

Optimiranje uvjeta pripreve čvrstih disperzija djelatne tvari u planetarnom kugličnom mlinu

Juranović, Petra

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

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:149:450945>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-20**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Petra Juranović

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, srpanj 2023.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Petra Juranović

**OPTIMIRANJE UVJETA PRIPRAVE
ČVRSTIH DISPERZIJA DJELATNE TVARI
U PLANETARNOM KUGLIČNOM MLINU**

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada:

izv. prof. dr. sc. Krunoslav Žižek

Članovi ispitnog povjerenstva:

izv. prof. dr. sc. Krunoslav Žižek

prof. dr. sc. Stanislav Kurajica

dr. sc. Ana Petračić, poslijedoktorand

Zagreb, srpanj 2023.

*Eksperimenti u ovom istraživanju provedeni su u
Zavodu za mehaničko i toplinsko procesno inženjerstvo i
Zavodu za anorgansku kemijsku tehnologiju i nemetale
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 oralnog dozirnog oblika provodi se u
Zavodu za mehaničko i toplinsko procesno inženjerstvo
Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.*

SAŽETAK

OPTIMIRANJE UVJETA PRIPRAVE ČVRSTIH DISPERZIJA DJELATNE TVARI U PLANETARNOM KUGLIČNOM MLINU

Djelatna tvar X je izrazito male topljivosti u vodenom mediju što otežava njezinu primjenu u liječenju leukemije. S ciljem povećanja njezine topljivosti pripravljene su čvrste disperzije djelatne tvari u matrici hidrofilnog polimera poli(vinil-pirolidona) (PVP). U pripravi disperzija korišten je pristup koji prati načela zelene kemije.

Mehanokemijski su pripravljene disperzije čvrste djelatne tvari X u planetarnom kugličnom mlinu. Dobivene disperzije karakterizirane su diferencijalnom pretražnom kalorimetrijom, rendgenskom difrakcijskom analizom praha i infracrvenom spektroskopijom. Detektirani su optimalni procesni uvjeti za uspješnu mehanokemijsku pripravu binarne čvrste disperzije specifična djelatna tvar- polimer.

Pripravljene su kapsule s čvrstim disperzijama djelatne tvari i testirane na topljivost. Mehanokemijskim tretmanom povećava se količina oslobođene djelatne tvari. Profili oslobađanja ukazuju na poboljšanu topljivost i brže oslobađanje djelatne tvari iz kapsula koje sadrže čvrste disperzije u odnosu na one koje sadrže netretiranu djelatnu tvar.

Ključne riječi:

djelatna tvar X, poboljšanje topljivosti lijeka, čvrsta disperzija, mehanokemijska aktivacija, kapsula, oslobađanje djelatne tvari

ABSTRACT

OPTIMIZING THE CONDITIONS FOR PREPARATION OF SOLID DISPERSIONS OF DRUG IN A PLANETARY BALL MILL

Drug X is of extremely low solubility in an aqueous medium, which makes it difficult to use in the treatment of leukemia. In order to increase its solubility, solid dispersions of a drug in a matrix of hydrophilic polymer, poly(vinyl pyrrolidone) (PVP) were prepared. Approach that follows the principles of green chemistry was used to prepare dispersions.

Dispersions of solid drug X were prepared mechanochemically in a planetary ball mill. Obtained solid dispersions were characterized by differential scanning calorimetry, X-ray powder diffraction analysis and infrared spectroscopy. Optimal process conditions for successful mechanochemical preparation of binary solid dispersions specific drug-polymer are to be detected.

Capsules with solid dispersions of drug were prepared and tested on solubility. Generally, mechanochemical treatment has been found to increase the amount of drug released. Release profiles indicate improved solubility and faster drug release from capsules filled with solid dispersions in comparison to those containing untreated drug.

Keywords:

drug X, drug solubility improvement, solid dispersion, mechanochemical activation, capsule, drug release

Zahvaljujem mentoru, izv. prof. dr. sc. Krunoslavu Žižeku
na stručnim savjetima, svoj pomoći te prenesenom znanju.

Zahvala asistentici, Katarini Sokač, mag. ing. cheming.
na pomoći i strpljenju tijekom izrade eksperimentalnog dijela rada.

Veliko hvala mojoj obitelji na podršci tijekom preddiplomskog studija!

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
2.	HIPOTEZE I CILJEVI ISTRAŽIVANJA	2
3.	OPĆI DIO.....	3
3.1.	Topljivost djelatnih tvari u oralnim dozirnim oblicima: značaj i načini poboljšanja.	3
3.2.	Čvrsta disperzija	6
3.3.	Mehanokemijska priprava disperzija – pristup koji prati načela zelene kemije	11
4.	METODIKA.....	13
4.1.	Djelatna tvar – aktivni sastojak lijeka	13
4.2.	Makromolekulna tvar – polimer.....	13
4.3.	Mehanokemijska priprava čvrstih disperzija.....	14
4.3.1.	Priprava mješavine	14
4.3.2.	Postupak mljevenja u planetarnom kugličnom mlinu	14
4.3.3.	Ispitivanje mehanokemijske aktivacije u planetarnom kugličnom mlinu u kraćim vremenskim intervalima.....	16
4.4.	KARAKTERIZACIJA ČVRSTIH DISPERZIJA	17
4.4.1.	Diferencijalna pretražna kalorimetrija.....	17
4.4.2.	Rendgenska difrakcijska analiza praha	18
4.4.3.	Infracrvena spektroskopija s Fourierovim transformacijama.....	18
4.5.	Priprava oralnog dozirnog oblika s povećanom topljivosti djelatne tvari.....	19
4.6.	Karakterizacija oralnog dozirnog oblika s povećanom topljivosti djelatne tvari.....	21
4.6.1.	Sadržaj djelatne tvari u čvrstoj disperziji	21
4.6.2.	<i>In vitro</i> testovi otapanja.....	24
5.	REZULTATI I RASPRAVA	26
5.1.	Karakterizacija čvrstih disperzija	26
5.1.1.	Podatci toplinske analize tvari – DSC analiza	26
5.1.2.	Podatci difrakcijske analize tvari – XRPD analiza	30
5.1.3.	Podatci spektroskopske analize tvari – FTIR analiza.....	34
5.2.	Karakterizacija oralnog dozirnog oblika	36
5.2.1.	Sadržaj djelatne tvari u čvrstoj disperziji	36
5.2.2.	<i>In vitro</i> testovi otapanja.....	39

6.	ZAKLJUČAK	41
7.	LITERATURA.....	42
8.	POPIS SIMBOLA I AKRONIMA.....	46

1. UVOD

Ostvarenje željenog učinka lijeka i njegove željene koncentracije u krvotoku postiže se njegovom apsorpcijom u tijelu. Na mjestu gdje se odvija apsorpcija, lijek se mora nalaziti u stanju otopine što znači da je topljivost parametar velike važnosti. Upravo zahtjev za velikom topljivošću stvara poteškoće prilikom formulacija mnogih lijekova zbog njihove vrlo slabe topljivosti pa se koriste različite metode za njihovo poboljšanje.¹

U ovom istraživanju koriste se načela zelene kemije i mehanokemijska priprava čvrstih disperzija za povećanje topljivosti djelatne tvari. Djelatna tvar nastoji se mehanokemijski aktivirati pripravom binarnih čvrstih disperzija u planetarnom kugličnom mlinu. Budući da uvjeti usitnjavanja u planetarnom kugličnom mlinu značajno utječu na svojstva usitnjenog uzorka, uspješnoj pripravi disperzija nužno prethode preliminarna istraživanja kojima se pronalaze optimalni uvjeti priprave na osnovi unaprijed definiranih kriterija.

Cilj ovog istraživanja je pronaći/detektirati one procesne uvjete (broj okretaja mlina, vrijeme usitnjavanja, retencija usitnjavanja, materijal posude i tijela za usitnjavanje, broj i raspodjela tijela za usitnjavanje i dr.) koji će za dani sustav (djelatna tvar i polimerna matrica) rezultirati uspješnom mehanokemijskom pripravom disperzija u planetarnom kugličnom mlinu. Promatrana svojstva disperzija koja će ukazati na uspješnu/neuspješnu pripravu disperzija su: fazni sastav pripremljenih disperzija i relativni stupanj kristalnosti. Stoga, bit će planirana i provedena detaljna karakterizacija disperzija analitičkim tehnikama koje mogu ukazati na promatrana svojstva. Čvrste disperzije, pripravljene pri različitim procesnim uvjetima, karakteriziraju se rendgenskom difrakcijskom analizom praha, razlikovnom pretražnom kalorimetrijom te dodatno infracrvenom spektroskopijom s Fourierovim transformacijama kojom se mogu detektirati potencijalne interakcije između djelatne tvari i polimerne matrice u slučaju izvrsne dispergirivosti.

Analizom rezultata donosi se zaključak o optimalnim uvjetima priprave odnosno koje procesne uvjete koristiti za uspješnu mehanokemijsku pripravu točno određene formulacije ciljanih svojstava odnosno binarne čvrste disperzije specifična djelatna tvar-pogodan polimer.

Dodatno, pripravit će se konačan oralni dozirni oblik, kapsule punjene pripremljenim disperzijama. Utvrdit će se sadržaj djelatne tvari u disperziji te testirati topljivost djelatne tvari iz kapsula punjenih binarnim disperzijama. Donosi se zaključak je li povećana topljivost ove specifične djelatne tvari X odnosno je li ista mehanokemijski aktivirana u smislu povećanja topljivosti.

2. HIPOTEZE I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA

Pripravom čvrstih disperzija u hidrofilnom polimeru moguće je povećati topljivost i brzinu oslobađanja djelatne tvari i potencijalno doprinijeti njenoj boljoj apsorpciji u organizmu.

Mehanokemijska priprava može značajno doprinijeti topljivosti i osigurati brže oslobađanje djelatne tvari iz konačnog dozirnog oblika.

CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Mehanokemijski pripremiti disperzije čvrste djelatne tvari X, u čvrstom polimeru, poli(vinil-pirolidonu) (PVP). Detektirati optimalne procesne uvjete za pripravu disperzija djelatne tvari u planetarnom kugličnom mlinu.

Pripremiti oralni dozirni oblik s povećanom topljivošću djelatne tvari.

3. OPĆI DIO

3.1. Topljivost djelatnih tvari u oralnim dozirnim oblicima: značaj i načini poboljšanja

Topljivost neke tvari općenito je uvjetovana vrstom otapala, temperaturom i tlakom te se ona najčešće izražava kao mjera zasićenosti odnosno kao koncentracija zasićene otopine (otopina u kojoj se koncentracija otopljene tvari ne mijenja dodavanjem nove količine), a izražava se preko molalnosti, molarnog udjela, molarnim omjerom, određenom jedinicom koncentracije ili nekom drugom jedinicom. Otapanje se odvija u stanju dinamičke ravnoteže te se u određenim uvjetima može formirati tzv. superzasićena otopina koja je metastabilna. Topljivost polimera može se predvidjeti preko Hansenovih parametara topljivosti ili Hildebrandovih parametara topljivosti, a opisati preko Flory-Hugginsove teorije topljivosti.¹

U skupinu oralnih dozirnih oblika spadaju otopine, suspenzije, emulzije, eliksiri i sirupi kao tekući dozirni oblici, paste kao polutekući dozirni oblici i tablete, kapsule, prašci, granule, premiksi i medicinski blokovi kao čvrsti dozirni oblici. Oralni dozirni oblik pogodan zbog uspješnog prikrivanja mirisa i okusa djelatne tvari, izostanak svojstva promjene veličine čestica i zaštite tvari koje su nestabilne ukoliko su izložene svjetlu su kapsule. Mogu biti tvrdo želatinozne ili meko želatinozne kapsule. Za pohranu čvrstih pripravaka koriste se tvrdo želatinozne kapsule dok su meko želatinozne, zbog pružanja dobre apsorpcije djelatne tvari slabo topljive u vodi u gastrointestinalnom traktu i njenog dobrog oslobađanja, pogodne za pohranu tekućih ili polutvrđih pripravaka.²



Slika 3.1. Prazne kapsule (izvor: Bio Rama)



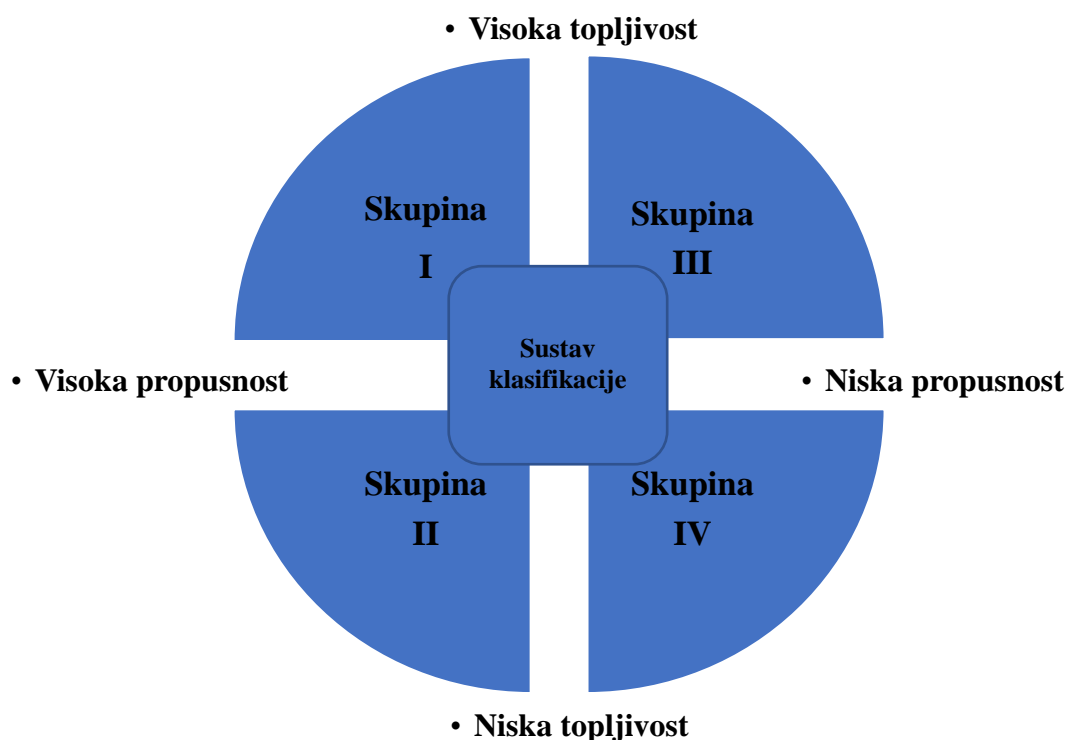
Slika 3.2. Kapsule Omega 3 masne kiseline; primjer kapsula korištenih u praksi (izvor: Terra Organica Portal)

Općeprihvaćeno mišljenje stručnjaka jest da je najbolja metoda primjene lijeka u svrhu njegovog najbržeg početka djelovanja unos lijeka intravenozno.³ Zbog unošenja lijeka u tijelo na način koji izbjegava crijeva i jetru, on djeluje brže i potpunije, između ostalih razloga, i zbog činjenice da se lijek prolaskom kroz probavni trakt kemijski mijenja što smanjuje apsorbirani dio.⁴ Velika brzina početka djelovanja lijeka koja se postiže unošenjem lijeka intravenoznim putem potrebna je hospitaliziranim pacijentima te onima kritično bolesnima. Metoda unosa lijeka u tijelo cjenovno znatno prihvatljivija, popraćena sa manjim brojem komplikacija za primatelja, a s jednako dobrim kliničkim rezultatima jest unos lijeka oralnim putem³ (MacGregor i Graziani, 1997)⁵. Unos lijeka oralnim putem najčešći je i najprihvatljiviji³ (Dhirendra et al., 2009)⁶. Također, lijekovi predviđeni za takav način unosa imaju puno veću fleksibilnost što se tiče dozirnih oblika i puno manje komplikacije oko sterilizacije. Unatoč takvim prednostima, oralni dozirni oblici imaju jako slabu bioraspodivnost te ona ovisi o nizu faktora, a dva najistaknutija su loša topljivost i loša propusnost.¹ Najopsežnija apsorpcija lijekova uzetih peroralno je u tankom crijevu čemu prethodi upijanje u ustima i želucu.⁴

Američka agencija za hranu i lijekove (*U.S. Food and Drug Administration, FDA*) stvorila je biofarmaceutski klasifikacijski priručnik (*The Biopharmaceutics Classification System, BCS*) koristan za predviđanje apsorpcije lijekova s enteralnom primjenom. Na slici 3.3. grafički je prikazan biofarmaceutski sustav klasifikacije (*Biopharmaceutical Classification System, BCS*) što je sustav kategorizacije tvari prema njihovoj topljivosti u vodi i membranskoj propusnosti³ (FDA, 2000)⁷.

