

Priprema terapijskog niskotemperaturnog eutektičkog otapala

Vidoša, Eva

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:149:160868>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Eva Vidoša

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, 2023.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Eva Vidoša

Priprema terapijskog niskotemperaturnog eutektičkog otapala

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: prof. dr. sc. Jasna Prlić Kardum

Članovi povjerenstva: prof. dr. Sc. Jasna Prlić Kardum

prof.dr.sc. Aleksandra Sander

prof.dr.sc. Mirela Leskovic

Zagreb, rujan 2023.

Ovaj rad izrađen je na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije na Zavodu za mehaničko i toplinsko procesno inženjerstvo pod mentorstvom prof. dr. sc. Jasne Prlić Kardum.

Zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Jasni Prlić Kardum na uloženom trudu i pomoći pri izradi ovog završnog rada.

Zahvaljujem asistentici Ivi Zokić, mag. ing. oecoing, na pomoći prilikom provedbe eksperimentalnog dijela ovoga završnog rada.

Zahvaljuem svom Ivanu, roditeljima, obitelji i prijateljima na podršci pri izradi ovoga završnog rada kao i podršci tijekom dosadašnjeg obrazovanju.

SAŽETAK

Niskotemperaturna eutektička otapala su otapala za koje je karakteristično sniženje tališta s obzirom na čiste komponente od kojega su napravljene. U posljednje vrijeme, niskotemperaturna eutektička otapala se istražuju radi potencijalne primjene u farmaceutskoj industriji budući da djelatne tvari otopljene u njima ili ukomponirane u terapeutsko niskotemperaturno eutektičko otapalo imaju bolja svojstva, bolju topljivost, veću bioraspoloživost i permeabilnost u organizmu s obzirom na samu djelatnu tvar.

U ovom radu, pripremljena su i karakterizirana niskotemperaturna eutektička otapala miješanjem djelatne tvari ceritiniba s različitim netoksičnim komponentama u različitim molarnim omjerima. Svrha ovog rada je bila dobiti stabilno niskotemperaturno otapalo poboljšanih karakteristika, bolje topljivosti, bioraspoloživosti i permeabilnosti. Karakterizacija pripremljenih niskotemperaturnih otapala provedena je diferencijalnom pretražnom kalorimetrijskom analizom, dok je UV/VIS spektrofotometrijska analiza korištena je za praćenje koncentracije pri ispitivanju topljivosti. Različitim matematičkim modelima opisano je kinetičko ponašanje oslobađanja djelatne tvari iz pripremljenih niskotemperaturnih otapala

Ključne riječi: terapeutsko niskotemperaturno eutektičko otapalo, topljivost, ceritinib

ABSTRACT

Deep eutectic solvents are solvents characterized by a lowering of the melting point considering the pure components from which they are made. Deep eutectic solvents have recently been investigated for their potential application in the pharmaceutical industry because the active pharmaceutical ingredients dissolved in them or incorporated into the therapeutic deep eutectic solvents have better properties, solubility, bioavailability, and permeability in the body than the active substance itself.

In this work, deep eutectic solvents were prepared and characterized by mixing the active substance ceritinib with different non-toxic components in different molar ratios. The purpose of this work was to obtain a stable low-temperature solvent with improved characteristics, better solubility, bioavailability and permeability. Characterization of the prepared low-temperature solvents was carried out by differential scanning calorimetric analysis, while UV/VIS spectrophotometric analysis was used for monitoring concentration during the solubility test. Different mathematical models describe the kinetics and release behavior of the active substance from the prepared low-temperature solvents.

Key words: therapeutic deep eutectic solvent, solubility, ceritinib

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. Topljivost i problemi topljivosti.....	2
2.2. Djelatna tvar.....	3
2.3. Biofarmaceutski sustav klasifikacije.....	3
2.4. Niskotemperaturna eutektička otapala.....	4
2.5. Terapeutska niskotemperaturna eutektička otapala.....	6
2.6. Karakterizacija THEDES-a.....	7
2.6.1. Diferencijalna pretražna kalorimetrija.....	7
2.6.2. UV/VIS spektrofotometrija.....	8
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	11
3.1. Cilj rada.....	11
3.2. Materijali.....	11
3.3. Priprema terapeutskih niskotemperaturnih eutektičkih otapala.....	14
3.4. Karakterizacija terapeutskih niskotemperaturnih eutektičkih otapala.....	15
3.4.1. Diferencijalna pretražna kalorimetrija.....	15
3.4.2. Test oslobađanja djelatne tvari.....	16
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	18
4.1. Pripremljena terapeutska niskotemperaturna eutektička otapala.....	18
4.2. DSC termogrami.....	22
4.3. Oslobađanje djelatne tvari i kinetički modeli.....	25
5. ZAKLJUČAK.....	29
6. POPIS SIMBOLA I KRATICA.....	30
7. LITERATURA.....	32
ŽIVOTOPIS.....	36

1. UVOD

Jedan od glavnih problema s kojima se susreće farmaceutska industrija jest slaba topljivost djelatne tvari (eng. *Active pharmaceutical ingredient*, API) što rezultira slabom bioraspoloživošću i permeabilnošću djelatne tvari u organizmu. Biofarmaceutski sustav klasifikacije (eng. *Biopharmaceutics Classification System*, BCS) podijelio je lijekove u četiri skupine s obzirom na topljivost i permeabilnost lijeka. Većina API-ja pripada drugoj skupini koju karakterizira niska topljivost. Rješenje problema omogućilo je otkriće niskotemperaturnih eutektičkih otapala (eng. *deep eutectic solvents*, DES).[1]

DES-ovi se definiraju kao mješavine dviju ili više komponenti međusobno povezanih vodikovim vezama. Glavna karakteristika DES-ova je niža temperatura tališta smjese od temperaturi tališta čistih komponentata od kojih je DES načinjen. Primjena DES-ova je široka. Prednosti DES-ova s obzirom na tradicionalna otapala su u tome što nisu toksični, jeftini su i ekološki prihvatljivi te nezapaljivi, a moguće ih je pripremiti iz prirodnih komponenti.[2]

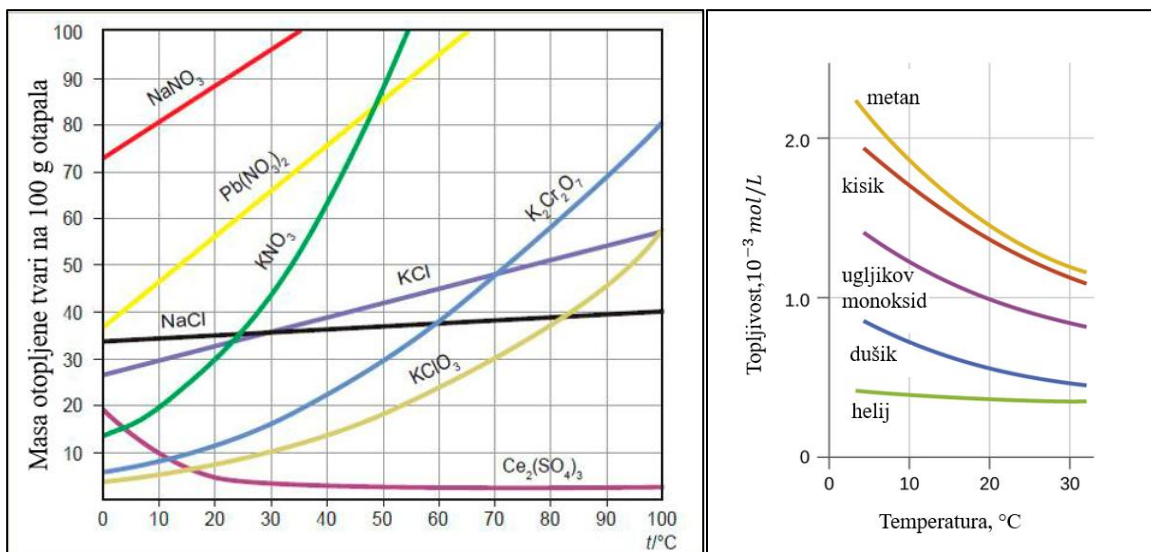
Većina API-ja u svojoj strukturi ima mjesta na kojima se molekula može vezati vodikovom vezom na drugu molekulu, bilo da se radi o akceptorskim ili donorskim mjestima što omogućuje stvaranje eutektičke smjese koju nazivamo terapijsko nisko temperaturno eutektičko otapalo (eng. *therapeutic deep eutectic solvents*, THEDES) koje poboljšava topljivost, bioraspoloživost i permeabilnost API-ja u organizmu. Glavni problem API-ja u formi THEDES-a je njegova stabilnost, te činjenica da sam nastanak THEDES-a ovisi o više čimbenika kao što je kemijska priroda komponenti te molarni omjer u kojemu se komponente miješaju.

U ovom radu pripremljeno je i karakterizirano više THEDES-a, uspoređen je profil otpuštanja čistog API-ja te pripremljenih THEDES-a. THEDES-i su pripremljeni od ceritiniba koji se koristi za liječenje karcinoma pluća nemalih stanica, a u obliku lijeka je poznatim pod nazivom *Zykadia*.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Topljivost i problemi topljivosti

Topljivost je najveća koncentracija otopljene tvari koja se može otopiti u otapalu. Čimbenici koji utječu na topljivost su: temperatura, vrsta veze i međumolekulskih sila, te tlak. Za većinu sustava krutina-kapljevina povećanjem temperature povećava se topljivost dok za sustave plin-kapljevina povećanjem temperature topljivost opada. Vrsta veze i međumolekulskih sila razlikuju se za svaku otopljenu tvar i otapalo. Jače međumolekulske sile između otopljene tvari i molekula otapala znači ujedno i veću topljivost otopljene tvari u otapalu. Tlak puno više utječe na plinove nego na kapljevine. Tlak i topljivost su izravno povezani, te se stoga povećanjem parcijalnog tlaka povećava i topljivost. [3] Na slici 1 prikazani su dijagrami topljivosti za sustav krutina-kapljevina i za sustav plin-kapljevina. [4,5]



(a)

(b)

Slika 1. dijagram topljivosti za sustave: (a) krutina-kapljevina (b) plin-kapljevina.

