

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Iris Pralas

UTJECAJ DODATAKA NA PROCES KRISTALIZACIJE

DIPLOMSKI RAD

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

Članovi ispitnog povjerenstva: izv. prof. dr. sc. Jasna Prlić Kardum
izv. prof. dr. sc. Gordana Matijašić
izv. prof. dr. sc. Marijana Hranjec

Zagreb, srpanj 2016.

Posebno zahvaljujem svojoj mentorici dr. sc. Jasni Prlić Kardum na stručnom vodstvu i odabiru teme diplomskog rada. Hvala na iznimnom strpljenju i nesebičnoj pomoći, te brojnim uputama i savjetima prilikom izrade i pisanja diplomskog rada.

Također, zahvaljujem i dragim asistentima koji su u svakom trenutku bili spremni pomoći. Hvala i svim ostalim djelatnicima Zavoda za mehaničko i toplinsko procesno inženjerstvo na ugodnoj i pozitivnoj radnoj atmosferi.

Osim toga, zahvaljujem svojim roditeljima i braći, kolegama i prijateljima koji su bili najveća podrška tijekom cijelog trajanja studija.

SAŽETAK

U farmaceutskoj industriji proces kristalizacije danas je jedan od najvažnijih procesa prilikom proizvodnje farmaceutika u čvrstom obliku, odnosno u obliku tableta, što je jedan od najpopularnijih oblika uzimanja lijekova općenito. Stoga, postoji potreba za razvitkom novih tehnika dizajna čestica, kao i potreba za što bržim lansiranjem novih proizvoda na tržište. Sferična kristalizacija nova je tehnika dizajna čestica u kojoj se istovremeno odvijaju procesi aglomeracije i kristalizacije.

U ovom radu istraživana je utjecaj dodatka prilikom provedbe kristalizacije iz otopine na granulometrijska svojstva (raspodjelu veličina čestica i oblik) kristala dronedaron hidroklorida. Odabirom pogodnih sustava otapala željelo se utjecati na dobivanje željenih sferičnih aglomerata kristala.

Nakon pretraživanja sustava i odabira pogodnih otapala provedena je kristalizacija pri linearnoj brzini hlađenja ($12^{\circ}\text{C}/\text{h}$) uz dodatak cjepiva. Kao cjepivo korištena je sol dronedaron hidroklorida. Prethodno su određene krivulje topljivosti u određenim otapalima.

Na temelju slika dobivenih na svjetlosnom mikroskopu, te SEM-u vidi se da se u sustavima s acetonitrilom dobivaju kristali povoljnijeg obilka koji imaju veću sklonost stvaranju sferičnih aglomerata.

Utvrđeno je da se dodatkom različitih otapala utječe na oblik i raspodjelu veličina kristala, ali ne i na njihovu strukturu.

Ključne riječi: kristalizacija, dodatak, dronedaron hidroklorid, granulometrijska svojstva i sferična kristalizacija

SUMMARY

In the pharmaceutical industry, the process of crystallization is one of the most important processes in the manufacture of pharmaceuticals in solid tablet form, which is, in general one of the most popular dosage forms. Therefore, there is a need to develop new particle design techniques, and also the need for faster launch of new products on the market. Spherical crystallization is one of such particle design technique in which crystallization and agglomeration process are carried simultaneously.

This study investigates the effect of additives in the implementation of crystallization from solution on granulometric properties (particle size distribution and shape) of the obtained dronedarone hydrochloride crystals. Choosing a suitable solvent system is desired to affect obtaining the spherical agglomerates of crystals.

After the search and selection of suitable solvent systems crystallization is carried out at a linear speed of cooling (12 °C/h) by adding vaccine. As the vaccine, salt of dronedarone hydrochloride has been used. Solubility of the salt has also been determined previously in certain solvents.

Resulting pictures obtained by light microscope and SEM show that systems prepared with acetonitrile have a higher tendency to form agglomerates.

It was found that the addition of different solvents affects the shape and the crystal size distribution, but not on crystals structure.

Keywords: crystallization, additive, dronedarone hydrochloride, granulometric properties and spherical crystallization

SADRŽAJ

1. UVOD	2
2. OPĆI DIO	4
2.1. KRISTALIZACIJA	5
2.2. NAČINI PROVEDBE KRISTALIZACIJE.....	5
2.2.1. Kristalizacija iz taline	5
2.2.2. Kristalizacija iz plinske faze.....	6
2.2.3. Kristalizacija iz otopine	6
2.3. TOPLJIVOST.....	9
2.4. NUKLEACIJA I RAST KRISTALA	10
2.5. DODATAK ADITIVA.....	11
2.5.1. Utjecaj aditiva na topljivost.....	11
2.5.2. Utjecaj aditiva na vanjsku površinu kristala.....	12
2.5.3. Utjecaj otapala na oblik kristala	12
2.5.4. Utjecaj aditiva na raspodjelu veličina kristala.....	12
2.6. PRIMJENA KRISTALIZACIJE	13
2.7. FORMULACIJA FARMACEUTSKI AKTIVNE KOMPONENTE.....	13
2.8. SFERIČNA KRISTALIZACIJA.....	16
2.8.1. Sustav otapala.....	17
2.8.2. Prisutnost aditiva	18
2.8.3. Glavni koraci u postupku aglomeracije	19
2.9. KARAKTERIZACIJA DOBIVENIH KRISTALA	20
2.10. DRONEDARON HIDROKLORID	21
3. EKSPERIMENTALNI DIO	22
3.1. SVRHA ISTRAŽIVANJA	23
3.2. MATERIJAL.....	23
3.3. APARATURA ZA PROVEDBU EKSPERIMENATA.....	26
3.3.1. Određivanje topljivosti	27
3.3.2. Određivanje koncentracije.....	27
3.3.3. Instrumenti za karakterizaciju materijala	28
4. REZULTATI	30
4.1. PRELIMINARNA ISTRAŽIVANJA	31
4.1.1. Određivanje krivulja topljivosti.....	32
4.1.2. Ispitivanje sustava i traženje pogodnih otapala	34
4.2. ODABRANI SUSTAVI	36

4.2.1.	Acetonitril.....	36
4.2.2.	Etanol.....	36
4.2.3.	Određivanje koncentracije otopine tijekom eksperimenta	37
4.3.	REZULTATI XRD ANALIZE	40
4.4.	RASPODJELA VELIČINA KRISTALA	41
4.5.	ISKORIŠTENJE PROCESA.....	42
5.	RASPRAVA	43
6.	ZAKLJUČAK	49
7.	POPIS SIMBOLA	51
8.	LITERATURA	53
	ŽIVOTOPIS	56

1. UVOD

Proces kristalizacije sastoji se od formiranja čvrste disperzne faze u kontinuiranom mediju, koji može biti i plinska faza ili talina, ali u industrijskim sustavima radi se najčešće o kristalizaciji iz otopine. Na brzinu i mehanizam nastajanja kristala iz kapljevite faze utječu termodinamički (topljivost, temperatura, utjecaj otapala) i kinetički čimbenici (prezasićenost, širina metastabilne zone), kao i način povezivanja molekula kemijskim vezama (vodikove veze, nekovalentne veze itd.).

Kristalizacija je prisutna u mnogim industrijskim granama, od kojih su najznačajnije farmaceutska, prehrambena i kemijska industrija. Budući da je kristalizacija, nakon destilacije najvažniji proces proizvodnje u farmaceutskoj industriji, te ima značajan udio u potrošnji energije proizvodnih sustava, pojavila se potreba unaprijeđenja i poboljšanja djelotvornosti proizvodnih procesa ali i ispitivanje sustava radi dobivanja proizvoda odgovarajućih karakteristika. Odabirom povoljnih procesnih uvjeta moguće je utjecati na oblik nastalih kristala, tako da je pojedine proizvodne procese moguće izbjeći čime se ostvaruju velike uštede. Posljednjih godina postignut je iskorak u procesu kristalizacije gdje se pažljivim odabirom sustava i podešavanja procesnih parametara može dobiti sferičan oblik kristala. Naime, 1986 godine Kawashima i suradnici razvili su novu metodu u proizvodnji tableta tzv. direktno tabletiranje.^{1,2} Odnosno, tehniku izravne aglomeracije kristalnih čestica u sferične aglomerate dodatkom tekućine za premošćivanje, nazvanu sferična kristalizacija. Sferična kristalizacija definirana je kao proces aglomeracije koji pretvara kristale lijeka izravno u kompaktni sferični oblik, kako bi se poboljšala svojstva protočnosti, topljivosti i kompatibilnosti.^{1,2}

Međutim pri odabiru sustava koji pogoduje nastanku povoljnog vanjskog oblika kristala potrebno je voditi brigu i o nizu drugih utjecaja. U farmaceutici svojstva čvrstih oblika farmaceutskih spojeva imaju odlučujući utjecaj na razvoj oblika doze lijeka, stabilnost kao i na *in vivo* učinkovitost lijeka. Budući da farmaceutici često postoje u različitim polimorfnim kristalnim oblicima, uvijek je poželjno da se uključi termodinamički najstabilnija forma kako bi se izbjegle transformacije lijeka tijekom roka trajanja. Mnogi farmaceutski lijekovi problematični su sami po sebi zbog svojih nepovoljnih fizičkih i mehaničkih svojstava te slabe topljivosti u vodi. Mikrometarska svojstva lijeka, kao što su oblik i veličina, imaju bitan značaj za formuliranje čvrstih doza lijekova. Sve ove čimbenike potrebno je razmotriti prilikom razvijanja metoda dobivanja ljekovitih supstanci odgovarajućeg oblika, veličine i unutarnje strukture kako bi se postigla maksimalna terapijska djelotvornost. Odgovarajuća morfologija nepohodna je za miješanje i kompaktnost, dok je biološka

raspoloživost lijeka usko povezana sa svojstvima topljivosti i brzinom otapanja. Jedan od načina postizanja odgovarajućih granulometrijskih svojstava kristala je odabir otapala, odnosno sustava otapala te eventualni dodatak aditiva potreban za uspješnu prekrystalizaciju čvrste forme.

Prisutnost dodataka u kristalizacijskom sustavu igra vrlo važnu ulogu i značajno utječe na pojavu polimorfnih struktura komponente koja kristalizira. Aditivi dodani u radni medij redovito uzrokuju promjenu topljivosti otopljene tvari, koja ovisi o utjecaju zajedničkog iona, stranog iona, pH otopine te nastajanju kompleksa između tvari koja kristalizira i dodatka. Uobičajeni utjecaji aditiva su smanjivanje vrijednosti nukleacijske barijere i inhibicija brzine rasta stabilnog nukleusa.

U ovom radu napravljeno je osnovno pretraživanje sustava (odabir otapala, antiotapala te načina provedbe kristalizacije). Naime, ispitan je utjecaj dodatka različitih otapala, antiotapala te cjepiva na morfologiju i granulometrijske karakteristike kristala dronedaron hidroklorida (DHK) koji je aktivna je komponenta lijeka koji se koristi za liječenje srčane aritmije.

2. *OPĆI DIO*

2.1. KRISTALIZACIJA

Proces kristalizacije jedan je od najvažnijih procesa u farmaceutskoj industriji budući da se većina farmaceutski aktivnih komponenti nalazi u čvrstom stanju. Proces kristalizacije sastoji se od formiranja čvrste disperzne faze u kontinuiranom mediju, koji je u industrijskim sustavima najčešće tekuća faza. Formiranje čvrste faze sastoji se iz dva koraka: pojava prijelaznih struktura između čvrste i tekuće faze ili nukleacija, te rast tih struktura u čvrste čestice odnosno kristale. Kako bi došlo do procesa prijenosa tvari potrebna je odgovarajuća pokretačka sila, odnosno razlika koncentracija, tj. stupanj zasićenosti. Razlika koncentracija naziva se prezasićenost, te predstavlja pokretačku silu procesa kristalizacije, a postiže se najčešće smanjenjem topljivosti otopljene tvari (npr. promjena temperature, dodatak antiotapala, isoljavanje, promjena pH) ili povećanjem koncentracije otopljene tvari (npr. isparavanjem otapala). Kristalizacija se još može provoditi uz kemijsku reakciju, dodatak aditiva uz isoljavanje ili precipitaciju (taloženje).³

2.2. NAČINI PROVEDBE KRISTALIZACIJE

Kristalizacija je toplinski separacijski proces koji rezultira nastajanjem nove čvrste faze.⁴ Tri su osnovna načina postizanja fazne promjene:

- Kristalizacija iz taline
- Kristalizacija iz plinske faze
- Kristalizacija iz otopine

2.2.1. Kristalizacija iz taline

Talina se sastoji od dvije ili više komponenti različitih temperatura tališta. Odvođenjem temperature u talini dolazi do parcijalnog nastajanja kristala drugačijeg sastava od početne taline. Komponenta s većom temperaturom tališta obogaćuje se kristalima, a separacija kristala i taline je djelomična. Potpuna separacija nastaje višestupnjevitom kristalizacijom u sustavima s potpunim miješanjem komponenti te sustavima u kojima nastaju miješani kristali.⁴

2.2.2. Kristalizacija iz plinske faze

Kristalizacija iz plinske faze provodi se odvođenjem topline iz sustava pri čemu se komponenta koja desublimira direktno prevodi u kristale. Proces separacije je parcijalan jer preostala plinska smjesa sadrži određenu količinu desublimacijske tvari. Separacija smjese može se poboljšati višestupnjevitim protustrujnim procesom.⁴

2.2.3. Kristalizacija iz otopine

Potrebna pokretačka sila (prezasićenost) kod kristalizacije iz otopine može se osigurati bez i sa pomoćnom komponentom. Ukoliko se provodi bez pomoćne komponente, prezasićenost se osigurava isparavanjem otapala, hlađenjem otopine ili zaleđivanjem otapala. Način na koji se kristalizacija provodi utječe na granulometrijska svojstva kristala.⁴

Prilikom provođenja kristalizacije iz otopine potrebno je obratiti pozornost na svojstva otapala, koje mora imati sposobnost otopiti određenu tvar, mora biti izuzetno čisto, jer nečistoće utječu na cijeli proces kristalizacije, ne smije reagirati s otopljenom komponentom ako se kristalizacija provodi bez dodatka aditiva, mora biti djelotvorno, imati sposobnost regeneracije, ne smije biti zapaljivo, kao ni toksično.