Na temelju usporedbe sa lijekovima unesenim intravenozno, može se napraviti klasifikacija crijevne propusnosti te su, sukladno tome, lijekovi podijeljeni u četiri skupine prema njihovoj topljivosti i propusnosti. Tvari koji pripadaju skupini II posebno su podložne

modifikacijama kako bi im se poboljšala topljivost i brzina razgradnje lijeka u gastrointestinalnim tekućinama.¹ Za istu su skupinu posebno značajne tehnologije u području priprave čvrstih disperzija za poboljšanje oralne apsorpcije i biorasploživosti.³



Slika 3.3. Biofarmaceutski sustav klasifikacije

(Nadia Saffoon, Riaz Uddin, Naz Hasan Huda and Kumar Bishwajit Sutradhar, *Enhancement of Oral Bioavailability and Solid Dispersion: A review, Journal of Applied Pharmaceutical Science* 01 (07); 2011: 14)³

Tehnike poboljšanja topljivosti djelatne tvari mogu se podijeliti na fizikalne modifikacije (smanjenje veličine čestice mikronizacijom ili kreiranjem nanosuspenzija, modifikacija kristalnosti kao što su polimorfni ili amorfni oblici te kokristalizacijom ili disperzija djelatne tvari u različitim nosačima u što spada formiranje eutektičke smjese, čvrste disperzije, čvrste otopine te korištenje kriogenih tehnika), kemijske modifikacije (promjena pH, kompleksiranje, stvaranje soli, korištenje pufera i derivatizacija) te ostale tehnike (stvaranje superkritičnih fluida te korištenje stranih stvari kao što su surfaktanti, solubilizatori ili novije pomoćne tvari).¹

3.2. Čvrsta disperzija

Procesi razvoja i unaprjeđenja većine tvari podvrgnutih istima vezani su za njihovu topljivost.⁸ Kako bi se tom problemu doskočilo, s obzirom na činjenicu da je bioraspoloživost lijeka uvjetovana topljivošću djelatne tvari, razmatrane su različite mogućnosti kao što su formiranje prolijeka³ (Murtha i Ando, 1994)⁹, kompleksiranje³ (Ghorab i Adeyeye, 2001)¹⁰, mikrokapsuliranje³ (Adeyeye i Price, 1994)¹¹, korištenje lipida, mikronizacija, metoda formiranja soli, uporaba nanočestica, uporaba ciklodekstrina, korištenje surfaktanata ili tvari za poboljšanje permeacije, priprava čvrstih disperzija i samoemulgirajući sustav prihvata lijeka³ (Shakhtshneider et al., 1996)¹², (Craig, 2002)¹³, (Gao i Morozowich, 2006)¹⁴, (Tang et al., 2007)¹⁵, no najistaknutije rješenje je priprava čvrstih disperzija. Ovakvoj se metodi najčešće pribjegava zbog lakoće optimiranja proizvodnog procesa, mogućnosti reproduciranja proizvodnog procesa te lakoće pripreme čvrste disperzije³ (Chiou i Riegelman, 1971)¹⁶, (Ford, 1986)¹⁷, (Law et al., 1992)¹⁸, (Leuner i Dressman, 2000)¹⁹, (Uddin et al., 2010)²⁰. Priprava čvrstih disperzija smatra se vrlo učinkovitom tehnikom za povećanje razgradnje, apsorpcije i, posljedično, terapijske učinkovitosti lijeka u određenom dozirnom obliku.¹

Čvrste se disperzije mogu definirati kao skupina čvrstih tvari sastavljena od najmanje dvije komponente, najčešće hidrofilne matrice u kristaličnom ili amorfnom obliku i hidrofobne djelatne tvari³ (Dhirendra et al., 2009)⁶. Ukoliko se djelatna tvar podvrgne amorfizaciji, tada će sa amorfnom polimernom matricom činiti jednofazni sustav definiran kao čvrsta otopina, no ukoliko je formiran dvofazni sustav zbog činjenice da je djelatna tvar u stanju mikrokristalične disperzije, sustav je kategoriziran kao čvrsta disperzija³ (Goldberg et al., 1965)²¹, (Sekiguchi i Obi, 1961)²², (Chokshi et al., 2007)²³.

Prvi model čvrste disperzije bio je u formi eutektičke smjese koju je činila djelatna tvar loše topljiva u vodi sa fiziološki inertnim nosačem koji je lako topljiv³ (Chiou i Riegelman, 1969)²⁴. Predložili su ga Sekiguchi and Obi 1961. kao rješenje za povećanje mogućnosti otapanja djelatne tvari koja je slabo topiva u vodi te, posljedično, njenu bolju oralnu apsorpciju. Chiou i Riegelman 1971. također su predložili definiciju čvrstih disperzija kao disperziju jednog ili više aktivnih sastojaka u matrici inertnog nosača u čvrstom stanju pripremljenu taljenjem, metodom otapala ili metodom taljenje-otapanje.³

Klasifikaciju čvrstih disperzija u šest kategorija s obzirom na mehanizam otpuštanja utemeljili su Chiou i Riegelman (1971.) te su takvu su klasifikaciju temeljenu na rasporedu molekula prihvatili Dhirendra i suradnici (2009.).³

Tablica 3.1. Vrste i karakteristike čvrstih disperzija
 (Nadia Saffoon, Riaz Uddin, Naz Hasan Huda and Kumar Bishwajit Sutradhar, *Enhancement of Oral Biavailability and Solid Dispersion: A review, Journal of Applied Pharmaceutical Science* 01 (07); 2011: 15)³

Vrsta čvrste disperzije		Stanje matrice	Stanje djelatne tvari	Broj faza
Eutektička		kristalično	kristalično	2
Amorfni talog u kristaliničnoj matrici		kristalično	amorfno	2
Čvrsta otopina	Kontinuirana	kristalično	dispergirano u matrici	1
	Diskontinuirana	kristalično	dispergirano u matrici	2
	Supstitucijska	kristalično	dispergirano u matrici	1 ili 2
	Intersticijska	kristalično	dispergirano u matrici	2
Staklena suspenzija		amorfno	kristalično	2
Staklena suspenzija		amorfno	amorfno	2
Staklena otopina		amorfno	dispergirano u matrici	1

Nova vrsta kategorizacije čvrstih disperzija obuhvaća podjelu na čvrste disperzije prve generacije, čvrste disperzije druge generacije i čvrste disperzije treće generacije³ (Vasconcelos et al., 2007)²⁵.

Čvrste disperzije prve generacije predstavljaju eutektičku smjesu sulfatiazola³ (Sekiguchi i Obi, 1961)²² i združenih konglomerata kloramfenikola i uree³ (Sekiguchi i Obi, 1964)²⁶. Levy (1963.) i Kanig (1964.) pripremili su takve smjese u kojima je korišten manitol kao nosač i sustav kloramfenikol-urea³ (Goldberg et al., 1966a)²⁷. Kao nosači, korištene su kristalične tvari (urea, šećer). Unatoč formiranju čvrste disperzije, zbog činjenice da se radi o kristaliničnoj čvrstoj disperziji koja je termodinamički stabilna, lijek je svejedno otpuštan sporije nego u slučaju korištenja amornih čvrstih disperzija³ (Vasconcelos et al., 2007)²⁵.

Kao odgovor na lošu korisnost primjene kristaliničnih čvrstih disperzija, razvijene su čvrste disperzije druge generacije koje karakterizira djelatna tvar dispergirana unutar amornog nosača, najčešće polimera³ (Vilhelmsen et al., 2005)²⁸ koji mogu biti sintetski ili polimeri na

bazi prirodnih tvari.³ Najčešće korišteni hidrofilni polimeri u funkciji nosača su poli(vinil-pirolidon) (PVP, povidon), poli(etilen-glikol) (PEGs) i Plasdon S630.¹

Tablica 3.2. Vrste polimera korištene kod čvrstih disperzija druge generacije
(Nadia Saffoon, Riaz Uddin, Naz Hasan Huda and Kumar Bishwajit Sutradhar, *Enhancement of Oral Bioavailability and Solid Dispersion: A review, Journal of Applied Pharmaceutical Science* 01 (07); 2011: 15)³

Vrsta polimera	Polimer
Potpuno sintetički polimer	Poli(vinil-pirolidon)
	Poli(etilen-glikol)
	Poli(metakrilat)
Polimeri na prirodnoj bazi (derivati celuloze, derivati škroba)	Hidroksipropil-metil-celuloza
	Etil-celuloza
	Hidroksipropil-celuloza-ciklodekstrin

Takve su disperzije najčešće te mogu biti klasificirane kao čvrste otopine³ (van Drooge et al., 2006a)²⁹, (Leuner i Dressman, 2000)¹⁹, čvrste suspenzije³ (van Drooge et al., 2006a)²⁹, (Chiou i Riegelman, 1971)¹⁶, (Goldberg et al., 1966b)³⁰ ili kombinacija oboje³ (van Drooge et al., 2006a)²⁹, (van Drooge et al., 2006b)³¹.

Čvrste disperzije treće generacije razvijene su u cilju postizanja najveće bioraspodivnosti lijeka s loše topljivom djelatnom tvari, ali i za stabilizaciju čvrste disperzije kako bi se spriječila rekristalizacija djelatne tvari³ (Vasconcelos et al., 2007)²⁵. Nosači korišteni za pripremu čvrstih disperzija treće generacije površinski su aktivni te imaju svojstvo samo-emulgiranja.³

Prednosti korištenja čvrstih disperzija su poboljšanje površinskih svojstava zbog smanjene veličine čestica što dovodi do ubrzanja razgradnje i poboljšanja bioraspodivnosti, povećana poroznost čestica ovisna o svojstvima nosača koja povećava profil otpuštanja djelatne tvari, njihov metastabilni amorfni oblik (super-zasićene otopine) koji povećava topljivost čestica zbog djelatne tvari u amorfnom stanju te povećana moćivost čime se povećava topljivost pri čemu je jako važan sam nosač³ (Vasconcelos et al., 2007)²⁵.

Glavni nedostatak čvrstih disperzija je kristalizacija komponenti tijekom obrade ili pohrane³ (Pokharkar et al., 2006)³², (Chauhan et al., 2005)³³, (Vasanthavada et al., 2004)³⁴, (Vasconcelos et al., 2007)²⁵. Prilikom skladištenja, na amorfne farmaceutuske produkte mogu utjecati temperatura i vlaga koja potiče kristalizaciju uslijed povećane mobilnosti tvari³ (Johari et al., 2005)³⁵, (Vasanthavada et al., 2004)³⁴. Ostali čimbenici koji smanjuju topljivost lijeka,

time i brzinu njegove razgradnje te zbog toga ograničavaju komercijalnu proizvodnju čvrstih disperzija su metoda pripreme, ponovljivost fizikalno-kemijskih svojstava, doziranje u dozirne oblike, fizikalna i kemijska stabilnost lijeka, povećanje količine komponenata u svrhu masovne proizvodnje³ (Serajuddin, 1999)³⁶, fazna separacija, rast kristala i prijelaz iz metastabilnog kristaličnog oblika³ (Wang et al., 2005)³⁷, (Vasconcelos et al., 2007)²⁵.

Dvije najvažnije metode pripreme čvrstih disperzija su metoda taljenja i metoda isparavanja otapala.

Metoda taljenja početno se koristila za pripremu eutektičkih smjesa koje su opisali Sekiguchi i Obi³ (Vasconcelos et al., 2007)²⁵, (Leuner i Dressman, 2000)¹⁹. Metoda ima svoja ograničenja kao što su djelomična mješljivost djelatne tvari i nosača³ (Taylor i Zografi, 1997)³⁸, korištenje visokih temperatura i mogućnost degradacije djelatne tvari tijekom taljenja³ (Serajuddin, 1999)³⁶ s obzirom na to da se metoda temelji na taljenju djelatne tvari unutar nosača sa popratnim hlađenjem te pulverizacijom produkta.³ Vrlo važni faktori kako bi se formirala čvrsta disperzija su mješljivost djelatne tvari i nosača kada se nalaze u stanju taline te termička stabilnost obje komponente.¹

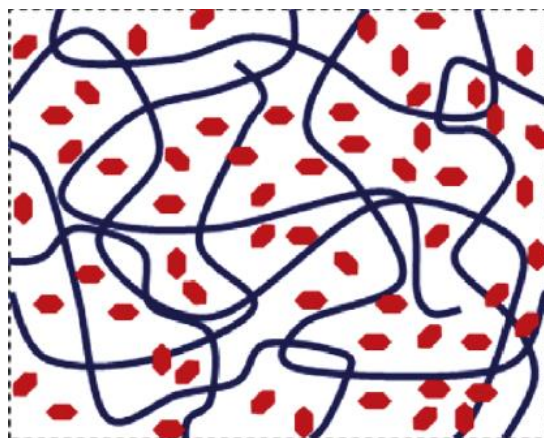
Metoda isparavanja otapala temelji se na otapanju djelatne tvari i nosača u otapalu koje lako isparava.³ Vrlo je učinkovita tehnika za poboljšanje stabilnosti čvrstih disperzija djelatne tvari slabo topljive u vodi. Činjenica da otapalo lako isparava odnosno da su za njegovo isparavanje potrebne niske temperature isključuje opciju termičke degradacije djelatne tvari, no metoda je vrlo skupocjena, organska je otapala vrlo teško ukloniti, postoji potencijalni utjecaj otapala na kemijsku stabilnost djelatne tvari te može doći do poteškoća prilikom reprodukcije kristalnih oblika.¹

Unatoč dobroj mogućnosti primjene za sustave sa polimerima, ova metoda postaje sve nepovoljnija zbog ekoloških i ekonomskih problema uslijed korištenja organskih polimera, stoga je sve češće korištena metoda ekstruzija vruće taline³ (Leuner i Dressman, 2000)¹⁹. Metoda omogućava kontinuiranu proizvodnju, posebno pogodnu za velike količine proizvoda te je dobiveni produkt puno pogodniji za rukovanje jer nije potrebno mljevenje, već se, po izlasku iz ekstrudera, produkt prilagođava daljnjem stupnju obrade svojim oblikom. Za metodu ekstruzije vruće taline, mješljivost djelatne tvari i polimera može predstavljati problem. Jake mehaničke sile kojima ekstruder miješa smjesu generiraju lokalno visoke temperature što može utjecati na tvari osjetljive na toplinu.¹