2. 2. Djelatna tvar

API je aktivna komponenta lijeka koja je odgovorna za terapijsko djelovanje lijeka. Primjer API-ja je acetaminofen koji se nalazi u tabletama za ublažavanje bolova.[6] Kvaliteta djelatne tvari u lijeku utječe na sigurnost i učinkovitost lijeka zbog čega je bitno obratiti pažnju prilikom proizvodnje. Jedna od najvažnijih stavki pri proizvodnji i primjeni lijekova je topljivost i bioraspoloživost lijeka u organizmu.[6]

Američka agencija za hranu i lijekove (*eng. The Food and Drug Administration, FDA*) klasificirala je lijekove u četiri kategorije s obzirom na topljivost i permeabilnost lijekova u organizmu što se pokazalo vrlo korisnim za daljnja istraživanja i razvoj lijekova.

2.3. Biofarmaceutski sustav klasifikacije

Biofarmaceutski sustav klasifikacije API-ja (tablica 1.), BCS, se temelji na određivanju topljivosti u točno određenim uvjetima (stimulirani uvjeti u organizmu). BCS razmatra tri glavna čimbenika, otapanje, topljivost i propusnosti API-ja kroz membrane crijeva, koji upravljaju brzinom i stupnjem apsorpcije lijeka. Prema BCS-u API-ji se dijeli u četiri kategorije. Prvoj skupini pripadaju tvari s visokom topljivosti i visokom permeabilnosti koje se u vrlo kratkom vremenu oslobađaju u organizmu. Drugoj skupini pripadaju tvari niske topljivosti i visoke permeabilnosti (tvari će se potpuno apsorbirati). Ovoj skupini pripada najveći broj API-ja a glavni nedostatak je brzina otapanja što utječe na stupanj bioraspoloživosti u organizmu. Trećoj skupini pripadaju tvari s visokom topljivosti i niskom permeabilnosti što za posljedicu ima veliku brzinu otapanja ali ograničenu apsorpciju tvari u organizmu. Četvrtoj skupini pripadaju tvari s niskom topljivosti i niskom permeabilnosti što za posljedicu ima malu brzinu otapanja i ograničenu apsorpciju zbog čega se izbjegavaju u proizvodnji lijekova za oralnu primjenu. [1]

Tablica 1. Biofarmaceutska klasifikacija API-ja.

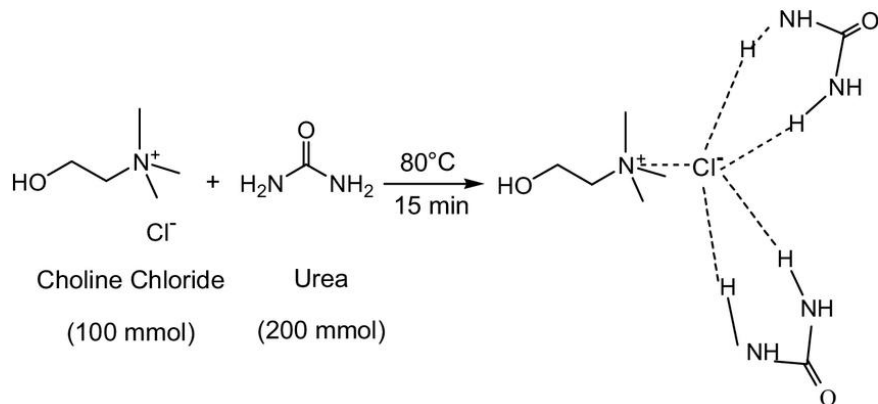
	Visoka topljivost	Niska topljivost
Visoka permeabilnost	1.skupina	2.skupina
Niska permeabilnost	3.skupina	4.skupina

Bioraspoloživost je brzina i apsorpcija API-ja definirana krivuljom odnosa koncentracije i vremena. Intravenskom primjenom lijeka bioraspoloživost je 100%, dok je bioraspoloživost lijeka unesenog oralnim i transdermalnim putem zbog topljivosti i permeabilnosti kroz membranu kože i crijeva mnogo niža. Prema FDA, lijek mase 1 mg koji se može otopiti u manje od 250 ml vodene otopine (pH vrijednosti od 1 do 6,8 pri temperaturi od $37 \pm 1^\circ\text{C}$) smatra se dobro topljivim. Ako je apsorpcija dijelatne tvari 85% ili više od primljene doze, lijek se karakterizira kao visoko permeabilan.

2.4. Niskotemperaturna eutektička otapala

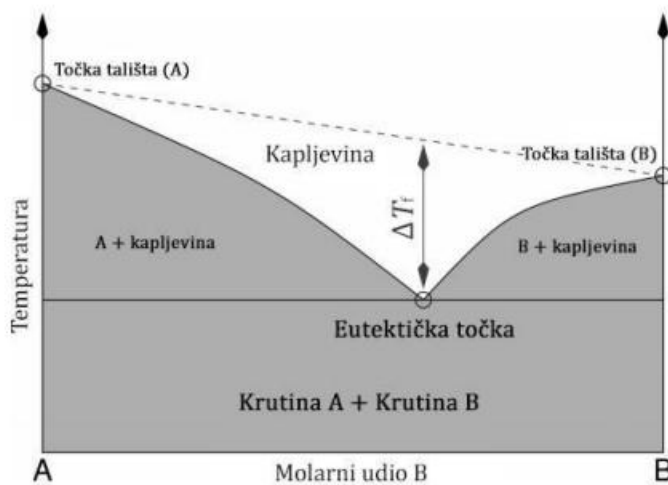
DES-ovi su novija klasa otapala koja se definiraju kao smjesa dvaju ili više spojeva koji su na sobnoj temperaturi obično u krutom agregatnom stanju, a njihovim spajanjem u određenom molarnom odnosu prelaze u kapljevinu na sobnoj temperaturi. Lako se pripremaju, bez kemijske reakcije, miješanjem, uz lagano zagrijavanje, dviju prirodnih komponenti povezanih vodikovim vezama od kojih je jedana akceptor vodikove veze (*eng. Hydrogen bond acceptor*, HBA), npr soli metalnog klorida, a druga donor vodikove veze (*eng. Hydrogen bond donor*, HBD) npr karboksilne kiseline ili alkoholi. DES-ovi su velike molekule s nesimetričnim ionima te imaju nisku energiju rešetke što za posljedicu ima niže talište (eutektička točka) u usporedbi s pojedinačnim komponentama od kojih se DES sastoji. U farmaceutskoj industriji, DES-ovi se primjenjuju za povećanje topljivosti lijeka, propusnosti i apsorpcije. Jedan od prvih DES-ova je nastao miješanjem dviju čvrstih organskih tvari, uree i kvaterne amonijeve soli u molarnom odnosu 2:1. Prednosti eutektičkih otapala su u tome što nisu toksičana razaliku od otapala korištenih u prošlosti (ionska i molekulska otapala), jeftini su i ekološki prihvatljivi te nezapaljivi,

a moguće ih je pripremiti iz prirodnih komponenti. Na slici 2 prikazana je reakcija nastajanja DES-a iz kolin klorida i uree kao i uvjeti pri kojima se odvija reakcija. [7]



Slika 2. Formiranje DES-a.

Na slici 3 prikazan je tipični fazni dijagram dvokomponentne eutektičke smjese na kojemu je vidljivo da je talište eutektičke smjese niže od tališta čistih komponenti od kojih je smjesa napravljena. [8]



Slika 3. Fazni dijagram dvokomponentne eutektičke smjese.

DES-ove dijelimo u tri osnovne skupine:

- 1.prirodna niskotemperaturna duboka eutektička otapala (NADES)
- 2.terapeutska niskotemperaturna eutektička otapala (THEDES)
- 3.hidrofobna niskotemperaturna eutektička otapala. (HDES) [2]

2.5. Terapeutska niskotemperaturna eutektička otapala

THEDES-i su eutektički sustavi u kapljevitom agregatnom stanju u kojima je jedna od komponenti, API, vodikovim vezama povezana s drugom netoksičnom tvari tvoreći tako sustav koji poboljšava svojstva API-ja i povećava učinkovitost lijeka. Prvo istraživanje započinj u Stott i suradnici primjetivši da bi DES mogao otopiti API i djelovati kao THEDES koji je bio napravljen od ibuprofena i mentola čiji je cilj bio poboljšati karakteristike samog API-ja.[9] Nakon provedenog istraživanja i druge molekule postaju od interesa za farmaceutsku industriju. Shen i suradnici usredotočili su se na THEDES sastavljen od borneol-mentol za intestinalnu apsorpciju daidzeina.[10] Morrison i suradnici testirali su NADES kao potencijalni medij za otapanje benzojeve kiseline, griseofulvina, danazola, itrakonazola , a rezultati su pokazali značajno povećanje topljivosti API-ja u NADES-u s porastom od 5 do 22 000 puta u usporedbi s vodom.[11] Goud i suradnici su istraživali THEDES s kurkuminom, koji bi se potencijalno mogao koristiti kao lijek za Alzheimerovu bolest.[12] Monteiro i suradnici proučavali su mogući mehanizam za liječenje tuberkuloze pomoću THEDES-a limunska kiselina-etambutol-voda.[13] Također, zabilježena je citotoksičnost za stanice raka THEDES-a na bazi kolin klorida. Međutim, mehanizmi djelovanja protiv stanica raka vrlo su složeni i nejasni. U posljednje vrijeme, istraživanje THEDES-a značajno je za farmaceutsku industriju jer se pokazalo da poboljšavaju svojstva već postojećih lijekova i pridonose razvoju novih i boljih formulacija koje bi bile još učinkovitije.[14]

