskog sustava: reologija, permeabilnost, poroznost, topivost, nasipna gustoća, pogodnost pri rukovanju itd. Uslijed toga što praškasti sustavi čine trećinu svih proizvoda kemijske procesne industrije, proces granuliranja svoju primjenu nalazi u brojnim ostalim industrijama poput farmaceutske

industrije, prehrambene industrije, metalurgiji, proizvodnji mineralnih gnojiva. Procesna tehnologija granuliranja vrlo je zastupljena u farmaceutskoj domeni, a sam proces granuliranja nerijetko prethodi procesu tabletiranja u svrhu ostvarivanja željene funkcionalnosti mješavine za tabletiranje.

Stohastičko kretanje čvrste tvari osigurava mnogobrojne međusobne sudare jedinki u procesnom prostoru i ono je neophodno za induciranje njihova rasta. Ukoliko su jedinke vrlo sitne (fina prašak) dodatak vezivnog sredstva nije potreban, već će radi izrazite kohezivnosti takvih prašaka, međusobni sudari jedinki rezultirati nastankom čvrstih premoštenja, a nakon toga i nastankom granula. U tom slučaju, procesna tehnologija se naziva suho granuliranje. No u većini slučajeva čvrsta premoštenja među sudarajućim jedinkama nemaju dostatnu razinu otpornosti degradacijama uslijed daljnjih sudara. Međučestična djelovanja potrebno je dodatno potaknuti dodatkom kapljevite vezivne tvari prilikom čega se stvaraju kapljevita premoštenja, najčešće pokretna. Tada je riječ o procesnoj tehnologiji mokrog granuliranja. Granuliranje taljenjem je relativno nova procesna tehnologija za koju se u novije vrijeme iskazuje pojačan interes u farmaceutskim krugovima. Uključuje upotrebu rastaljene vezivne tvari koja rezultira nastankom kapljevutih premoštenja među česticama. Granule nastaju očvršćivanjem nastalih kapljevutih premoštenja hlađenjem procesnog prostora. U ovom radu korištena je isključivo tehnologija granuliranja taljenjem.

Ovisno o načinu postizanja i održavanja stohastičkog kretanja čestica postoje: granuliranje u fluidiziranom sloju, granuliranje prevrtanjem te smično granuliranje. Prilikom svake procesne tehnike granuliranja dodavanjem vezivne formulacije utječe se na postizanje pogodnih uvjeta za razvoj željenih događaja na mikro-, mezo- i makrorazini koji posljedično pogoduju mehanističkoj slici fenomena, a time i na konačan produkt željenih svojstava. U ovom je radu korištena fluidizacija pri ostvarivanju željenog stohastičkog kretanja tvari.¹⁷⁻¹⁸

2.8.1. Granuliranje u fluidiziranom sloju

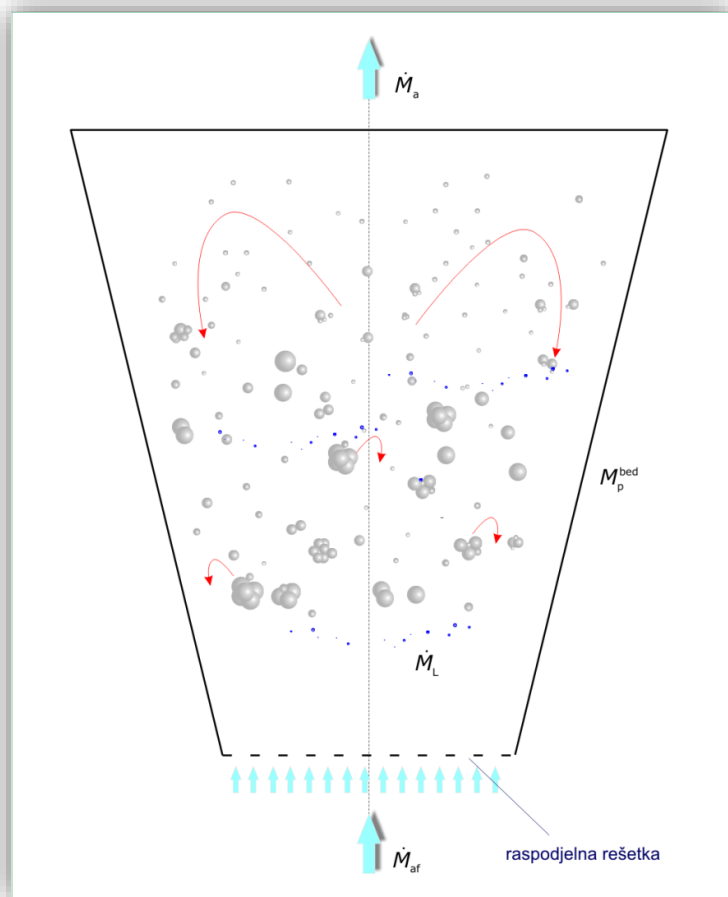
Fritz Winkler zaslužan je za prvu industrijsku primjenu fluidizacije u procesu otplinjavanja ugljena 1922. godine. Četrdesetih godina prošlog stoljeća fluidizacija se počinje primjenjivati kao proces kontaktiranja u katalitičkom krekiranju nafte (FCC), a potom započinje i njezina primjena u metalurškim procesima za sušenje i kalciniranje. Danas je fluidizacija neizostavna u procesima granuliranja tvari. Prednosti i nedostaci granulatora s fluidiziranim slojem prikazani su u tablici 5.

Tablica 5. Prednosti i nedostaci granuliranja u fluidiziranom sloju

PREDNOSTI	NEDOSTATCI
Iznimno visoke kontaktne površine fluid-čvrsto po jedinici volumena procesnog prostora	Defluidizacija zbog pretjeranog i nekontroliranog rasta ukoliko procesni uvjeti nisu dobro kontrolirani
Istodobno granuliranje i sušenje pa nije potreban dodatni sušionik	Veliki operativni troškovi zbog uspostave i održavanja fluidiziranog stanja
Visok stupanj izmiješanosti pojedinih faza	Prisutnost velikog habanja među jedinkama
Lakoća dobivanja malih poroznih granula (manje od 1 mm) iz čvrstog supstrata	Nemogućnost uzgibavanja finih, kohezivnih prašaka
Mogu se dobiti čvrste, slojevite granule sa uskom raspodjelom veličina čestica iz tekućeg supstrata	
Jako dobar prijenos tvari i topline	
Visok stupanj učestalosti nasumičnih sudara među jedinkama (poticanje mehanizama rasta)	

U procesnom prostoru stohastičko kretanje čestica neophodno za postizanje mehanizma rasta jedinki, ostvareno je strujom komprimiranog zraka. Granulati dobiveni granuliranjem u fluidiziranom sloju mogu sadržavati porozne granule (iz čvrstog supstrata) ili čvrste slojevite granule (iz tekućeg supstrata). U većini slučajeva prevladavaju čvrste slojevite granule.¹⁹

Granuliranje u fluidiziranom sloju taljenjem (engl. *Fluidized Bed Melt Granulation*) je tehnika u kojoj se čvrste čestice aglomeriraju primjenom veziva čije je talište na relativno niskim temperaturama (50-80 °C), a provodi se na dva načina. Prvi način je raspršivanje rastaljenog veziva na fluidizirani sloj čvrstoga, tzv. *spray-on* tehnika. Drugi način izvedbe je onaj kod kojeg se vezivo u čvrstoj formi (kontinuirana faza) i tvar koja se nastoji okrupniti (dispersna faza) dodaju u procesni prostor, zajedno fluidiziraju u struji zraka i zagrijavaju iznad temperature tališta korištenog veziva (*in situ* tehnika). U oba slučaja rastaljena tvar djeluje kao kapljevito vezivo, a granule nastaju očvršćivanjem rastaljenog veziva koje hlađenjem prelazi iz kapljevito u čvrsti oblik.²⁰ Na slici 10 prikazuje se procesni prostor u ovom procesu.

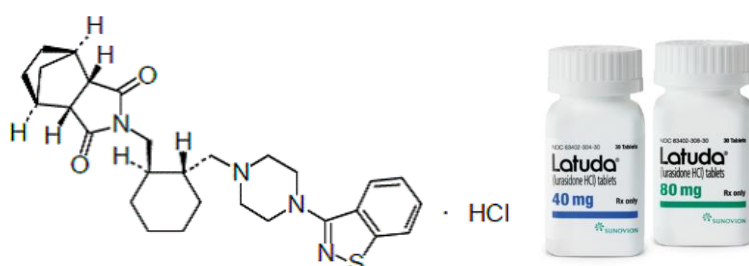


Slika 10. Prikaz procesnog prostora u tehnologiji granuliranja u fluidiziranom sloju taljenjem

3. METODIKA

3.1. Djelatna tvar

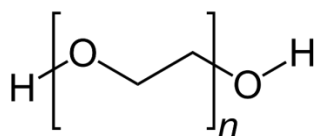
Lurasidon-hidroklorid je djelatna tvar koja pripada II. skupini prema Biofarmaceutskom sustavu klasifikacije, što znači da ju karakterizira niska topljivost u vodenom mediju i visoka propusnost. Pripada u farmakoterapijsku skupinu antipsihotika. Služi u liječenju psihičkih poremećaja shizofrenije i bipolarnosti. Razvijen je od strane japanske tvrtke *Dainippon Sumitomo Pharma Co., Ltd.* Komercijalni dozirni oblik prodaje se pod nazivom *Latuda*[®]. Na slici 11. prikazana je molekulska struktura lurasidon-hidroklorida i njegov komercijalni dozirni oblik.



Slika 11. Molekulska struktura LRS HCl-a i njegov komercijalni oblik

3.2. Polimer

Poli(etilen-glikol) (PEG) je polimer koji se često koristi u farmaceutskoj industriji. Hidrofilan polimer kristalne strukture u obliku pločica, bijele boje. Staklište PEG-a je na temperaturi oko 62 °C gdje dolazi do potpunog faznog prijelaza iz čvrstog oblika u kapljeviti oblik. Pogodan je za korištenje u izradi čvrstih disperzija, jer dobro moči djelatnu tvar što omogućuje brže otpuštanje lijeka iz čvrstih disperzija²⁰. Primjenjuje se i kao vezivo, dodaje se kako bi se povećala kohezija praha kako bi se kompaktiranjem dobila kohezivna kompaktna masa od koje se kasnije stvara tableta. PEG kao vezno sredstvo osigurava dobra mehanička svojstva i smanjuje mogućnost mrvljenja tableta²¹. Na slici 12 prikazana je strukturna formula poli(etilen-glikola). U ovom istraživanju koristi se poli(etilen-glikol) srednje molekulske mase 4 kDa.



Slika 12. Strukturna formula poli(etilen-glikola)

3.3. Pomoćne tvari

U tablici 6. navedene su pomoćne tvari korištene u ovom istraživanju.

Tablica 6. Pomoćne tvari korištene u eksperimentima

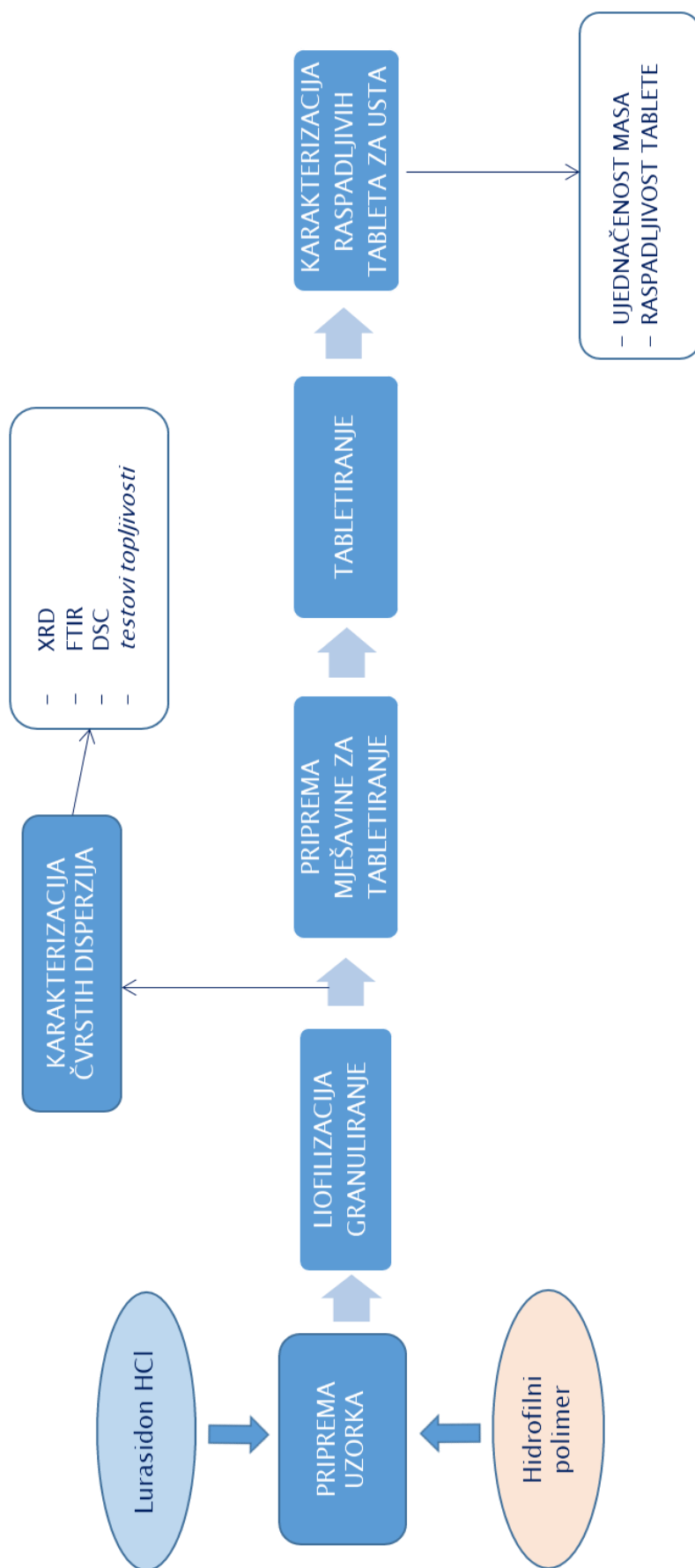
Granuliranje		Tabletiranje	
Pomoćna tvar	Masa (g)	Pomoćna tvar	Masa (g)
Manitol	200,0	Magnezijev stearat	0,1
Mikrokristalna celuloza	50,0		
Poli(etilen-glikol) (4 kDa; 90-125 µm)	12,5		
Natrijeva kroskarmeloza	12,5		