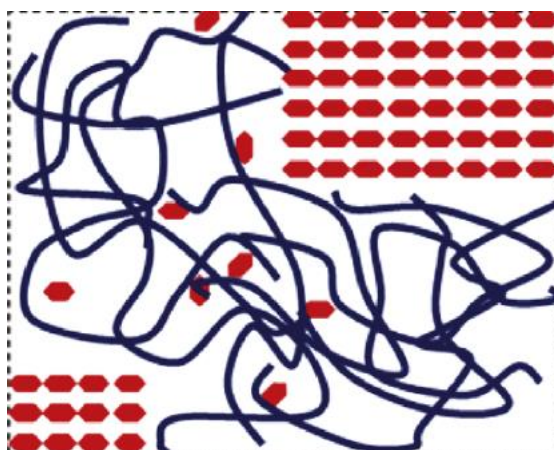
Značajno povećanje biorasploživosti djelatne tvari slabo topljive u vodi primijećeno je korištenjem amorfnih čvrstih disperzija. Vrlo važna karakteristika za stabilnost ovakvih disperzija je mješljivost djelatne tvari i matrice (najčešće polimera). Ukoliko su te dvije

komponentne nemješljive, dolazi do fazne separacije uslijed brze kristalizacije što rezultira područjima bogatijima polimerom i područjima bogatijima djelatnom tvari.³⁹ Čvrsta disperzija sastavljena od djelatne tvari i polimera može formirati nekoliko struktura: djelatna tvar može biti dispergirana u polimernoj matrici (idealna struktura) (slika 3.4.), djelatna tvar formira kristaličnu strukturu (slika 3.5.), pojava amorfnih područja bogatih djelatnom tvari dispergiranih u polimernoj matrici (slika 3.6.).⁸

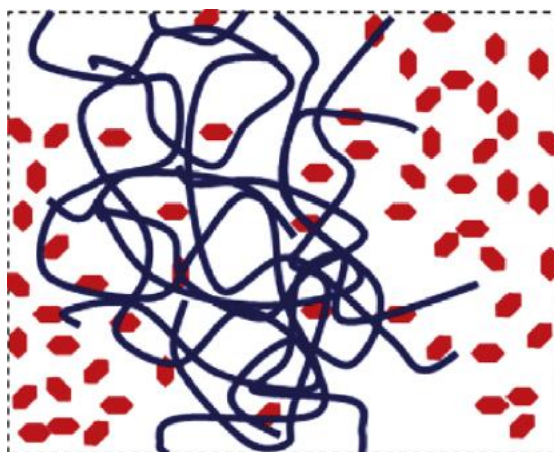
Ispitivanje mješljivosti djelatne tvari i polimera temelji se na proučavanju molekulskih interakcija između polimera i djelatne tvari za što se koriste spektroskopske tehnike, a na mješljivost može ukazivati i temperatura staklastog prijelaza. Izlaganje amorfnih čvrstih disperzija vlazi povećava mobilnost djelatne tvari zbog prisutnosti vode što sprječava polimer da zaustavi rekristalizaciju.³⁹



Slika 3.4. Čvrsta disperzija sa djelatnom tvari dispergiranom u polimernoj matrici⁸



Slika 3.5. Čvrsta disperzija sa formiranim kristaličnim strukturama djelatne tvari⁸



Slika 3.6. Čvrsta disperzija sa amorfnim područjima bogatima djelatnom tvari dispergiranim u polimernoj matrici⁸

3.3. Mehanokemijska priprava disperzija – pristup koji prati načela zelene kemije

Mehanokemijska sinteza kao metoda, uz prednosti kao što su smanjenje količine energije utrošene za sintezu zbog manjeg vremena potrebnog za istu čime se smanjuju i troškovi proizvodnje, prati načela „zelene kemije“. Zelena kemija podrazumijeva kemijsku sintezu bez korištenja otapala ili njegova korištenja u maloj količini čime se uklanjaju poteškoće kao što su višak otapala za odlaganje i nusprodukti. Mehanokemija podrazumijeva korištenje mehaničke sile za poticanje odnosno održavanje kemijskih reakcija te se produkti mogu stvarati i razgrađivati zbog njene mogućnosti stvaranja i kidanja nekovalentnih veza.⁴⁰

Zelena se kemija, prema Američkoj agenciji za zaštitu okoliša (*U.S. Environmental Protection Agency, EPA*), definira kao kemija kojoj je glavno nastojanje osmišljavanje kemijskih produkata i procesa koji su bezopasni za okoliš što posljedično smanjuje zagađenje istog. Inovacije u istraživanju temeljene su na težnji da se sintetizirani kemijski produkti nakon uporabe razgrađuju na komponente bezopasne za okoliš. Sintezom takvih produkata, nestaje rizik od izloženosti okoliša istima i potreba za njenom kontrolom i potreba za uklanjanjem opasnih tvari iz okoliša. Ne smatra se odvojenom znanstvenom disciplinom, već pristupom znanosti koji uključuje kemijsku, socijalnu i ekološku odgovornost.

Zelena kemija počiva na 12 načela koji tumače uklanjanje tvari toksičnih za ljudsko zdravlje i okoliš iz proizvodnje, sinteze i uporabe. Prilikom osmišljavanja procesa temeljenog na zelenoj kemiji, potrebno je u svakom koraku nastojati se držati što većeg broja načela s obzirom na činjenicu da je nemoguće kroz cijeli proces pratiti svih 12.

Načela zelene kemije su:

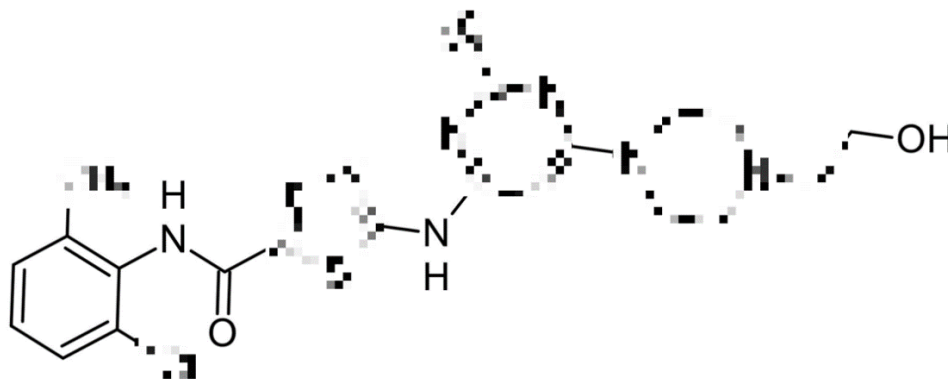
- I. *Prevenција* – težnja za smanjenjem količine nastalog otpada umjesto rukovanja već nastalim otpadom; rezultira manjim troškovima

- II. *Atomska ekonomičnost* – težnja za što većom iskoristivošću svih tvari uključenih u proces; usko povezano sa prevencijom zbog činjenice da veća iskoristivost tvari u procesu rezultira manjom količinom otpada
- III. *Procesi sinteza slabije toksičnosti* – težnja za dobivanjem tvari sa najmanjim mogućim ili nikakvim toksičnim djelovanjem što dovodi do čistijih i jeftinijih procesa (posebno pogodni za korištenje su biološki enzimi)
- IV. *Stvaranje sigurnijih kemikalija* – težnja za stvaranjem tvari najmanje moguće toksičnosti koje ispunjavaju funkciju
- V. *Korištenje sigurnijih otapala i pomoćnih tvari* – težnja za smanjenjem potrebe za korištenjem pomoćnih tvari; posebno problematična su korozivna, toksična i zapaljiva organska otapala
- VI. *Osmišljavanje energetski efikasnijih procesa* – težnja za korištenjem procesa sinteze koji zahtjevaju manje energije; pogodni procesi sinteze su oni provedeni pri sobnoj temperaturi i tlaku
- VII. *Upotreba obnovljivih sirovina* – težnja za korištenjem obnovljivih sirovina umjesto materijala koji postaju otpad nakon korištenja (zamjena klasične plastike biorazgradivom)
- VIII. *Smanjenje korištenja derivata* – težnja za smanjenjem stvaranja derivata čija proizvodnja zahtjeva korištenje dodatnih tvari i proizvodi otpad; jedno od rješenja je direktna sinteza željene molekule
- IX. *Kataliza* – težnja za korištenjem katalizatora koji su biorazgradivi što vodi do smanjenja utroška energije i vode te ne zahtjeva korištenje organskih spojeva sa klorom
- X. *Osmišljavanje procesa koji uključuju degradaciju* – težnja za razvijanjem kemijskih procesa u kojima se korištene tvari razgrađuju nakon ispunjenja funkcije i ne zaostaju u okolišu; produkti razgradnje trebali bi biti bezopasni za okoliš
- XI. *Analize sprječavanja zagađenja u stvarnom vremenu* – težnja za praćenjem procesa prije stvaranja toksičnih produkata
- XII. *Korištenje sigurnije kemije za sprječavanje nesreća* – težnja za korištenjem tvari sa malom sklonošću zapaljenju, otpuštanju u okolinu i eksplozijama; sve češća upotreba superkritičnog CO₂ koji zamjenjuje toksična i eksplozivna organska otapala⁴¹

4. METODIKA

4.1. Djelatna tvar – aktivni sastojak lijeka

Djelatna tvar X korištena u ovom istraživanju u primjeni je kao dio lijeka za leukemiju. Hidrofobna je te zbog svoje slabe topljivosti i visoke propusnosti pripada skupini II prema BCS klasifikaciji. Istraživanje je posvećeno određivanju optimalnih uvjeta za pripremu čvrstih disperzija sa hidrofilnim polimerom što za cilj ima povećanje njene topljivosti. Struktura djelatne tvari X prikazana je na slici 4.1.

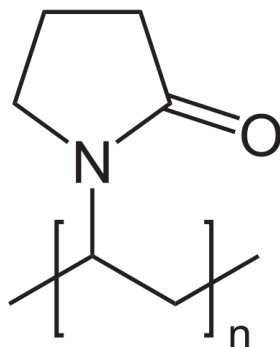


Slika 4.1. Struktura djelatne tvari X

4.2. Makromolekulna tvar – polimer

Poli(vinil-pirolidon) (Povidon, PVP) jedan je od najčešće korištenih hidrofilnih nosača kod čvrstih disperzija.¹ U potpunosti je sintetski polimer.³ Radi se o amorfnom polimeru dobro topljivom u vodenom mediju koji je ujedno i higroskopan, u formi praha, boja mu varira od bijele do blijedožute te je bez mirisa. Temperatura staklastog prijelaza varira između 165 °C i 175 °C. Koristi se u pripravi čvrstih disperzija zbog sposobnosti vlaženja djelatne tvari koje dovodi do bolje bioraspoloživosti lijeka.⁴²

U ovom istraživanju korišten je PVP K30 srednje molekulske mase 50 kDa. Struktura je dana na slici 4.2.



Slika 4.2. Struktura poli(vinil-pirolidona)

4.3. Mehanokemijska priprava čvrstih disperzija

4.3.1. Priprava mješavine

Mješavina koja se ispituje sastoji se od djelatne tvari X i polimera PVP. Omjer djelatne tvari X i PVP-a je 1:3 iz čega slijedi da, s obzirom na ukupnu masu uzorka, masa djelatne tvari X treba činiti 25 %, a masa PVP-a 75 % ukupne mase uzorka.

Pripravljeno je šest različitih uzoraka za šest različitih uvjeta ispitivanja. Svi se uzorci pripremaju na isti način; definira se ukupna masa mješavine koja se želi pripremiti, računski se određuje koliko je potrebno odvagati djelatne tvari X, a koliko PVP-a uzimajući u obzir spomenuti omjer 1:3 te se izračunata količina važu i lagano izmiješaju prije prebacivanja mješavine u posudu za stavljanje u mlin. Navedeni podaci vezani uz pripravu uzoraka tablično su prikazani u tablici 4.1.

Tablica 4.1. Tablični prikaz sastava uzoraka te ukupne mase mješavine za svih 6 pripremljenih uzoraka

Uzorak	<i>m</i> (djelatna tvar X), g	<i>m</i> (PVP), g	<i>m</i> (mješavina), g
1	0,7535	2,2523	3,0058
2	0,7535	2,2510	3,0045
3	0,7509	2,2509	3,0018
4	0,7558	2,2524	3,0082
5	0,2507	0,7503	1,0010
6	0,2498	0,7507	1,0005

4.3.2. Postupak mljevenja u planetarnom kugličnom mlinu

Smjesa djelatne tvari X i PVP-a prebacuje se u posudu koja će se stavljati u mlin, a koja sadrži kuglice od istog materijala od kojeg je napravljena posuda što je nužno kako ne bi došlo do velikog habanja.

Koriste se posude i kuglice od ahata te od cirkonijevog (IV) oksida (ZrO_2), pri čemu je posuda od ZrO_2 posebno otporna na habanje.

Za uzorak 1, cijela masa pripravljene mješavine se unosi u posudu za miješanje od ZrO_2 te se mješavini dodaje 10 kuglica mase 20,0946 g. Uvjeti miješanja u planetarnom kugličnom mlinu su broj okretaja 600 min^{-1} te je trajanje miješanja 1 h.

Za uzorak 2, u posudu za miješanje od ZrO_2 , stavlja se cijela masa pripravljene mješavine zajedno sa 10 kuglica čija masa iznosi 20,0946 g. Uvjeti miješanja u planetarnom kugličnom mlinu su broj okretaja 500 min^{-1} i trajanje miješanja 1 h.

Za uzorak 3, odabrana je posuda od ahata uz 2 kuglice od ahata mase 4,8340 g. Posuda od ahata premalog je volumena da bi u nju stala cijela masa pripravljene smjese, stoga se pripravljena mješavina pomiješa u tarioniku, a odvaja se 1 g koji se stavlja u posudu. Uvjeti miješanja u planetarnom kugličnom mlinu su broj okretaja 600 min^{-1} te trajanje miješanja od 1 h.

Za uzorak 4, koristi se posuda od ahata sa 2 kuglice od ahata mase 4,8340 g. Analogno postupku kod rukovanja sa uzorkom 3, zbog premalog volumena posude da bi cijela masa pripravljene mješavine stala u nju, mješavina se izmiješa u tarioniku te se u posudu stavi 1 g mješavine. Uvjeti miješanja u planetarnom kugličnom mlinu su broj okretaja 500 min^{-1} te trajanje od 1 h.

Cijela masa uzorka 5 prebačena je u posudu od ZrO_2 te je dodano 10 kuglica mase 16,8902 g. Uzorak se miješao 1 h pri broju okretaja 500 min^{-1} .

Cijela masa uzorka 6 prebačena je u posudu od ZrO_2 u koju je stavljeno 10 kuglica mase 16,8902 g. Uvjeti miješanja uzorka su broj okretaja 600 min^{-1} te trajanje 1 h.

Tablica 4.2. Tablični prikaz uvjeta pripreve u planetarnom kugličnom mlinu, vrste posude i kuglica sa pripadajućim brojem kuglica i njihovom masom, mase uzorka unesenog u posudu za miješanje za pojedini uzorak te omjer mase uzorka i mase kuglica

Uzorak	Uvjeti pripreve		Vrsta posude i kuglica	m (uzorak), g	N (kuglice)	m (kuglice), g	$\frac{m_{uz}, g^*}{m_k, g^{**}}$
	Broj okretaja	Vrijeme usitnjavanja					
1	600 min^{-1}	1 h	ZrO_2	3	10	20,0946	0,15
2	500 min^{-1}	1 h	ZrO_2	3	10	20,0946	0,15
3	600 min^{-1}	1 h	ahat	1	2	4,8340	0,21
4	500 min^{-1}	1 h	ahat	1	2	4,8340	0,21
5	500 min^{-1}	1 h	ZrO_2	1	10	16,8902	0,06
6	600 min^{-1}	1 h	ZrO_2	1	10	16,8902	0,06

*masa uzorka unesena u posudu

**masa kuglica u posudi s uzorkom

4.3.3. Ispitivanje mehanokemijske aktivacije u planetarnom kugličnom mlinu u kraćim vremenskim intervalima

Za ispitivanje mehanokemijske aktivacije djelatne tvari X u smjesi sa PVP-om u planetarnom kugličnom mlinu u kraćim vremenskim intervalima, pripravljeno je 1,0206 g uzorka koji sadrži djelatnu tvar X i PVP u omjeru 1:3. Izvagano je 0,2532 g djelatne tvari X i 0,7674 g PVP-a. Cijela masa smjese bez prethodnog miješanja prebačena je u posudu od ZrO_2 te je dodano 10 kuglica od ZrO_2 čija masa iznosi 19,7194 g. Uzorak je stavljen na miješanje u planetarni kuglični mlin pri broju okretaja 500 min^{-1} te je ukupno vrijeme miješanja 1 h.