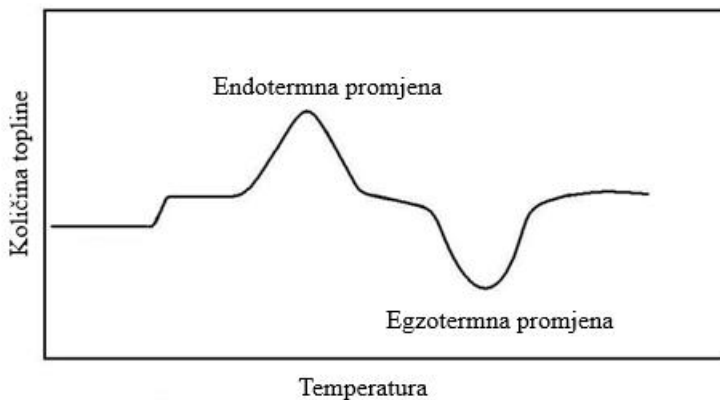
2.6. Karakterizacija THEDES-a

2.6.1. Diferencijalna pretražna kalorimetrija

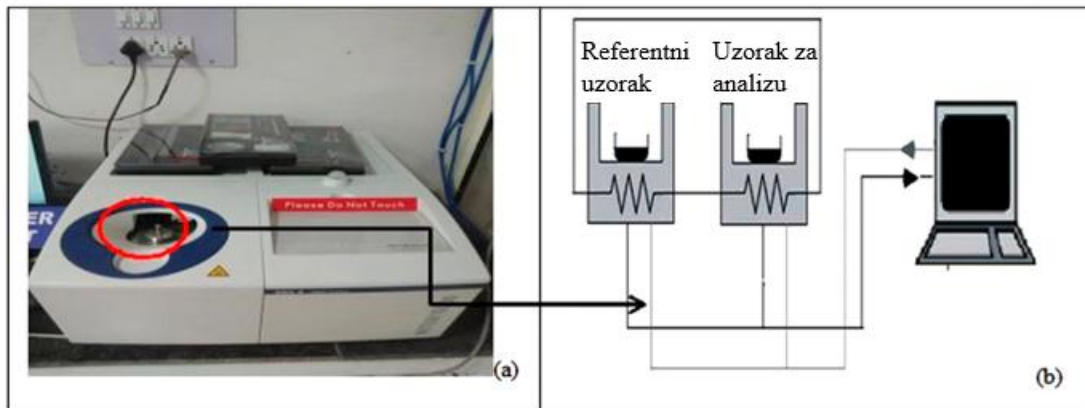
Diferencijalna pretražna kalorimetrija, (*eng. Differential scanning calorimetry, DSC*) je metoda kojom se određuje količina topline koja se oslobodi ili apsorbira zbog promjene u strukturi materijala kao i temperatura pri kojoj se ta promjena dogodila. Rezultat svake promjene strukture povezan je s toplinom te je stoga područje primjene DSC-a vrlo široko. Primjenjuje se od početka razvoja proizvoda do kontrole kvalitete krajnjeg proizvoda. Kalorimetrija se posebno primjenjuje za praćenje promjena faznih prijelaza.[15]

DSC je jedna od najčešće korištenih toplinskih analiza te se može koristiti za velik broj različitih materijala, od farmaceutskih, polimernih, organskih i naorganskih do keramičkih. Uvjeti mjerenja su kontrolirani, a mjerenja se provode uz programirano mijenjanje temperature.

Rezultat DSC-a je DSC termogram čiji je primjer prikazan na slici. Iz DSC dijagrama moguće je očitati temperaturu staklastog prijelaza, kristalnog prijelaza, temperaturu taljenja i entalpiju taljenja te entalpiju kristalizacije. Pri izvedbi eksperimenta, uzorci se stavljaju u aluminijske posudice nakon čega se mjeri i bilježi razlika temperatura uzorka i referentnog materijala.[16,17] Na slici 4 prikazan je tipični DSC termogram na kojem je vidljiv tipičan izgled endotermnih i egzotermnih promjena. [16] Na slici 5 prikazan je uređaj za DSC analizu na kojemu su označena mjesta za referentni uzorak i uzorak za analizu.[18]



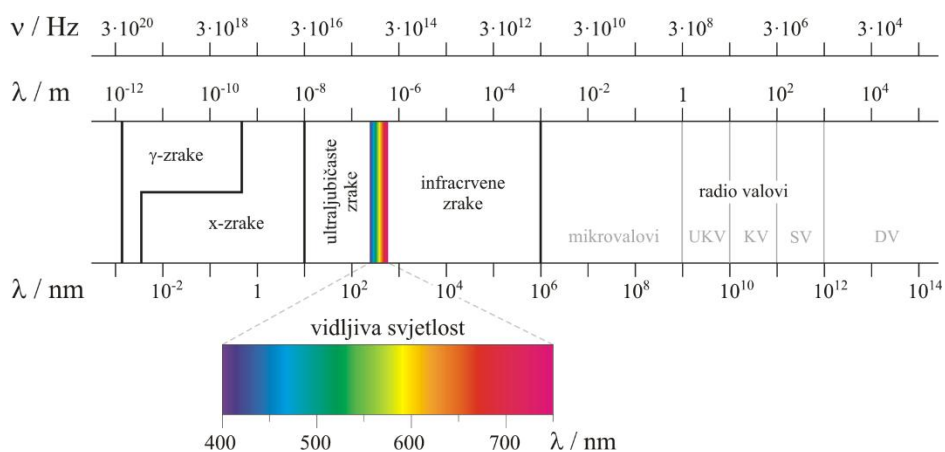
Slika 4. Primjer DSC termogram.



Slika 5. Uređaj za DSC analizu.

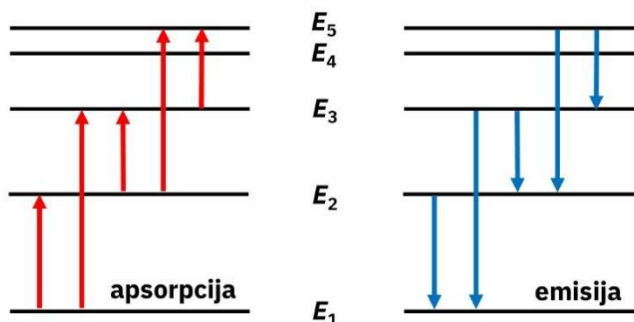
2.6.2. UV/VIS spektrofotometrija

UV/VIS spektrofotometrija je instrumentalna metoda analize koja se bavi proučavanjem interakcija ultraljubičastog i vidljivog zračenja s materijalom. Vidljivo i ultraljubičasto zračenje se nalaze u području kraćih valnih duljina i viših frekvencija elektromagnetskog spektra. VIS ($\lambda = 400-800\text{nm}$), UV ($\lambda = 200-400\text{nm}$). [19] Na slici 6 je prikazan elektromagnetski spektar s označenim područjima spektra.[20]



Slika 6. Elektromagnetski spektar.

UV/VIS zračenje posjeduje dovoljnu količinu energije da bi došlo do elektronskog prijelaza iz nižeg elektronskog stanja u više. Pod utjecajem djelovanja elektromagnetskog zračenja molekula prelazi iz stanja niže energije (osnovno stanje E_0) u više energetske stanje (pobuđeno stanje). Taj prijelaz nazivamo apsorpcija. Ponovnim vraćanjem elektrona u osnovno stanje dolazi do pojave koju nazivamo emisija. [19] Na slici 7 je prikazan elektronski prijelaz. [21]



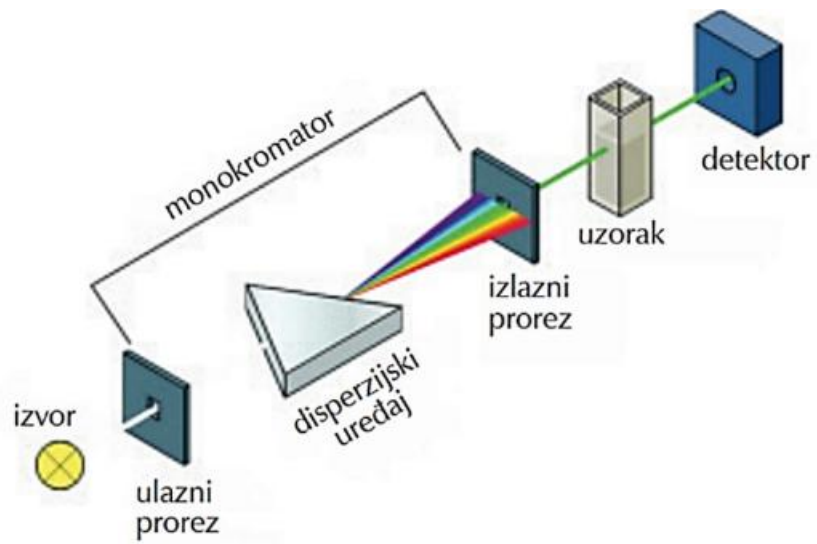
Slika 7. Apsorpcija i emisija elektrona.

UV/VIS spektromfotometrija se koristi za kvantitativnu analizu velikog broja organskih i anorganskih tvari koja se temelji na Lambert-Beerovom zakonu koji glasi:

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon \cdot c \cdot b$$

Intenzitet elektromagnetskog zračenja smanjuje se prolaskom kroz otopinu koja apsorbira određene valne duljine upadnog zračenja. Intenzitet je prema Lambert-Beerovom zakonu proporcionalan koncentraciji tvari u otopini koja apsorbira zračenje, putu koji svjetlost prođe i molarnom apsorpcijskom koeficijentu koji je specifičan za svaku tvar a ovisi o valnoj duljini.

UV/VIS spektrofotometar je instrument koji mjeri količinu svjetla koju apsorbira molekula u otopini. Sastoji se od izvora zračenja, monokromatora, držača uzorka i detektora. Uzorak se postavlja u kivete izrađene od kvarca ili silicija. [19] Na slici 8 prikazan je shematski prikaz UV/VIS spektrofotometra s označenim dijelovima uređaja. [22]



Slika 8. Shematski prikaz UV/VIS spektrofotometra.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Cilj rada

Cilj eksperimentalnog dijela ovog rada je:

- pripremiti i karakterizirati THEDES,
- ispitati i usporediti profil otpuštanja čistog ceritiniba i ceritiniba iz pripremljenih THEDESA-a,
- odabrati kinetičku jednadžbu koja najbolje opisuje profil otpuštanja djelatne tvari.