2.2.3.1. Kristalizacija hlađenjem

Kristalizacija hlađenjem jedna je od najčešće korištenih metoda postizanja prezasićenosti na koju se utječe snižavanjem temperature. Uobičajeno se provodi kada topljivost snažno ovisi o temperaturi. Hlađenjem se željeni stupanj kristalizacije može postići jedino kada je topljivost dovoljno niska pri samom prestanku hlađenja. U nekim slučajevima potrebno je dodatno smanjenje topljivosti kako bi se postigao željeni rezultat. Prednost kristalizacije hlađenjem je što nema dodatka novih tvari, kao što je npr. antiotapalo, te je veća mogućnost stvaranja produkta bez nečistoća. Osim toga, na taj način smanjuju se eksperimentalni i kapitalni troškovi. Kristalizacija hlađenjem može se provoditi šaržno ili kontinuirano.⁵

Čimbenici koji mogu utjecati na profil prezasićenosti prilikom kristalizacije hlađenjem su:

- profil hlađenja i temperatura
- širina metastabilne zone
- brzina nukleacije i brzina rasta kristala
- miješanje i prijenos tvari
- sustav otapala
- prisutnost nečistoća

2.2.3.2. Kristalizacija dodatkom antiotapala

Kristalizacija dodatkom antiotapala potencijalno je najbolji način za postizanje kontrolirane raspodjele veličine čestica. Naziva se još i precipitacija, a najčešće se koristi u farmaceutskoj industriji. Proces se može provoditi polušaržno (na način da se antiotapalo dodaje u otopinu i obrnuto) ili kontinuirano, uz pomoć miješanja. Proces se odvija na način da otopljena tvar kristalizira iz otapala dodavanjem drugog otapala, odnosno antiotapala, u kojoj je komponenta relativno netopljiva.⁵ Dakle, kada se antiotapalo dodaje u otopinu, otopljena tvar kristalizira zbog smanjenja topljivosti. Postižu se visoki stupnjevi prezasićenosti što rezultira primarnom nukleacijom. Ponekad se koristi više otapala kako bi se dobila strmija krivulja topljivosti ili kako bi se proizveo željeni oblik kristala, odnosno polimorfa.⁶

Glavne prednosti uključuju mogućnost provedbe na niskim temperaturama što pogoduje temperaturno osjetljivim komponentama, također druga prednost je da se aktivnost otapala značajno mijenja, pa ovakav pristup može imati dublji utjecaj na morfologiju kristala ili sami polimorfni oblik kristala nego u slučaju kristalizacije hlađenjem. Očiti nedostatak ovakvog načina kristalizacije je potreba za uvođenjem dodatnog otapala (ili više njih) čime se smanjuje volumetrijska produktivnost, uzrokuju se veći gradijenti prezasićenosti, te je potreban određeni oblik pročišćavanja odnosno separacije ili obnove, čime se povećavaju kapitalni troškovi.⁵ Kako bi se poboljšao učinak kristalizacije, moguće je kombinirati kristalizaciju hlađenjem i dodatkom antiotapala.³

2.2.3.3. *Kristalizacija cijepljenjem*

Kristalizacija dodatkom cjepiva prikladan je način poticanja početka procesa kristalizacije izbjegavanjem primarne nukleacije, koju je u prezasićenom području teško kontrolirati. Vrijeme i količina dodanog cjepiva važni su procesni parametri koji znatno utječu na granulometrijske karakteristike dobivenih kristala. Cjepivo je potrebno dodati unutar metastabilne zone kako se preranim dodavanjem kristali cjepiva ne bi otopili, ili zbog prekasnog dodatka cjepiva ne bi došlo do primarne nukleacije.⁷

Učinkovitost cijepljenja u procesu kristalizacije određena je brojnim faktorima:

- Količina i veličina cjepiva
- Vrijeme dodavanja cjepiva
- Morfologija cjepiva
- Metoda dodatka cjepiva

Dodano cjepivo ima ulogu kontrolirati trenutak nukleacije i omogućiti da se nukleacija dogodi pri nižim stupnjevima prezasićenosti, čime se utječe na veličinu, raspodjelu veličina te oblik dobivenih kristala.

Potrebna veličina i masa cjepiva određuje se pomoću izraza (1), iz kojeg je vidljivo da količina cjepiva ovisi o teoretskoj masi kristala te o omjeru početne i konačne veličine cjepiva.⁸

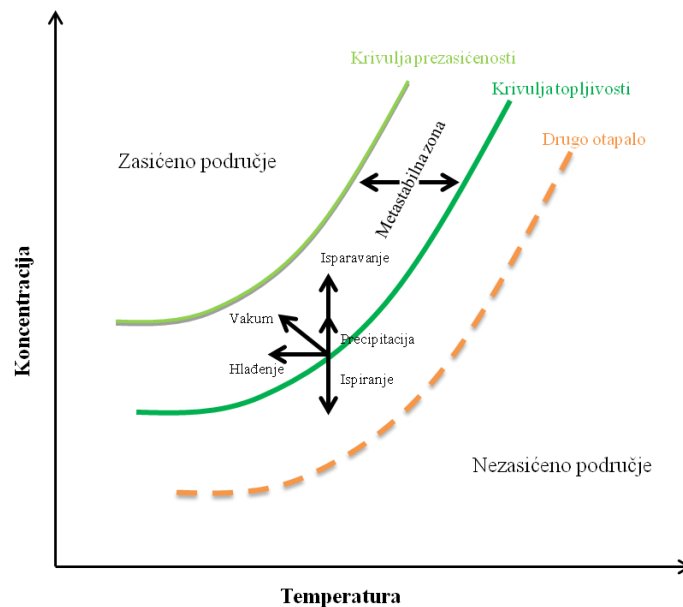
$$\frac{m_k}{m_{cj}} = \left(\frac{L_k}{L_{cj}} \right)^3 \quad (1)$$

Vrijednost L_k / L_{cj} mora biti između 1 i 5 (masa cjepiva je 2-5% dobivene teoretske mase kristala).⁸

2.3. TOPLJIVOST

Topljivost čvrste tvari u otapalu predstavlja maksimalnu količinu tvari koja se može otopiti pri danim uvjetima, te najčešće ovisi o temperaturi. Takva otopina naziva se zasićenom i u njoj je postignuto stanje termodinamičke ravnoteže.⁹

Iz Ostwald-Miersovog fazno ravnotežnog dijagrama može se vidjeti da postoje tri različita stanja stabilnosti otopine prije nego dođe do same kristalizacije. Razlikujemo tri važna područja:⁹



Slika 1. Ostwald-Miers-ov fazni dijagram⁹

1. Nezasićeno područje- stabilno, prisutni kristali će se otopiti
2. Metastabilna zona- rast kristala
3. Prezasićeno područje- nestabilno, dolazi do spontane nukleacije

Širina metastabilne zone važan je parametar koji utječe na svojstva produkta dobivenog kristalizacijom (veličina, raspodjela i oblik kristala). Bitno je odrediti utjecaj metastabilne zone na nukleaciju i rast kristala.

Najvažniji čimbenici koji utječu na širinu metastabilne zone su:¹⁰

- temperatura – širina metastabilne zone se smanjuje povećanjem temperature
- toplinsko tretiranje otopine – održavanjem na temperaturi znatno višoj od temperature zasićenja metastabilna zona je šira
- prisutnost nečistoća i topljivih dodataka u otopini – smanjuju širinu metastabilne zone
- brzina hlađenja – velika brzina hlađenja povećava širinu metastabilne zone
- mehanički utjecaji (miješanje, trešenje, ultrazvučno djelovanje ili bilo koja mehanička energija koja djeluje na otopinu) – smanjuju širinu metastabilne zone.

Većina navedenih čimbenika usko je povezana s nukleacijom koja se događa u otopini.

2.4. NUKLEACIJA I RAST KRISTALA

Da bi došlo do kristalizacije već moraju postojati centri kristalizacije odnosno nukleusi. Proces nukleacije može se pojaviti različitim mehanizmima, može biti primarni, kada je neovisan o prisutnosti kristala u otopini ili sekundarni kada se javlja kao posljedica prisutnosti kristala u otopini.³

Nakon formiranja nukleusa slijedi rast kristala. Rast kristala opisuje se promjenom neke karakteristične dimenzije kristala s vremenom, a naziva se linearnom brzinom rasta. Ovaj korak kontroliran je vanjskim (temperatura, nečistoće, prekomjerna zasićenost, vrsta otapala) i unutarnjim (kristalna struktura) čimbenicima, koji u konačnici određuju morfologiju čestica. Veličina i oblik kristala važni su parametri koji utječu na procese separacije, te imaju utjecaj i na prinos i kvalitetu dobivenih frakcija tijekom procesa kristalizacije.¹¹

Kristalizacija se provodi zbog nastajanja nove faze, čišćenja kristala ili separacije smjese. Neovisno o tome da li se kristalizacija provodi iz otopine, smjese kristala, taline ili pare, nastali kristali zahtijevaju naknadnu obradu. Budući da je većinom veličina kristala i njihova raspodjela jako bitna, kristalizacijom se žele dobiti kristali odgovarajuće čistoće i odgovarajućih granulometrijskih karakteristika (oblik, veličina i raspodjela veličina kristala).

2.5. DODATAK ADITIVA

Prisutnost nečistoća u kristalizacijskom sustavu igra vrlo važnu ulogu i značajno utječe na pojavu polimorfnih struktura komponente koja kristalizira. Primjerice ako su tragovi nečistoća prisutni tijekom procesa kristalizacije, imati će značajan utjecaj na mehanička, električna, toplinska i optička svojstva kristala.¹²

Prisutnost bilo kakve strane tvari (namjerno dodane ili slučajno prisutne) izuzev tvari koja kristalizira smatra se nečistoćom. Tako se u literaturi za prisutne nečistoće koriste različiti termini: aditiv, primjesa, inhibitor, otrov, za sve strane tvari prisutne u otopini, a koje nisu otapalo koje se koristi kao medij za postizanje prezasićene otopine. Bez obzira na njezinu koncentraciju, namjerno dodana tvar naziva se aditiv, a pod pojmom primjesa misli se na tvar dodanu u velikim količinama (do nekoliko postotaka). Površinski aktivno sredstvo (*Surfactant*) može biti bilo koji kemijski spoj koji je površinski aktivan i utječe na rast kristala. Nečistoća koja usporava rast kristala naziva se otrov ili inhibitor, dok ona koja ubrzava rast se naziva promotor.¹²

U različitim industrijama proizvodi kristalizirani u čvrstom stanju moraju zadovoljiti određene zahtjeve: polimorfni oblik, termodinamička i kinetička stabilnost tijekom roka trajanja proizvoda, morfologija, raspodjela veličina čestica, što u konačnici određuje svojstva proizvoda u čvrstom stanju kao što su mogućnost separacije, protočnost, kompaktnost, otapanje i pakiranje. Navedeni zahtjevi ispunjeni su kontroliranjem uvjeta kristalizacije koji su određeni različitim procesima kao što se nukleacija, rast kristala, agregacija, Ostwaldovo zrenje i fazne transformacije. Aditivi imaju dubok utjecaj na tijek navedenih procesa.¹²

2.5.1. Utjecaj aditiva na topljivost

Prisutnost aditiva u radnom mediju uvijek vodi k promjeni topljivosti otopljene tvari. Uobičajena posljedica promjene topljivosti tvari je da dolazi do promjene koncentracije iona/molekula otopljene tvari prisutne u mediju, a također se mijenja i međupovršinska energija između otopljene tvari i otapala. Ove promjene vode i do promjene širine metastabilne zone.¹²

2.5.2. Utjecaj aditiva na vanjsku površinu kristala

Veze između aditiva i kristala odgovorne su za promjene u morfologiji kristala za vrijeme rasta kristala. Kemijske veze koje se ostvaruju prilikom adsorpcije nečistoća na površinu kristala su van der Waalove, ionske i vodikove veze. Između njih van der Waalove sile važne su i za samostalnu adsorpciju, ali i kao dopunski mehanizam u svim drugim vrstama adsorpcije. Formiranje vodikovih veza također igra veliku ulogu prilikom adsorpcije nečistoća, prilikom rasta anorganskih i ionskih kristala. Ionske veze važne su prilikom kristalizacije ionskih soli iz vodenih otopina.¹²

2.5.3. Utjecaj otapala na oblik kristala

Otapalo ima snažan utjecaj na oblik kristala budući da molekule otapala različito utječu na rast različitih oblika kristala prisutnih u kristalnoj morfologiji. Takav utjecaj otapala povezan je sa selektivnom adsorpcijom molekula otapala na kristale. Postoje dva glavna pristupa objašnjenju utjecaja otapala na rast kristala. Prvi pristup uzima u obzir promjene površinske napetosti zahvaljujući interakcijama između otapala i rastućih kristala. Povećanje površinske napetosti vodi smanjenju rasta kristala i obrnuto. Drugi pristup definiran je proširenom ulogom prisutnih nečistoća, gdje je stopa rasta kristala određena uklanjanjem molekula otapala adsorbiranih na površinu kristala.¹²

2.5.4. Utjecaj aditiva na raspodjelu veličina kristala

Prisutnost aditiva u radnom mediju ima utjecaj na formiranje stabilnih nukleusa kao i na njihovu veličinu. Uobičajen utjecaj aditiva je smanjenje vrijednosti energije nukleacije čime se ubrzava proces formacije nukleusa. Ova dva procesa (nukleacija i rast kristala) definiraju oblik raspodjele veličine kristala. Očekuje se da se zavisno o utjecaju aditiva na ove procese mijenja veličina kristala i oblik krivulje raspodjele veličina kristala.¹²

2.6. PRIMJENA KRISTALIZACIJE

Kristalizacija je prisutna u mnogim industrijskim granama, od kojih su najznačajnije farmaceutska, prehrambena i kemijska industrija.