S obzirom na činjenicu da je cilj pratiti mehanokemijsku aktivaciju u kraćim vremenskim intervalima, miješanje se zaustavljalo svakih 10 minuta te se uzimao uzorak iz posude u eppendorf epruvetu iz čega slijedi da je uzet i analiziran uzorak prije početka miješanja te nakon 10, 20, 30, 40, 50 i 60 minuta miješanja.

4.4. Karakterizacija čvrstih disperzija

Korištene instrumentalne metode karakterizacije čvrstih disperzija su diferencijalna pretražna kalorimetrija (DSC), rendgenska difrakcijska analiza praha (XRPD) te infracrvena spektroskopija s Fourierovim transformacijama (FTIR). Svrha instrumentalnih analiza je utvrditi smanjenje kristalnosti djelatne tvari X njenim miješanjem sa PVP-om.

4.4.1. Diferencijalna pretražna kalorimetrija

Kao primarna instrumentalna metoda karakterizacije čvrstih disperzija korištena je *diferencijalna pretražna kalorimetrija (DSC)*. Svrha korištenja ove metode jest analizirati smanjenje kristalnosti djelatne tvari X uslijed njenog miješanja sa polimerom što se postiže pripremom čvrste disperzije (DX25) pri optimalnim uvjetima. Optimalni uvjeti pripreme čvrste disperzije djelatna tvar X-PVP utvrđuju se preko relativnog stupnja kristalnosti (RDC). Manja vrijednost relativnog stupnja kristalnosti ukazuje na smanjenu kristalnost i uspostavu amorfno stanja. Relativni stupanj kristalnosti izračunava se pomoću vrijednosti entalpije taljenja dobivene iz termograma mjerenog uzorka i vrijednosti entalpije taljenja pri kristalnosti uzorka od 100% što je podatak koji se pronalazi u literaturi.

Korišteni DSC uređaj je Mettler Toledo, model DSC 823^e (TS0800GS1). Sva mjerenja su provedena uz brzinu zagrijavanja 10 °C/min u atmosferi dušika čiji je protok namješten na 60 mL/min. Korištena je referentna posuda od aluminijske te je posuda u koju se stavljao ispitivani uzorak također bila aluminijska.

Tablica 4.3. Tablični prikaz karakteristika čvrstih disperzija stavljenih na analizu u DSC uređaj

Uzorak	Karakteristike čvrstih disperzija			
	m, g	Vrsta posude	Uvjeti pripreme	
			Broj okretaja	Vrijeme usitnjavanja
1	1	ahat	500 min ⁻¹	1 h
2	1	ahat	600 min ⁻¹	1 h
3	3	ZrO ₂	500 min ⁻¹	1 h
4	3	ZrO ₂	600 min ⁻¹	1 h
5	1	ZrO ₂	500 min ⁻¹	1 h
6	1	ZrO ₂	600 min ⁻¹	1 h

4.4.2. Rendgenska difrakcijska analiza praha

Rendgenska difrakcijska analiza (XRPD) ukazuje na promjenu stanja uzorka iz kristalnog u amorfno izgledom dobivenih krivulja u rendgenogramu. Kristalno stanje uzoraka kakvo odgovara djelatnoj tvari X pokazuje krivulje sa vrlo oštrim maksimumima dok amorfne tvari pokazuju „halo“ krivulje. S obzirom na činjenicu da se očekuje pomak iz kristalnog u amorfno stanje dodatkom PVP-a djelatnoj tvari X, uspoređujući krivulje dobivene ispitivanjem čiste djelatne tvari X i čvrste disperzije djelatna tvar X-PVP, trebalo bi biti vidljivo proširenje maksimuma na rendgenogramu.

4.4.3. Infracrvena spektroskopija s Fourierovim transformacijama

Metodom infracrvene spektroskopije s Fourierovim transformacijama (FTIR) prati se pomak apsorpcijskih maksimuma. Analizirajući uzorke, cilj je dobiti pomak apsorpcijskih maksimuma uslijed interakcija među skupinama. Poželjno je da interakcije budu fizikalne (vodikove veze), a ne kemijske zbog činjenice da se uspostavom kemijskih interakcija mijenja kemijski identitet što nije svrha ovog istraživanja.

Potrebno je analizirati zasebno čistu djelatnu tvar X, zatim čisti polimer PVP, a potom niz pripremljenih čvrstih disperzija.

4.5. Priprava oralnog dozirnog oblika s povećanom topljivosti djelatne tvari

Pripravljeni oralni dozirni oblik s povećanom topljivosti djelatne tvari su kapsule. Kapsule se pune uzorcima po principu da u svakoj mora biti 20 mg djelatne tvari X. Za svaku se komponentu odnosno mješavinu pune dvije kapsule.

Prvi set kapsula čine dvije kapsule koje sadrže čistu djelatnu tvar X.

Drugi set kapsula sastoji se od dvije kapsule koje sadrže čistu djelatnu tvar X koja je miješana u planetarnom kugličnom mlinu 1 h pri broju okretaja 500 min^{-1} . Posuda u kojoj se tvar miješala je od ZrO_2 kao i dodanih 10 kuglica mase 19,7153 g. Masa djelatne tvari X stavljena u mlin je 1,0080 g.

S obzirom na činjenicu da u kapsulama sadržaj djelatne tvari mora biti 20 mg, pri punjenju kapsula, u njih treba dodati 80 mg čvrste disperzije odnosno fizikalne mješavine s obzirom na maseni udio djelatne tvari X od 25 % u spomenutim smjesama.

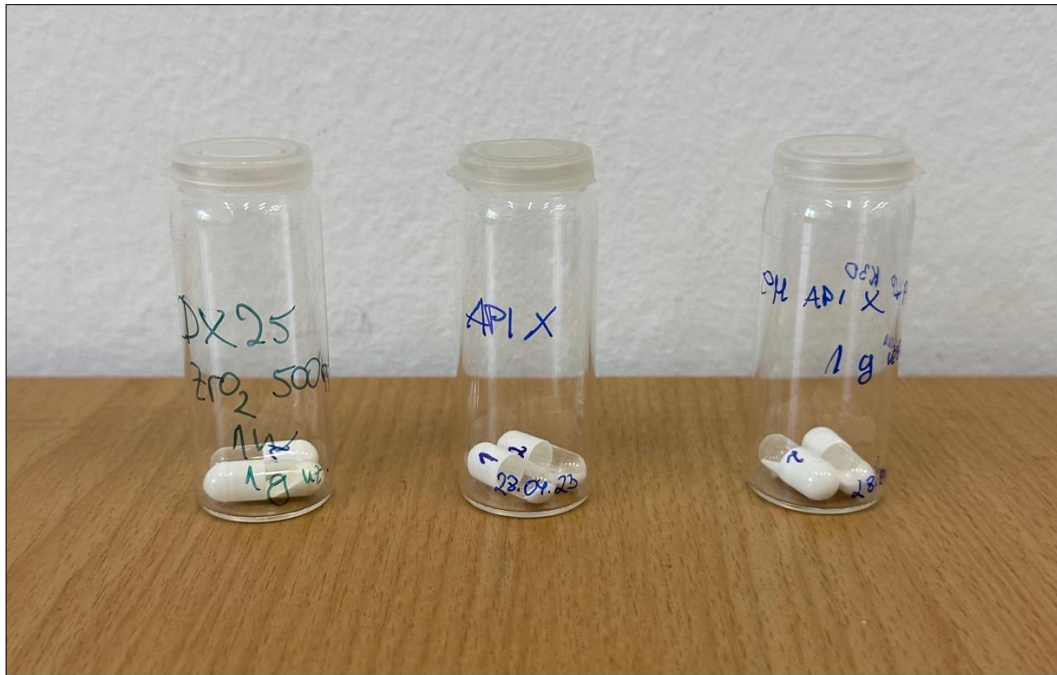
Treći set kapsula obuhvaća dvije kapsule koje sadrže čvrstu disperziju djelatne tvari X i PVP-a u omjeru 1:3 pripremljenu miješanjem fizikalne mješavine u planetarnom kugličnom mlinu 1 h pri broju okretaja 500 min^{-1} u posudi od ZrO_2 sa 10 kuglica od ZrO_2 mase 19,7194 g. Ukupna masa fizikalne mješavine stavljena u planetarni kuglični mlin je 1,0081 g pri čemu je izvagano 0,2538 g djelatne tvari X i 0,7543 g PVP-a.

Četvrti set kapsula uključuje dvije kapsule sa fizikalnom mješavinom djelatne tvari X i PVP-a. Ukupna masa fizikalne mješavine je 1,0032 g za što je izvagano 0,2509 g djelatne tvari X i 0,7523 g PVP-a. Dvije komponente su pomiješane u tarioniku.

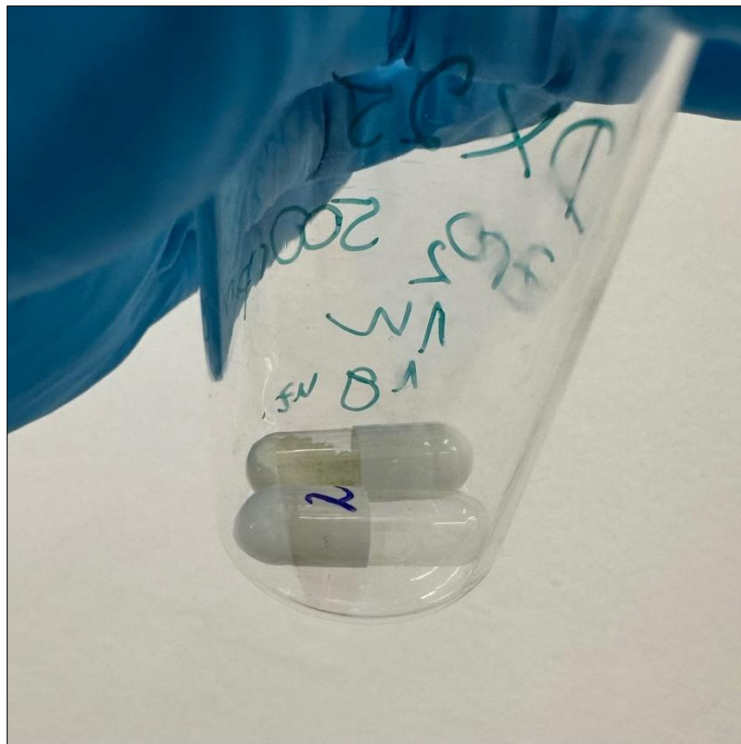
Uvjeti pripreme, vrste uzorka te točne mase obiju pripremljenih kapsula dani su u tabličnom prikazu u tablici 4.4.

Tablica 4.4. Tablični prikaz uzoraka i pripadajućih masa stavljenih u kapsule

Uzorak	Kapsule	
	m_1, g	m_2, g
Čvrsta disperzija DX25 1,0081 g	0,0814	0,0804
Fizikalna mješavina: djelatna tvar X + PVP	0,0811	0,0806
Čista djelatna tvar X	0,0204	0,0202
Čista djelatna tvar X miješana u planetarnom kugličnom mlinu	0,0205	0,0208



Slika 4.3. Pripravljene kapsule koje sadrže čvrstu disperziju djelatna tvar X-PVP u omjeru 1:3, čistu djelatnu tvar X i fizikalnu mješavinu djelatna tvar X-PVP (slijeva nadesno)



Slika 4.4. Dublet kapsula; na slici kapsule koje sadrže čvrstu disperziju djelatna tvar X-PVP u omjeru 1:3



Slika 4.5. Primjer pripravljene kapsule

4.6. Karakterizacija oralnog dozirnog oblika s povećanom topljivosti djelatne tvari

4.6.1. Sadržaj djelatne tvari u čvrstoj disperziji

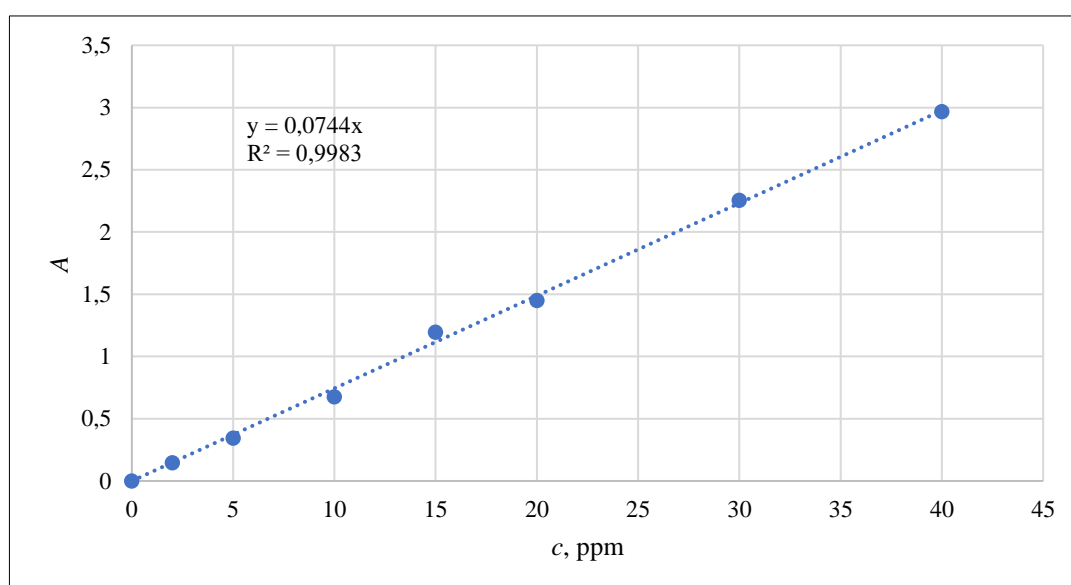
U čvrstoj disperziji djelatna tvar X-PVP te fizikalnoj mješavini djelatna tvar X-PVP, udio djelatne tvari X je 25 %, a budući da postoji zahtjev da se u kapsuli mora nalaziti 20 mg djelatne tvari X, za ispitivanje se odvaja 80 mg čvrste disperzije odnosno fizikalne mješavine.

Ispitivanje se provodi mjerenjem apsorbancije uzorcima (korišteni uređaj je Shimadzu, UV-VIS Spectrophotometer, UV-1280) pri valnoj duljini 322 nm te određivanjem njihove koncentracije pomoću baždarnog pravca izrađenog mjerenjem apsorbancije otopina standarda (djelatna tvar X otopljena u metanolu (CH_3OH)) različitih koncentracija.

Za osnovnu otopinu standarda, 5 mg djelatne tvari X otapa se u 50 mL CH_3OH . Otopina se filtrira te se priprema se niz otopina volumena 10 mL različitih koncentracija razrjeđivanjem osnovne otopine.

Tablica 4.5. Koncentracije standardne otopine pripremljene za izradu baždarnog dijagrama

γ , ppm	V (osnovna otopina standarda), mL
2	0,2
5	0,5
10	1
15	1,5
20	2
30	3
40	4



Slika 4.6. Baždarni dijagram; ovisnost apsorbancije o masenoj koncentraciji otopine

Uzorci se pripremaju otapanjem 80 mg čvrste disperzije odnosno fizikalne mješavine u 50 mL CH₃OH. Za svaku se smjesu pripremaju tri uzorka kojima se otapanje potiče stavljanjem u ultrasoničnu kupelj.