3.2. Materijali



Ceritinib, CRT, kruta je, bijela, praškasta, higroskopna tvar, molekulske mase 558,135 g/mol i molekulske formule $C_{28}H_{36}ClN_5O_3S$. Topljivost ceritiniba u vodi iznosi svega 0,02 mg/ml dok je topljivost u metanolu mnogo veća, 18 mg/ml. Ceritinib je također topljiv u 0,01M-0,1M klorovodičnoj kiselini. Topljivost ceritiniba ovisi o pH vrijednosti i vrsti otapala kao što je prikazano u tablici 2. [23]

Tablica 2: Topljivost ceritiniba u različitim otapalima i pH vrijednostima.

Otapalo	Topljivost(mg/ml) pri 25°C
Voda	0,02
Etanol	4,3
Metanol	18,3
Izopropanol	3,9
Acetonitril	3,3
0,1M HCl	11,9
0,01M HCl	5,5
0,001M HCl	0,64
pH 4,5	0,03
pH 5,0	0,04
pH 6,0	0,01
pH 6,8	0,01
pH 8,0	0,003
pH 9,0	0,1

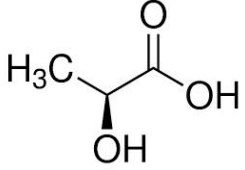

Na tržište dolazi pod imenom *Zykadia*. Može se upotrebljavati kao tableta, oralnim putem, koja sadrži 150 mg ceritiniba. Ceritinib prema BCS-u spada u četvrtu skupinu budući da je tvar niske topljivosti i niske permeabilnosti.[23] Ceritinib se koristi za liječenje određene vrste raka pluća nemalih stanica (NSCLC) koji se proširio na druge dijelove tijela. CRT je u klasi lijekova koji se nazivaju inhibitori kinaze. Cilj djelovanja ceritinima temelji se na blokiranju djelovanja abnormalnog proteina koji signalizira rast stanicama raka. To pomaže usporiti ili zaustaviti širenje stanica raka.[24] U tablici 3. prikazana su svojstva i struktura molekule ceritiniba.[25,26]

Tablica 3: Svojstva i struktura molekule ceritiniba.

<p>Struktura molekule ceritiniba</p> 	Molekulska formula	$C_{28}H_{36}ClN_5O_3S$
	$M, g/mol$	558,135
	Izgled	Bijela, praškasta tvar
	$T_v, ^\circ C$	720 ± 70 pri 760mmHg
	Gustoća, g/cm ³	1,3
	Piktogrami	

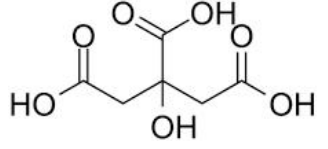

Mliječna kiselina, (lactic acid, LA), organska je kiselina, bezbojna je do žućkasta viskozna tekućina bez mirisa, molekulske formule $CH_3CHOHCOOH$ i molarne mase 90,08 g/mol. Kiralna je molekula te sadrži dva stereoisomera od kojih je značajniji onaj koji se može metabolizirati u organizmu, L(+). Toljiva je u vodi u svim omjerima. [27] Mliječna se kiselina koristi u prehrambenoj, kozmetičkoj, farmaceutskoj i kemijskoj industriji.[28] Svojstva i struktura mliječne kiseline prikazani su u tablici 4. [29]

Tablica 4. Svojstva i struktura mliječne kiseline.

Struktura L(+) mliječne kiseline 	Molekulska formula	CH ₃ CHOHCOOH
	<i>M</i> , g/mol	90,08
	<i>T_v</i> , °C	122
	<i>T_t</i> , °C	16,8
	Piktogrami	

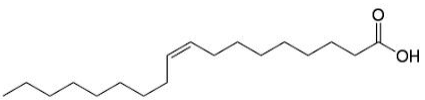

Limunska je kiselina organska kiselina molekulske formule C₆H₈O₇ i molekulske mase 192,12 g/mol . Bijela je tvaie bez mirisa i kisela okusa. Soli limunske kiseline su citrati. Nalazi se u soku citrusa (limun, naranča) i drugog voća. Prvi ju je izolirao C.W. Scheele 1874. iz limunovog soka, Proizvodi se fermentacijom šećera s pomoću gljivice *Aspergillus niger*, a upotrebljava se za pripremu napitaka, konzerviranje hrane te u kućanstvu za čišćenje. Važna je u metabolizmu svake žive stanice, gdje nastaje iz dijela atoma ugljikohidrata, masti i bjelančevina te prolazi kroz postupnu oksidaciju. Svojstva i struktura molekule limunske kiseline prikazani su u tablici 5.[30,31,32]

Tablica 5. Svojstva i struktura limunske kiseline.

Struktura limunske kiseline 	Molekulska formula	C ₆ H ₈ O ₇
	<i>M</i> , g/mol	192,12
	<i>T_v</i> , °C	-
	<i>T_t</i> , °C	153
	Piktogrami	

Oleinska ili uljna kiselina, karboksilna je kiselina molekulske formule $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ i molekulske mase 282,5 g/mol. Uljasta je tekućina žute do crvenkaste boje koja oksidacijom tamni. Netopljiva je u vodi, a topljiva je u kloroformu. Povezana s glicerolom tvori ester triolein koji je sastavni dio masti i ulja. Soli oleinske kiseline nazivaju se oleati. Olein (tehnička kiselina) koristi se kao pomoćno sredstvo u tekstilnoj industriji i kao stabilizator u proizvodnji polivinil klorida. [33, 34] Svojstva i struktura oleinske kiseline prikazana su u tablici 6.

Tablica 6. Svojstva i struktura oleinske kiseline.

Struktura oleinske kiseline 	Molekulska formula	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
	M , g/mol	282,5
	T_v , °C	286 pri 100mmHg
	T_t , °C	16,3
	Piktogrami	

3.3. Priprema terapijskih niskotemperaturnih eutektičkih otapala

THEDES je napravljen miješanjem API-ja CRT s različitim netoksičnim komponentama prikladnih svojstava s obzirom na broj HBA ili HBD mjesta na molekulama. Komponente su izvagane prema molarnim omjerima i pomiješane na magnetskoj miješalici na temperaturi koja ne prelazi temperature taljenja niti jedne od komponenata. Temperature na kojima je zagrijavano bile su do 40°C. Svojstva korištenih tvari prikazana su u tablici 7. U smjesu CRT s oleinskom kiselinom dodana je voda do 10 mas% kako bi se zagrijavanjem dobila kapljevina.

Tablica 7. Fizikalno-kemijska svojstva API ija i komponenti koje su korištene za pripremu THEDES-a.

Komponenta THEDES-a	Oznaka	Donorska mjesta	Akceptorska mjesta	M , g/mol	Molekulska formula	T_v , °C
Djelatna tvar	CRT	3	8	558,1	$C_{28}H_{36}ClN_5O_3S$	174
Pomoćna komponenta						
L+ glutaminska kiselina	GA	3	5	147,13	$C_5H_9NO_4$	199
Maleinska (jabučna) kiselina	MA	3	5	134,1	$C_4H_6O_5$	306,4
Fruktoza	Fru	5	6	180,16	$C_6H_{12}O_6$	103
Mliječna kiselina	LA	2	3	90,08	$C_3H_6O_3$	16,8
Glicerin	Gly	2	3	75,07	$C_2H_5NO_2$	233
Kolin klorid	ChCl	1	2	139,6	$C_5H_{14}ClNO$	302
Oleinska kiselina	OA	1	2	282,45	$C_{18}H_{34}O_2$	360
Limunska kiselina	CA	4	7	192,12	$C_6H_8O_7$	153

3.4. Karakterizacija terapijskih niskotemperaturnih eutektičkih otopala

Pripremljeni uzorci karakterizirani su na DSC-u. UV/VIS spektrofotometrijska analiza korištena je za praćenje koncentracije pri ispitivanju topljivosti.

3.4.1. Diferencijalna pretražna kalorimetrija

Toplinsko ponašanje uzoraka CRT i eutektičkih smjesa ispitano je pomoću DSC-a. Snimljen je DSC čistog CRT i eutektičkih smjesa. Uređaj na kojemu je provedena analiza je diferencijalni pretražni kalorimetar, *Mettler Toledo DSC 823e* (slika 9). Ispitivanja su provedena

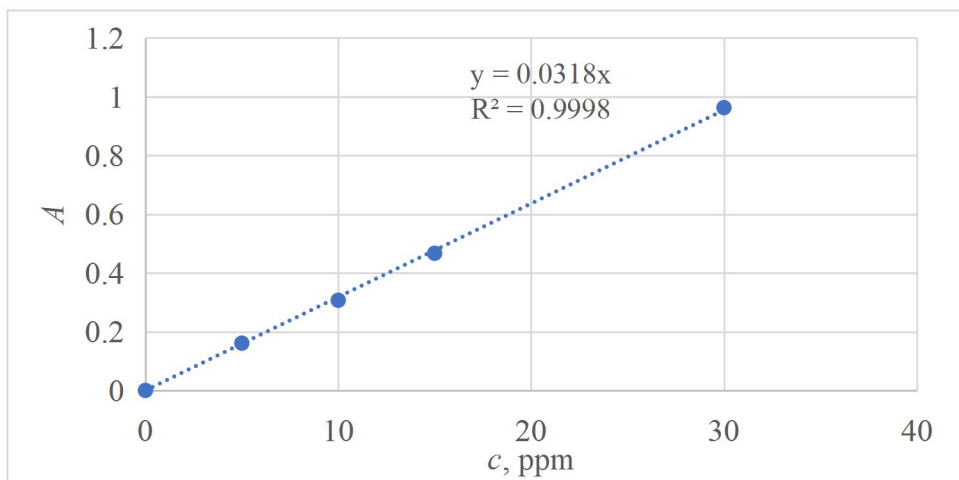
u inertnoj struji dušika (N_2 , $60 \text{ cm}^3/\text{min}$) u temperturnom području -20 do $300 \text{ }^\circ\text{C}$ pri brzini $10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ na uzorcima mase $\sim 10 \text{ mg}$ u aluminijskim posudicama s poklopcem.