Posljednjih nekoliko desetljeća, u farmaceutskoj industriji kristalizacija je jedan od najvažnijih procesa separacije i pročišćavanja, te se istraživanja vezana za procese kristalizacije provode na znatno višim razinama, zahvaljujući važnosti nekoliko ključnih faktora koji zahtijevaju povećanu kontrolu samoga procesa. Ove razine kontrole zahtijevaju bolje razumijevanje temeljnih i operativnih karakteristika kristalizacije, uključujući najvažnije pitanje-scale up. U farmaceutskoj industriji postoji pojačana potreba da se osiguraju aktivne farmaceutske komponente (*API-Active Pharmaceutical Ingredient*) visoke kakvoće i biokompatibilnosti. Također, bitna je raspodjela veličina čestica aktivne tvari, kao i njezini oblici koji utječu na krajnju formulaciju lijeka. Osnovne karakteristike koje su bitne za aktivne farmaceutske tvari su: topljivost, polimorfizam, morfologija te raspodjela veličina čestica. Za farmaceutsku industriju osobito je važan nastanak polimorfa, jer ista tvar u drugom obliku može imati jednaka korisna svojstva, ali i različita fizikalna svojstva od kojih je najbitnija topljivost i stabilnost.

2.7. FORMULACIJA FARMACEUTSKI AKTIVNE KOMPONENTE

Za postizanje željenih farmakoloških učinaka jedan od najvažnijih načina uzimanja lijeka je oralnim putem. Kod ovakvog načina uzimanja lijekova prvi izbor pacijenata su uglavnom tablete u čvrstom obliku i to ponajprije zbog jednostavnosti uzimanja, precizno definirane doze lijeka, niskih troškova itd.¹³

Lijekovi u obliku čvrstih tableta danas su najpopularniji oblik doziranja lijeka i čine 75% od ukupne proizvodnje farmaceutika. Kvaliteta čvrste doze lijeka primarno je ovisna o mikrometarskim karakteristikama kao što su oblik i veličina kristala lijeka, pogotovo kada je riječ o slabo topljivim lijekovima.¹⁴

Farmaceutski postupci formulacije, u kojima se aktivna farmaceutska komponenta (API) miješa sa aditivima i pomoćnim sredstvima ključne su operacije koje ne samo da diktiraju konačna farmakokinetička svojstva proizvoda, već imaju i značajnu ulogu u udjelu

potrošnje energije cijelog proizvodnog procesa.¹⁵ Zbog nepovoljnih fizikalnih i mehaničkih svojstava i nedovoljne topljivosti nekih lijekova proces formulacije zna biti iznimno problematičan.

Većina farmaceutski aktivnih sastojaka proizvodi se u kristalnom obliku kako bi se održala njihova kemijska stabilnost prilikom transporta, pakiranja i skladištenja. Budući da se proizvode u kristalnom obliku podliježu intenzivnim energetske operacijama kao što su usitnjavanje, prosijavanje, miješanje i granuliranje prije samog završnog procesa tabletiranja.¹⁵

Ove korake potrebno je poduzimati nakon primarnog procesa kristalizacije, budući da se obično dobiju kristali nepravilnog i nepovoljnog oblika, te neodgovarajuće veličine. Usitnjavanje i visokoenergetsko mljevenje energetski su neučinkovite radnje s pripadajućim nedostacima mogućnosti kontaminacije produkta, promjene amorfong oblika, odnosno mogućnost pojave polimorfni transformacija. Nakon postupka smanjenja veličine čestica, aktivne komponente obično se miješaju s prikladnim ekscipijentima, kao što su punila, boje, veziva, arome i konzervansi. Kod miješanja praškastih supstanci potrebno je odrediti jedinstveni set parametara procesa za svaki skup sastojaka, kako bi se postigla optimalna i jedinstvena raspodjela veličina čestica. Nadalje, potrebno je odvajanje i grupiranje miješanih materijala uslijed razlike u veličini i gustoći, te interakcija između aktivne komponente i pomoćnih sredstava. Slaba mehanička i fizikalna svojstva čestica lijeka mogu se regulirati različitim metodama granulacije, a upravo je to pretposljednji korak u procesu proizvodnje lijeka, kako bi se tvorili aglomerati pogodni za kompakciju. Granuliranje može biti suho i mokro. Kod suhog granuliranja proizvode se velike količine prašine, te zahtijeva višestupanjsku kompakciju i prosijavanje produkta čime dolazi do povećanja vremena trajanja procesa, kao i povećanja potrošnje enrgije. S druge strane, vlažno granuliranje može se provoditi samo kod mješavina koje nisu osjetljive na vlagu te može uzrokovati promjene u polimorfni oblicima.¹⁵

Povećanje veličina čestica također je važan postupak prilikom proizvodnje tableta. Postoji niz različitih tehnika za povećanje veličine čestica kao što su vlažno granuliranje, suho granuliranje, sferonizacijska ekstruzija te sferična kristalizacija. Ove tehnike imaju važnu ulogu u modificiranju primarnih i sekundarnih svojstava farmaceutskih supstanci.¹⁴

Sve do nedavno farmaceutska industrija nije osjećala potrebu za unaprijeđivanjem odnosno poboljšavanjem efikasnosti proizvodnje. Osnovni razlog tome je to što je glavna

misija farmaceutske industrije da brzo stavlja nove proizvode na tržište. Danas, povećanjem cijene koštanja energije velike kompanije suočile su se sa financijskim pritiscima upravo zahvaljujući neefikasnom vođenju procesa proizvodnje. Zbog toga, farmaceutska industrija mora unaprijediti proces proizvodnje. Dizajn čestica za čvrste farmaceutske oblike uključuje poboljšanje djelotvornosti proizvodnog procesa dajući visoki stupanj funkcionalnosti lijeku. Budući da tradicionalni proces proizvodnje tableta uključuje brojne korake (kristalizacija, filtracija, sušenje, miješanje prašaka, granulacija, tabletiranje) razvijena je nova moderna metoda u proizvodnji tableta tzv. direktno tabletiranje.¹⁶

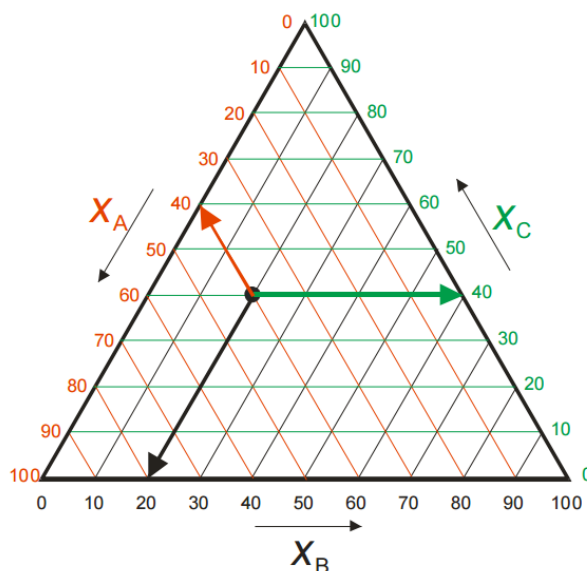
Kawashima i suradnici razvili su tehniku izravne aglomeracije kristalnih čestica u sferične aglomerate dodatkom tekućine za premošćivanje, nazvanu sferična kristalizacija. Aglomerati nastali postupkom sferične kristalizacije imaju poboljšana mikrometerska svojstva, bolju kemijsku stabilnost i bioraspoloživost, te mogu biti podvrgnuti direktnom tabletiranju. Ovakve metode, koriste se također za formulaciju aktivnih farmaceutskih komponenti i ekscipijenata.¹⁵

Sferična kristalizacija definirana je kao proces aglomeracije koji pretvara kristale lijeka izravno u kompaktni sferični oblik, kako bi se poboljšala svojstva protočnosti, topljivosti i kompatibilnosti. Sferična aglomeracija (SA) i emulzijska difuzija otapala (ESD) dvije su glavne tehnike sferične kristalizacije. ADS i CCA su proširene forme ovih dviju metoda. Sferična aglomeracija sastoji se od precipitacije (taloženja) sitnih kristala supstance lijeka, te agregacije tih kristala pomoću sredstva za vlaženje, koje mora biti nemješljivo sa tekućom fazom. Kod tehnike emulzijske difuzije otapala kontinuirana faza je nemješljiva i sa samim lijekom. Upravo u ovom postupku, formira se kvazi-emulzija pomoću kapljica otapala koje sadrže lijek, te se proces kristalizacije pojavljuje u kapljicama. Kristalizirane čestice sposobne su za stvaranje gustih sfernih aglomerata pri kontroliranim uvjetima, kao što su sastav otapala, regulacija temperature, postizanje zasićenja, brzina miješanja i slično.¹⁷

2.8. SFERIČNA KRISTALIZACIJA

Sferična kristalizacija nova je tehnika dizajna čestica koja omogućuje odvijanje kristalizacije i aglomeracije u jednom koraku, kako bi se dobili fini kristali direktno u sferičnom obliku. Time bi se skratilo vrijeme proizvodnje lijekova u obliku tableta kao i smanjenje cijene koštanja. Optimizirani proces sferične kristalizacije može se koristiti i kao atraktivan pristup tzv. direktnom tabletiranju. Konačna doza lijeka u obliku tablete pripremljena ovom tehnikom pokazuje značajna poboljšanja vezana uz čvrstoću, profil raspada, stupanj otapanja, mogućnost mrvljenja, u odnosu na tablete dobivene procesom granuliranja.

Glavni parametri koji imaju utjecaj u procesu sferične aglomeracije su: odabir sustava otapala, količina i vrsta sredstva za kvašenje odnosno premošćivanje, prisutnost aditiva, veličina čestica, topljivost, vrijeme zadržavanja, stupanj miješanja i temperatura. Ovi parametri ne samo da imaju utjecaj na produktivnost samog procesa, već i na mikrometerska svojstva kao što su raspodjela veličina čestica, morfologija i čvrstoća produkta.¹⁷ Omjeri potrebnih količina otapala u smjesi određuju se iz ravnotežnog trokutnog dijagrama.¹⁸



Slika 2. Primjer trokutnog dijagrama¹⁹

Tehnika sferične kristalizacije može se primijeniti na veliki broj lijekova i kemikalija. Osim što omogućuje provođenje nekoliko procesa (sinteza, kristalizacija, separacija, aglomeracija) u jednom koraku, također postoji i mogućnost promjene kristalne forme u željeni polimorfni oblik kako bi se pripremili novi kompleksi lijeka tijekom procesa kristalizacije, te kako bi se postigla bolja bioraspoloživost.¹⁸

Naravno, za proizvodnju sferičnih aglomerata mogu se koristiti i tradicionalne metode kristalizacije (isoljavanje, kristalizacija hlađenjem, kristalizacija iz otopine). Tradicionalni proces kristalizacije odvija se kontroliranjem fizikalnih i kemijskih svojstava i možemo ga nazvati „netipičnim“ procesom sferične kristalizacije.²⁰

Tablica 1. U tablici su nabrojani prednosti i nedostaci procesa sferične kristalizacije:²⁰

PREDNOSTI	NEDOSTATCI
Unaprijeđena fizikalno-kemijska svojstva kristala	Težak odabir pogodnih otapala
Mogućnost više polimorfnih oblika kristala, bolja bioraspoloživost	Teška optimizacija procesnih parametara (temperatura, stupanj miješanja)
Omogućeno učinkovitije provođenje postupaka daljnje obrade (separacija, filtracija, sušenje)	
Moguća priprema mikrospužvi, mikrosfera, nanočestica i mikropeleta, kao sustava za dostavu lijeka	
Može se koristiti za maskiranje gorkog okusa lijeka	

2.8.1. Sustav otapala

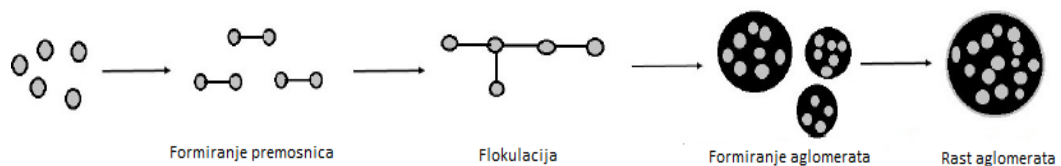
Polarnost otapala te interakcije koje ostvaruje sa hidrofobnim fazama rastućih kristala ima značajan utjecaj na oblik, nepravilnost površine te obilnost nastalih aglomerata kristala.