3.4. Provedba ispitivanja

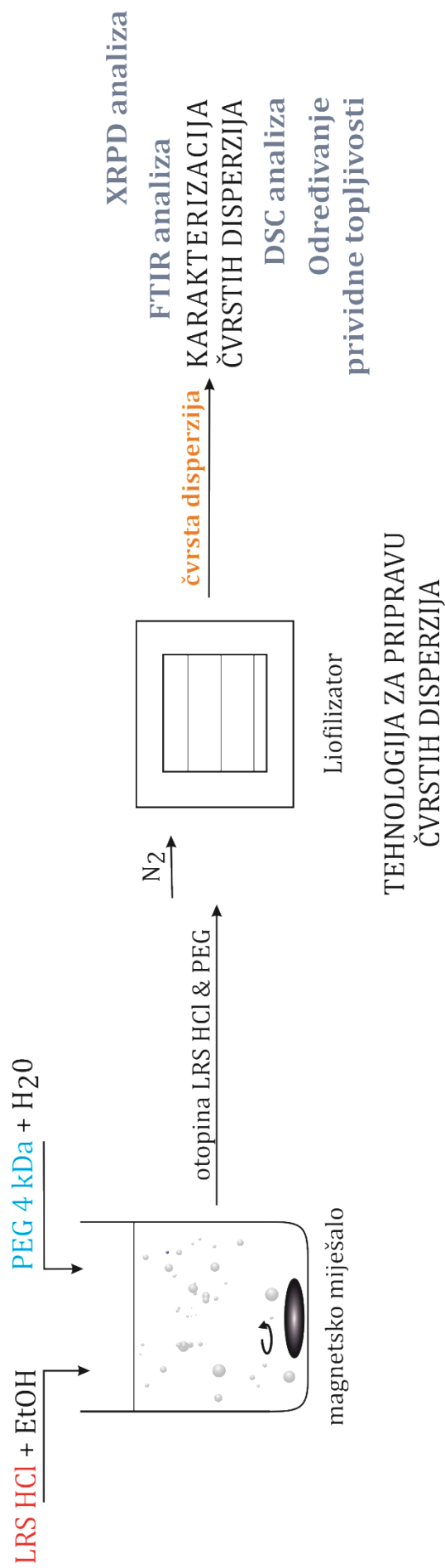
Metodologija istraživanja prikazuje se slikom 13. Ovo istraživanje provodi se u dvije faze. Prva faza istraživanja (slika 14) podrazumijeva pripremu i karakterizaciju čvrstih disperzija. U drugoj fazi istraživanja pripremaju se i karakteriziraju raspadljive tablete za usta kao konačan dozirni oblik lurasidon-hidroklorida (slika 15).

Karakterizacija čvrstih disperzija podrazumijeva primjenu analitičkih tehnika kojima se uspješno detektiraju svojstva dokazanog i značajnog učinka na topljivost tvari, ali i dokazuje uspješna priprema disperzija. Uzorci disperzija različitih sastava karakteriziraju se diferencijalnom pretražnom kalorimetrijom, rendgenskom difrakcijskom analizom praha i infracrvenom spektroskopijom s Fourierovim transformacijama. Dodatno, testira se prividna topljivost disperzija.

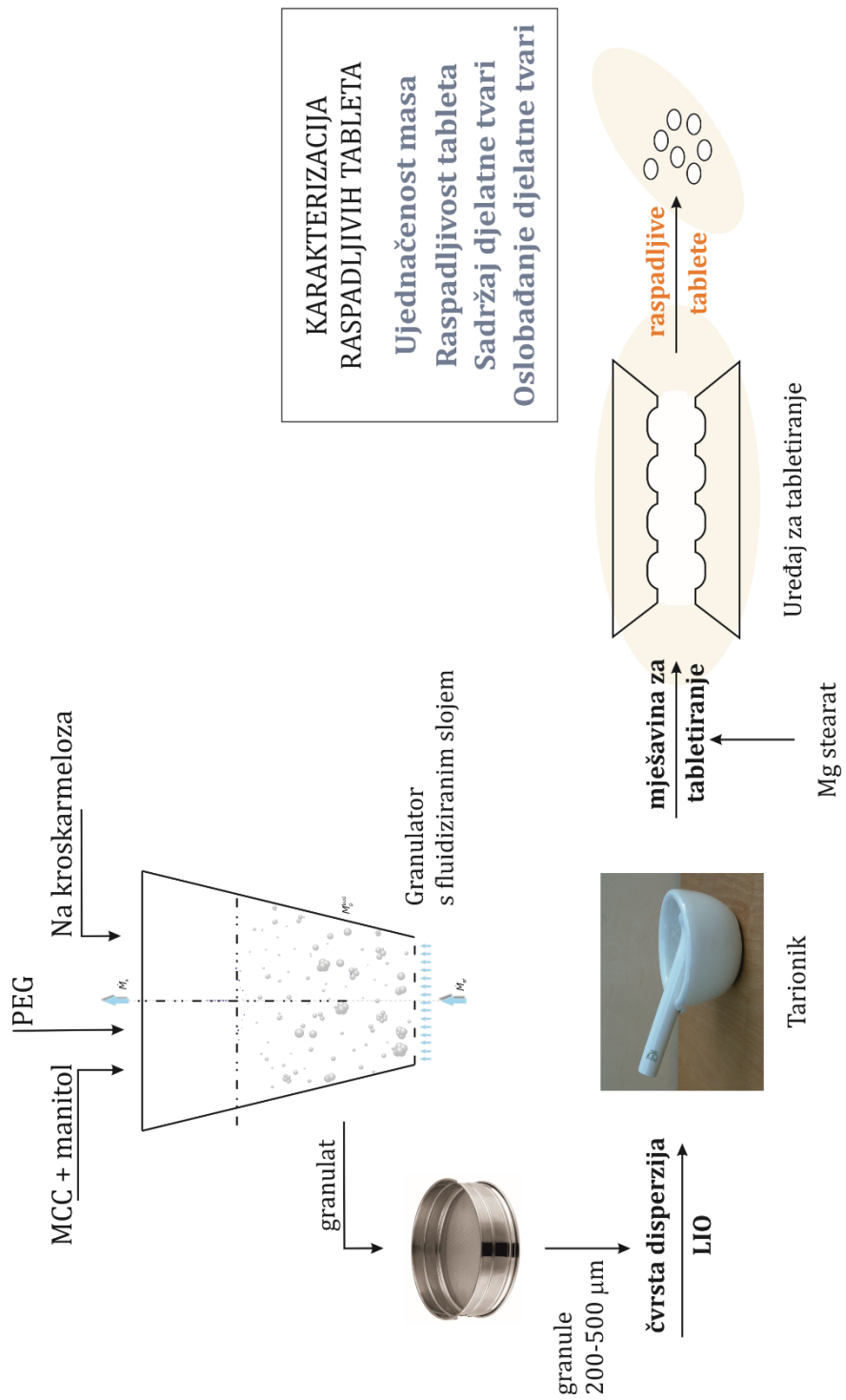
Raspadljive tablete testiraju se na svojstva karakteristična i propisana za ovakav dozirni oblik: ujednačenost masa, raspadljivost, sadržaj i oslobađanje djelatne tvari.



Slika 13. Shematski prikaz metodologije istraživanja



Slika 14. Shematski prikaz prve faze istraživanja

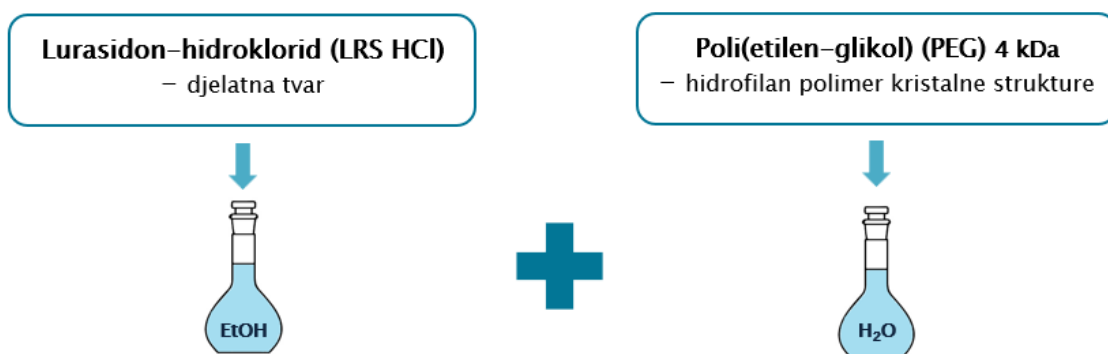


Slika 15. Shematski prikaz druge faze istraživanja

3.4.1. Priprava otopina

Kao otapalo korištena je smjesa etanola i vode u omjeru 50:50. Etanol je korišten iz razloga što lurasidon-hidroklorid (LRS HCl) pokazuje izrazito slabu topljivost u vodenom mediju (oko 165 mg mL^{-1}) te je zbog toga navedena djelatna tvar otapana u etanolu gdje je topljivost znatno veća. Poli(etilen-glikol) otopljen je u demineraliziranoj vodi.

Otopine su pripravljene s različitim udjelom djelatne tvari i polimerne matrice kako bi se moglo ispitati kako udio utječe na topljivost same djelatne tvari. Maseni udio lurasidon-hidroklorida u odnosu na ukupnu masu otopljene tvari bio je 25 %, 50 % i 75 % .



Slika 16. Shematski prikaz priprave otopina

3.4.2. Liofilizacija

Kao postupak dobivanja čvrstih disperzija korišteno je sušenje smrzavanjem, tj. liofilizacija. Uzorci su hladjeni u zamrzivaču pri temperaturi $-69 \text{ }^{\circ}\text{C}$, zatim se stavljaju u liofilizator Labconco FreeZone 1, gdje su sušeni u trajanju od 72 sata pri temperaturi $-45 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Ustaljeni tlak na kraju liofilizacije iznosi $0,04 \text{ mbar}$.



a)

b)

Slika 17. a) Fotografija liofilizatora FreeZone 1 (Labconco Co., Kansas City, SAD)
b) Fotografija postavljenih uzoraka u liofilizatoru

3.4.3. Granuliranje u fluidiziranom sloju s taljenjem

Kako bi nakon tabletiranja konačan dozirni oblik imao sva željena svojstva i konstituciju prave tablete, čvrstoj disperziji LRS HCl i PEG potrebno je dodati i pomoćne tvari. Korištenjem granulatora s fluidiziranim slojem (slika 18) pripremljen je granulat pomoćnih tvari koji uključuje:

- a. Manitol: 200,0 g (punilo),
- b. Mikrokristalna celuloza: 50,0 g (punilo),
- c. Poli(etilen-glikol) 4 kDa, 90-125 μm : 12,5 g (vezivo),
- d. Natrijeva kroskarmeloza: 12,5 g (sredstvo za raspadanje).

Granule dobivene u granulatoru pomiješane su sa mješavinama čvrstih disperzija u tarioniku te je navedena smjesa postala pogodna za proces tabletiranja.