Slika 9. Diferencijalni pretražni kalorimetar, *Mettler Toledo DSC 823e*.

3.4.2. Test oslobađanja djelatne tvari

Profil oslobađanja CRT tijekom vremena praćen je iz dva pripremljena THEDES-a, OA-CRT u omjeru 1:5 i LA-CRT u omjeru 1:17. Izvagana količina THEDES-a dodana je u 100 ml $0,01 \text{ M}$ klorovodične kiseline pH vrijednosti $2,2$ na magnetsku miješalicu na temperaturu ljudskog organizma, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ i 300 min^{-1} . Čaše su poklopljene kako isparavanje ne bi utecalo na koncentraciju. Uzorci su uzimani iglom u volumenu od 1 ml u vremenskim intervalima od $5, 10, 15, 20, 30, 45, 60$ i 90 minuta. Uzorci su profiltrirani, razrijeđeni u tikvicama od 10 ml i analizirani UV/VIS spektrofotometrijskom analizom. Rezultat analize je apsorbancija koje je preračunata na koncentraciju uz pomoć baždarnog pravaca. Na slici 10 prikazan je baždarni pravac s pripadajućom jednadžbom.



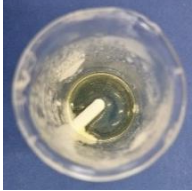
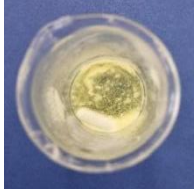
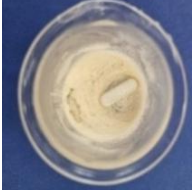
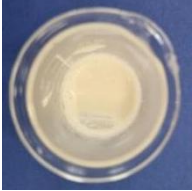
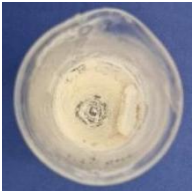
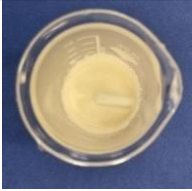
Slika 10. Baždarni pravac za određivanje koncentracije CRT u otopini.

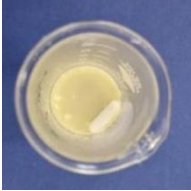
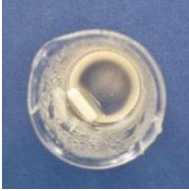
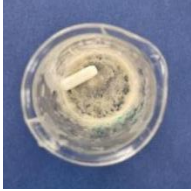
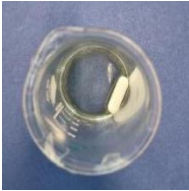
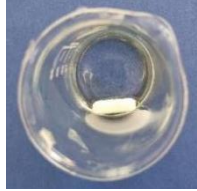
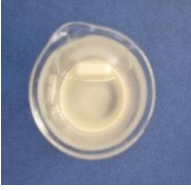
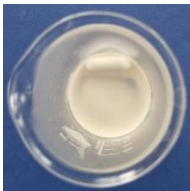
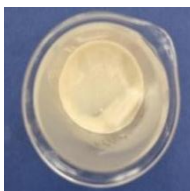
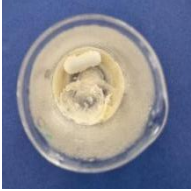
4. REZULTATI I RASPRAVA

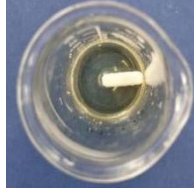
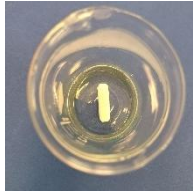
4.1. Pripremljena terapijska niskotemperaturna eutektička otapala

U tablici 8 su prikazani omjeri miješanja komponenata prema kojima su napravljeni THEDES-i te njihove fotografije. Pregledom fotografija vidljivo je kako nisu sve komponente međusobnom interakcijom rezultirale stvaranjem THEDES-a. DES je prema definiciji eutektička smjesa dviju komponenata u kapljevitom stanju koju karakterizira niže talište od tališta čistih komponenata. Prema tome, bijele paste i krutine nisu uspješno napravljeni uzorci. THEDES-i u kapljevitom stanju bez vidljivih kristala, nastali su miješanjem CRT s jabučnom, mliječnom, limunskom i oleinskom kiselinom u omjeru 1:12,2 MA-CRT, 1:17 LA-CRT, 1:11 CA-CRT i 1:3,5. Sve ostale kombinacije rezultirale su nastajanjem bijele paste ili krutine. Može se zaključiti da je kapljevinu moguće dobiti samo u kiselom mediju. Međutim, nakon par dana stanja u nekim kapljevina pojavili su se kristali pa se i ti sustavi smatraju nestabilnim i nepovoljnim za pripravu THEDES-a. Kristali u THEDES-u s jabučnom kiselinom nastali su već nakon 30 minuta, a u THEDES-u sa limunskom kiselinom nakon 10 dana.

Tablica 8. Djelatne tvari i pomoćne komponente koje su korištene za pripremu THEDES-a

KOMPONENTE	MOLNI ODNOS	REZULTAT ODMAH NAKON ZAGRIJAVANJA	REZULTAT NAKON ODREĐENOG VREMENA
MA-CRT	1;12,2		Nakon 30 min 
GLY-CRT	1:46,8		
FRU-CRT	1:16,6		
GLY-CRT	1:52		
ChCl-CRT	1:23,5		

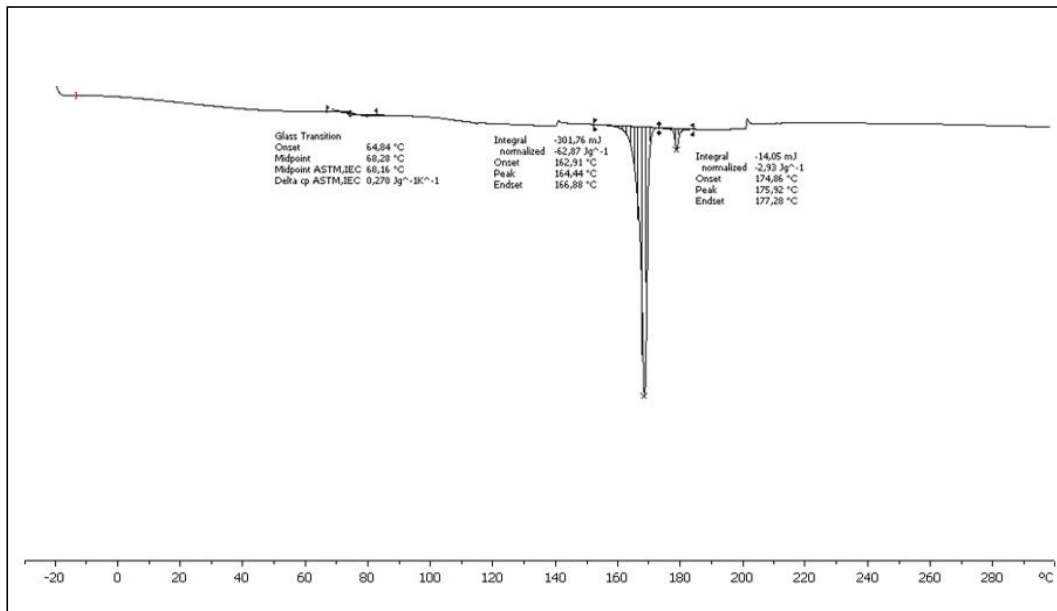
MAL-CRT	1:13,7		
GA-CRT+H ₂ O	1:4,2		Nakon dodatnog zagrijavanja 
LA-CRT	1:17		Nakon mjesec dana 
Men-CRT	1:10		Nakon 2 dana Nakon mjesec dana  
GA-CRT+ H ₂ O	1:10		

CA-CRT	1:11		<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p>Nakon tjedan dana</p>  </div> <div style="text-align: center;"> <p>Nakon 10 dana</p>  </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p>Nakon 2 tjedna</p>  </div> <div style="text-align: center;"> <p>Nakon mjesec dana</p>  </div> </div>
OA-CRT+ H ₂ O	1:3,5		
LA-CRT	1:6,35		

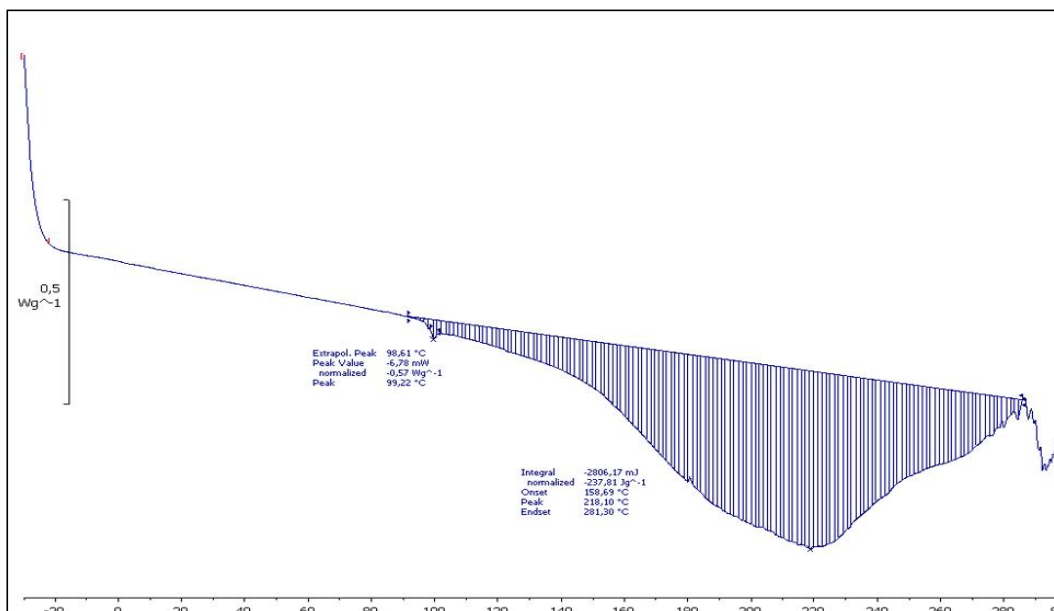
THEDES s limunskom kiselinom napravljen je u omjeru 1:11 te je na početku bio žute boje i u kapljevitom stanju. Već nakon tjedan dana kod oba uzorka primijećeni su kristali u još bistroj otopini THEDES-a. Kristalizacija je vremenom napredovala. THEDES MA-CRT napravljen u omjeru 1:12,2 je na početku također bio žute boje i u kapljevitom stanju, ali se vrlo brzo iskristalizirao, već nakon 30-ak minuta. Iz navedenog može se zaključiti kako je jedan od glavnih problema stabilnost API-ja u formi THEDES-a te činjenica da sam nastanak THEDES-a ovisi o više čimbenika kao što je kemijska priroda komponenti te molarni omjer u kojemu se komponente miješaju. Također je moguće da je do kristalizacije došlo jer se smjesa nije dovoljno dugo zagrijavala pa je u smjesi ostalo kristala CRT koji su u kratkom vremenu inicirali daljnje izdvajanje CRT iz smjese/otopine. Za daljnje ispitivanje odabrani su stabilni sustavi LA-CRT 1:17, LA- CRT 1:6,35, OA 1:3,5.