U procesu sferične aglomeracije koriste se tri vrste otapala:

1. Idealno otapalo za lijek
2. Antiotapalo
3. Sredstvo za premošćivanje

Sredstvo za premošćivanje dodaje se kako bi se potaknulo stvaranje aglomerata, dakle ono ne samo da ima svojstvo kvašenja već i potiče proces aglomeracije. Ovo otapalo ne smije biti mješljivo s antiotapalom. Odabir pogodnih sustava otapala provodi se metodom pokušaja i pogreške.¹⁷

Količina sredstva za premošćivanje kritičan je faktor u metodi sferične kristalizacije. Postoje neke studije o povećanju veličine aglomerata povećanjem količine sredstva za premošćivanje. Općenito, povećanje količine premosne tekućine dovodi do povećanja u veličini aglomerata.



Slika 3. Mehanizam formiranja aglomerata u procesu sferične aglomeracije¹⁷

2.8.2. Prisutnost aditiva

Prisutnost aditiva kao što su polimerni materijali i površinski aktivne tvari može utjecati na proces aglomeracije molekula tijekom kristalizacije. Viskoznost i površinska napetost medija smanjuje se dodatkom površinski aktivnih tvari što utječe na proces nukleacije. Prisutnost aditiva u procesu sferične aglomeracije može smanjiti vrijeme trajanja procesa, kao i unaprijediti mikrometarska svojstva lijeka.¹⁷

Proces kristalizacije inhibira se dodatkom nekih polimera kao što su: metilceluloza, hidroksipropil metil celuloza (HPMC) i polivinil pirodilin (PVP). PVP je najučinkovitiji u inhibiranju kristalizacije.¹⁷

2.8.3. Glavni koraci u postupku aglomeracije

Aglomeracija se odvija u 4 zone: zona flokulacije, nulta zona rasta, zona brzog rasta i zona konstantne veličine.²¹

1. Zona flokulacije

Sredstvo za premošćivanje adsorbira se na površinu kristala, te povezuje čestice stvarajući premosnicu između njih.

2. Nulta zona rasta

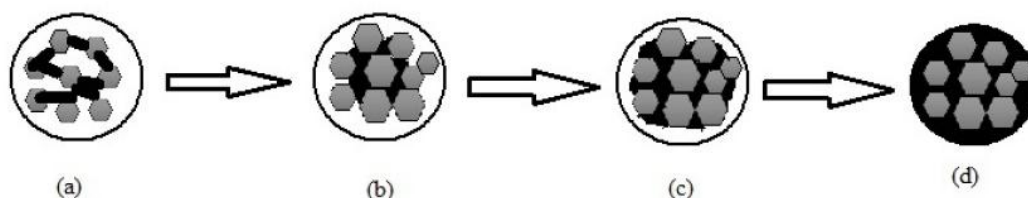
U ovoj fazi, flokule se prevode u čvrsto stegnute kuglice. Tekućina je istisnuta na površinu malenih flokula. Pokretačka sila koja je potrebna da bi se odvale takve pretvorbe jest miješanje suspenzije, te međusobni sudari kuglica-kuglica i kuglica-miješalo. Ograničavajući korak u procesu rasta aglomerata događa se u nultoj zoni rasta, kada je tekućina za premošćivanje istisnuta iz pora, te se početne flokule transformiraju u malene aglomerate.

3. Zona brzog rasta

Kada se tekućina za premošćivanje istisne sa površine malenih aglomerata, nastupa zona brzog rasta. Koalescencija je proces u kojem se formiraju velike čestice zahvaljujući slučajnim sudarima između formiranih nukleusa. Za uspješno odvijanje sudara, potreban je višak vlage na površini nukleusa.

4. Zona konstantne veličine čestica

Ova zona obuhvaća zaustavljanje rasta aglomerata. U ovoj zoni može biti prisutno i malo smanjivanje veličine aglomerata zahvaljujući trošenju, lomu i mrvljenju.



Slika 4. 4 koraka aglomeracije: a) zona flokulacije, b) nulta zona rasta, c) zona brzog rasta, d) zona konstantne veličine¹⁷

2.9. KARAKTERIZACIJA DOBIVENIH KRISTALA

Karakterizacija dobivenih sferičnih kristala, odnosno raspodjela veličina kristala, oblik dobivenih čestica ili topografija površine može se provesti pomoću nekoliko metoda.²

1. Različite metode određivanja raspodjele veličina kristala

Npr. Metoda laserske difrakcije, granulometrijska (sitena) analiza, aerodinamičke analize veličine čestica, sedimentacija itd.

2. Optička mikroskopija

Određivanje oblika kristala promatranjem kristala pri uvećanjima 10x, 45x, 60x itd.

3. Pretražna elektronska mikroskopija (SEM)

Metodom je moguće određivanje topografije površine i vrste kristala (polimorfni oblik i kristalna svojstva).

4. Rendgenska difrakcija (difrakcija X-zraka)

Analitička metoda za određivanje kemijskog sastava i kristalografskih karakteristika.

5. Spektroskopija u infracrvenom području (FTIR)

FTIR spektroskopija je metoda kojom je moguće određivati kemijski sastav, strukturu i konformacije tvari.

6. Diferencijalna pretražna kalorimetrija (DSC)

DSC je toplinska metoda koja se koristi za određivanje temperatura i toplinskih tokova u vezi s faznim i ostalim prijelazima u materijalima, u ovisnosti o vremenu i temperaturi.

7. Tankoslojna kromatografija (TLC)

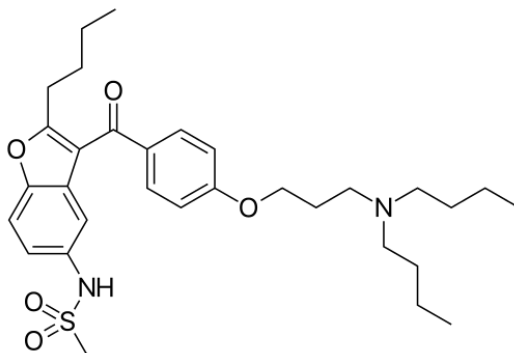
Metodom je moguće određivanje interakcija između lijeka i polimera, kao i određivanje stabilnost lijeka u različitim otapalima.

2.10. DRONEDARON HIDROKLORID

Dronedaron hidroklorid aktivna je komponenta lijeka koji se koristi za liječenje srčane aritmije. Uglavnom se koristi za liječenje atrijskih fibrilacija i atrijskih vibracija, odnosno bliskih vrsta srčane aritmije. Dronedaron je derivat benzofurana i kemijski je N-(2-butil-3-(4-(3-(dibutilamino)propoksi)benzoi)-5-benzofuranil)-metansulfonamid.

Dronedaron hidroklorid je bijela nehigroskopska tvar koja se nalazi u obliku finog praha. Praktički je netopljiv u vodi, slabo topljiv u acetonitrilu, topljiv u etanolu, a potpuno topljiv u metanolu, metilen kloridu te dimetil sulfoksidu.

Poznata je samo jedna kristalna forma, ne pokazuje izomerizam te nema kiralni centar.



Slika 5. Struktura dronedaron hidroklorida

Dronedaron se preporuča kao alternativa lijeku amiodaronu, za liječenje atrijskih fibrilacija i atrijskih vibracija u slučajevima gdje srce zahtijeva terapiju lijekovima ili električnim šokovima, kako bi se održao normalan ritam i rad srca. Dronedaron je znatno sigurniji i učinkovitiji u usporedbi sa ostalim lijekovima za liječenje aritmije srca.²²

3. EKSPERIMENTALNI DIO

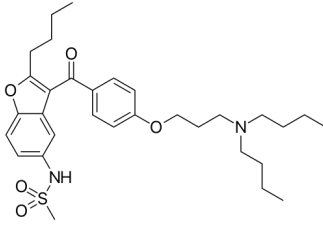
3.1. SVRHA ISTRAŽIVANJA

U radu je napravljeno osnovno pretraživanje sustava (odabir otapala, antiotapala te načina provedbe kristalizacije) za provedbu prekrystalizacije. Istraživan je utjecaj različitih dodataka (otapala, smjese otapala te cjepiva) na granulometrijske karakteristike (raspodjela veličina kristala i oblik) dobivenih kristala dronedaron hidroklorida. Također je ispitan utjecaj otapala na unutarnju strukturu kristala te utjecaj procesnih uvjeta na iskorištenje procesa.

3.2. MATERIJAL

Sol koja je korištena za provedbu eksperimenata je dronedaron hidroklorid. Topljivost dronedaron hidroklorida ispitana je u acetonitrilu, etanolu, acetonu i izopropilenu u svrhu odabira najpogodnijeg otapala za dobivanje kristala. Potrebni podaci o prethodno navedenim kemikalijama dani su u tablicama.





Tablica 2. Podaci o korištenoj soli

Sol	Dronedaron hidroklorid
Molekulska formula	$C_{31}H_{44}N_2O_5S \times HCl$
Strukturna formula	
Molarna masa, g/mol	593,22
Gustoća, g/cm ³	1,143
Točka otapanja, °C	141-143

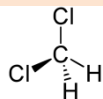
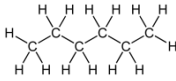
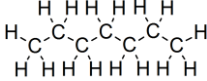
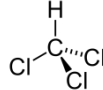




Tablica 3. Topljivost soli u pojedinim otapalima

Otapalo	Potpuna topljivost	Dobra topljivost	Djelomična topljivost	Netopljivo
Metanol	+	-	-	-
Diklormetan	+	-	-	-
Dimetil sulfoksid	+	-	-	-
Tetrahidrofuran	+	-	-	-
Etanol	-	+	-	-
Acetonitril	-	-	+	-
Voda	-	-	-	+
Cikloheksan	-	-	-	+
Diizopropil eter	-	-	-	+
Heptan	-	-	-	+

Tablica 4. Podaci o korištenim otapalima kao medijima za postizanje prezasićenosti

Otapalo	Acetonitril	Etanol	Aceton	Izopropilen
Molekulska formula	C_2H_3N	C_2H_5OH	C_3H_6O	C_3H_8O
Strukturna formula	$\begin{array}{c} H \\ \\ H-C-C \equiv N \\ \\ H \end{array}$	$\begin{array}{c} H & H \\ & \\ H-C & -C-OH \\ & \\ H & H \end{array}$	$\begin{array}{c} O \\ \\ H_3C-C-CH_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} OH \\ \\ \text{---} \end{array}$
Molarna masa, g/mol	41,05	46,07	58,08	60,10
Gustoća, g/cm ³	0,786	0,789	0,785	0,786
Temperatura vrelišta, °C	82,1	78	56,05	82,6
Piktogrami opasnosti				

Tablica 5. Podaci o korištenim otapalima kao sredstvima za premošćivanje

Otapalo	Diklormetan	Heksan	Heptan	Kloroform
Molekulska formula	CH ₂ Cl ₂	C ₆ H ₁₄	C ₇ H ₁₆	CHCl ₃
Strukturna formula				
Molarna masa, g/mol	84,93	86,18	100,21	119,37
Gustoća, g/cm³	1,3266	0,6548	0,6795	1,489
Temperatura vrelišta, °C	39,6	69,1	98,7	61,15
Piktogrami opasnosti				

3.3. APARATURA ZA PROVEDBU EKSPERIMENATA

Aparatura koja je korištena za provedbu eksperimenata je:

- Uređaj za provedbu kristalizacije hlađenjem
- Isparivač

Aparatura (*slika 6.*) se sastoji od miješalice s motorom, kristalizatora te termostata *Julabo CF41* pomoću kojeg se regulira temperatura unutar kristalizatora. Miješalica ima digitalni prikaz brzine vrtnje miješala te miješalo s četiri ravne lopatice nagnute pod kutom od 45° . Za kristalizaciju korišten je kristalizator Rushtonovih dimenzija s dvostrukom stjenkom.