Uzorak iz svake tikvice se filtrira, izdvoji se 750 μ L te nadopuni sa CH₃OH do 10 mL. Tako pripremljenim uzorcima mjeri se apsorbancija i određuje koncentracija pomoću baždarnog pravca.

Tablica 4.6. Mase fizikalne mješavine i čvrste disperzije u tikvicama

Uzorak	1		2		3	
Vrsta smjese	Fizikalna mješavina	Čvrsta disperzija	Fizikalna mješavina	Čvrsta disperzija	Fizikalna mješavina	Čvrsta disperzija
<i>m</i> , mg	76,7	80,7	79,1	80,2	81,7	81,6



Slika 4.7. Pripremljeni uzorci čvrste disperzije djelatna tvar X-PVP otopljene u CH_3OH



Slika 4.8. Pripremljeni uzorci fizikalne mješavine djelatna tvar X-PVP otopljene u CH_3OH

4.6.2. *In vitro* testovi otapanja

Dio istraživanja posvećen otapanju napravljenih kapsula u otopini pufera rađen je sa ciljem simulacije uvjeta raspada kapsula u ljudskome tijelu odnosno ljudskom probavnom sustavu. Vrlo važni uvjeti kako bi simulacija bila uspješna je temperatura prilikom raspada kapsula 37 °C te pH 4 zbog činjenice da takva kiselost i temperatura odgovaraju uvjetima u ljudskom probavnom sustavu.

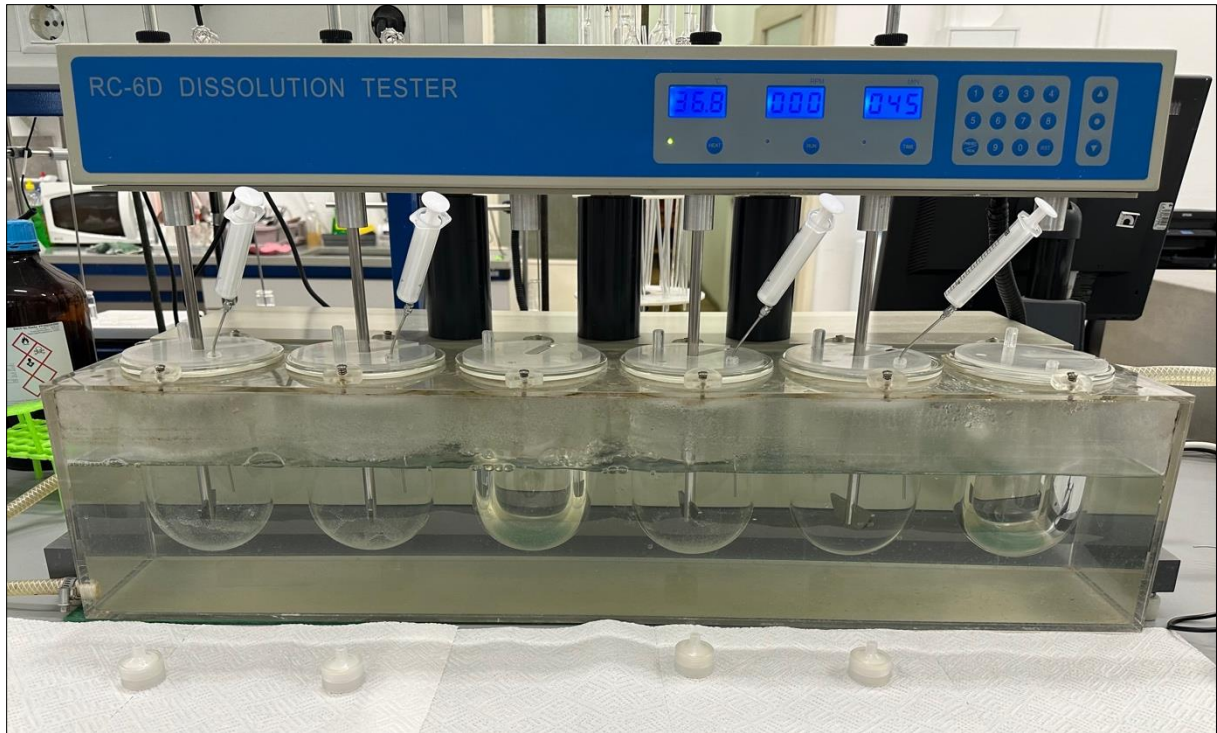
Ispitivanje se provodi u homogenoj smjesi koju čine pufer natrijeva acetata (CH_3COONa) i octene kiseline (CH_3COOH) te otopina surfaktanta u koju se unose kapsule. Pufer se dobiva pripremom otopine soli CH_3COONa dobivene otapanjem 11,6 g soli u 1,8 L destilirane vode te podešavanjem pH vrijednosti tih otopina na željenu vrijednost 4 (kontrolirano na uređaju RuVe, model InoLab, serija WTW) dodavanjem CH_3COOH . Željene otopine surfaktanta dobivaju se miješanjem 21,4 g surfaktanta sa 200 mL destilirane vode. Korišten surfaktant je Triton koji treba činiti 1% konačne otopine, no zbog činjenice da je vrlo viskozno, iz željenog se volumena preračunava masa koja se onda izvaže za pripremu.

Prvo ispitivanje provedeno je sa četiri kapsule, dvije u kojima se nalazila čvrsta disperzija djelatna tvar X-PVP te dvije u kojima se nalazila čista djelatna tvar X.

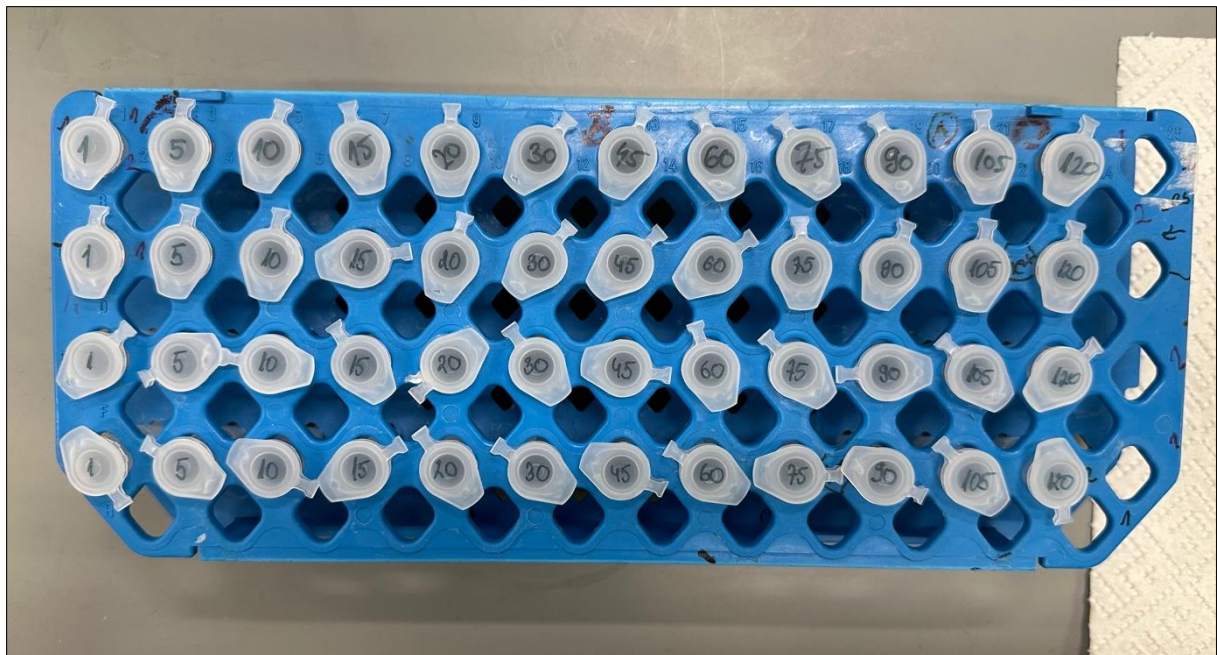
Testovi otapanja provode se u uređaju „RC-6D dissolution tester“. U dvije posude stavljene su kapsule sa čvrstom disperzijom djelatna tvar X-PVP, a u druge dvije posude kapsule sa čistom djelatnom tvari X. Isti postupak ponovljen je sa druga dva seta kapsula; dvije kapsule koje sadrže fizikalnu mješavinu djelatna tvar X-PVP i dvije kapsule koje sadrže čistu djelatnu tvar X miješanu u planetarnom kugličnom mlinu.

Sa indikatorom temperature provjeravala se temperatura otopina te je mjerenje započeto (kapsule unesene u otopine) onda kada je temperatura otopina dosegla željenih 37 °C. U navedenim vremenskim intervalima u špricu se uvuklo 5 mL uzorka te je važna jednakost količine uzetog uzorka kako bi se koncentracija unutar posude ravnomjerno postupno smanjivala.

Uzorci su uzimani u određenim vremenskim intervalima iz otopine te je na taj način praćen raspad kapsula i količina oslobođene tvari. Ukupno vrijeme praćenja je 2 sata, uzet je uzorak nakon 1 minute od stavljanja kapsule u otopinu te nakon 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 105 i 120 minuta od stavljanja kapsula u otopinu.



Slika 4.9. Aparatura za in vitro testove otapanja



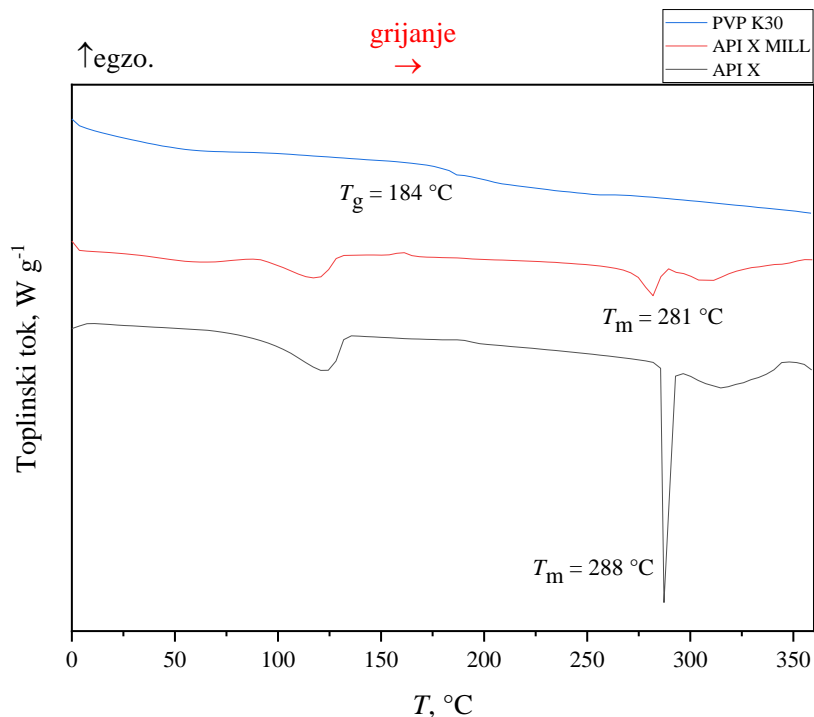
Slika 4.10. Eppendorf epruvete namijenjene za pohranu uzoraka nakon uzimanja iz posude za ispitivanje sa naznačenim vremenima, proteklim od pokretanja mjerenja, u kojima su uzorci uzorkovani

5. REZULTATI I RASPRAVA

5.1. Karakterizacija čvrstih disperzija

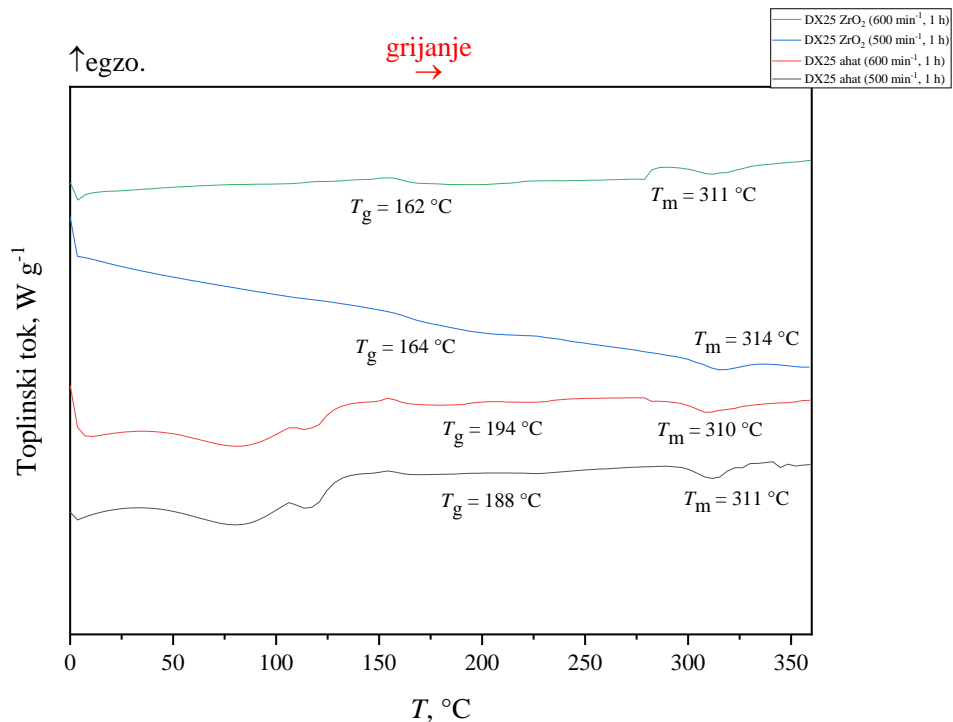
5.1.1. Podatci toplinske analize tvari – DSC analiza

Analizom pripremljenih uzoraka DSC metodom dobiveni su termogrami. Termogram svakog pojedinog uzorka sadrži podatke o entalpiji taljenja dobivene eksperimentalno. U tablici 5.1. navedene su entalpije taljenja za uzorke uzete iz literature ($h^f_{\text{teor.}}$), teorijski relativni stupanj kristalnosti ($RDC_{\text{teor.}}$), entalpije taljenja dobivene iz termograma ($h^f_{\text{eksp.}}$) te relativni stupanj kristalnosti dobiven eksperimentalno ($RDC_{\text{eksp.}}$).



Slika 5.1. DSC termogrami čistih komponenata - djelatne tvari i polimera

Na krivulji polimera PVP-a, uočava se staklište (T_g) na 184 °C karakteristično za amorfne tvari, a maksimuma koji bi ukazivao na talište (T_m) nema. Na krivuljama čiste djelatne tvari X i čiste djelatne tvari X miješane u planetarnom kugličnom mlinu uočavaju se dva maksimuma. Maksimumi na nižim temperaturama odnose se na izlazak vode iz kristalne rešetke budući da je djelatna tvar X prisutna kao monohidrat. Maksimum koji odgovara talištu puno je jače izražen te uži kod čiste djelatne tvari koja nije miješana u planetarnom kugličnom mlinu (288 °C) nego kod čiste djelatne tvari koja jest (281 °C). Takav rezultat može se pripisati činjenici da je kristalna uređenost djelatne tvari koja nije miješana u planetarnom kugličnom mlinu puno veća nego kristalna uređenost djelatne tvari koja jest jer se miješanjem u kugličnom mlinu nastoji smanjiti uređenost kristalne strukture, a dobiveni termogrami izgledom maksimuma te talištem ukazuju na zaključak da je nastojanje ostvareno.



Slika 5.2. DSC termogrami čvrstih disperzija pripremljenih pri različitim uvjetima

Termogrami čvrstih disperzija dobivenih pripravom u posudi od ahata pokazuju maksimum na temperaturi 80 °C koji odgovara oslobađanju vode iz kristalne rešetke djelatne tvari prilikom mehanokemijske aktivacije u mlinu. Maksimumi na 125 °C ukazuju na zaostalu vodu koja se nije oslobodila iz kristalne rešetke, a maksimumi pri 150 °C na hladnu kristalizaciju do koje dolazi zbog amornog dijela koji zaostaje neposložen zbog činjenice da se uzorak hladi vađenjem iz kugličnog mlina u kojem je djelovalo grijanje uslijed miješanja.