4.2. DSC termogramami

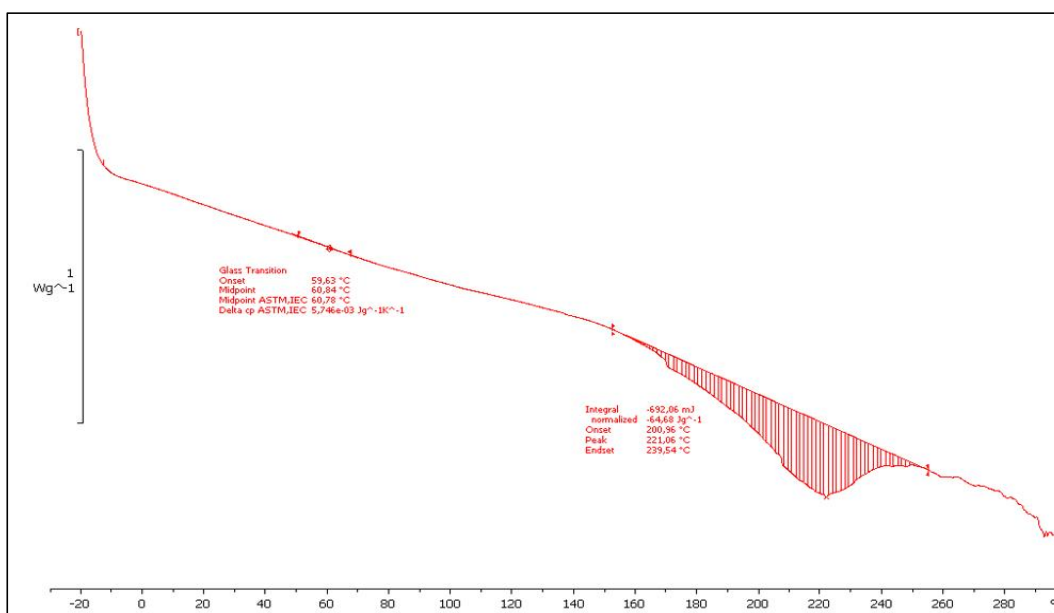
Na slikama 11 do 15 prikazani su rezultati diferencijalne pretražne kalorimetrije, DSC termogrami za čisti CRT te za mješavine LA-CRT 1:17, LA-CRT 1:6,35, CA-CRT 1:11 i OA-CRT 1:3,5. Na slici 11 može se očitati točka staklišta oko 65 °C te dva endotermna pika koji predstavljaju točke tališta na temperaturama 164,44 te 175,92 °C. Može se zaključiti da se uzorak CRT sastoji od dvije forme, manjeg udjela forme A (temperatura tališta 175,92 °C) te velikog udjela forme B (temperatura tališta 164,44 °C).



Slika 11. DSC termogram CRT



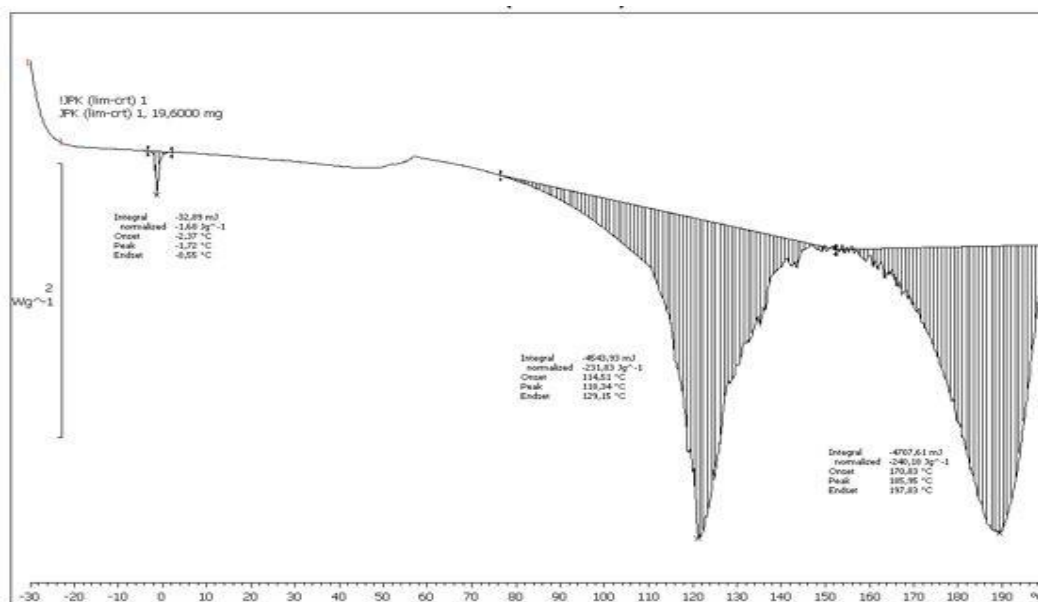
Slika 12. DSC termogram THEDES-a LA-CRT 1:17



Slika 13. DSC termogram THEDES-a LA-CRT 1:6,35

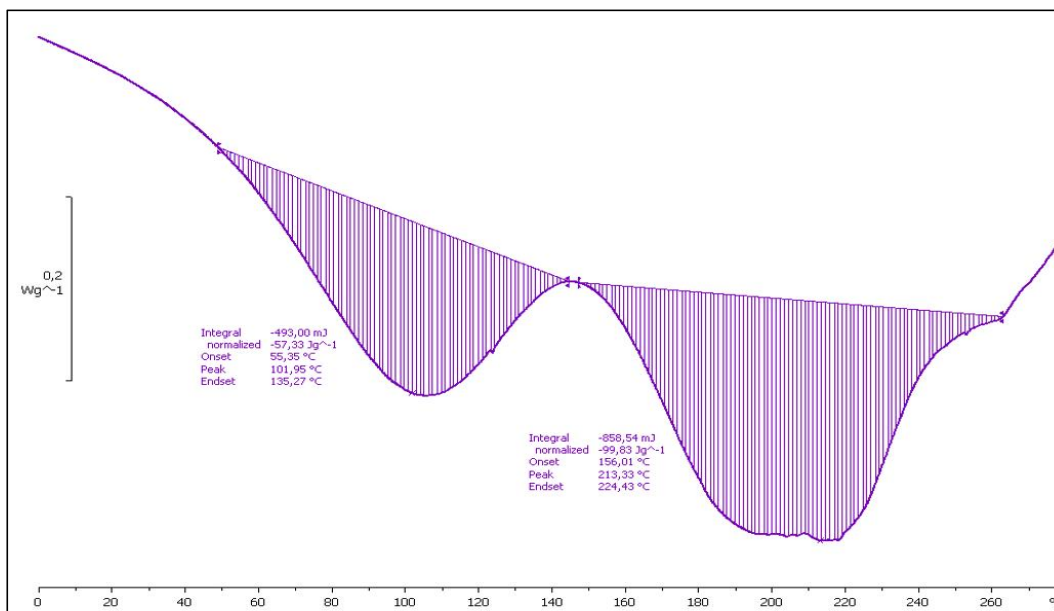
Na slikama 12 i 13 prikazani su DSC termogrami za dvije smjese s različitim udjelima CRT i mliječne kiseline. Oba termograma pokazuju široki pik. Pik na termogramu s većim udjelom CRT (slika 12), ima širi raspon te endotermni pik oko 100 °C. Ovaj pik može ukazivati na mali udio vode u uzorku. Kako se za pripremu ovog uzorka nije koristila voda, moguće je da neki od

uzoraka nisu prethodno dobro osušeni, ili je stajanjem došlo do nakupljanja vlage u uzorku. Na oba termograma vidljivo je da nema točke taljenja za pojedinačne komponente od kojih je pripreman THEDES. Jasno je da je toplinsko ponašanje THEDES-a drugačije od ponašanja pojedinih komponenti. Naime, talište za mliječnu kiselinu iznosi oko 174 °C, slično kao i za CRT. [36] Na slici 13 vidljiva je točka staklišta na oko 60 °C. Da bi se moglo izvesti zaključak o nastanku THEDES-a, potrebno je provesti dodatne analize.