Slika 18. Fotografija granulatora s fluidiziranim slojem Uni-Glatt (Glatt GmbH, Binzen, SR Njemačka)

3.4.4. Tabletiranje

Priprava konačnog dozirnog oblika podrazumijevala je proces tabletiranja. Tabletiranje je provedeno na uređaju za tabletiranje (slika 19). Ciljana masa svake pojedine tablete je 200 mg. Korištena je matrica za tabletiranje promjera 8 mm.



Slika 19. Fotografija uređaja za tabletiranje TDP-5T
(Zhejiang Wisely Machinery Co., NR Kina)

3.5. Karakterizacija čvrstih disperzija

3.5.1. Rendgenska difrakcijska analiza praha

Rendgenska difrakcijska (strukturna) analiza praha (*engl. X-ray Powder Diffraction, XRPD*) je metoda koja daje detaljne informacije o kemijskoj i kristalnoj strukturi prirodnih i sintetskih materijala, a temelji se na upotrebi rendgenskih zraka (X-zraka) i njihovoj difrakciji. Koristi se za određivanje kristalne strukture materijala, za kvalitativnu (identifikacija kristalnih faza) i kvantitativnu (određivanje relativnih udjela različitih faza u uzorku) analizu, mjerenja veličine kristala, određivanje parametara elementarne (jedinične) ćelije i drugo. Rendgensko zračenje je vrsta elektromagnetskog zračenja visokih frekvencija i energija. Valna duljina rendgenskog zračenja je vrlo mala, reda veličine razmaka među atomima u kristalu pa se uzorci kristalnog faznog sastava ponašaju kao optička rešetka za rendgensko zračenje. Padnu li zrake vidljive svjetlosti na optičku rešetku dolazi do rasipanja ili difrakcije svjetlosti što je posljedica međudjelovanja rendgenskih zraka i elektronskog omotača atoma. Rendgensko zračenje nastaje u rendgenskoj cijevi u kojoj se elektroni s katode ubrzavaju velikom razlikom potencijala i udaraju u anodu ili protukatodu pri čemu izbijaju elektrone iz atoma anode koji povratkom u ravnotežno stanje oslobađaju višak energije u obliku rendgenskog zračenja. Tako nastaje diskontinuirani (linijski) spektar rendgenskog zračenja čija valna duljina ovisi o energiji oslobođenoj skokom elektrona u ravnotežno stanje. Linije rendgenskog spektra se označavaju prema ljuskama u koje se elektroni vraćaju (npr. elektroni koji iz L ljuske skaču u K ljusku oslobađaju K_{α} zračenje). Većinom se koristi monokromatsko rendgensko zračenje točno određene valne duljine i to K_{α} zračenje. Kako bi se uklonile ostale valne duljine koriste se metalni filtri i kristalični monokromatori (optičke rešetke). Danas, analiza uzorka provodi se korištenjem difraktometra. Ispitivani uzorak se stavlja na nosač koji se rotira pri čemu se mijenja upadni odnosno difrakcijski kut zračenja. Detektor, koji radi na principu ionizacijske komore, također se rotira i mjeri intenzitet difraktiranog zračenja. Dobiveni električni signal se pojačava i šalje na računalo. Kao rezultat dobiva se grafički prikaz ovisnosti intenziteta difraktiranog zračenja o difrakcijskom kutu koji se naziva difraktogram.

U ovom eksperimentalnom radu rendgenska difrakcija praha provedena je na uređaju Shimadzu XRD-6000 prikazanom na slici 20. Uređaj se sastoji od visokonaponskog generatora, široko-fokusne rendgenske cijevi s $Cu-K_{\alpha}$ zračenjem i Ni filtrom, okomitog

goniometra visoke preciznosti, grafitnog monokromatora, scintilacijskog detektora i računala sa sistemskim softverom. Identifikacija je provedena s Cu-K α zračenjem valne duljine $\lambda = 0,154059$ nm.



Slika 20. Fotografija uređaja za rendgensku difrakciju praha XRD-6300 (Shimadzu, Kyoto, Japan)

3.5.2. Fourier-transformirana infracrvena spektroskopija

Fourier-transformirana infracrvena spektroskopija (*engl. Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FTIR*) je instrumentalna analitička metoda kojom je moguće uočiti pomak apsorpcijskih vrpce karakterističnih za funkcionalne skupine koje potencijalno mogu ukazati na uspostavu interakcija između djelatne tvari i polimerne matrice u ispitivanom uzorku. Infracrveno zračenje je elektromagnetsko zračenje valnih duljina između 2,5 i 15,0 μm . Nastaje kao posljedica sudara čestica pri pravocrtnom (translacijskom) gibanju, vibracijama kristalne rešetke, vibracijama i rotacijama veze između atoma i skupina atoma u molekulama organskih tvari i plinova na temperaturi višoj od apsolutne nule. Infracrveni spektar je snimka apsorbiranog svjetla kao funkcija valne duljine. Apsorbira se samo svjetlost čija se frekvencija podudara s frekvencijom vibracija veze u molekuli. Na apsorpcijski položaj utječu jačina veze, masa atoma koji čine vezu (uz istu jakost veze) i vrsta vibracije. Infracrveni spektar pokazuje karakteristične vrpce funkcionalnih skupina u točno unaprijed definiranim područjima valnih brojeva pri čemu je na apscisi valni broj (cm^{-1}), a na ordinati apsorbanacija (%).

FTIR spektri čistih komponenata i realnih uzoraka snimljeni su pomoću FTIR spektrofotometra Vertex 70 s platinastim detektorom (slika 21). Svaki infracrveni spektrofotometar se sastoji od izvora zračenja, interferometra i detektora.



Slika 21. Fotografija FTIR spektrofotometra Vertex 70 s platinastim detektorom (Bruker, Billerica, SAD)

3.5.3. Diferencijalna pretražna kalorimetrija

Diferencijalna ili razlikovna pretražna kalorimetrija (*engl. Differential Scanning Calorimetry, DSC*) je toplinska metoda određivanja temperature i toplinskih tokova povezanih s faznim prijelazima u materijalima. Mjeri se dovedena ili oslobođena toplina u odnosu na referentni uzorak uz linearni porast temperature³. Provedena mjerenja daju kvalitativne i kvantitativne podatke o fizikalnim i kemijskim procesima koji uključuju promjenu toplinskog kapaciteta te endotermne ili egzotermne promjene. Nakon vaganja referentni i ispitivani uzorak se podvrgavaju kontroliranoj temperaturi te se mjeri diferencijalna toplina potrebna za održavanje uzoraka pri istoj temperaturi. Ova metoda je primjenjivana na uzorke različitih struktura; od tekućina, praškastih materijala pa do plastike, gume, keramike i slično. Vrlo je korisna jer se njome mogu odrediti karakteristične temperature taljenja, kristalizacije i staklastog prijelaza, a koristi se i za mjerenje entalpije, specifičnih toplinskih kapaciteta, oksidacijske stabilnosti itd. Ispitivanja toplinskih svojstava dobivenih čvrstih disperzija provedena su na diferencijalnom pretražnom kalorimetru pod nazivom Mettler Toledo 822^e. Mjerenja su provedena u struji dušika protoka $60 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$, brzinom od $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ u dva ciklusa zagrijavanja. U prvom ciklusu zagrijavanja uzorak je grijan na temperaturama u rasponu od 30 do $300 \text{ }^\circ\text{C}$ nakon čega je ohlađen na temperaturu od $30 \text{ }^\circ\text{C}$. U drugom ciklusu zagrijavanja uzorak je opet zagrijan na temperaturu od $300 \text{ }^\circ\text{C}$.

Kao rezultat mjerenja dobiva se DSC termogram koji prikazuje ovisnost signala, koji je proporcionalan razlici dovedene topline ispitivanog i referentnog uzorka, o temperaturi i vremenu. Njihovom analizom dobiva se uvid u temperature karakterističnih faznih prijelaza čvrsto-kapljevito i kapljevito-čvrsto koje su važne za definiranje procesnih uvjeta.



Slika 22. Fotografija diferencijalnog pretražnog kalorimetra Mettler Toledo 822°
(Mettler Toledo GmbH, Greifensee, Švicarska)

3.5.4. Testovi topljivosti

Topljivost nekog spoja u otapalu često je presudna za njegovu potencijalnu upotrebu jer predstavlja maksimalnu stabilnu koncentraciju pripremljene otopine. Testovi topljivosti (*engl. Saturation solubility tests*) provode se s ciljem određivanja količine otapala koja je potrebna za otapanje određene tvari. Drugim riječima, testovi topljivosti provode se za određivanje najveće koncentracije otopljene tvari u otapalu. U farmaceutskoj industriji testovi topljivosti mogu se koristiti za određivanje najveće doze lijeka koja se može lako apsorbirati oralno te za određivanje najveće koncentracije koju može sadržavati intravenozna doza lijeka.

U ovom istraživanju testovi topljivosti provedeni su u laboratorijskoj inkubatorskoj tresilici u trajanju od dvadeset četiri sata na temperaturi 37 °C. Testirana je topljivost lurasidon-hidroklorida u uzorcima čvrstih disperzija kako bi se utvrdilo je li povećana topljivost djelatne tvari pripremom čvrstih disperzija. Uzorci čvrstih disperzija otopljeni su u McIlvaine puferu. McIlvaine ili citratno-fosfatni pufer je otopina limunske kiseline i dinatrijev hidrogen fosfata koja može biti pripremljena u širokom rasponu pH vrijednosti (od pH 2,2 do pH 8). McIlvaine pufer koji je korišten za provođenje testova topljivosti je pH 3,8. Koncentracija otopljene tvari određena je UV/Vis spektrofotometrijom.

3.6. Karakterizacija raspadljivih tableta za usta

3.6.1. Ujednačenost masa tableta

Definirana je ciljana masa svake tablete od 200 mg te je stoga bilo potrebno provjeriti ujednačenost mase tableta. Ujednačenost mase testira se vaganjem (slika 23) na uzorku od 10 tableta.



Slika 23. Fotografija analitičke vage KERN ALJ 220-4NM
(KERN, Balingen, SR Njemačka)

3.6.2. Raspadljivost tableta

Raspadljivost tableta određuje se prema metodi definiranoj Europskom Farmakopejom (*European Pharmacopoeia*, 2.9.1. metoda A) prema kojoj se detektira vrijeme potrebno za potpuno raspadanje dozirnog oblika. Nastoji se ostvariti raspadanje oralnog dozirnog oblika u usnoj šupljini bez primjene vode unutar 3 minute. Koristi se uređaj za ispitivanje raspadljivosti tableta (slika 24) koji sadrži 6 otvorenih kiveta. U svaku se kivetu dodaje demineralizirana voda i po jedna tableta (6 tableta ukupno) te se istovremeno određuje njihova raspadljivost. Uzorci se održavaju na temperaturi 37 ± 2 °C i mjerenje se provodi s 29 - 32 ciklusa u jednoj minuti.



Slika 24. Fotografija uređaja za ispitivanje raspadljivosti tableta ZT 322 (Erweka GmbH, Langen, SR Njemačka)

3.6.3. Sadržaj djelatne tvari u tabletama

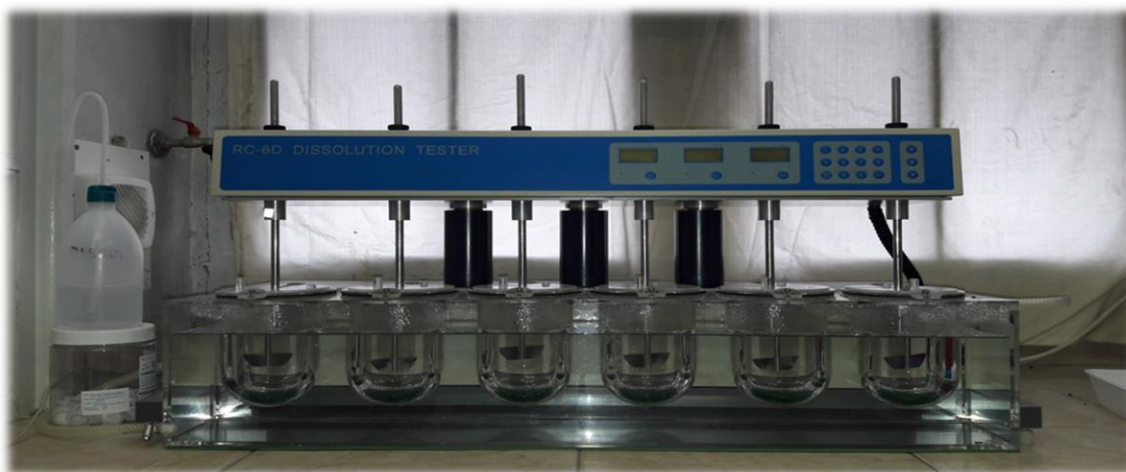
Potrebno je odrediti sadržaj LRS HCL u raspadljivim tabletama kako bi se moglo deklarirati da tableta sadrži ciljanih 20 mg djelatne tvari. Sadržaj djelatne tvari se određuje UV/Vis spektrofotometrijom na uzorku od 10 tableta (slika 25).