Slika 6. Uređaj za provedbu kristalizacije hlađenjem



Slika 7. Rotacijski isparivač

3.3.1. Određivanje topljivosti

Ispitivanja topljivosti soli u različitim otapalima, te određivanje krivulje topljivosti i krivulje prezasićenosti odrađena su u Pliva Hrvatska d.o.o. na uređaju *Crystal 16*[®] (*slika 8.*).

Crystal 16[®] je uređaj koji turbidimetrijskom metodom određuje širinu metastabilne zone. Sastoji se od četiri neovisno grijana bloka reaktora pomoću kojih se može izvoditi 16 paralelnih eksperimenata u malim volumenima s turbidimetrijskim mjerenjima u realnom vremenu. Dobiveni se podaci računalnim programom *CrystalClear* određenim algoritmima pretvaraju u smislene i grafički vizualne podatke.



Slika 8. Uređaj *Crystal 16*[®]

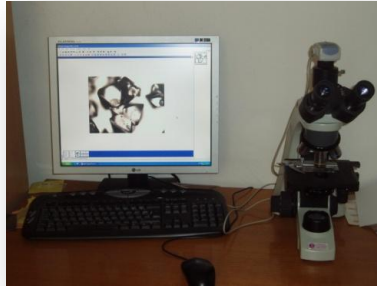
3.3.2. Određivanje koncentracije

Koncentracija otopine određivana je gravimetrijskom metodom pomoću igle za uzorkovanje koja je uronjena u otopinu kroz otvor na kristalizatoru tijekom procesa kristalizacije. Gravimetrijska metoda sastoji se od uzorkovanja profiltrirane otopine direktno iz kristalizatora za vrijeme provedbe kristalizacije, u definiranim vremenskim intervalima. Uzorci su vagani na analitičkoj vagi, sušeni u sušioniku do konačne mase, te ponovno vagani. Koncentracija otopine određena je iz razlike masa.

3.3.3. Instrumenti za karakterizaciju materijala

Određivanje oblika i veličine kristala

Svjetlosnim mikroskopom *MoticBA200* (*slika 9.*) praćen je i određivan oblik i veličina kristala tijekom provođenja eksperimenata, kao i oblik suhih kristala nakon separacije, odnosno filtracije i sušenja.



Slika 9. Svjetlosni mikroskop *MoticBA200*

Određivanje topografije površine kristala

Pretražnim elektronskim mikroskopom *Tescan Vega III Easyprobe* (*slika 10.*) određena je topografija površine suhih kristala.



Slika 10. Pretražni elektronski mikroskop *Tescan Vega III Easyprob*

Određivanje raspodjele veličina čestica

Metodom laserske difrakcije određena je raspodjela veličina čestica, pomoću čestičnog analizatora *Shimadzu sald 310b* (*slika 11.*).



Slika 11. Čestični analizator *Shimadzu sald 3101*

Određivanje strukture kristala

Struktura kristala određena je rendgenskom analizom pomoću XRD uređaja *Shimadzu XRD-6300* (*slika 12.*). XRD uređaj se u prvom redu koristi za određivanje kristalne strukture materijala te kvalitativnu i kvantitativnu analizu. Pri ozračivanju materijala rendgenskim zračenjem dolazi do difrakcije rendgenskih zraka koja ovisi o veličini i orijentaciji kristala odnosno strukturi. Uređaj je osjetljiv pa stoga moraju biti strogo definirani uvjeti rada.



Slika 12. Uređaj za rendgensku difrakciju praha *Shimadzu XRD-630*

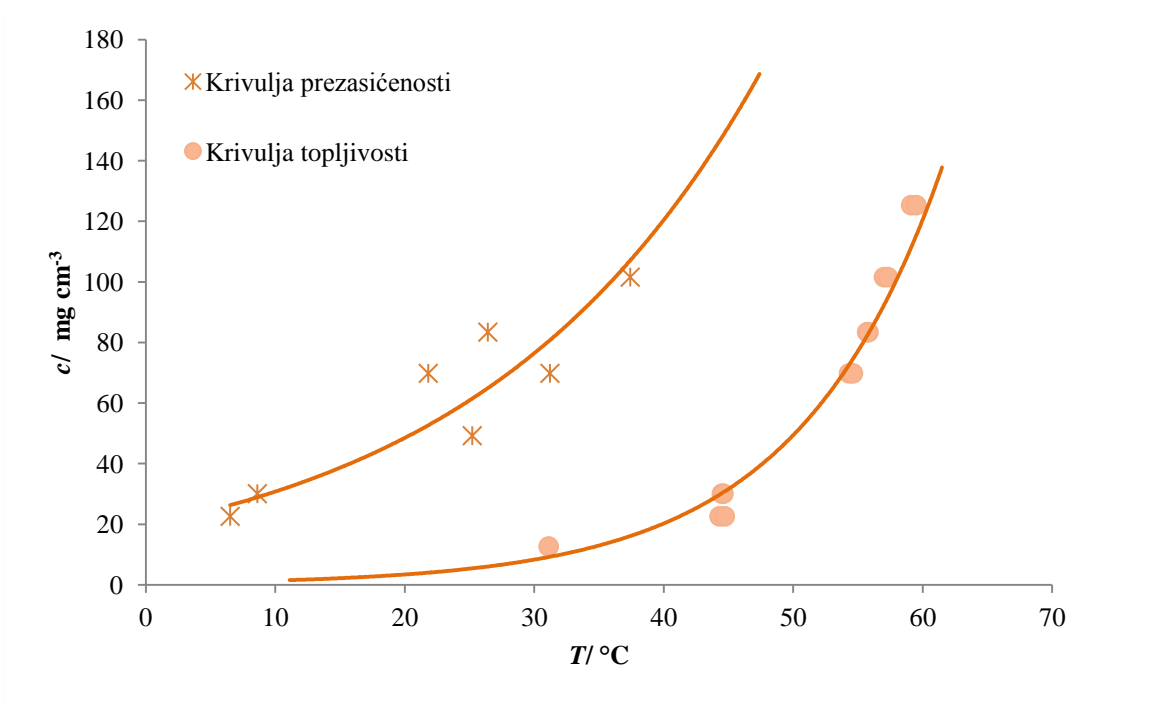
4. REZULTATI

4.1. PRELIMINARNA ISTRAŽIVANJA

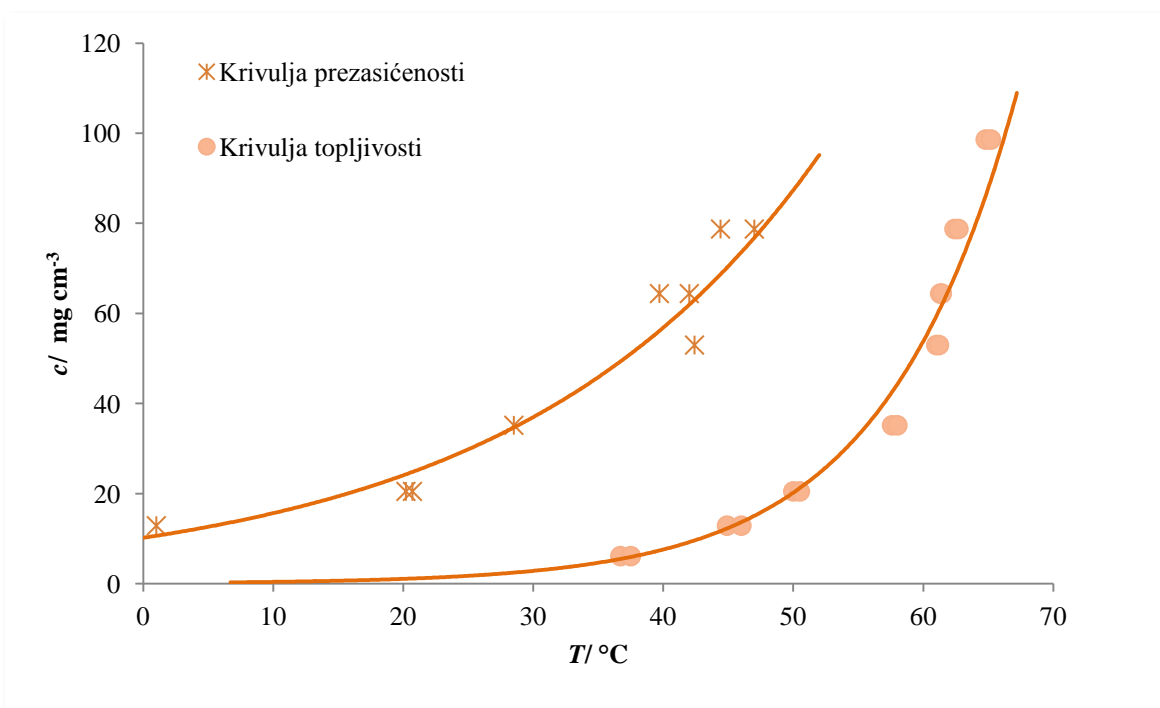
U ovom dijelu izneseni su rezultati temeljnih istraživanja:

- Određivanje krivulja topljivosti
- Ispitivanje sustava- traženje otapala

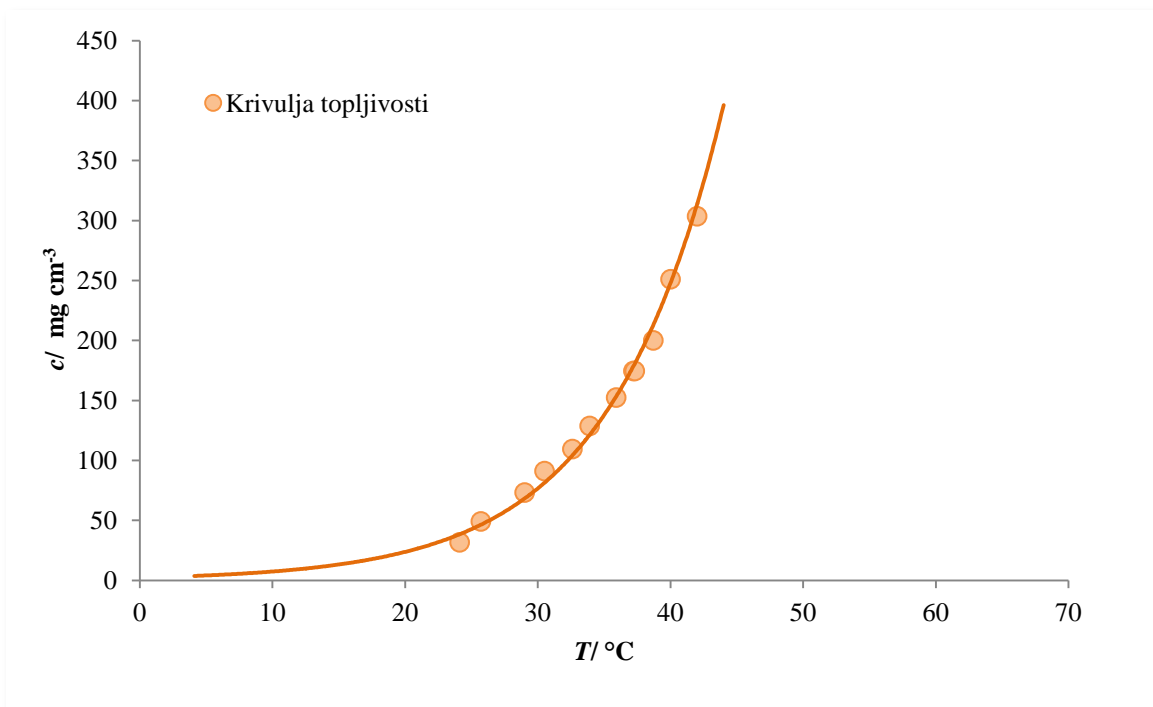
4.1.1. Određivanje krivulja topljivosti



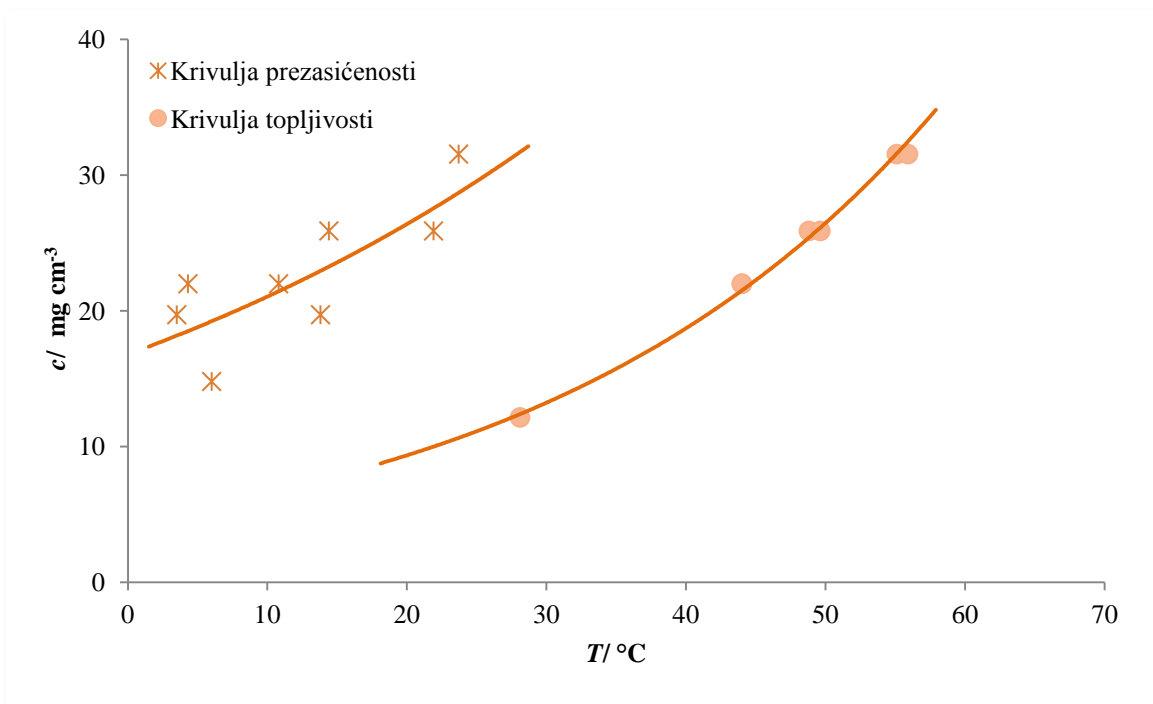
Slika 13. Krivulje topljivosti i prezasićenosti u acetonitrilu