Slika 14. DSC termogram THEDES-a CA-CRT 1:11

Na slici 14 prikazan je termogram CA-CRT 1:11, vidljiva su dva endotermna pika. Prvi je na 130°C, a drugi na 185°C. Prvi pik je na nižoj, a drugi na višoj temperaturi od tališta limunske kiseline i CRT (~160 °C). [37] Na temperaturi -1,72 °C uočava se pik koji moguće da ukazuje na sniženo talište. Snižavanje T_i dokazuje da je došlo do interakcije između dviju komponenti, te se nastala smjesa ponaša drugačije od pojedinačnih komponenti. [38]

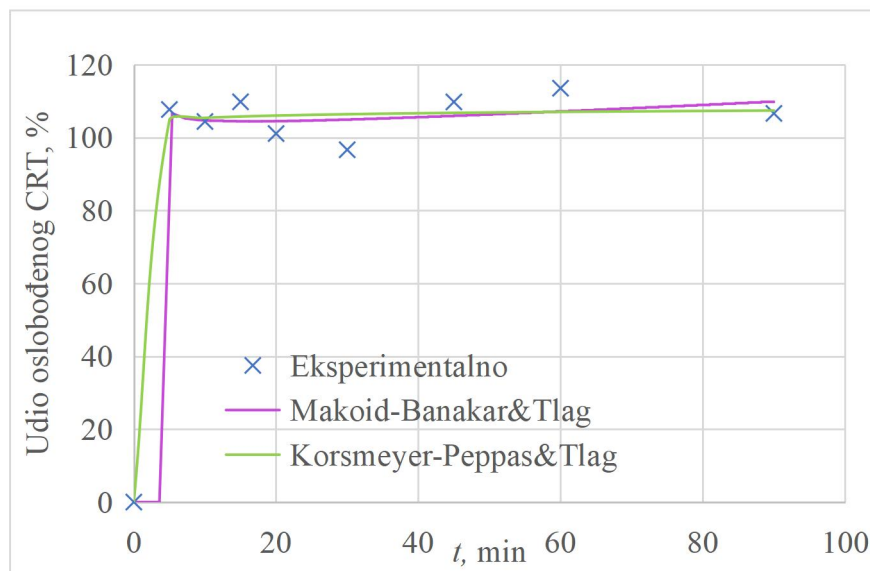


Slika 15. DSC termogram THEDES-a LA-CRT 1:17.

Toplinsko ponašanje smjese s mliječnom kiselinom (slika 15) slično je kao i na prethodnom termogramu pa se može zaključiti da je došlo do slične interakcije između komponenti. Da bi se moglo govoriti o nastanku THEDES-a, potrebno je napraviti dodatne analize primjenom drugih metodologija.

4.3. Oslobađanje djelatne tvari i kinetički modeli

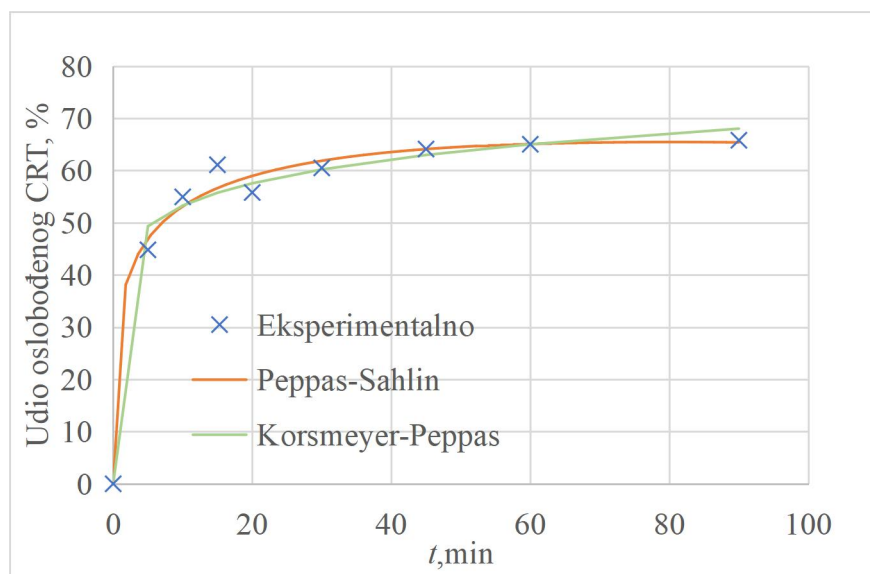
Profil oslobađanja čistog CRT u 0,01M HCl opisan je pomoću dva modela, Makoid-Banakar T_{lag} i Korsmeyer-Peppas T_{lag} . Profil oslobađanja CRT iz THEDES-a OA-CRT 1:5 opisan je pomoću dva modela, Peppas-Sahlin i Korsmeyer-Peppas dok je profil oslobađanja CRT iz THEDES-a LA-CRT 1:17 opisan pomoću Peppas-Sahlin modela i Makoid-Banakar T_{lag} (slike 16, 17 i 18.). Matematički modeli prikazuju kinetiku otapanja uzevši u obzir količinu API-ja koja se oslobodila u određenom vremenu. Odabrani modeli razlikuju se po broju i vrsti parametara što je prikazano u tablicama 9, 10 i 11.



Slika 16. Prikaz oslobađanja čistog CRT u 0,01M HCl tijekom vremena prema različitim modelima

Tablica 9. Prikaz parametara i R_{sqr} vrijednosti za različite modele za čisti CRT

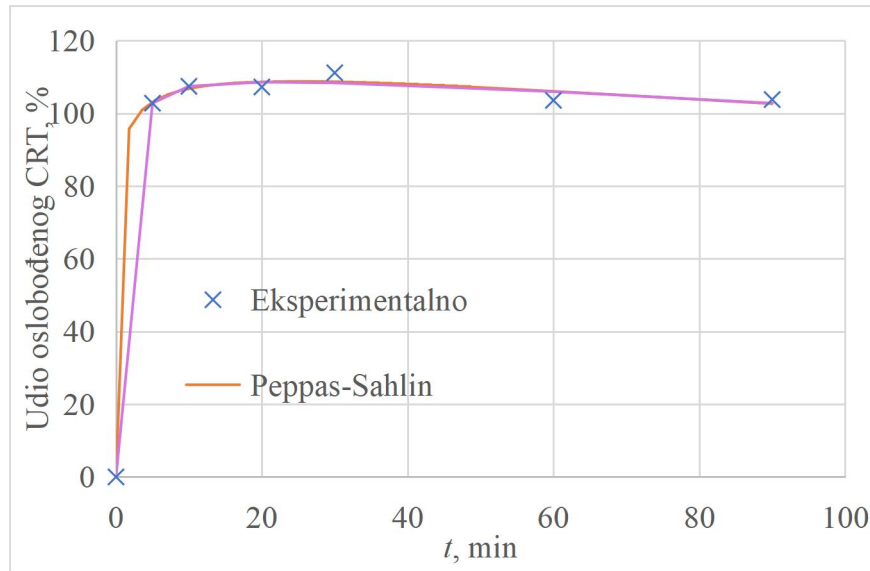
Model	k	n	k	T_{lag}	R_{sqr}
Makoid-Banakar& T_{lag}	106,058	-0,011	-0,001	4,756	0,9829
Korsmeyer-Peppas& T_{lag}	103,404	0,008	-	0,000	0,9807



Slika 17. Prikaz oslobađanja CRT iz THEDES-a OA-CRT 1:5 tijekom vremena prema različitim modelima

Tablica 10. Prikaz parametara i R_{sqr} vrijednosti za različite modele za THEDES OA-CRT 1:5

Model	k	k_2	n	m	R_{sqr}
Peppas-Sahlin	39,381	-5,942	-	0,275	0,9884
Korsmeyer-Peppas	41.257	-	0,111	-	0,9822



Slika 18. Prikaz oslobađanja CRT iz THEDES-a LA-CRT 1:17 tijekom vremena prema različitim modelima

Tablica 11. Prikaz parametara i R_{sqr} vrijednosti za različite modele za THEDES LA-CRT 1:17

Model	k	k_2	n	m	T_{lag}	R_{sqr}
Peppas-Sahlin	129,258	-38,402	-	0,163	-	0,9983
Makoid-Banakar& T_{lag}	103,997	0,001	0,023	-	4,378	0,9983

S obzirom na ovisnost koncentracije oslobođenog CRT o vremenu i R_{sqr} , može se zaključiti da prema R_{sqr} profil oslobađanja čistog CRT u 0,01M HCl bolje opisuje Makoid-Banakar& T_{lag} model, međutim zbog stagnacije na početku model ipak bolje opisuje drugi model, Korsmeyer-Peppas& T_{lag} . Za THEDES OA-CRT 1:5, profil oslobađanja najbolje opisuje Peppas-Sahlin model, dok profil oslobađanja za THEDES LA-CRT 1:17 podjednako dobro opisuju oba modela, Peppas-Sahlin i Makoid-Banakar& T_{lag} .

Osim navedenog, na slici 17 vidljivo je da se tijekom oslobađanja CRT iz smjese s oleinskom kiselinom ne postiže oslobađanje 100 % dodane količine CRT. Razlog može biti loša odvaga smjese te proračun količine CRT u smjesi, ili izdvajanje oleinske kiseline koja je bila vidljiva na površini pripremljene otopine.

Test za oslobađanje CRT iz smjese s limunskom kiselinom nije napravljen jer je smjesa bila kratko vrijeme stabilna, bez pojave kristala.

5. ZAKLJUČAK

Iako se THEDES u mnogim istraživanjima pokazao kao vrlo dobar odabir u farmaceutskoj industriji za poboljšanje topljivosti i bioraspoloživosti API-ja u organizmu, prilikom provedbe eksperimentalnog dijela došlo je do mnogih problema. Pripravljene su THEDES-i bili vrlo viskozni što je otežavalo njihovo rukovanje tijekom analiza. Drugi veliki problem je nestabilnost pripremljenih THEDES-a koja se očitovala nastankom kristala, kod nekih THEDES-a vrlo brzo, već nakon 30 minuta nakon zagrijavanja, dok kod drugih nakon tjedan dana. Također, mnogi THEDES-i nisu uspjeli zbog pogrešno odabranog molarnog odnosa komponenti prilikom pripreme THEDES-a što ukazuje na činjenicu da je za nastanak kvalitetnog proizvoda vrlo bitno poznavati komponente od kojih se THEDES priprema te molni odnos u kojemu se komponente uzimaju. Kinetiku oslobađanja CRT iz THEDES-a OA-CRT 1:5 najbolje opisuje Peppas-Sahlin model, dok profil oslobađanja za THEDES LA-CRT 1:17 podjednako dobro opisuju Peppas-Sahlin i Makoid-Banakar & T_{lag} .