Slika 25. Fotografija spektrofotometra UV-1280 (Shimadzu, Kyoto, Japan)

3.6.4. Oslobođanje djelatne tvari iz tableta

Profil oslobađanja (*release profile*) djelatne tvari prikazuje se promjenom koncentracije otopljenog lurasidon-hidroklorida s vremenom testiranja ($c = f(t)$). Profili se određuju za pripravljene oralne dozirne oblike koji sadrže čvrstu disperziju LIO i fizikalnu mješavinu istog sastava pripravljenu granuliranjem GRAN. Testovi topljivosti provode se u laboratorijskom okruženju (*in vitro*), u McIlvaine puferu (900 mL, pH = 3,8) pri temperaturi 37,5 °C, uz broj okretaja miješala s lopaticama od 50 min⁻¹ (metoda *USP Apparatus II Paddle*) na uređaju prikazanom na slici 26. Uzorkuje se svakih 1, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 105 i 120 minuta te se UV/Vis spektrofotometrijom određuju koncentracije otopljenog lurasidon-hidroklorida u svakom pojedinom vremenu uzorkovanja. Programskim dodatkom *DDSolver* analizirani su profili oslobađanja lurasidon-hidroklorida iz raspadljivih tableta za usta. U obradi podataka topljivosti (*dissolution data*) koristi se mogućnost analize s korekcijom volumena budući da se svakim uzorkovanjem mijenja volumen medija, a ne dodaje se nova količina pufera. Dodatno, testira se primjenjivost postojećih modela (sadržani u *DDSolveru*) u opisu profila oslobađanja lurasidon-hidroklorida iz raspadljivih tableta.



Slika 26. Fotografija uređaja za ispitivanje oslobađanja djelatne tvari RC-6D (Zhengzhou Nanbei Instrument, Henan, NR Kina)

4. REZULTATI I RASPRAVA

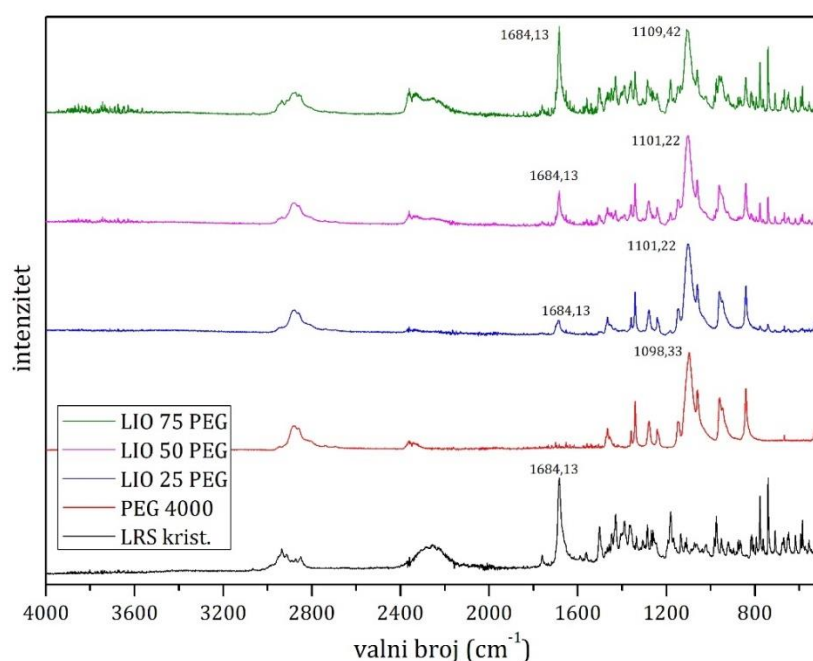
4.1. Karakterizacija čvrstih disperzija dobivenih liofilizacijom

4.1.1. Fourier-transformirana infracrvena spektroskopija

Rezultati Fourier-transformirane infracrvene spektroskopije kristalnog lurasidon-hidroklorida (LRS krist.) i poli(etilen-glikola) (PEG) te liofilizata s udjelom djelatne tvari 25, 50 i 75 % (LIO 25, LIO 50 i LIO 75) prikazani su na slici 27.

Usporedbom spektara čistih komponenata i uzoraka čvrstih disperzija dobivenih liofilizacijom (LIO), ne uočava se pomak apsorpcijskih maksimuma koji bi mogli potencijalno ukazati na prisutnost interakcija između djelatne tvari i polimerne matrice (npr. vezivanje vodikovom vezom).

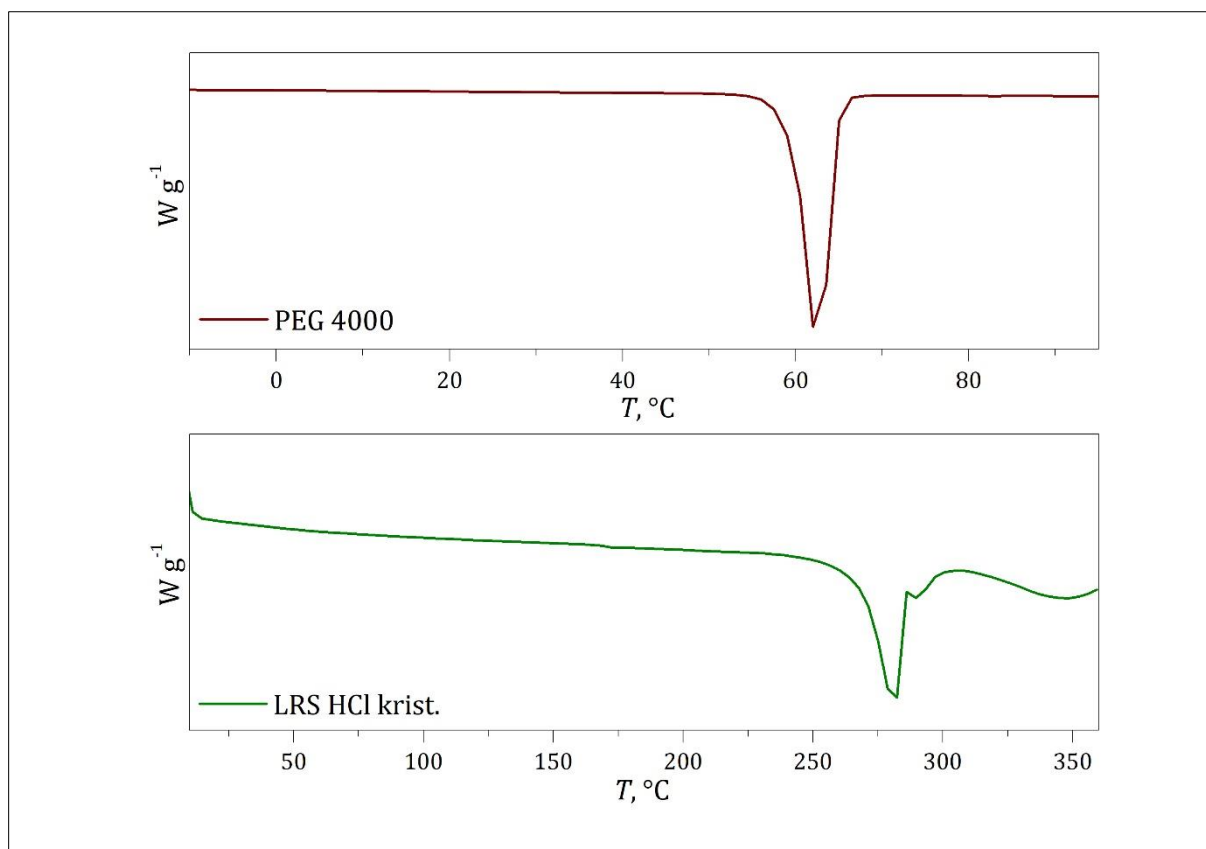
FTIR spektar ishodnog, kristalnog lurasidon-hidroklorida pokazuje karakteristične apsorpcijske vrpce na $1684,13\text{ cm}^{-1}$ (C=O rastezanje). U slučaju polimera poli(etilen-glikola) karakteristična apsorpcijska vrsta detektirana je na $1098,33\text{ cm}^{-1}$ (C-O-C rastezanje). Potencijalno moguće interakcije su interakcije između karbonilne skupine u molekuli lurasidon-hidroklorida i hidroksilne skupine polimera. Pomaci apsorpcijskih maksimuma nisu uočeni, budući da su u svim liofiliziranim uzorima vibracije istezanja karbonilne veze u molekuli LRS HCl pri $1684,13\text{ cm}^{-1}$, kao i u ishodnom, čistom LRS HCl. Intenzitet navedenog maksimuma smanjuje se porastom udjela polimera u pripremljenim uzorcima.



Slika 27. FTIR spektri djelatne i polimerne tvari te liofilizata

4.1.2. Diferencijalna pretražna kalorimetrija

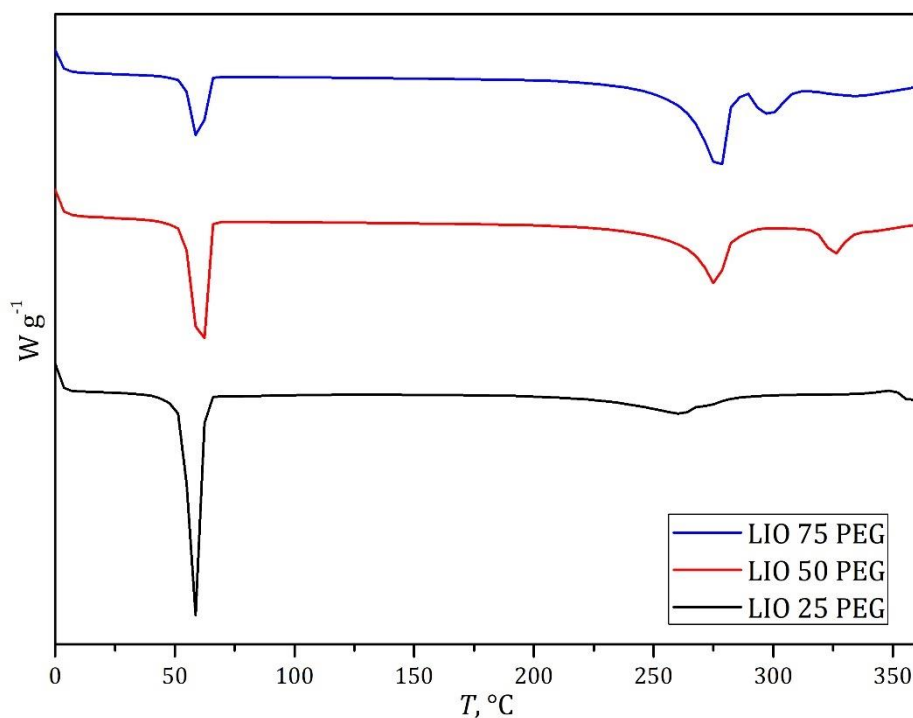
Na slici 28. prikazani su DSC termogrami čistih komponenti, dok su na slici 27. prikazani DSC termogrami uzoraka liofilizata (LIO 25, LIO 50 i LIO 75).



Slika 28. DSC termogrammi čistih komponenti

Iz termograma ishodnog, kristalnog LRS HCl prikazanog na slici 28. uočava se endotermni prijelaz taljenja u temperaturnom području od ~280 do ~300 °C s minimumima pri 284,94 i 290,54 °C koji odgovaraju taljenju LRS HCl. Na termogramu PEG-a (slika 28.) vidljiv je endotermni prijelaz u području temperatura od ~55 do ~65 °C koji odgovara taljenju polimerne tvari.

Prijelazi taljenja svojstveni kristalnim tvarima uočeni su u svim pripremljenim uzorcima. U slučaju amorfizacije čestica djelatne tvari postupkom liofilizacije, izostanak karakterističnih pikova taljenja LRS HCl bio bi vidljiv. U uzorku oznake LIO 25 PEG koji sadrži najveći udio polimerne tvari, uočen je pomak tališta LRS HCl prema nižim vrijednostima temperature. Taljenje djelatne tvari na nižim temperaturama može biti posljedica otapanja djelatne tvari u polimeru za vrijeme provedbe mjerenja i/ili indicacija potencijalnih interakcija dviju komponenti.