Usporedbom termograma koji prikazuje čiste komponente i termograma koji prikazuje čvrste disperzije, vidljivo je povećanje tališta čvrstih disperzija u odnosu na čistu djelatnu tvar X čije je talište 288 °C. Promatrajući čvrste disperzije miješane u istoj posudi pri različitim uvjetima, više talište pokazuju disperzije miješane pri broju okretaja 500 min⁻¹. Kod posuda od ahata, razlika tališta je 1 °C dok je kod posuda od ZrO₂ razlika 3 °C što ukazuje na veću razliku stabilnosti čvrstih disperzija miješanih u posudi od ZrO₂.

Od svih ispitivanih čvrstih disperzija, najviše talište ima ona miješana pri uvjetima 500 min⁻¹, 1 h u posudi od ZrO₂ što pokazuje najveću stabilnost tako pripravljene čvrste disperzije te se time dodatno potvrđuje da je optimalni uvjet pripreme čvrste disperzije broj okretaja 500 min⁻¹.

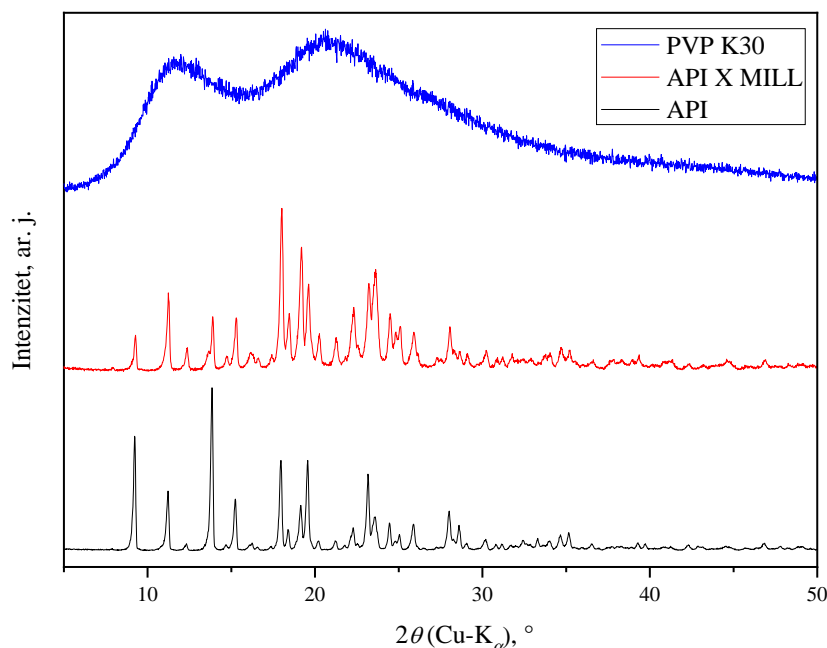
Tablica 5.1. Teorijske i eksperimentalne vrijednosti; specifične entalpije taljenja uzoraka i proračunati relativni stupnjevi kristalnosti uzoraka

Uzorak	Karakteristike čvrste disperzije			$h^f_{\text{teor.}}$ [J/g]	$RDC_{\text{teor.}}$ [%]	$h^f_{\text{eksp.}}$ [J/g]	$RDC_{\text{eksp.}}$ [%]
	m , g	Vrsta posude	Uvjeti miješanja				
1	1	ahat	500 min ⁻¹ 1 h	-23,79	25,00	-9,77	10,27
2	1	ahat	600 min ⁻¹ 1 h	-23,79	25,00	-11,33	11,91
3	3	ZrO ₂	500 min ⁻¹ 1 h	-23,79	25,00	-23,11	24,28
4	3	ZrO ₂	600 min ⁻¹ 1 h	-23,79	25,00	-24,28	25,51
5	1	ZrO ₂	500 min ⁻¹ 1 h	-23,79	25,00	-9,39	9,87
6	1	ZrO ₂	600 min ⁻¹ 1 h	-23,79	25,00	-10,13	10,64

$$RDC_{\text{eksp.}} = RDC_{\text{teor.}} * \frac{h^f_{\text{eksp.}}}{h^f_{\text{teor.}}} = 25,00\% * \frac{-9,77 \text{ J/g}}{-23,79 \text{ J/g}} = 10,27\%$$

Za uzorke miješane u posudi od ZrO_2 očekivan je manji relativni stupanj kristalnosti. Uspoređujući relativni stupanj kristalnosti svih šest uzoraka, vidljiv je trend njegova povećanja u uvjetima miješanja pri 600 min^{-1} u odnosu na 500 min^{-1} što ukazuje na to da je optimalni uvjet miješanja djelatne tvari X i polimera PVP u planetarnom kugličnom mlinu u svrhu dobivanja čvrste disperzije djelatna tvar X-PVP broj okretaja 500 min^{-1} . Ukoliko se uspoređuju relativni stupnjevi kristalnosti za prva četiri uzorka, moglo bi se zaključiti da je posuda pogodnija za pripravu uzorka ahat, no budući da masa uzorka 1 i 2 miješanih u planetarnom kugličnom mlinu u posudi od ahata iznosi 1 g, a masa uzorka 3 i 4 miješanih u planetarnom kugličnom mlinu u posudi od ZrO_2 iznosi 3 g, dobiveni rezultati nisu usporedivi zbog činjenice da je puno lakše amorfizirati 1 g uzorka nego 3 g. Iz tog razloga je potrebno analizirati uzorke 5 i 6 čija je masa 1 g miješana u planetarnom kugličnom mlinu pri uvjetima 500 min^{-1} i 600 min^{-1} u trajanju 1 h. Za takve je uzorke očekivan relativni stupanj kristalnosti manji od onog koji pokazuju uzorak 1 i 2. Rezultati potvrđuju pretpostavku te su relativni stupnjevi kristalnosti za uzorke 5 i 6 najniži od stupnjeva kristalnosti svih ispitanih uzoraka. Najmanji stupanj kristalnosti pokazuje uzorak 5 koji predstavlja čvrstu disperziju djelatna tvar X-PVP miješanu 1 h na 500 min^{-1} čime se utvrđuje da je uvjet miješanja u planetarnom kugličnom mlinu najpogodniji za pripravu čvrste disperzije djelatna tvar X-PVP broj okretaja 500 min^{-1} u posudi od ZrO_2 .

5.1.2. Podatci difrakcijske analize tvari – XRPD analiza



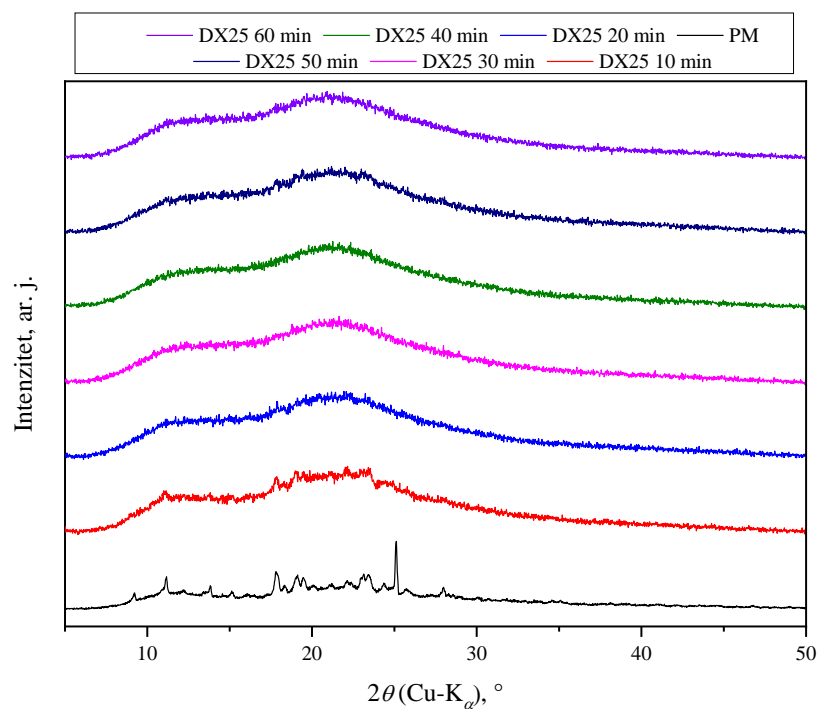
Slika 5.3. Difraktogrami čistih komponenta - djelatne tvari i polimera

Na slici 5.3. prikazani su difraktogrami netretirane djelatne tvari, djelatne tvari podvrgnute mehanokemijskom tretmanu, te difraktogram PVP-a. Na difraktogramu netretirane djelatne tvari mogu se uočiti oštri difrakcijski maksimumi karakteristični za visoko uređene kristalne strukture. Difraktorom mehanokemijski tretirane djelatne tvari također pokazuje karakteristične maksimume, ali su neki eliminirani ili znatno umanjeni što ukazuje da je prilikom mehanokemijskog tretmana došlo do djelomične amorfizacije uzorka. Na difraktogramu čistog polimera poli(vinil-pirolidona) ne uočavaju se maksimumi, odnosno vidljiva je njegova karakteristična potpuno amorfna struktura.

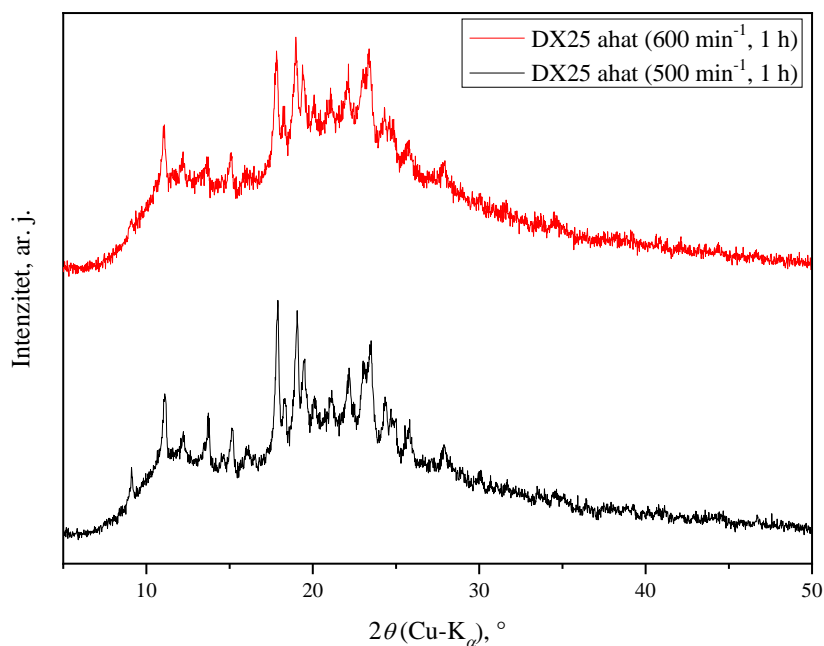
S obzirom na sliku 5.4., lako je uočljivo da krivulja koja odgovara fizikalnoj mješavini ima jasno izražene difrakcijske maksimume, očekivano za uzorak u kristalnom stanju. Na krivulji snimljenoj za uzorak nakon 10 minuta miješanja u planetarnom kugličnom mlinu, difrakcijski maksimumi manje su izraženi, ali nije pokazana „halo“ krivulja karakteristična za uzorke u amorfnom stanju. Prve naznake takve krivulje uočavaju se na onoj snimljenoj za uzorak miješan 20 minuta te svi uzorci uzeti nakon svakih idućih 10 minuta miješanja pokazuju krivulju gotovo identičnu onoj koju pokazuje uzorak miješan 20 minuta. Ovakva interpretacija krivulja ukazuje na to da je fizikalnoj mješavini sastavljenoj od djelatne tvari X i PVP-a dovoljno 20 minuta miješanja u planetarnom kugličnom mlinu pri broju okretaja 500 min^{-1} kako

bi se odvio prijelaz iz kristalnog u amorfno stanje (formirala čvrsta disperzija) te se daljnjim miješanjem, duljim od 20 minuta, amorfizacija neće povećati.

Očekivani rezultat amorfizacije je promjena oblika krivulje dobivene u rendgenogramu iz krivulje sa izraženim difrakcijskim maksimumima u „halo“ krivulju.



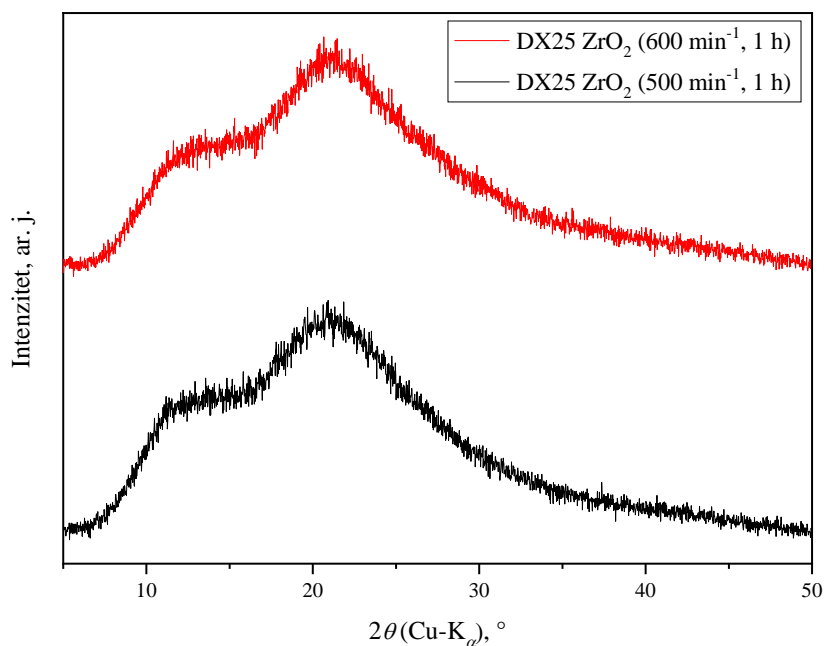
Slika 5.4. Difraktogrami pripremljenih disperzija



Slika 5.5. Difraktogrami čvrstih disperzija pripremljenih u ahatu

Uspoređujući dobivene krivulje, odmah se uočava značajna razlika između amornog polimera PVP-a i čiste djelatne tvari X. Krivulja za čistu djelatnu tvar X ima izraženije maksimume u odnosu na onu za čistu djelatnu tvar X miješanu u planetarnom kugličnom mlinu te takav prikaz ukazuje na značajno smanjenje uređene kristalne strukture miješanjem u planetarnom kugličnom mlinu.