6. POPIS SIMBOLA I KRATICA

Kratice

API- eng. *Active pharmaceutical ingredient*, djelatna tvar

BCS- eng. *Biopharmaceutics Classification System*, biofarmaceutski sustav klasifikacije

CA- eng. *citric acid*, limunska kiselina

ChCl- kolin klorid

CRT-ceritinib

DES- eng. *deep eutectic solvents*, niskotemperaturna eutektička otapala

DSC- eng. *differential scanning calorimetry*, diferencijalna pretražna kalorimetrija

FDA- eng. *The Food and Drug Administration*, Američka agencija za hranu i lijekove

Fru- fruktoza

GA- eng. *glutamic acid*, glutaminska kiselina

Gly- glicerol

HBA- eng. *Hydrogen bond acceptor*, akceptor vodikove veze

HBD- eng. *Hydrogen bond donor*, donor vodikove veze

HDES- eng. *hydrophobic deep eutectic solvents*, hidrofobna niskotemperaturna eutektička otapala

LA- eng. *lactic acid*, mliječna kiselina

MA- eng. *maleic acid*, jabučna kiselina

Men- mentol

NADES- eng. *natural deep eutectic solvents*, prirodna niskotemperaturna eutektička otapala

NSCLC- eng. *non-small cell lung cancer*, rak pluća nemalih stanica

OA- eng. *oleic acid*, oleinska kiselina

THEDES- eng. *therapeutic deep eutectic solvents*, terapeutsko niskotemperaturno eutektičko otapalo

Simboli

t , °C- temperatura

λ , nm- valna duljina

ν , s⁻¹- frekvencija

M , g/mol- molarna masa

T_v , °C- vrelište

T_t , °C- talište

t , min- vrijeme

7. LITERATURA

- [1]URL:<https://lubrizolcdmo.com/technical-briefs/biopharmaceutical-classification-system/>
(pristup 19.7.2023)
- [2] T. Raja Sekharan, R. Margret Chandira, S. Tamilvanan, S.C. Rajesh, B.S. Venkateswarlu, Deep Eutectic Solvents as an Alternate to Other Harmful Solvents, *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 12,1, (2022), 848-852.
- [3]URL: <https://chemistrytalk.org/what-is-solubility/> (pristup 19.7.2023)
- [4]URL:<https://edutorij.e-skole.hr/share/proxy/alfresco-noauth/edutorij/api/proxy-guest/86f1fc06-2ff6-4615-ad1b-dbaa72f50497/kemija-2/m02/j02/index.html> (pristup 27.8.2023)
- [5]URL:https://chem.libretexts.org/Bookshelves/General_Chemistry/Map%3A_General_Chemistry_%28Petrucci_et_al.%29/13%3A_Solutions_and_their_Physical_Properties/13.05%3A_Solubilities_of_Gases , P. Flowers, K. Theopold, R. Langley, *Solubilities of Gases*, LibreTexts, (pristup 27.8.2023)
- [6] URL: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/drugs-health-products/compliance-enforcement/information-health-product/drugs/active-pharmaceutical-ingredients-questions-answers.html> (pristup 19.7.2023).
- [7] M. Galehassadi, S. Pourreza, Base and Catalyst-Free Preparation of Silyl Ethers in the Choline Chloride/Urea Deep Eutectic Solvent (DES), *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 29, (2019).
- [8] L. Kuzmanovski, *Fizikalna svojstva i primjena eutektičkih smjesa*, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije,(2016).
- [9] P.W. Stott, A.C. Williams, B.W. Barry, Transdermal delivery from eutectic systems: Enhanced permeation of a model drug, ibuprofen, *J. Control. Release*, (1998), 297-308.
- [10] Q. Shen, X. Li, W. Li, X. Zhao, Enhanced Intestinal Absorption of Daidzein by Borneol / Menthol Eutectic Mixture and Microemulsion. *Aaps Pharmscitech*, (2011), 1044-1049.

- [11] H.G. Morrison, C.C.Sun, S.Neervannan, Characterization of thermal behavior of deep eutectic solvents and their potential as drug solubilization vehicles, *Int. J. Pharm.*, 378, 1-2, (2009), 136-139.
- [12] N.R. Goud, K. Suresh, P. Sanphui, A.Nangia, Fast dissolving eutectic compositions of curcumin, *Int. J. Pharm*, (2012), 63-72.
- [13] H. Monteiro, F.Santos, A. Paiva, A.R.C. Duarte, R.J. Ferreira, Molecular Dynamics Studies of Therapeutic Liquid Mixtures and Their Binding to Mycobacteria, *Front. in Pharmacology*, (2021), 1-11.
- [14] F. Oliveira, F. Santos, A.R.C. Duarte, Therapeutic deep eutectic systems towards the treatment of tuberculosis and colorectal cancer: Opportunities and challenges, *Molecules*, (2021), 1-11.
- [15] URL: <https://labtim.hr/toplinska-analiza/diferencna-dinamicna-kalorimetrija-dsc/>, (pristup
- [16]URL:https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_%28Physical_and_Theoretical_Chemistry%29/Thermodynamics/Calorimetry/Differential_Scanning_Calorimetry, A.Cassabaum, V.Winton, Differential Scanning Calorimetry, (pristup
- [17] P. Gill,T.T. Moghadam, B.Ranjbar, Differential scanning calorimetry techniques: Applications in biology and nanoscience, *Journal of Biomolecular Techniques*, 21,4, (2010), 170-186.
- [18] R. Singh, F. Fraternali, G. Bonazzi, M.S.J. Hashmi, R. Kumar., N. Ranjan, N, Investigations for development of feed stock filament of fused deposition modeling from recycled polyamide, *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*. Elsevier, 10.1016/b978-0-12-803581-8.10391-1, (2018), 17.
- [19] R.Radičić, “UV/VIS spektroskopija i njena primjena u analizi fotofatalitičkih svojstava tankih filmova cinkova oksida ”, Sveučilište u Rijeci, Odjel za fiziku, 2018.
- [20] URL:<https://glossary.periodni.com/rjecnik.php?hr=elektromagnetski+spektar> (pristup 28.8.2023.)

- [21] URL: <https://edutorij.e-skole.hr/share/proxy/alfresco-noauth/edutorij/api/proxy-guest/b620a7a7-15bd-4095-a187-910c8de1dd4d/bohrov-model-i-spektar-zracenja-vodikovog-atoma.html> , (Pristup: 24.7.2023.)
- [22] N. Sabo, “Primjena spektrofotometrije u učenju Biologije i ostalih predmeta prirodoslovnog područja”, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju, 2021.
- [23] O. Eradiri, Clinical pharmacology and biopharmaceutics review(s), Center for drug evaluation and research, NDA 206162, (2014), 6.
- [24] URL:<https://medlineplus.gov/druginfo/meds/a614027.html> (pristup 24.7. 2023.)
- [25] URL:https://www.chemsrc.com/en/cas/1032900-25-6_1042820.html (pristup 24.7. 2023.)
- [26] URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ceritinib> (pristup 24.7.2023.)
- [27]URL:<https://www.carlroth.com/medias/SDB-8460-HR-HR.pdf?context=bWFzdGVyfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wzMTcxNjB8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oNzgvaGRhLzkwNDU1MTM5Mjg3MzQucGRmfDg0MGVjN2NjNzU0NzVhY2QxNzk0MTcyNTI5MjE5ZDY0NmE3ZWJmZWY1OGlyMWFjYzJhMzg0MDhkZmJkM2ZjZGE> (pristup 24.7.2023.)
- [28] Y.-J. Wee, J.-N. Kim, H. Ryu, Biotechnological Production of Lactic Acid and Its Recent Applications, Food Technol. Biotechnol., 44, 2, (2006.), 163-172.
- [29]URL:<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Lactic-Acid#section=Boiling-Point> (pristup 24.7.2023.)
- [30]URL:<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/311#section=2D-Structure> (pristup 24.7.2023.)
- [31] URL:<https://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=36605> (pristup 24.7.2023.)
- [32] URL:<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Citric-Acid> (pristup 24.7.2023.)
- [33] URL:<https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=45009> (pristup 24.7.2023.)
- [34] URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Oleic-Acid> (pristup 24.7.2023.)

[35] Feng, L.; Gong, B.; Karpinski, P.; Waykole, L. Crystalline forms of 5-chloro-N2-(2-isopropoxy-5-methyl-4-piperidin-4-yl-phenyl)-N4[2-(propane-2-sulfonyl)-phenyl]-pyrimidine-2,4-diamine, WO2012082972A1, (2011).

[36] A. Komesu, P. Fazzio Martins Martinez, B. Hoss Lunelli, J. Oliveira, M. R. Wolf Maciel, R. Maciel Filho, Study of Lactic Acid Thermal Behavior Using Thermoanalytical Techniques, Hindawi, 2017, (2017).

[37] Cienc. Tecnol. Aliment., Campinas, Evaluation of antioxidants stability by thermal analysis and its protective effect in heated edible vegetable oil, Ciência e Tecnologia de Alimentos, 31, 2, (2011), 475-480.

[38] I. M. Aroso, R. Craveiro, A. Rocha, M. Dionísio, S. Barreiros, R. L. Reis, A.R.C Duarte, Design of controlled release systems for THEDES—Therapeutic deep eutectic solvents, using supercritical fluid technology, International Journal of Pharmaceutics, 492(1-2), (2015) 73–79.

ŽIVOTOPIS

Eva Vidoša [REDACTED] Osnovnoškolsko obrazovanje stekla je u Osnovnoj školi Marije Juurić Zagorke u Zagrebu, nakon koje 2016. godine upisuje prirodoslovno matematičku gimnaziju X. Gimnazija Ivan Supek u Zagrebu. Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu upisuje 2020. godine. Stručnu praksu odrađuje 2023. godine na Odjelu za zrak Zavoda za zaštitu okoliša i prirode.