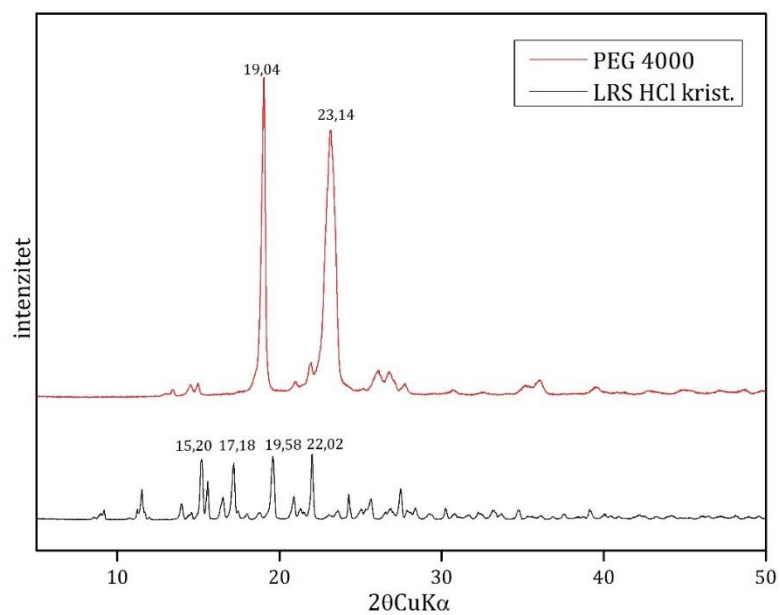


Slika 29. DSC termogrami uzoraka liofilizata

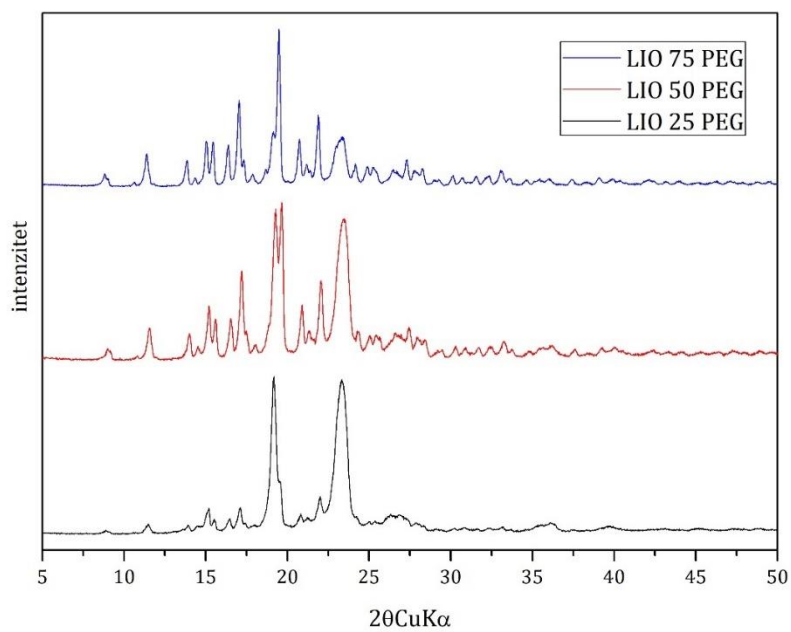
4.1.3. Rendgenska difrakcijska analiza

Rendgenskom difrakcijskom analizom praha utvrđen je fazni sastav pripremljenih čvrstih disperzija. Rezultati rendgenske difrakcijske analize polimera i čistog LRS HCl prikazani su na slici 30. Na slici 31. prikazani su difraktogrami uzoraka čvrstih disperzija dobivenih sušenjem smrzavanjem. Iz difraktograma ishodnog, kristalnog LRS HCL vidljivi su oštri difrakcijski maksimumi pri vrijednostima kuta difrakcije (2θ) od $15,20^\circ$, $17,18^\circ$, $19,58^\circ$ i $22,02^\circ$ (slika 30.) koji jasno ukazuju na kristalnu strukturu.

Svi navedeni maksimumi uočeni su i u uzorcima čvrstih disperzija pripremljenih liofilizacijom (slika 30). Sukladno tome, zaključuje se da sušenjem smrzavanjem nije došlo do promjene faznog sastava pripremljenih uzoraka.



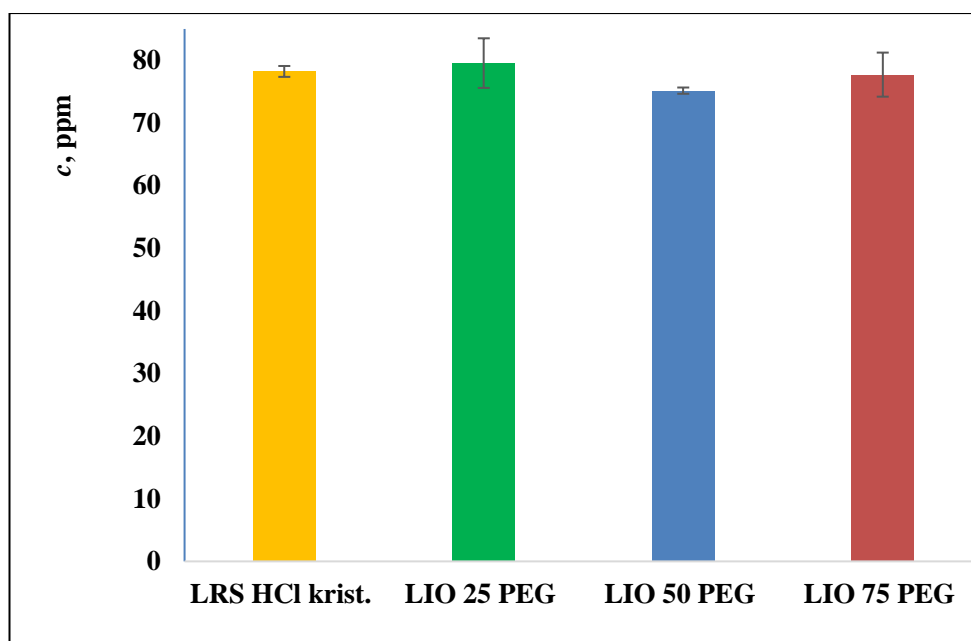
Slika 30. Difraktogram čistih komponentata – djelatne tvari i polimera



Slika 31. Difraktogram uzoraka čvrstih disperzija dobivenih liofilizacijom

4.1.4. Testovi topljivosti

Prividna topljivost čistog lurasidon-hidroklorida (LRS HCl krist.), te lurasidon-hidroklorida u disperzijama s poli(etilen-glikolom) prikazuje se usporedno na slici 32.



Slika 32. Usporedni prikaz prividne topljivosti djelatne tvari; čista komponenta vs. liofilizati

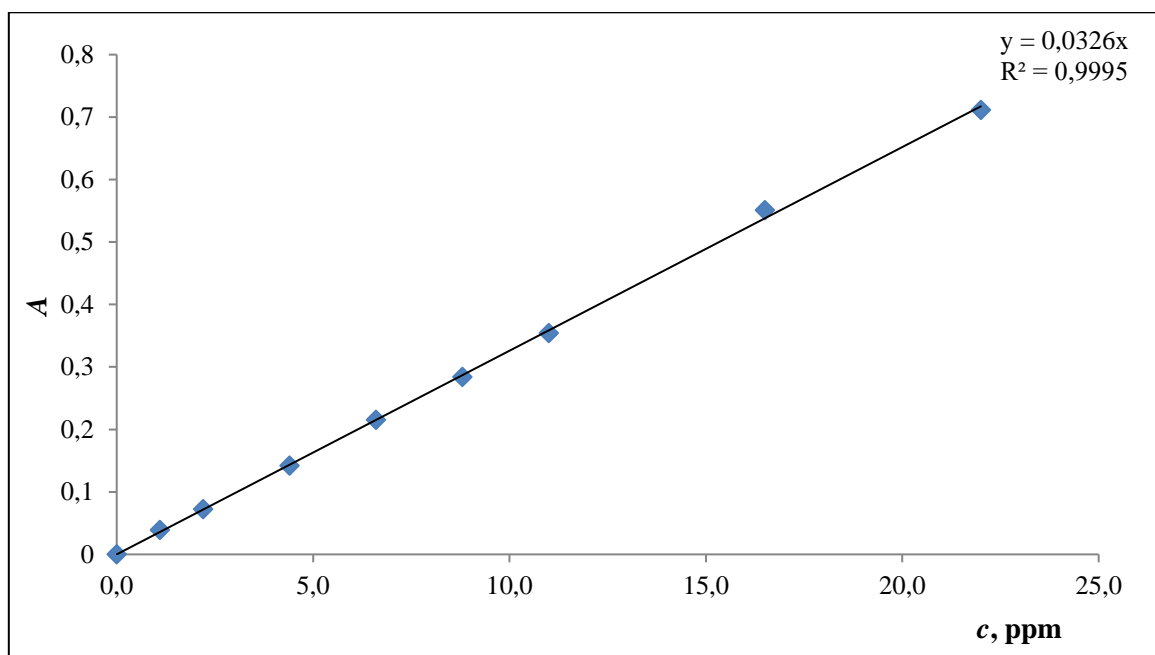
Testovi topljivosti ukazuju da nije došlo do povećanja prividne topljivosti LRS HCl u disperzijama s PEG-om kao polimernom matricom u odnosu na čistu komponentu, kristalni LRS HCl. Prikazani rezultati srednja su vrijednost triju mjerenja, uz prikaz odstupanja podataka od srednje vrijednosti standardnom devijacijom. Moguće je da su dobiveni rezultati posljedica činjenice da se LRS HCl ne nalazi u prezasićenom stanju. Dodatno, vjerojatno je da nije uspostavljeno ravnotežno stanje, za koje je potrebno duže miješanje, ili da je do uspostave ravnoteže došlo pri znatno nižim temperaturama, budući da je eksperiment proveden pri temperaturama znatno nižima od sobne.

U ovom istraživanju, za sada, izostaju *in vitro* ispitivanja topljivosti. Testovi topljivosti u laboratorijskom okruženju metoda (*USP Apparatus II Paddle*) na konačnom dozirnomo obliku odnosno na uzorcima raspadljivih tableta, ne disperzija kao međuproizvoda, vjeruje se, ukazali bi na povećanu topljivost i brže oslobađanje lurasidon-hidroklorida iz raspadljivih tableta pripremljenih iz čvrstih disperzija i granulata u odnosu na one koje sadrže čistu djelatnu tvar i fizikalnu mješavinu djelatne tvari i polimera.

Tablica 7. Prikaz apsorbancija i koncentracija liofilizata u tri mjerenja

UZORAK	A (-)	c (ppm)	c _{stvarna} (ppm)
SP (pufer)	0,000		
LIO 25 PEG 1	0,242	7,42	74,23
LIO 25 PEG 2	0,273	8,37	83,74
LIO 25 PEG 3	0,263	8,07	80,67
LIO 50 PEG 1	0,245	7,52	75,15
LIO 50 PEG 2	0,247	7,58	75,77
LIO 50 PEG 3	0,243	7,45	74,54
LIO 75 PEG 1	0,240	7,36	73,62
LIO 75 PEG 2	0,268	8,22	82,21
LIO 75 PEG 3	0,252	7,73	77,30

Baždarna krivulja (slika 33) dobivena je snimanjem apsorbancije na UV/ViS spektrofotometru na pripremljenih 8 poznatih koncentracija liofiliziranih uzoraka (tablica 7).



Slika 33. Umjerni pravac

4.2. Karakterizacija raspadljivih tableta

4.2.1. Ujednačenost masa tableta

Ujednačenost masa tableta provedena je na uzorku od 10 tableta pri čemu je ciljana masa svake tablete bila 200 mg. Kao što je vidljivo iz tablice 8 tablete koje su u sebi sadržavale čvrstu disperziju pripravljenu liofilizacijom, pokazuju znatno odstupanje od ciljanih 200 mg.