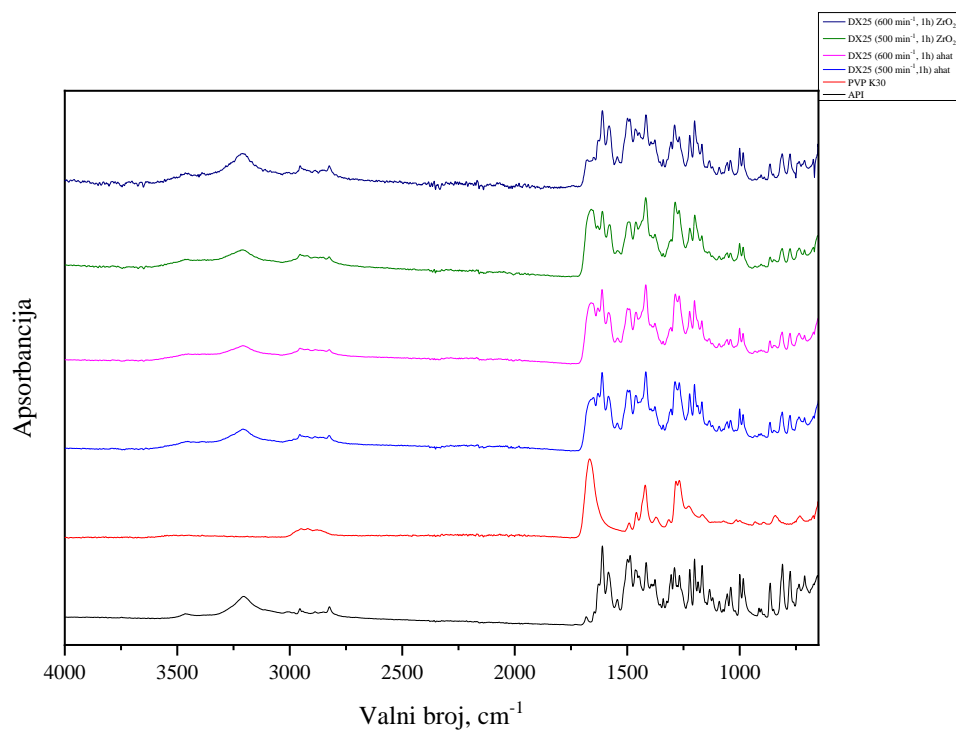
Dobivene krivulje za čvrste disperzije miješane u posudi od ahata pri 500 min⁻¹ i 600 min⁻¹ pokazuju veliki broj maksimuma što ukazuje na zaključak kako nije ostvarena željena amorfizacija. Krivulje su međusobno vrlo slične, gotovo da se i ne vidi razlika između uzorka miješanog pri 500 min⁻¹ i onog miješanog pri 600 min⁻¹. No, kod krivulje za čvrstu disperziju miješanu pri 500 min⁻¹, na 9,12 ° uočava se maksimum koji je povezan za izlazom vode iz kristalne strukture s obzirom na činjenicu da je djelatna tvar X prisutna kao monohidrat.



Slika 5.6. Difraktogrami čvrstih disperzija pripremljenih u ZrO₂

Dobivene krivulje za čvrste disperzije miješane u posudi od ZrO₂ pri 500 min⁻¹ i 600 min⁻¹ znatno su različite od krivulja čvrstih disperzija miješanih u posudi od ahata pri istim uvjetima. Difrakcijski su maksimumi iščezli te je krivulja poprimila „halo“ oblik karakterističan za amorfno stanje tvari što ukazuje na uspješnu amorfizaciju u posudi od ZrO₂.

5.1.3. Podatci spektroskopske analize tvari – FTIR analiza



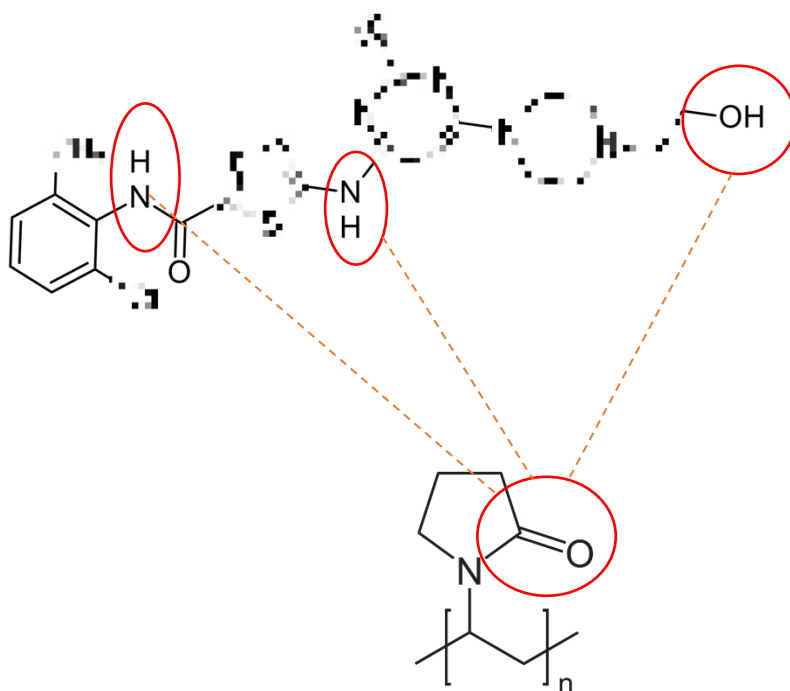
Slika 5.7. FTIR spektri djelatne tvari, polimera i čvrstih disperzija

Tablica 5.2. Tablični prikaz dobivenih signala s pripadajućim valnim brojem i uzrokom

Valni broj, cm^{-1}	Uzrok signala
3456	Rastezanje -NH
3203	Rastezanje -OH
2953	Rastezanje -CH ₂ , -CH
1610	Veza C=O
1581	Veza HC=CH
1501	Rastezanje N-O
1412	Savijanje -OH
997	Veza C-O
769	Veza C-Cl

Promatrajući sliku 5.7., za čistu djelatnu tvar X uočeni su signali kao rezultat rastezanja veze N-H (3456 cm^{-1}) odnosno veze O-H (3203 cm^{-1}). Za čisti polimer PVP uočen je signal koji pokazuje karbonilna skupina (1610 cm^{-1}).

Na slici 5.8. grafički su prikazane vodikove interakcije između karbonilne skupine polimera (C=O) te amino skupine odnosno hidroksilne skupine djelatne tvari X. Ovakve interakcije rezultiraju signalima u području od 1500 cm^{-1} . Pomak apsorpcijskih maksimuma ukazuje na ostvarivanje vodikovih interakcija čime je potvrđena uspješna mehanokemijska aktivacija.



Slika 5.8. Prikaz potencijalnih vodikovih interakcija između djelatne tvari X i PVP-a uslijed mehanokemijske aktivacije

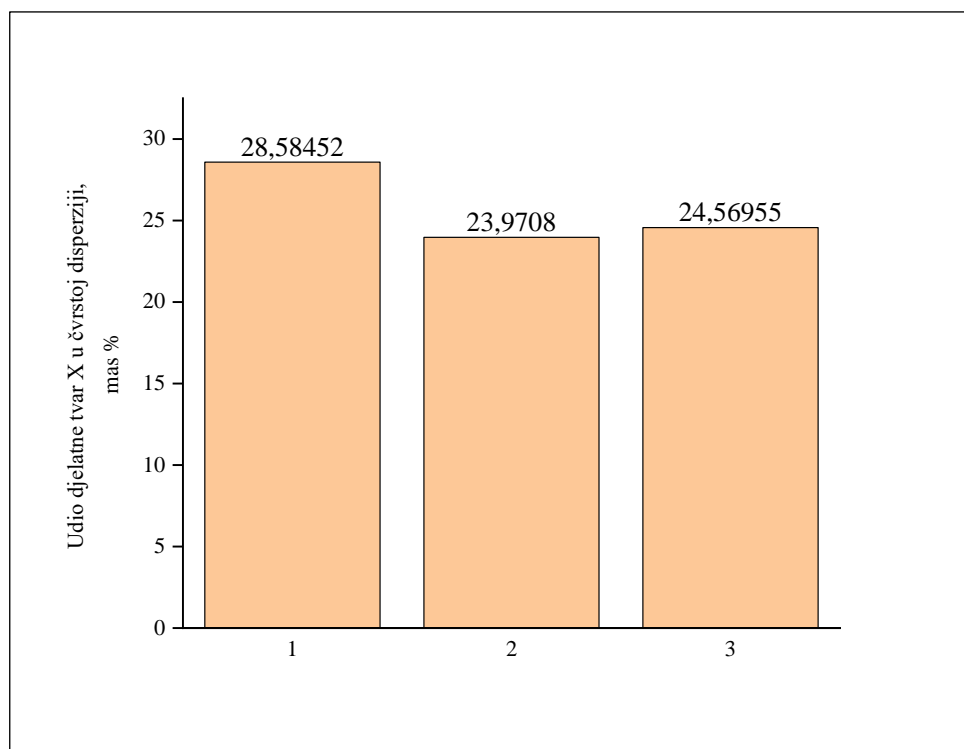
5.2. Karakterizacija oralnog dozirnog oblika

5.2.1. Sadržaj djelatne tvari u čvrstoj disperziji

Ciljani sadržaj djelatne tvari X u kapsulama punjenima čvrstom disperzijom djelatna tvar X-PVP i fizikalnom mješavinom djelatna tvar X-PVP je 20 mg. Da bi sadržaj bio prihvatljiv, dozvoljeno odstupanje u odnosu na ciljanu količinu od 20 mg je $\pm 10\%$ (± 2 mg).

Tablica 5.3. Sadržaj djelatne tvari u kapsulama koje sadrže čvrstu disperziju djelatne tvari

Uzorak	<i>m</i> (djelatna tvar X) u kapsuli, mg	Količina djelatne tvari X u kapsuli, %
1	23,07	28,58
2	19,22	23,97
3	20,05	24,57
Srednja vrijednost	20,78	25,71



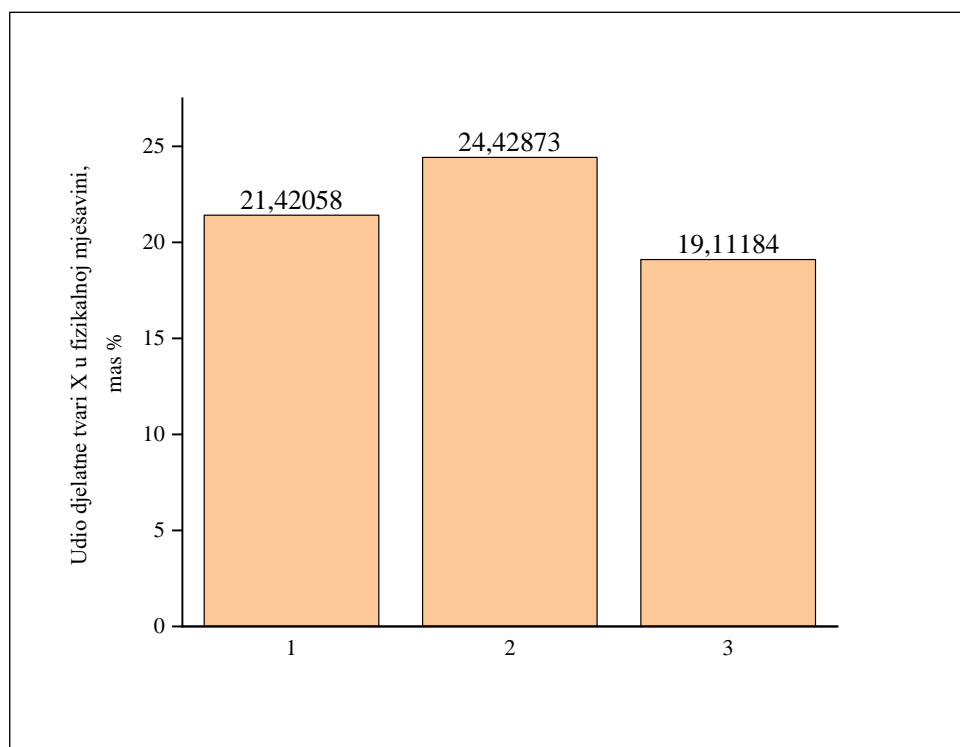
Slika 5.9. Količina djelatne tvari X u kapsulama koje sadrže čvrstu disperziju djelatne tvari

Analizirajući sadržaj djelatne tvari u kapsulama koje sadrže čvrstu disperziju djelatna tvar X-PVP, s obzirom na ciljane količine djelatne tvari u kapsulama, srednja vrijednost mase u iznosu 20,78 mg ukazuje na prihvatljiv iznos koji je unutar dozvoljenih granica odstupanja.

Razmatrajući uzorke pojedinačno, masa najbliža ciljanoj vrijednosti je masa djelatne tvari u uzorku 3 (20,05 mg) sa odstupanjem od 0,05 mg u odnosu na ciljane masu.

Tablica 5.4. Sadržaj djelatne tvari u kapsulama koje sadrže fizikalnu mješavinu djelatne tvari

Uzorak	m (djelatna tvar X) u kapsuli, mg	Količina djelatne tvari X u kapsuli, %
1	16,43	21,42
2	19,32	24,43
3	15,61	19,11
Srednja vrijednost	17,12	21,65

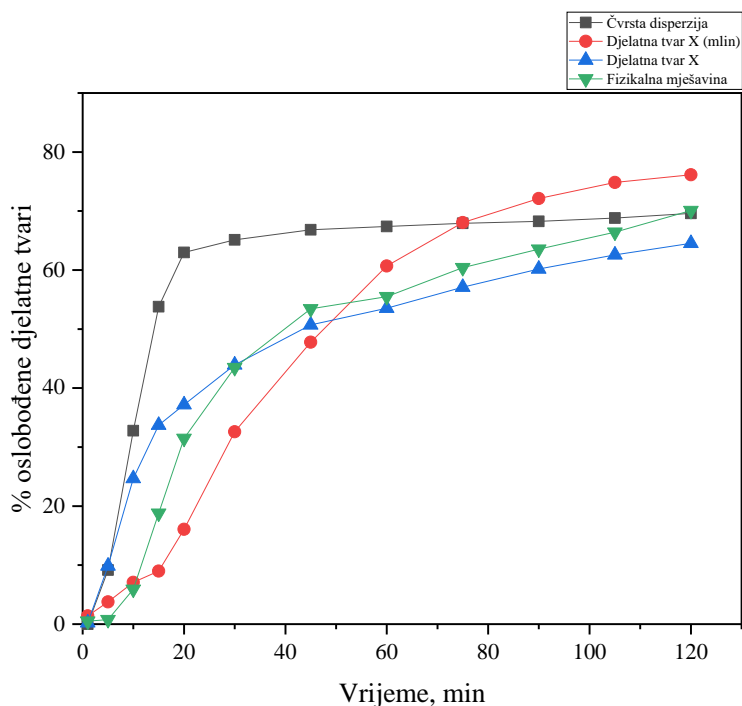


Slika 5.10. Količina djelatne tvari X u kapsulama koje sadrže fizikalnu mješavinu djelatne tvari

Razmatrajući sadržaj djelatne tvari u kapsulama koje sadrže fizikalnu mješavinu djelatna tvar X-PVP, može se uočiti značajnije odstupanje dobivenih masa od željene vrijednosti. Jedino uzorak 2 pokazuje masu djelatne tvari unutar dozvoljenog intervala odstupanja (19,32 mg). Zbog činjenice da se dva od tri uzorka masom nalaze izvan dozvoljenog intervala odstupanja, srednja vrijednost mase djelatne tvari u kapsulama sa fizikalnom mješavinom u iznosu 17,12 mg premašuje dozvoljeno odstupanje od $\pm 10\%$ željene mase djelatne tvari u kapsuli. Također, posebno se ističe uzorak 3 koji pokazuje niži sadržaj djelatne tvari u kapsuli u odnosu na ostala dva uzorka.

Uspoređujući dobivene rezultate za čvrstu disperziju i fizikalnu mješavinu, vidljivo je da količina djelatne tvari X u kapsulama koje sadrže čvrstu disperziju puno bliža ciljanoj količini djelatne tvari nego u kapsulama koje sadrže fizikalnu mješavinu. Budući da je svih šest uzoraka sa istom količinom otapala i istom količinom smjese, može se izvesti zaključak kako miješanje u planetarnom kugličnom mlinu ima utjecaj na postizanje veće homogenosti same smjese. Posljedica povećane homogenosti smjese je veća vjerojatnost iste količine djelatne tvari X u svakom dijelu smjese pa je vjerojatnost da u određenom dijelu značajno prevladava polimer u odnosu na djelatnu tvar smanjena što je i potvrđeno rezultatima.