Slika 14. Krivulje topljivosti i prezasićenosti u izopropanolu



Slika 15. Krivulja topljivosti u etanolu



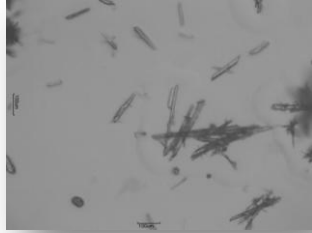
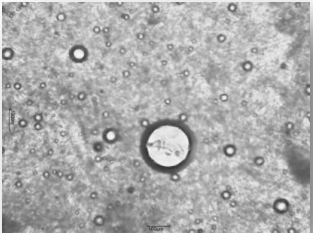
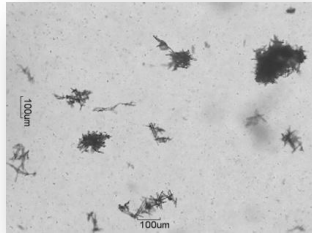
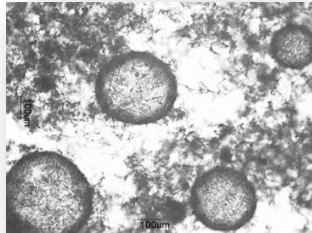
Slika 16. Krivulje topljivosti i prezasićenosti u acetonu

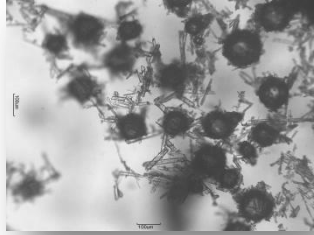
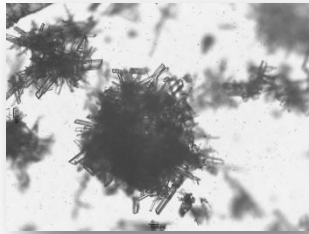

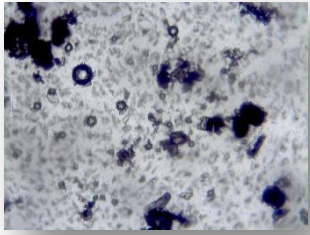

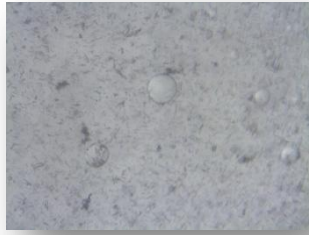

4.1.2. Ispitivanje sustava i traženje pogodnih otapala

Kao što je ranije navedeno, izbor sustava pogodnih otapala provodi se pomoću metode pokušaja i pogreške. Prvi korak u provođenju ovog istraživanja bio je odabir pogodnih sustava otapala. Cilj je bio dobiti sferične aglomerate kristala koji će biti povezani dodatkom trećeg otapala, odnosno sredstva za premošćivanje. Da bi se mogli provesti eksperimenti sa različitim otapalima, određene su krivulje topljivosti u otapalima.

Neki od sustava, te preliminarni rezultati dobiveni ispitivanjem prikazani su u **tablici 6**.

Tablica 6. Slike dobivenih kristala prilikom traženja sustava otapala (uvećanje 100x)

<p>1.</p> <p>Izopropanol – topljivost DHK pri 63°C + dodatak vode i diklormetana</p>	
<p>2.</p> <p>Etanol – topljivost DHK pri 40°C + dodatak vode</p> <p>a) + kloroform b) + diklormetan c) + heksan</p>	<p>a</p>  <p>b</p>  <p>c</p> 

<p>3.</p> <p>Etanol – topljivost DHK pri 40°C + dodatak vode i acetona</p> <p>Nakon isparavanja – dodatak diklormetana</p>	
<p>4.</p> <p>Acetonitril – topljivost DHK pri 55°C + dodatak vode i diklormetana</p>	
<p>5.</p> <p>Acetonitril – topljivost DHK pri 55°C + dodatak vode i diklormetana + cjevivo</p> <p>Nakon isparavanja: d) +kloroform e) +heksan f) +heptan</p>	 <p>d</p>
<p>e</p>  	<p>f</p>  

4.2. ODABRANI SUSTAVI

4.2.1. Acetonitril

Tablica 7. Procesni uvjeti za sustave sa acetonitrilom

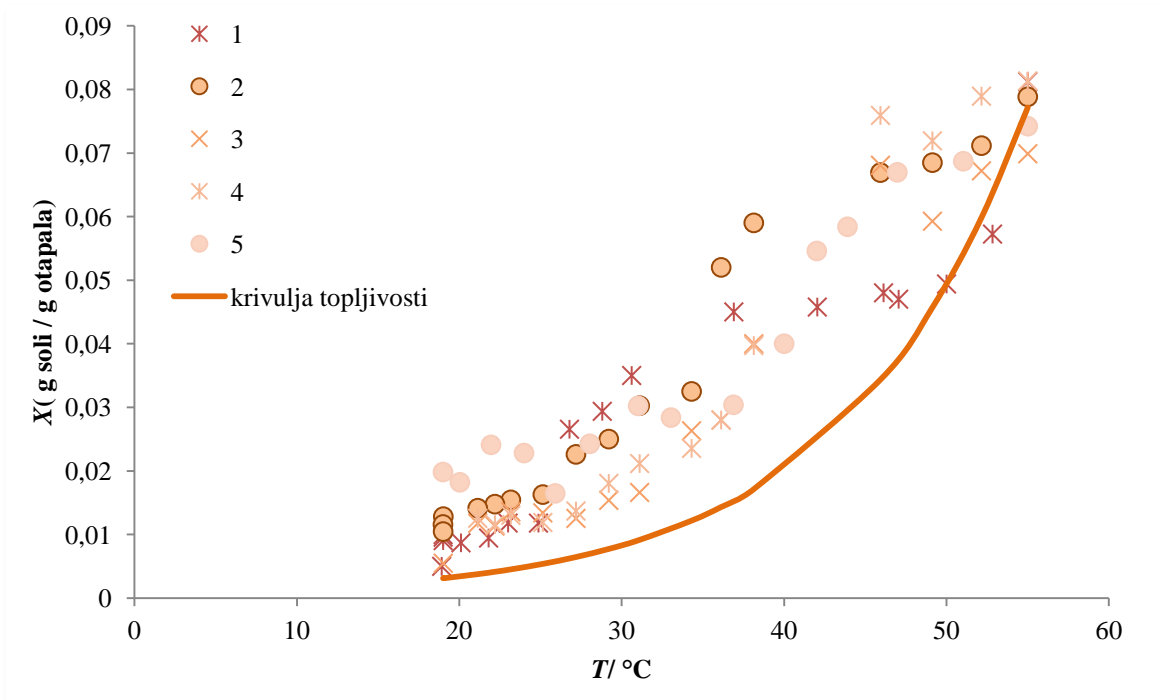
Broj eksperimenta	Dodatak	$V_{\text{otapalo}} / \text{cm}^3$	$V_{\text{dodanog otapala}} / \text{cm}^3$	$m_{\text{soli}} / \text{g}$	$T_{\text{početak}} / ^\circ\text{C}$	$BH / ^\circ\text{C h}^{-1}$	$m_{\text{cjepivo}} / \text{g}$	$T_{\text{dodatak cjepivo}} / ^\circ\text{C}$
1	/	100	/	7,72	55	12	/	/
2	cjepivo	100	/	7,72	55	12	0,30	37
3	cjepivo+heptan	70	10	5,40	55	12	0,21	41
4	cjepivo+heksan	70	10	5,40	55	12	0,21	41
5	cjepivo+kloroform	70	10	5,40	55	12	0,21	45

4.2.2. Etanol

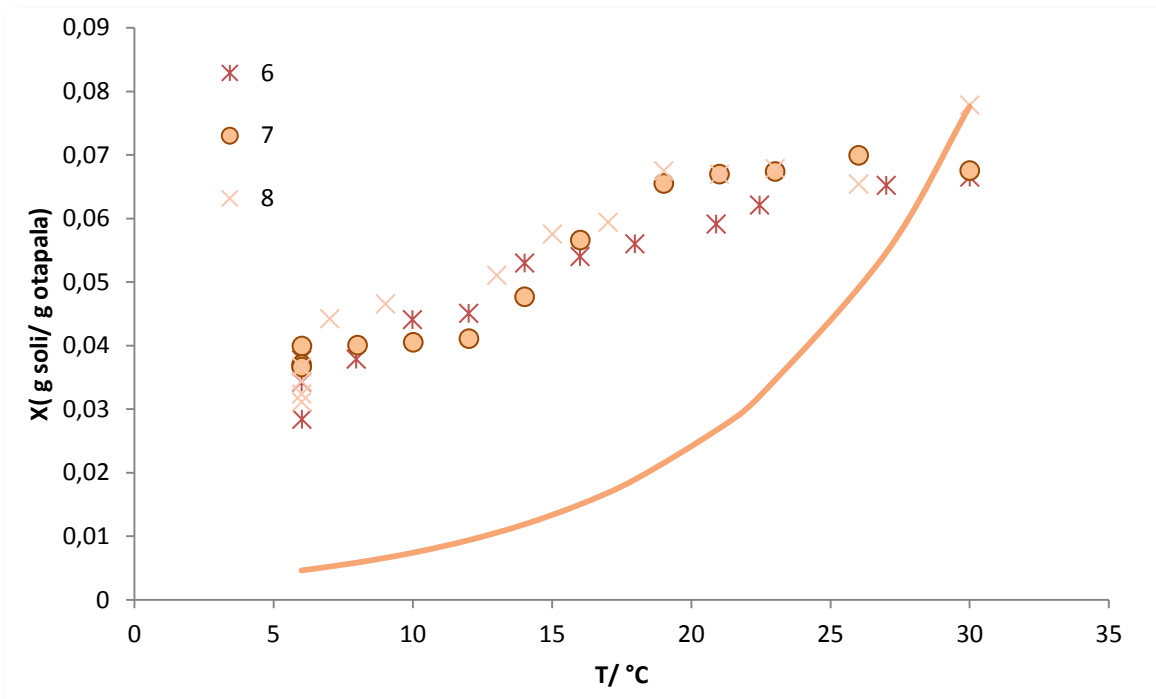
Tablica 8. Procesni uvjeti za sustave s etanolom

Broj eksperimenta	Dodatak	$V_{\text{otapalo}} / \text{cm}^3$	$V_{\text{dodanog otapala}} / \text{cm}^3$	$m_{\text{soli}} / \text{g}$	$T_{\text{početak}} / ^\circ\text{C}$	$BH / ^\circ\text{C h}^{-1}$	$m_{\text{cjepivo}} / \text{g}$	$T_{\text{dodatak cjepivo}} / ^\circ\text{C}$
6	cjepivo	70	/	5,37	30	12	0,22	17
7	cjepivo+heksan	70	10	5,37	30	12	0,22	17
8	cjepivo+heptan	70	10	5,37	30	12	0,22	17

4.2.3. Određivanje koncentracije otopine tijekom eksperimenta

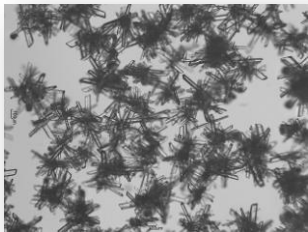
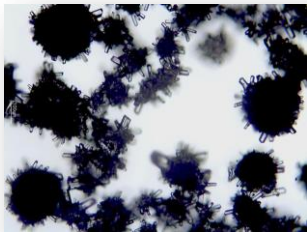
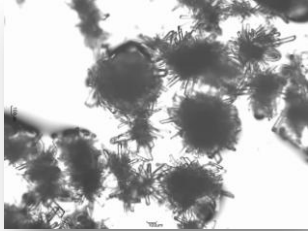
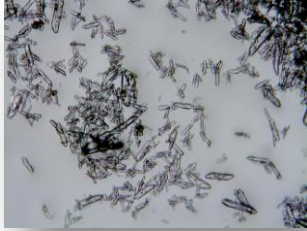
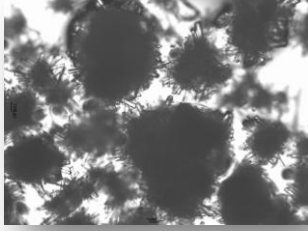