Tablica 8. Ujednačenost masa na uzorku od 10 tableta za GRAN 50, GRAN 75, LIO 50 i LIO 75

Tableta	GRAN 50, mg	GRAN 75, mg	LIO 50, mg	LIO 75, mg
1	188,8	198,8	191,1	213,2
2	188,5	200,2	200,9	207,2
3	189,4	203,3	191,0	207,6
4	190,3	202,5	191,0	208,3
5	190,4	202,0	201,0	207,3
6	189,6	203,0	192,3	199,8
7	190,3	202,1	195,6	213,0
8	190,0	200,3	204,4	198,6
9	187,9	200,2	191,2	197,6
10	189,1	200,4	205,0	211,9
<i>m</i>_{sr.} (mg)	189,4	201,3	196,4	206,5
SD (mg)	0,9	1,5	5,9	5,9

4.2.2. Testovi raspadljivosti

Nakon što je utvrđeno je li masa svake pojedine tablete bliska 200 mg, provedeni su i testovi raspadljivosti kojima se detektiralo vrijeme potrebno za potpuno raspadanje dozirnih oblika. Tablice 9 i 10 sadrže rezultate provedenih testova raspadanja. Budući da je srednje vrijeme raspadljivosti u svakom od sustava ispod 180 sekundi, može se zaključiti da sve tablete odgovaraju definiciji raspadljivih tableta za usta sukladno smjernicama *Ph. Eur.*⁵

Tablica 9. Vrijeme raspadljivosti za tablete LIO 50 i LIO 75

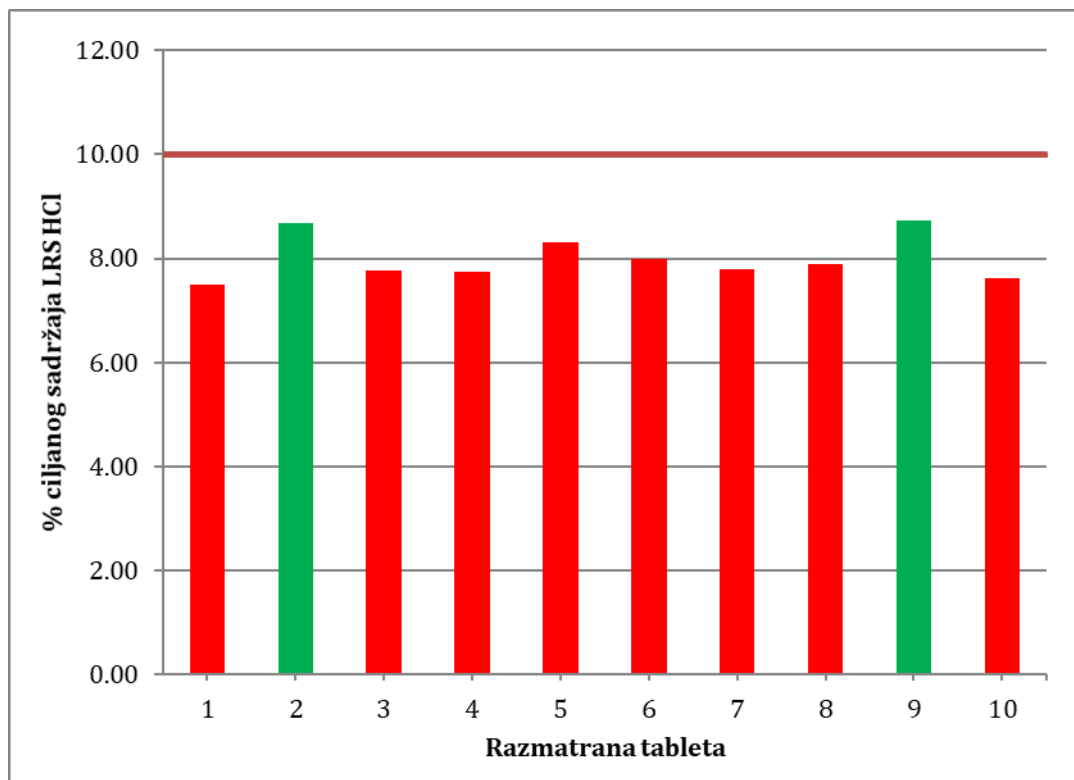
Tableta	Uzorak	<i>t</i> (s)	Uzorak	<i>t</i> (s)
1		80		29
2		125		35
3		35		81
4	LIO 50	110	LIO 75	39
5		132		50
6		55		55
7		66		48
	<i>t</i> _{sr.} (s)	86,14	<i>t</i> _{sr.} (s)	48,14

Tablica 10. Vrijeme raspadljivosti za tablete GRAN 50 i GRAN 75

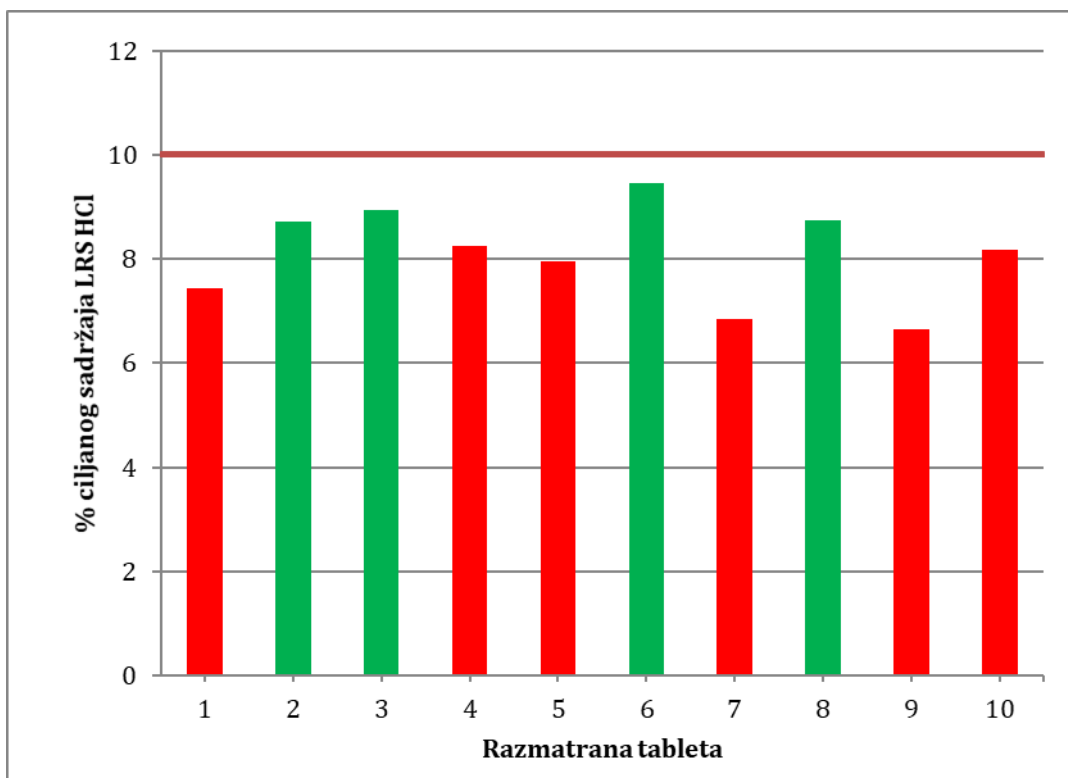
Tableta	Uzorak	<i>t</i> (s)	Uzorak	<i>t</i> (s)
1		30		23
2		26		24
3		28		24
4	GRAN 50	30	GRAN 75	23
5		29		25
6		30		23
7		28		24
	<i>t</i> _{sr.} (s)	28,71	<i>t</i> _{sr.} (s)	23,71

4.2.3. Sadržaj lurasidon-hidroklorida u raspadljivim tabletama

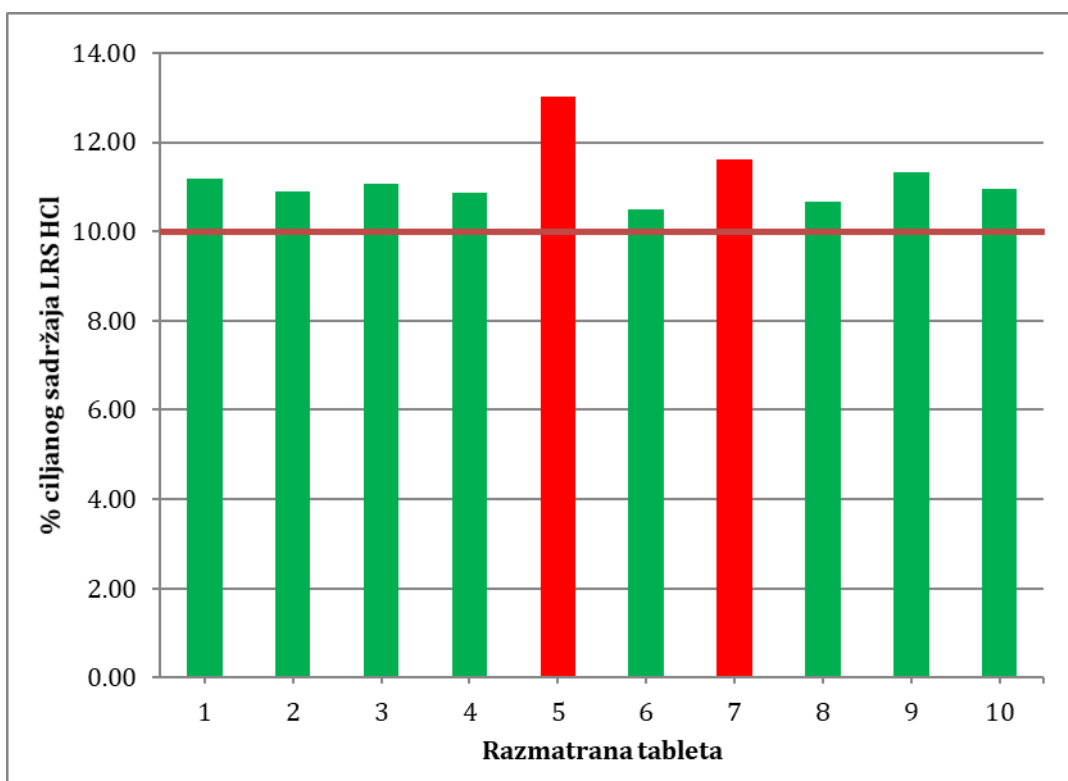
Na slikama 34.-37. prikazuje se sadržaj odnosno ujednačenost sadržaja lurasidon-hidroklorida na uzorku od 10 tableta s dozvoljenim odstupanjima za uzorke raspadljivih tableta LIO50, LIO75, GRAN50 i GRAN75.



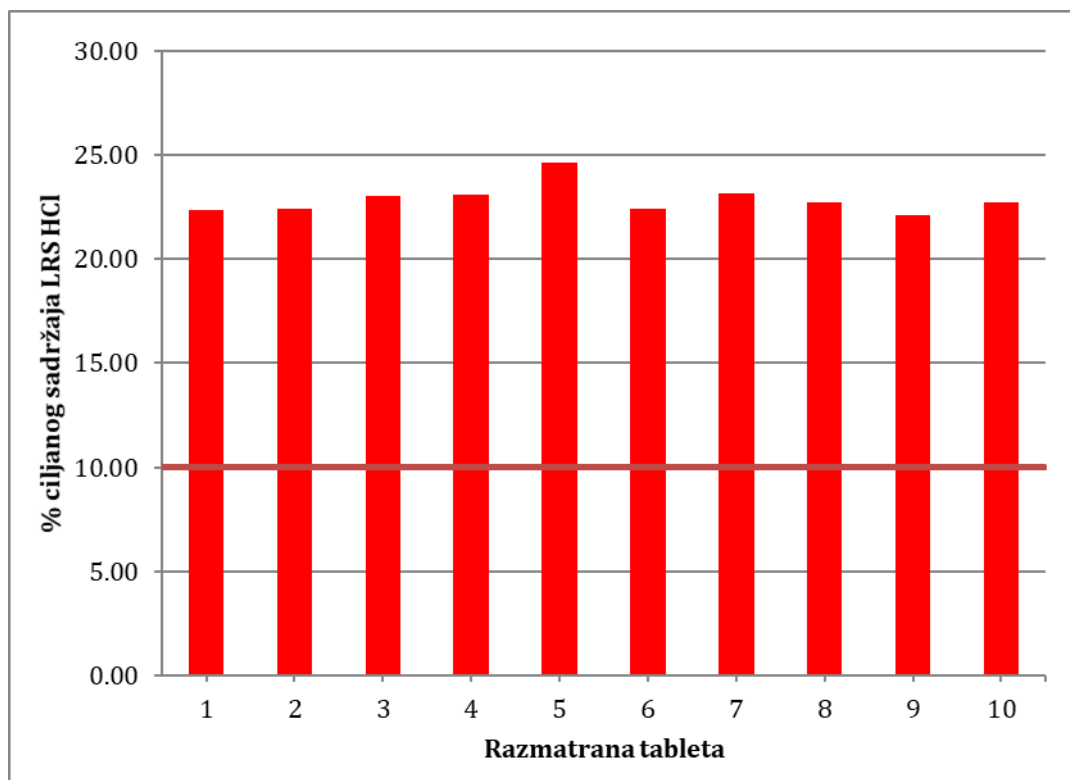
Slika 34. Sadržaj LRS HCl u tabletama LIO50 PEG sa zeleno označenim tabletama koje zadovoljavaju dozvoljena odstupanja ($\pm 15\%$)



Slika 35. Sadržaj LRS HCl u tabletama LIO75 PEG sa zeleno označenim tabletama koje zadovoljavaju dozvoljena odstupanja ($\pm 15\%$)



Slika 36. Sadržaj LRS HCl u tabletama GRAN50 PEG sa zeleno označenim tabletama koje zadovoljavaju dozvoljena odstupanja ($\pm 15\%$)



Slika 37. Sadržaj LRS HCl u tabletama GRAN75 PEG sa zeleno označenim tabletama koje zadovoljavaju dozvoljena odstupanja ($\pm 15\%$)

UV/Vis spektrofotometrijom određen je sadržaj djelatne tvari u svakoj pojedinoj tableti. Ciljani udjel djelatne tvari bio je 20 mg, tj. 10 % od ukupne mase tablete. Dobiveni rezultati sadržaja djelatne tvari za tablete GRAN50 (slika 36.) pokazuju zadovoljavajući sadržaj djelatne tvari s izuzetkom 5. i 7. tablete čiji udjel nadilazi dozvoljenih 15 % odstupanja. Na slikama 34. i 35. može se vidjeti kako veći broj tableta LIO50 i LIO75 odstupa od dozvoljenih 15 % , dok za tablete GRAN75 veliko odstupanje možemo vidjeti na svim tabletama (Slika 37.).