5.2.2. *In vitro* testovi otapanja



Slika 5.11. Profili oslobađanja djelatne tvari X

Rezultati *in vitro* testova otapanja krivulje su ovisnosti količine oslobođene djelatne tvari izražene u postotku s vremenom odnosno profili oslobađanja djelatne tvari.

Prema priloženoj slici 5.11., najbrže oslobađanje odnosno najveći postotak oslobođene djelatne tvari u najkraćem vremenu ima čvrsta disperzija djelatna tvar X-PVP. Najsporije se oslobađa djelatna tvar X koja je mehanokemijski tretirana u planetarnom kugličnom mlinu. Brzine oslobađanja za uzorke fizikalne mješavine djelatna tvar X-PVP te čistu djelatnu tvar X su približno jednake.

Najveću količinu oslobođene tvari na kraju ispitivanja pokazuje djelatna tvar X mehanokemijski tretirana u planetarnom kugličnom mlinu (gotovo 80 %). Čvrsta disperzija djelatna tvar X-PVP i fizikalna mješavina djelatna tvar X-PVP pokazuju gotovo istu količinu oslobođene tvari na kraju ispitivanja dok čista djelatna tvar X pokazuje najmanju količinu oslobođene tvari.

Od posebnog je interesa krivulja koja opisuje oslobađanje djelatne tvari X iz kapsule koja sadrži čvrstu disperziju. U vremenskom intervalu od početka mjerenja do 30. minute, količina oslobođene tvari porasla je do 65 % te se do kraja mjerenja gotovo i nije mijenjala. Budući da je količina oslobođene tvari na kraju mjerenja 69,61 %, može se zaključiti da se

najveći dio djelatne tvari iz kapsule oslobodio unutar 30 minuta te je u preostalih 90 oslobodeno nešto više od 4 %.

Uspoređujući oslobađanje djelatne tvari iz kapsule koja sadrži čvrstu disperziju i kapsule koja sadrži čistu djelatnu tvar tretiranu u mlinu, uočljivo je kako je brzina oslobađanja djelatne tvari iz kapsule s čvrstom disperzijom najveća, a za čistu djelatnu tvar miješanu u planetarnom kugličnom mlinu najmanja, no na kraju mjerenja, količina oslobodene djelatne tvari iz kapsule koja sadrži čvrstu disperziju zaostaje gotovo 7 % u odnosu na kapsulu koja sadrži čistu djelatnu tvar miješanu u mlinu. Oslobađanje djelatne tvari iz kapsule koja sadrži čistu djelatnu tvar miješanu u planetarnom kugličnom mlinu puno je stabilnije i kontroliranije nego kod čvrste disperzije unatoč tome što je sporije.

Prema prikazu na slici 5.11., može se izvesti zaključak da je ovim istraživanjem mehanokemijski aktivirana ova specifična djelatna tvar X budući da je brzina oslobađanja aktivne komponente iz kapsule koja sadrži čvrstu disperziju veća od brzina oslobađanja za ostale uzorke.

6. ZAKLJUČAK

Uspješno su pripravljene disperzije čvrste djelatne tvari X i čvrstog polimera poli(vinil-pirolidona) u planetarnom kugličnom mlinu. Korištene su posude i tijela za usitnjavanje od ahata i cirkonijevog oksida. Dobivene čvrste disperzije karakterizirane su diferencijalnom pretražnom kalorimetrijom, rendgenskom difrakcijskom analizom praha te infracrvenom spektroskopijom s Fourierovim transformacijama.

Toplinskom analizom dokazano je veća termička stabilnost djelatne tvari u disperziji. Najmanji stupanj kristalnosti pokazuje uzorak čvrste disperzije pripravljene u posudi od cirkonijevog oksida pri 500 okretaja po minuti. Rendgenska difrakcija potvrdila je rezultate toplinske analize i pokazala kako čvrste disperzije pripravljene u ahatu imaju veću kristalnu uređenost od onih pripremljenih u cirkonijevom oksidu koje pokazuju amorfnu strukturu. Spektroskopskom analizom nije dokazana prisutnost potencijalnih vodikovih veza između djelatne tvari X i polimera.

Po provedenim preliminarnim testovima te kompletnoj karakterizaciji disperzija utvrđeni su optimalni uvjeti pripreve binarnih disperzija mljevenjem: posuda i tijela za usitnjavanje od cirkonijevog oksida, omjer mase uzorka i kuglica iznosi 1:20, masa uzorka 1 g, te broj okretaja mlina 500 min^{-1} .

Pripravljene su kapsule s čistom netretiranom djelatnom tvari, s djelatnom tvari koja je prethodno mehanokemijski tretirana, te kapsule s čvrstim disperzijama i fizikalnim mješavinama djelatne tvari.

Rezultati istraživanja pokazuju da se ova specifična djelatna tvar X može mehanokemijski aktivirati u smislu poboljšanja njezinih svojstva topivosti. Testovi topljivosti pokazuju da je u slučaju mehanokemijskog tretmana oslobođeno više djelatne tvari u odnosu na fizikalnu mješavinu i čistu djelatnu tvar (netretirani uzorci). Profili oslobađanja dodatno ukazuju na poboljšanu topljivost i brže oslobađanje djelatne tvari iz kapsula koje sadrže čvrste disperzije u odnosu na one koje sadrže netretiranu djelatnu tvar.

7. LITERATURA

1. Ketan T. Savjani, Anuradha K. Gajjar, and Jignasa K. Savjani, Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques, Review Article, International Scholarly Research Network, ISRN Pharmaceuticals, Volume 2012, Article ID 195727, 10 pages
2. Mrežna stranica: <https://www.msdvvetmanual.com/pharmacology/pharmacology-introduction/routes-of-administration-and-dosage-forms>, MSD Manual, Veterinary Manual (pristup: 29. 5. 2023.)
3. Nadia Saffoon, Riaz Uddin, Naz Hasan Huda and Kumar Bishwajit Sutradhar, Enhancement of Oral Biavailability and Solid Dispersion: A review, Journal of Applied Pharmaceutical Science 01 (07); 2011: 13-20
4. Mrežna stranica: <http://www.ms-prirucnici.placebo.hr/msd-za-pacijente/lijekovi/primjena-raspodjela-i-izlucivanje-lijekova>, Medicinski priručnik za pacijente, pod pokroviteljstvom Hrvatskog liječničkog zbora u suradnji sa farmaceutskom tvrtkom MSD (pristup: 29. 5. 2023.)
5. MacGregor R.R., Graziani A.L. Oral Administration of Antibiotics: A Rational Alternative to the Parenteral Route. Clinical Infectious Diseases. 1997; 24:457-67
6. Dharendra K., Lewis S., Udupa N., Atin K. Solid Dispersions: A Review. Pak J Pharm Sci. 2009; 22 (2): 234-246
7. FDA. Waiver of *in vivo* Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms based on a Biopharmaceutics Classification System 2000.
8. Yanbin Huang, Wei-Guo Dai, Fundamental aspects of solid dispersion technology for poorly soluble drugs, Acta Pharmaceutica Sinica B 2014; 4(1): 18-25
9. Murtha J.L., Ando H.Y. Synthesis of the cholesteryl ester prodrugs cholesteryl ibuprofen and cholesteryl flufenamate and their formulation into phospholipid microemulsions. J Pharm Sci. 1994; 83: 1222-1228
10. Ghorab M.K., Adeyeye M.C. Enhancement of ibuprofen dissolution via wet granulation with beta-cyclodextrin. Pharm Dev Technol. 2001; 6(3): 305-314
11. Adeyeye C.M., Price J.C. Development and evaluation of sustained-release ibuprofen-wax microspheres-II. *In vitro* dissolution studies. Pharm Res. 1994; 11(4): 575-579
12. Shakhtshneider T.P., Vasilchenko M.A., Politov A.A., Boldyrev V.V. The mechanochemical preparation of solid disperse systems of ibuprofen-polyethylene glycol. Int J Pharm. 1996; 130: 25-32

13. Craig D.Q.M. The mechanisms of drug release from solid dispersions in water-soluble polymers. *Int J Pharm.* 2002; 231(2): 131-144
14. Gao P., Morozowich W. Development of supersaturatable self-emulsifying drug delivery system formulations for improving the oral absorption of poorly soluble drugs. *Expert Opin Drug Deliv.* 2006; 3(1): 97-110
15. Tang J., Sun J., He Z.G. Self-emulsifying drug delivery systems: strategy for improving oral delivery of poorly soluble drugs. *Current Drug Therapy.* 2007; 2(1): 85-93
16. Chiou W.L., Riegelman S. Pharmaceutical applications of solid dispersion systems. *J Pharm Sci.* 1971; 60(9): 1281-1302
17. Ford J.L. The current status of solid dispersions. *Pharm Acta Helv.* 1986; 61:69-88
18. Law S.L., Lo W.Y., Lin F.M., Chaing C.H. Dissolution and absorption of nifedipine in polyethylene glycol solid dispersion containing phosphatidylcholine. *Int J Pharm.* 1992; 84: 161-166
19. Leuner C., Dressman J. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. *Eur J Pharm Biopharm.* 2000; 50 (1): 47-60
20. Uddin R., Saffoon N., Huda N.H., Jhanker Y.M. Effect of Water Soluble Polymers on Dissolution Enhancement of Ibuprofen Solid Dispersion Prepared by Fusion Method. *Stamford Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2010; 3(1): 63-67
21. Goldberg A.H., Gibaldi M., Kanig J.L. Increasing dissolution rates and gastrointestinal absorption of drugs via solid solutions and eutectic mixtures. I-theoretical considerations and discussion of the literature. *J Pharm Sci.* 1965; 54: 1145-1148
22. Sekiguchi K., Obi N. Studies on absorption of eutectic mixture. I. A comparison of the behavior of eutectic mixture of sulfathiazole and that of ordinary sulfathiazole in man. *Chem. Pharmaceut Bull.* 1961; 9: 866-872
23. Chokshi R.J., Zia H., Sandhu H.K., Shah N.H., Malick W.A. Improving the Dissolution Rate of Poorly Water Soluble Drug by Solid Dispersion and Solid Solution – Pros and Cons. *Drug Delivery.* 2007; 14(1): 33-45
24. Chiou W.L., Riegelman S. Preparation and Dissolution Characteristics of Several Fast-Release Solid Dispersions of Griseofulvin. *J Pharm Sci.* 1969; 58(12): 1505-1510
25. Vasconcelos T., Sarmiento B., Costa P., Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs. *Drug Discov Today.* 2007; 12(23/24): 1068-1075

26. Sekiguchi K., Obi N. Studies on Absorption of Eutectic Mixture II. Absorption of Fused Conglomerates of Chloramphenicol and Urea in Rabbits. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 1964; 12: 134-144
27. Goldberg A.H., Gibaldi M., Kanig J.L., Mayersohn M. Increasing dissolution rates and gastrointestinal absorption of drugs via solid solutions and eutectic mixtures. IV. Chloramphenicol-urea system. 1966a; *J Pharm Sci*. 55: 581-583
28. Vilhelmsen T., Eliassen H., Schaefer T. Effect of a melt agglomeration process on agglomerates containing solid dispersions. *Int J Pharm*. 2005; 303(1-2): 132-142
29. van Drooge D.J., Hinrichs W.L., Visser M.R., Frijlink H.W. Characterization of the molecular distribution of drugs in glassy solid dispersions at the nano-meter scale, using differential scanning calorimetry and gravimetric water vapour sorption techniques. *Int J Pharm*. 2006a; 310(1-2): 220-229
30. Goldberg A.H., Gibaldi M., Kanig J.L. Increasing dissolution rates and gastrointestinal absorption of drugs via solid solutions and eutectic mixtures III – experimental evaluation of griseofulvin-succinic acid solid solution. *J Pharm Sci*. 1966b; 55: 487-492
31. van Drooge D.J., Braeckmans K., Hinrichs W.L.J., Reniant K., de Smedt S.C., Frijlink H.W. Characterization of the Mode of Incorporation of Lipophilic Compounds in Solid Dispersions at the Nanoscale Using Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET). *Macromol Rapid Commun*. 2006b; 27(14): 1149-1155
32. Pokharkar V.B., Mandpe L.P., Padamwar M.P., Ambike A.A., Mahadik K.R., Paradkar A. Development, characterization and stabilization of amorphous form of a low Tg drug. *Powder Technol*. 2006; 167(1): 20-25
33. Chauhan B., Shimpi S., Paradkar A. Preparation and evaluation of glibenclamide-polyglycolized glycerides solid dispersions with silicon dioxide by spray drying technique. *Eur J Pharm Sci*. 2005; 26(2): 219-230
34. Vasanthavada M., Tong W.Q., Joshi Y., Kislalioglu M.S. Phase behavior of amorphous molecular dispersions I: Determination of the degree and mechanism of solid solubility. *Pharm Res*. 2004; 21(9): 1598-1606
35. Johari G.P., Kim S., Shanker R.M. Dielectric studies of molecular motions in amorphous solid and ultraviscous acetaminophen. *J Pharm Sci*. 2005; 94 (10): 2207-2223
36. Serajuddin A.T.M. Solid Dispersion of Poorly Water-Soluble Drugs: Early Promises, Subsequent Problems, and Recent Breakthroughs. *J Pharm Sci*. 1999; 88(10): 1058-1066

37. Wang X., Michael A., Van den Mooter G. Solid state characteristics of ternary solid dispersions composed of PVP VA64, Myrj 52 and itraconazole. *Int J Pharm.* 2005; 303(1-2): 54-61
38. Taylor L.S., Zografi G. Spectroscopic characterization of interactions between PVP and indomethacin in amorphous molecular dispersions. *Pharm Res.* 1997 14(12): 1691-1698
39. Xiangyu Ma, Robert O. Williams III, Characterization of amorphous solid dispersions: An update, *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 50 (2019) 113-124
40. Monika Zelić, *Supramolekulska kemija i mehanokemijska sinteza*, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Kemijski odsjek, Poslijediplomski sveučilišni studij Kemija, Smjer: Anorganska i strukturna kemija, Kemijski seminar I, 2017.
41. Anita Ivanković, Ana Dronjić, Anita Martinović Bevanda, Stanislava Talić, Review of 12 Principles of Green Chemistry in Practice, *International Journal of Sustainable and Green Energy*, 2017; 6(3): 39-48
42. Eva Pančić, *Uloga polimera u povećanju topljivosti djelatne tvari*, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilišni preddiplomski studij, Završni rad, 2019.

8. POPIS SIMBOLA I AKRONIMA

Simboli korišteni u radu:

A – apsorbancija

h^f - specifična entalpija taljenja uzoraka ($J g^{-1}$)

m – masa uzoraka (g, mg)

T_g – staklište (temperatura staklastog prijelaza) ($^{\circ}C$)

T_m - talište (temperatura taljenja) ($^{\circ}C$)

V – volumen (μL , mL, L)

Grčki simboli:

γ – masena koncentracija (ppm)

Akronimi korišteni u radu

BCS - *Biopharmaceutical Classification System*, Biofarmaceutski sustav klasifikacije djelatnih tvari

CH₃OH - metanol

CH₃COOH – octena kiselina

CH₃COONa – natrijev acetat

DSC – *Differential Scanning Calorimetry*, diferencijalna pretražna kalorimetrija

DX25 – čvrsta disperzija sa udjelom djelatne tvari X 25 %

EPA – *U.S. Environmental Protection Agency*, Američka agencija za zaštitu okoliša

FDA – *U.S. Food and Drugs Administration*, Američka agencija za hranu i lijekove,

FTIR – *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, infracrvena spektroskopija s Fourierovim transformacijama

PEG – poli(etilen-glikol)

PM – *Physical Mixture*, fizikalna mješavina

PVP – poli (vinil-pirolidon)

RDC – *Relative Degree of Crystallinity*, relativni stupanj kristalnosti uzorka (%)

XRPD – *X-ray powder diffraction*, rendgenska difrakcijska analiza na praškastom uzorku