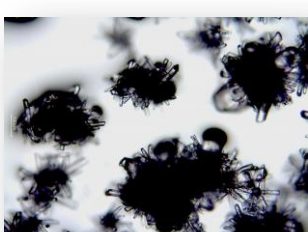



Slika 17. Promjena koncentracije otopine za različite eksperimente (tablica 7.) za acetonitril

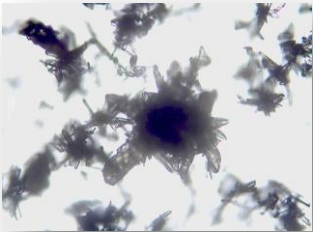
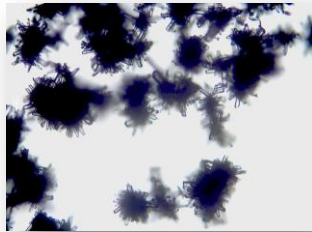
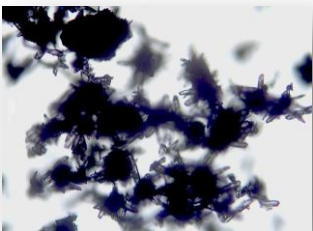
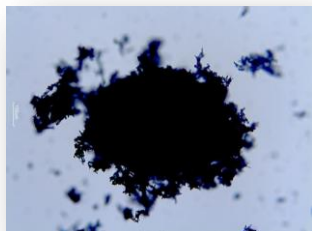
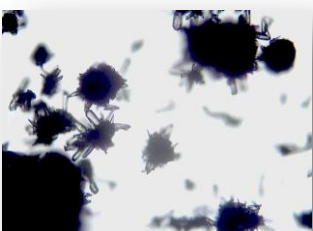
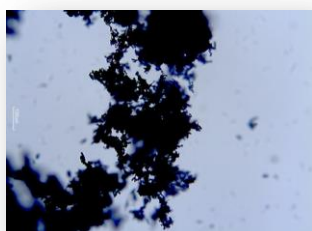
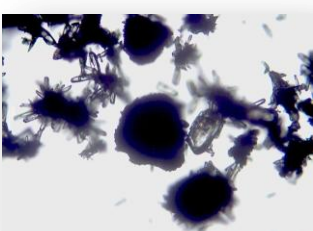
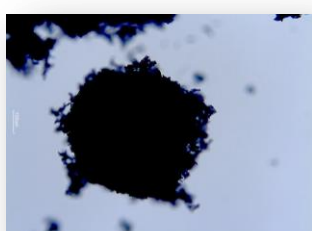


Slika 18. Promjena koncentracije otopine za različite eksperimente (tablica 8.) za etanol

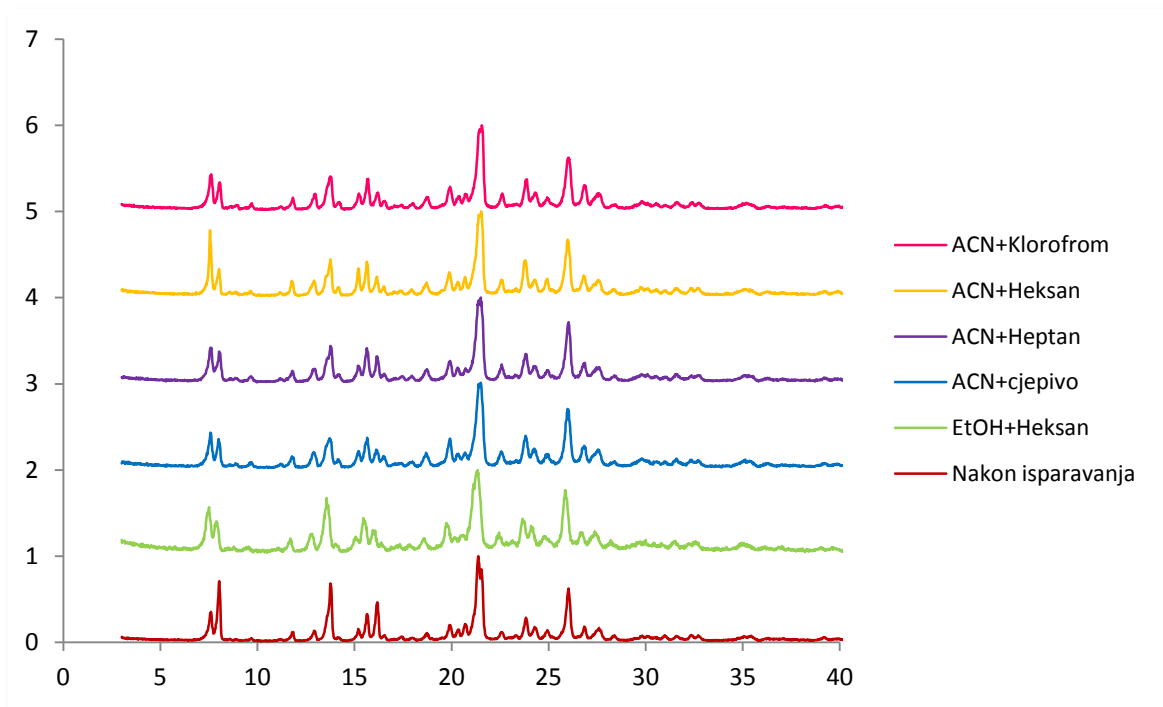
Tablica 9. Slike kristala na kraju procesa kristalizacije (uvećanje 100x)

1		5	
2		6	
3		7	
4		8	

Tablica 10. Slike suhih kristala (uvećanje 100x)

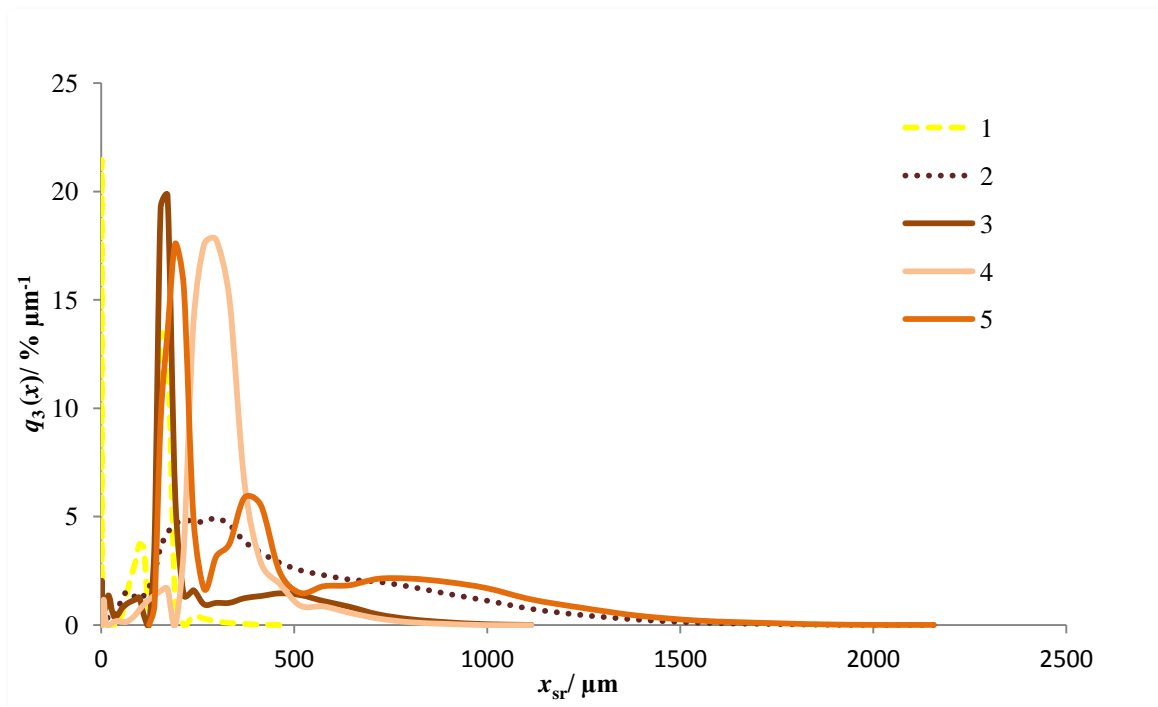
<p>1</p> 	<p>5</p> 
<p>2</p> 	<p>6</p> 
<p>3</p> 	<p>7</p> 
<p>4</p> 	<p>8</p> 

4.3. REZULTATI XRD ANALIZE

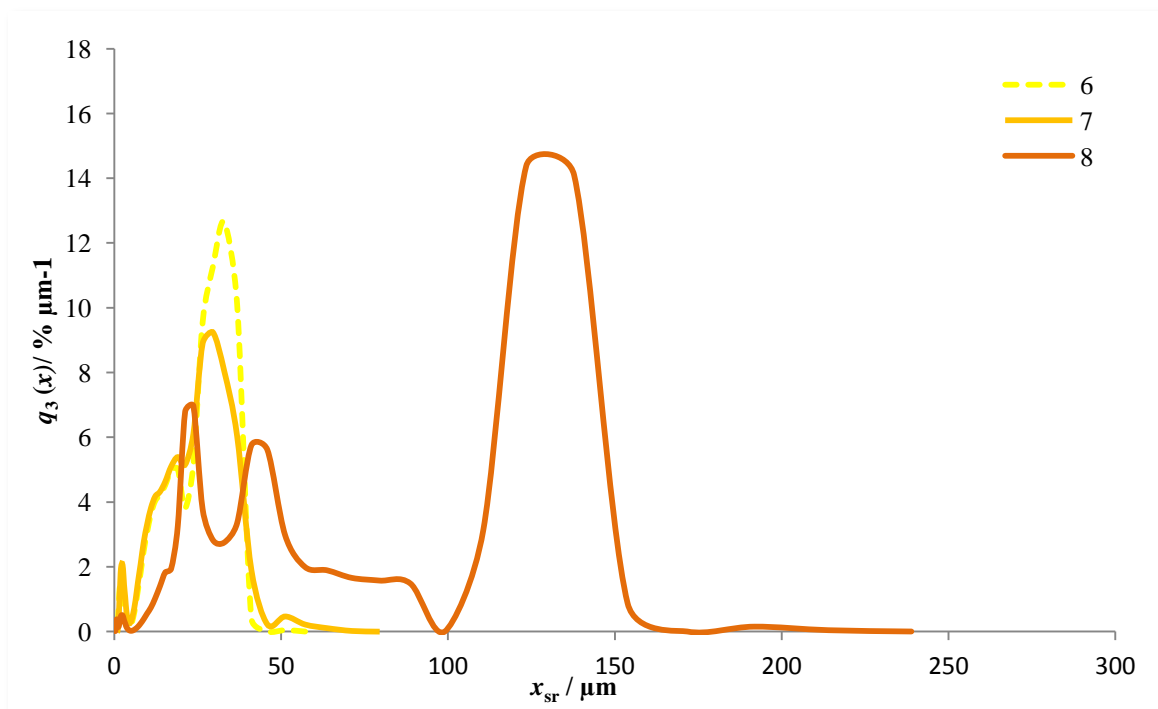


Slika 19. Prikaz rezultata XRD analize za različite uzorke

4.4. RASPODJELA VELIČINA KRISTALA



Slika 20. Funkcija gustoće raspodjele kristala za sustave s acetonitrilom



Slika 21. Funkcija gustoće raspodjele kristala za sustave s etanolom

4.5. ISKORIŠTENJE PROCESA

Tablica 11. Iskorištenje procesa za odabrane sustave

Broj eksperimenta	Iskorištenje, %
1	74,31
2	86,41
3	92,87
4	83,77
5	74,34
6	57,99
7	52,54
8	58,46

5. RASPRAVA

Kako bi se odabrala otapala pogodna za prekrystalizaciju dronedaron hidroklorida, prvi korak pri provođenju istraživanja bio je ispitivanje topljivosti soli u određenim otapalima. Na uređaju *Crystall 16*, određene su krivulje topljivosti i prezasićenosti dronedaron hidroklorida za sljedeća otapala: acetonitril, izopropanol, etanol i aceton. Krivulje su prikazane na **slikama 13.-16.** Može se uočiti da se topljivosti znatno razlikuju ovisno o odabranom otapalu. Budući da vrijednosti topljivosti u acetonitrilu i izopropanolu nisu previsoke (do 160 g/cm^3 pri $T=60^\circ\text{C}$ – acetonitril, odnosno do 100 g/cm^3 pri $T=65^\circ\text{C}$ – izopropanol) prekrystalizacija dronedaron hidroklorida u čistim otapalima je moguća. Najveća topljivost dronedaron hidroklorida je u etanolu. Kako je dronedaron hidroklorid izrazito topljiv u ovom otapalu (iznad 310 mg/cm^3) krivulja prezasićenosti nije detektirana. Zbog toga je ovo otapalo moguće koristiti samo u smjesi otapala. U tom slučaju, nužno je da sol nije topljiva ili je topljiva vrlo malo u drugom otapalu. Zbog toga je krystalizacija s etanolom ispitana u smjesi sa vodom, koje je antiotapalo u ovom slučaju, odnosno s acetonom u kojem je sol vrlo malo topljiva (**slika 16.**). Širina metastabilne zone za tri otapala za koja je krivulja prezasićenosti određena, kreću se u rasponu $17\text{-}25^\circ\text{C}$. Širina metastabilne zone povećava se smanjenjem topljivosti soli u otapalu.