4.2.4. Oslobođanje lurasidon-hidroklorida iz raspadljivih tableta

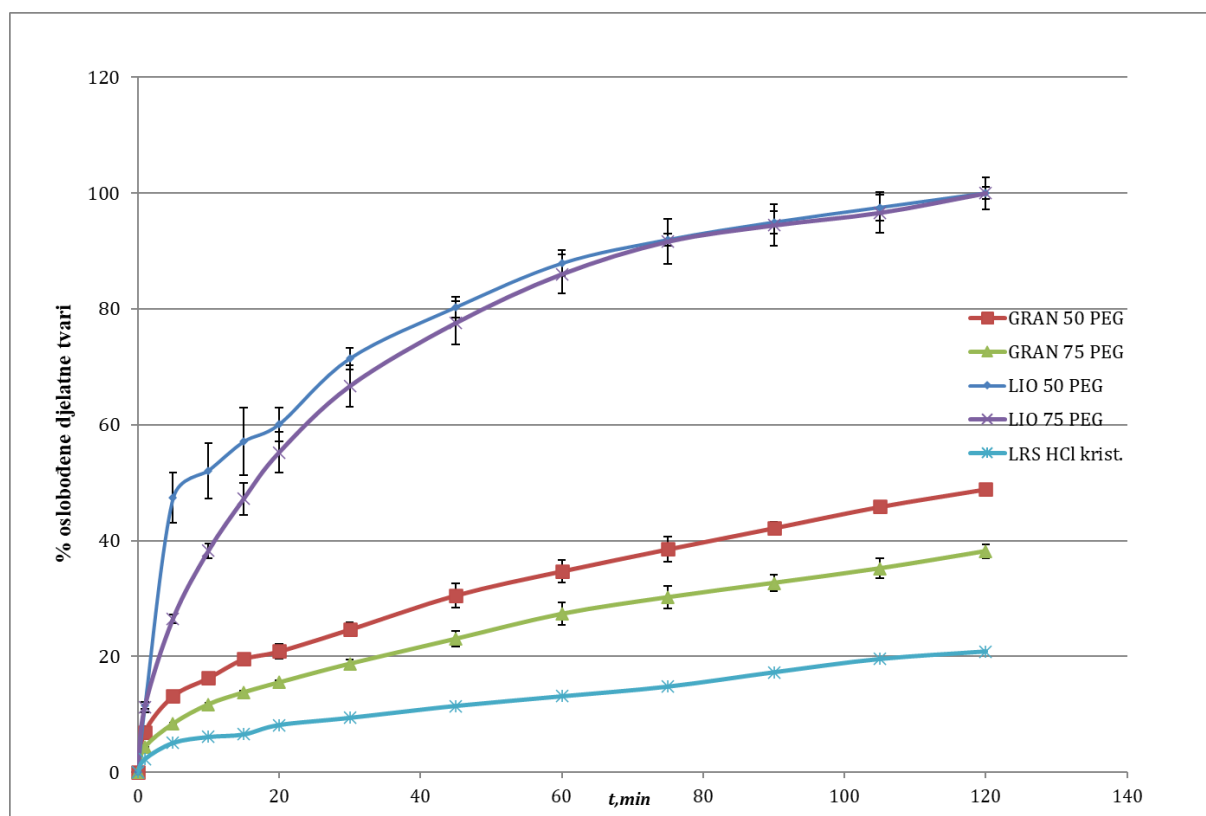
In vitro testovima otapanja detektirani su profili oslobođanja lurasidon-hidroklorida iz raspadljivih tableta GRAN50, GRAN75, LIO50, LIO75 i LRS HCl krist. Dobivenim profilima oslobođanja, prikazanima na slici 38, potvrđuje se hipoteza istraživanja. Količina otopljenog, brzina i doseg otapanja lurasidon-hidroklorida značajno je veća iz tableta koje sadrže čvrstu disperziju odnosno granuliranu mješavinu u odnosu na one u kojima je prisutna čista kristalna djelatna tvar bez polimerne matrice (LRS HCl krist.). Pripravom čvrstih disperzija liofilizacijom i granuliranjem povećava se topljivost djelatne tvari i postiže bolji profil oslobođanja lurasidon-hidroklorida.

Na slici 38 uočava se bolja topljivost lurasidon-hidroklorida u tabletama koje su pripravljene iz čvrstih disperzija liofilizacijom (LIO50 i LIO75) u odnosu na tablete koje su dobivene granuliranjem (GRAN50 i GRAN 75). Primjećuje se kako u sustavima LIO 50 i LIO 75 se djelatna tvar znatno bolje otapa nego u sustavima GRAN50 i GRAN 75. Primjerice, u vremenu $t = 20$ min, kod tablete GRAN50 otopljeno je 20 % početne koncentracije LRS HCl-a, dok je u istom vremenu kod tablete LIO50 otopljeno 60 % početne koncentracije LRS HCl-a. U vremenu $t = 120$ min može se vidjeti kako je u oba sustava liofilizata LIO50 i LIO75 otopljeno gotovo 100 % početne koncentracije LRS HCl-a, dok je u istom vremenu u sustavu GRAN50 otopljeno svega 50 % početne koncentracije LRS HCl-a.

Naime, faznim prijelazima otapanja i taljenja, kakvi se koriste u pripravi čvrstih disperzija (LIO), moguće je pripremiti disperzni sustav u kojem je mješljivost odnosno raspodijeljenost (dispergirano) djelatne tvari u polimernoj matrici ostvarena na molekularnoj razini (*molecular-level mixing*). U takvom disperznom sustavu u kojem je djelatna tvar raspodijeljena u masi polimernog nosioca na razini molekula ostvarive su međumolekulske interakcije (*drug-polymer interactions*), poput vodikovih veza, koje doprinose povećanju topljivosti. Molekularna disperzija (*molecular dispersion*) djelatne tvari u matrici polimernog nosača rezultira specifičnim interakcijama među molekulama djelatne tvari i polimera te značajno doprinose povećanju topljivosti.¹⁵ Tradicionalnim miješanjem, homogeniziranjem te eventualnim granuliranjem (GRAN), koji se koriste u pripravi fizikalnih mješavina djelatne tvari i polimera, nije moguće postići takvu razinu raspodijeljenosti odnosno disperzije, a time i takav efekt povećanja topljivosti. Mješljivost je u ovakvim disperznim sustavima ostvarena na makro-razini.

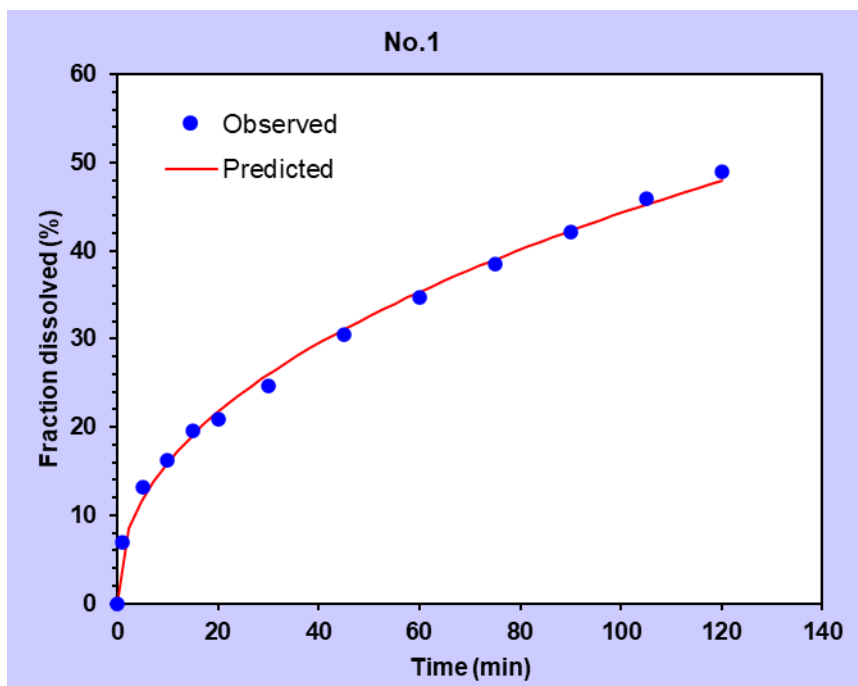
Usporedbom dva sustava dobivena liofilizacijom možemo uočiti da je kod sustava LIO50 otopljeno više LRS HCl-a u odnosu na sustav LIO75 (slika 38.). Isti trend vidljiv je kod sustava dobivenih granuliranjem. Naime, u sustavu GRAN50 otopljeno je više LRS HCl-

a za isto vrijeme testiranja u odnosu na sustav tableta GRAN75. Uzorci LIO50 i GRAN50 sadrže više hidrofilne polimerne matrice kojom nastojimo povećati topljivost djelatne tvari. U takvim uvjetima očekuje se da će količina oslobođenog lurasidon-hidroklorida u istim vremenima testiranja biti veća za uzorke LIO50 i GRAN50.

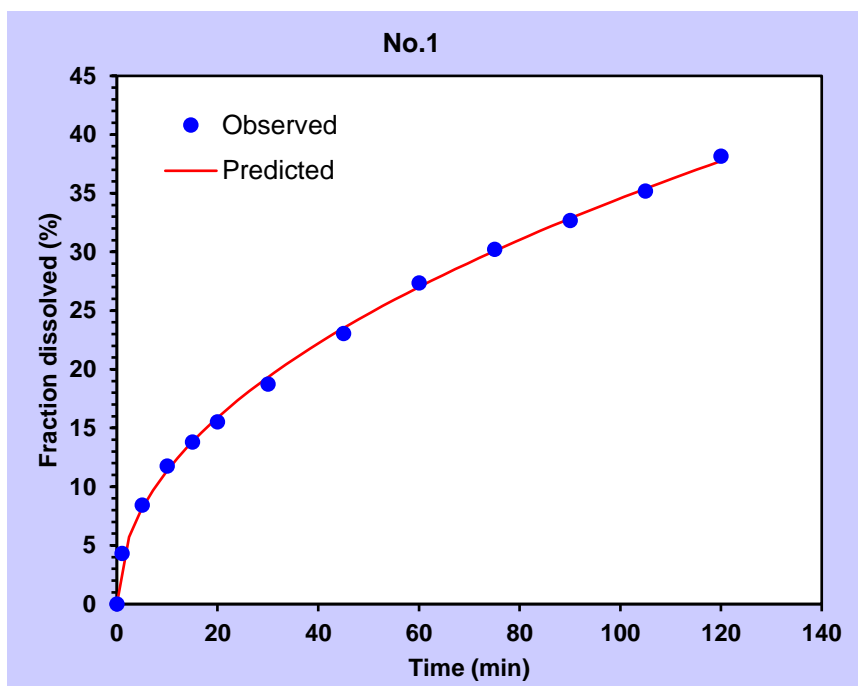


Slika 38. Usporedni prikaz profila oslobađanja lurasidon-hidroklorida za tablete GRAN50, GRAN75, LIO50, LIO75 i LRS HCl krist.

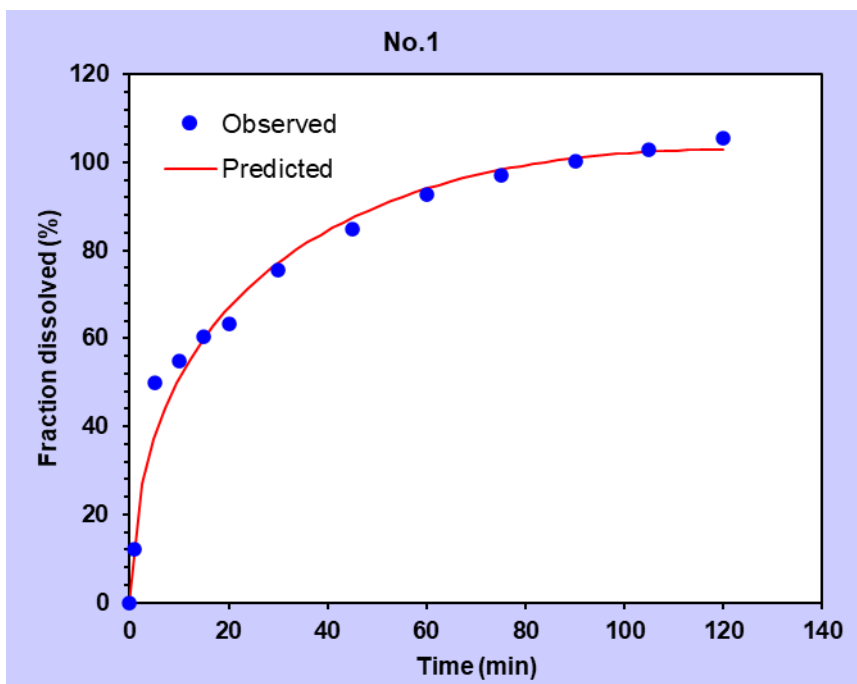
Na tim eksperimentalnim podacima topljivosti (*dissolution data*), dobivenim *in vitro* testovima otapanja i prikazanim na slici 38, testirana je primjenjivost modela za opis profila oslobađanja lurasidon-hidroklorida iz raspadljivih tableta GRAN50, GRAN75, LIO50 i LIO75. Testirani su svi modeli sadržani u programskom dodatku *DDSolver*. Rezultati testiranja prikazuju se slikama 39-42 i tablicom 11. Prikazuju se usporedno eksperimentalni podatci topljivosti (na slikama *observed*) i oni dobiveni predviđanjem (na slikama *predicted*) odnosno modelom najviše prilagođene R_p^2 vrijednosti koji pokazuje najbolje slaganje. Ne prikazuje se mogućnost opisivanja profila oslobađanja za ostale modele.



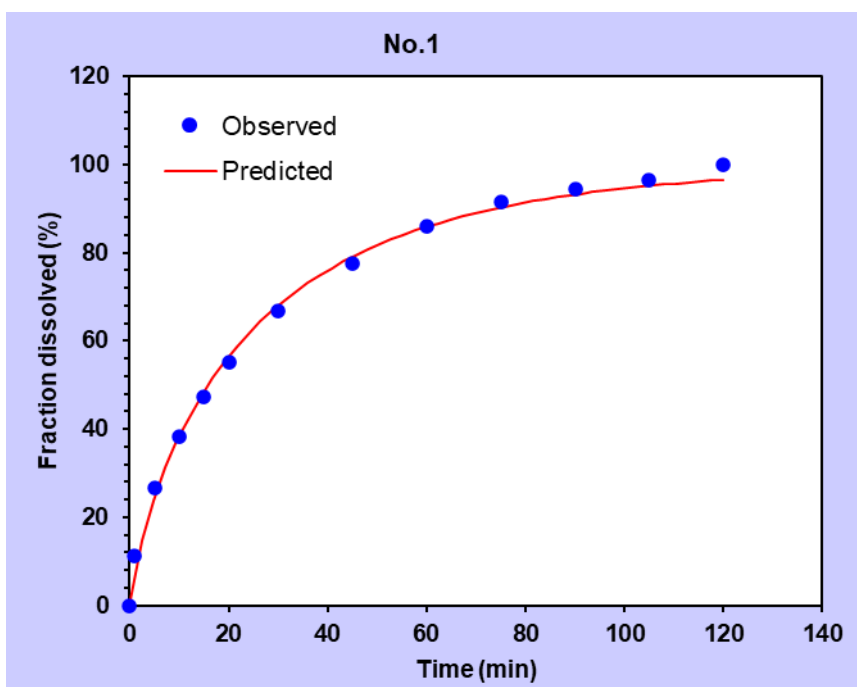
Slika 39. Testiranje primjenjivosti Korsmeyer-Peppas modela u opisu profila oslobađanja lurasidon-hidroklorida iz tableta GRAN50



Slika 40. Testiranje primjenjivosti Korsmeyer-Peppas modela u opisu profila oslobađanja lurasidon-hidroklorida iz tableta GRAN75



Slika 41. Testiranje primjenjivosti Peppas-Sahlin modela u opisu profila oslobađanja lurasidon-hidroklorida iz tableta LIO50



Slika 42. Testiranje primjenjivosti Weibull modela u opisu profila oslobađanja lurasidon-hidroklorida iz tableta LIO75

U tablici 11 prikazane su prilagođene R_p^2 vrijednosti za modele koji pokazuju najbolje slaganje s eksperimentalnim podacima topljivosti. Vidljivo je kako sustave GRAN50 i GRAN75 najbolje opisuje Korsmeyer-Peppas model, dok su kod sustava LIO50 i LIO75 to modeli Peppas-Sahlin i Weibull.

Tablica 11. Opis profila oslobađanja modelom; prilagođene R_p^2 vrijednosti i parametri modela

Sustav	LIO50	LIO75	GRAN50	GRAN75
Model	Peppas-Sahlin pril. $R_p^2 = 0,9813$	Weibull pril. $R_p^2 = 0,9968$	Korsmeyer-Peppas pril. $R_p^2 = 0,9968$	Korsmeyer-Peppas pril. $R_p^2 = 0,9990$
Parametri	$k_1 = 18,792 \text{ \% min}^{-m}$ $k_2 = -0,859 \text{ \% min}^{-m/2}$	$\alpha = 12,497$ $\beta = 0,781$	$k_{KP} = 5,767 \text{ \% min}^{-n}$ $n = 0,443$	$k_{KP} = 3,738 \text{ \% min}^{-n}$ $n = 0,483$

Peppas-Sahlin model

$$Q_t = k_1 t^m + k_2 t^{2m}$$

Weibull model

$$Q_t/Q_\infty = 1 - \exp\left[\frac{-(t^\beta)}{\alpha}\right]$$

Korsmeyer-Peppas model

$$Q_t/Q_\infty = k_{KP} t^n$$

5. ZAKLJUČAK

Postupkom liofilizacije pripravljene su čvrste disperzije lurasidon-hidroklorida i poli(etilen-glikola) u različitim masenim odnosima. Dodatno, pripravljene su i granulirane mješavine djelatne i pomoćnih tvari.

Rendgenska difrakcijska analiza praha ukazuje da liofilizacijom nije došlo do promjene faznog sastava pripremljenih uzoraka. Fourier-transformiranom infracrvenom spektroskopijom ne dokazuje se prisutnost specifičnih interakcija između djelatne tvari i polimerne matrice.

Diferencijalna pretražna kalorimetrija ukazuje na dobru pripravu mješavina u čvrstim disperzijama. Ne dokazuje se amorfizacija čestica djelatne tvari.

Čvrstim disperzijama pripremljenima liofilizacijom nije ostvaren porast prividne topljivosti djelatne tvari.

Dobivene su tablete primjetnog odstupanja od ciljane mase, većeg u slučaju tabletiranja mješavine liofilizata i pomoćnih tvari.

Sve pripravljene tablete po testu raspadljivosti udovoljavaju smjernicama *Ph. Eur.* te se mogu klasificirati kao raspadljive tablete za usta.

Ostvaren je značajan porast topljivosti i brzine oslobađanja lurasidon-hidroklorida u tabletama koje sadrže čvrstu disperziju (LIO) u odnosu na tablete kod kojih je djelatna tvar ugrađena granuliranjem (GRAN). Svi sustavi pokazuju poboljšanu topljivost i oslobađanje djelatne tvari u odnosu na tablete koje sadrže kristalni i netretirani lurasidon-hidroklorid.

Korištenjem programskog dodatka *DDSolver* testirana je primjenjivost modela u opisu profila oslobađanja lurasidon-hidroklorida iz raspadljivih tableta.

6. LITERATURA

1. Zakon o lijekovima, NN 76/13, 90/14
Mrežna stranica https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_06_76_1522.html
(pristup 1. lipnja 2019.)
2. I. Andrić, 2018., Poboljšanje topljivosti lijeka primjenom sušenja s raspršivanjem, Završni rad, Sveučilište u Zagrebu
3. I. Gavran, 2018., Priprema raspadljivih tableta za usta primjenom liofilizacije, Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu
4. M. Carev, 2018., Primjena lijekova, (Powerpoint prezentacija s predavanja katedre za kliničke bolesti održanog u ak.god. 2018/2019. Na Medicinskom fakultetu u Splitu), Sveučilište u Splitu
5. European Pharmacopoeia, 2006., 5th ed., Council of Europe, p. 628.
6. N. Malekinušić, Utjecaj formulacije lijeka na otpuštanje djelatne tvari, Diplomski rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2018.
7. A.M. Bandov, Raspadljive tablete za usta, Diplomski rad, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb 2017.
8. P. Khadka, J. Ro, H. Kim, I. Kim, J.T. Kim, J.M. Cho, G. Yun, J. Lee, Pharmaceutical particle technologies: An approach to improve drug solubility, dissolution and bioavailability, Asian Journal of Pharmaceutical Sciences 9(6) (2014) 304–316
9. K.T. Savjani, A.K. Gajjar, J.K. Savjani, Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques. ISRN Pharmaceutics, (2012) 1–10
10. T. Vasconcelos, S. Marques, J. das Neves, B. Sarmento, Amorphous solid dispersions: Rational selection of a manufacturing process, Advanced Drug Delivery Reviews 100 (2016) 85-101
11. S. Janssens, G. Van Den Mooter, Review: physical chemistry of solid dispersions. J Pharm Pharmacol, 61 (2009) 1571-1586
12. B.P. Badgajar, A.S. Mundada, The technologies ideas for developing orally disintegrating tablets: A review. Acta Pharm, 61 (2011) 117-139
13. M. Durrigl, Priprava čvrstih disperzija za kontrolirano oslobađanje lijeka metodom sušenja raspršivanjem, Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Doktorski rad, 2011.
14. Đ. Medarević, S. Ibrić, J. Đuriš, Z. Đurić, Primena čvrstih disperzija u farmaceutskoj tehnologiji: postupci izrade i metode karakterizacije, Farmaceutski fakultet (2013) 473-493
15. W. L. Chiou, S. Riegelman, Pharmaceutical applications of solid dispersion systems., J Pharm Sci, 60, 1971, 1281-1302
16. V. Habuš, Liofilizacija lipidno-alginatnih nanočestica s deksametazonom, Diplomski rad, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb, 2017.
17. D.M. Newitt, J.M. Conway-Jones, A contribution to the theory and practice of granulation, Trans. I. Chem. Eng, 36 (1958) 422-441

18. M.D. Tousey, The granulation process 101, Basic technologies for tablet making, Pharm. Techn. (2008) 8-13
19. K. Žižek, Komparativna istraživanja granulacijskog procesa, Doktorska disertacija, Zagreb, Republika Hrvatska, 2010.
20. Đ. Medarević, S. Ibrić, J. Đuriš, Primena čvrstih disperzija u farmaceutskoj tehnologiji: postupci izrade i metode karakterizacije, Arh. farm., 2013, 63, 473-493
21. Pustak, Svojstva i primjena polimera u oblikovanju lijekova, Med. Vjesn., 2010, 42 (3-4), 213-229

7. POPIS SIMBOLA I AKRONIMA

Simboli korišteni u radu:

A	- apsorbancija (-)
c	- koncentracija djelatne tvari (ppm)
k_1, k_2	- konstante brzine oslobađanja 1 i 2 iz Peppas-Sahlin modela (% min ^{-m} , % min ^{-m/2})
k_{KP}	- konstanta brzine oslobađanja iz Korsmejer-Peppas modela (% min ⁻ⁿ)
m	- masa tablete (mg)
m_{sr}	- srednja masa tablete (mg)
n	- eksponent oslobađanja; parametar Korsmejer-Peppas modela (-)
R_p^2	- prilagođena vrijednost srednjeg kvadratnog odstupanja (-)
s	- standardna devijacija s centrom tendencije na aritmetičkoj srednjoj vrijednosti mase (mg)
t	- vrijeme raspadljivosti tableta (s) - vrijeme oslobađanja djelatne tvari (min)
t_{sr}	- srednje vrijeme raspadljivosti tableta (s)
V	- volumen pufera (mL)

Grčki simboli:

α	- parametar Weibull modela (-)
β	- parametar Weibull modela (-)
λ	- valna duljina zračenja (nm)
Θ	- difrakcijski kut (°)

Akronimi korišteni u radu:

API	- <i>Active Pharmaceutical Ingredient</i> , djelatna tvar
BCS	- <i>Biopharmaceutics Classification System</i> , Biofarmaceutski sustav klasifikacije djelatnih tvari
DSC	- <i>Differential Scanning Calorimetry</i> , diferencijalna pretražna kalorimetrija
FTIR	- <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i> , Fourier-transformirana infracrvena spektroskopija
GRAN	- granulirani uzorci (granulat)
LIO	- liofilizirani uzorci (liofilizat)
LRS HCl	- lurasidon-hidroklorid
ODT	- <i>Orally disintegrating tablet</i> , raspadljiva tableta za usta
PEG	- poli(etilen-glikol)
Ph. Eur.	- <i>European Pharmacopoeia</i> , Europska farmakopeja
XRPD	- <i>X-ray powder diffraction</i> , rendgenska difrakcija na praškastom uzorku