Kako bi se postigli optimalni uvjeti za provedbu krystalizacije hlađenjem i dodavanjem antiotapala te dobro iskorištenje procesa, potrebno je bilo odabrati sustave sa malom topljivošću na niskim temperaturama, strmu krivulju topljivosti te dovoljnu širinu metastabilne zone. Stoga je u sljedećem koraku provedena krystalizacija pri različitim procesnim uvjetima te sa različitim otapalima, odnosno smjesama otapala.

Slijede rezultati koji prikazuju promjenu oblika kristala tijekom ispitivanja sustava otapala za provedbu krystalizacije i sferične aglomeracije, a dobiveni su metodom pokušaja i pogreške.

U **tablici 6.** prikazani su neki od rezultata pretraživanja sustava za koje je karakteristična upotreba smjese otapala. Smjesa otapala sastoji se otapala (izopropanol, etanol ili acetonitril), antiotapala (voda) te dodane kapljevine koja se ne miješa sa antiotapalom, a u kojem se sol ne otapa (kloroform, heksan ili heptan). U sustavu s izopropanolom i vodom (**tablica 6.1.**) dobiveni su igličasti aglomerati. Igličasti oblik kristala smatra se nepovoljnim zbog procesa koji slijede proces krystalizacije.

U sustavu etanol, voda i kloroform (**tablica 6.2.a**) dobivena je ljepljiva otopina iz koje se teško izdvajaju kristali. Uz dodatak diklormetana (**tablica 6.2.b**) dobiveni su sitni

aglomerati nepravilnog oblika, dok je dobivena otopina bila mutna. Uz dodatak heksana (*tablica_6* - 2.c) vidljive su sferične kapljice otapala u koje se hvataju kristali soli, međutim sferičan oblik kristala se ne zadržava nakon sušenja. U sustavu etanol, voda i aceton (*tablica 6.3.*) nakon hlađenja i dodatka cjepiva nije došlo do kristalizacije, iako je topljivost DHK u acetonu odnosno vodi gotovo zanemariva. Može se pretpostaviti da je proces isoljavanja u ovom slučaju, termodinamički nepovoljan. Nakon isparavanja lakše hlapivih otapala (aceton i etanol) u rotacijskom isparivaču zaostaje prezasićena otopina vode iz koje se iskristalizirao dronedaron hidroklorid. Uz dodatak diklormetana dolazi do formiranja kapljica otapala i nastanka sferičnih kristala unutar kapljica, prekomjerni dodatak otapala raspršio je i otopio kristale. Naime, ovo organsko otapalo iako se ne miješa s vodom, otapa istraživanu sol. U sustavu acetonitril, voda i diklormetan (*tablica 6.4.*), dodatkom diklormetana dobiveni kristali skupljali su se unutar kapljica te stvarali sferične aglomerate. Zbog nastanka povoljnog oblika kristala, acetonitril je korišten za daljnje provođenje eksperimenata.

U istom sustavu otapala (acetonitril, voda, diklormetan) uz dodatka cjepiva (*tablica 6.5.*) nakon isparavanja istražen je utjecaj tri različita otapala (kloroform, heksan i heptan) na oblik nastalih kristala. Dodatak kloroforma (*5.d*) dobiveni su nepovoljni igličasti kristali. Dodatkom heptana (*5.f*) dolazi do formiranja emulzije sa sitnim kristalima, dok dodatak heksana (*5.e*) potiče stvaranje sferičnih aglomerata kristala promjera do 5 mm. Na slikama su prikazani rezultati odnosno dobiveni sferični oblici.

Tablice 7. i 8. prikazuju procesne uvjete za odabrane sustave, *tablica 7.* sa acetonitrilom te *tablica 8.* sa etanolom. Svi eksperimenti provedeni su u šaržnom kristalizadoru uz linearni profil hlađenja, a aditivi su mijenjani (cjepivo, heksan, heptan i kloroform). Broj okretaja miješala podešavan je kako bi se postigla potpuna suspenzija tijekom kristalizacije.

Na *slikama 17. i 18.* prikazana je promjena koncentracije otopine tijekom hlađenja za provedene eksperimente. Na *slici 17.* može se vidjeti da u procesu kristalizacije bez dodatka do nukleacije dolazi na višoj temperaturi kad dolazi do naglog pada koncentracije. U ovakvim uvjetima, brzina nukleacije je visoka te se stvara veliki broj centara nukleacije te se otopina brzo troši na njihov rast. U *tablici 9.* može se vidjeti da su nastali sitniji kristali nego u slučaju dodatka cjepiva. Krivulje promjene koncentracije, za sve eksperimente, imaju sličan trend i vidljivo je da su koncentracije otopine, na kraju procesa, vrlo blizu ravnotežnoj. Ovo je pokazatelj dobrog iskorištenja procesa koja se kreću od 74 do 93 % (*tablica 11.*). Može se reći

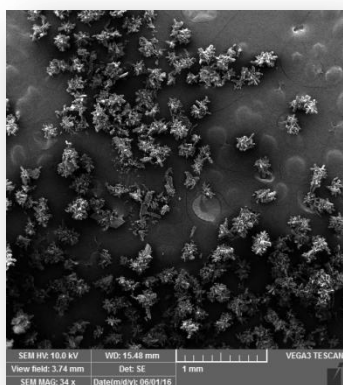
da dodatak cjepiva kao i dodatak heptana povećava iskorištenje. Budući je topljivost u etanolu vrlo visoka, početna zasićenost otopine pripremljena je za nižu temperaturu, a otopina je hlađena do 5 °C. Kako konačne koncentracije otopine nisu blizu ravnotežne, a iskorištenja postignuta u eksperimentima niska (ispod 60 %), može se zaključiti da etanol zbog visoke topljivosti dronedaron hidroklorida nije pogodno otapalo u procesu. Ponovno se dodatkom heptana povećava iskorištenje procesa.

U **tablici 9.** prikazane su slike dobivene na mikroskopu pri uvećanju 100x kristala iz otopine tijekom provedbe kristalizacije hlađenjem uz različite dodatke. Može se vidjeti da kristali dobiveni u acetonitrilu (eksperimenti 1.-5.) imaju veću sklonost aglomeriranju od kristala koji su dobiveni u etanolu (eksperimenti 6.-8.). Kristali dobiveni u etanolu pločastog su oblika, te se tek neznajčno aglomeriraju dodatkom sredstva za premošćivanje.

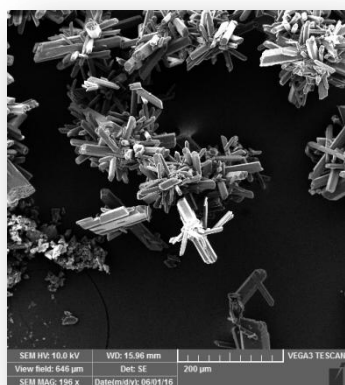
Tablica 10. prikazuje slike mikroskopa pri uvećanju 100x dobivenih kristala nakon sušenja. Iz slika se može vidjeti da su uglavnom svi uzorci nakon sušenja ostali u obliku sferičnih ili zvjezdastih nakupina. Tako su i kristali dobiveni iz etanola formirali sferične nakupine, međutim, pretraživanjem napravljenom na elektronskom mikroskopu vidljivo je da se radi o aglomeriranim nakupinama koje nisu čvršće povezane. Dokaz tomu su i dobivene raspodjele veličine kristala, prikazane na **slikama 20.** i **21.**, gdje se uočava velika razlika u veličini čestica dobivenim u jednom, odnosno drugom sustavu.

Na sljedećim slikama, u **tablici 12.** prikazane su fotografije dobivene na SEM-u, pri različitim uvećanjima. Vidljivo je da uzorci u acetonitrilu formiraju zvjezdaste pravilne nakupine štapičastih kristala koje su vjerojatno nastale tijekom rasta u otopini. Kristali dobiveni u etanolu ne stvaraju pravilne nakupine, nego se vjerojatno radi o nestabilnim aglomeratima.

Tablica 12. Prikaz slika dobivenih na SEM-u



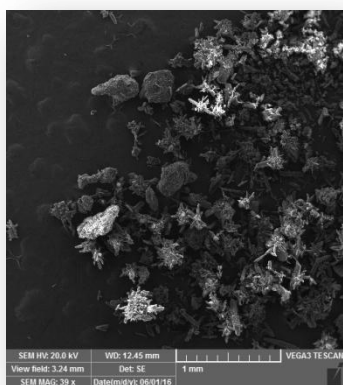
Uzorak s acetonitrilom i kloroformom, uvećanje 34x



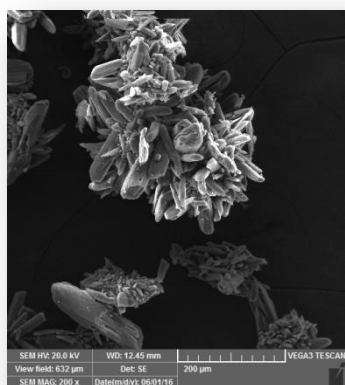
Uzorak s acetonitrilom i kloroformom, uvećanje 200x



Uzorak s acetonitrilom i kloroformom, uvećanje 500x



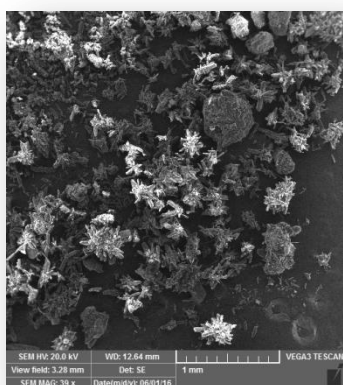
Uzorak s acetonitrilom i heptanom, uvećanje 39x



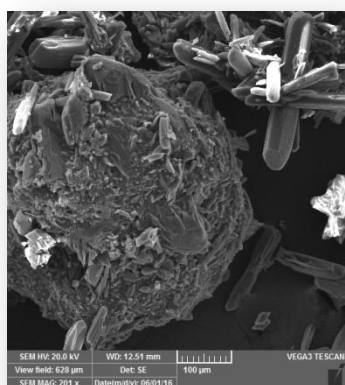
Uzorak s acetonitrilom i heptanom, uvećanje 200x



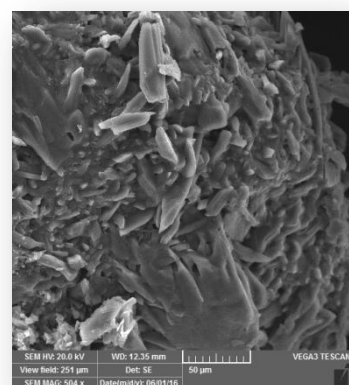
Uzorak s acetonitrilom i heptanom, uvećanje 500x



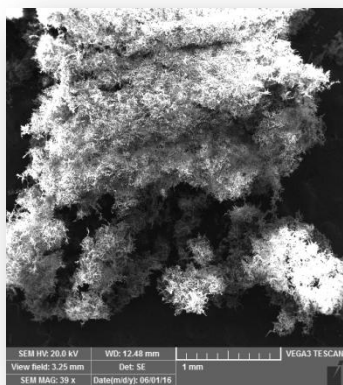
Uzorak s acetonitrilom i heksanom, uvećanje 39x



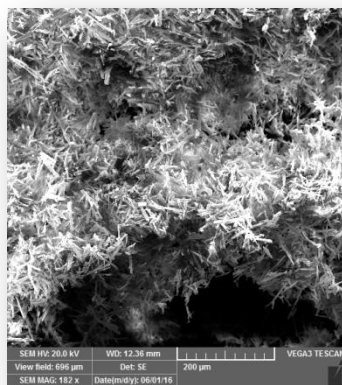
Uzorak s acetonitrilom i heksanom, uvećanje 200x



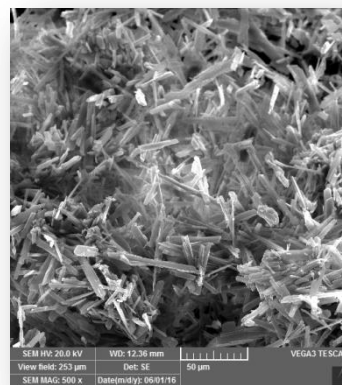
Uzorak s acetonitrilom i heksanom, uvećanje 500x



Uzorak s etanolom i
heksanom, uvećanje 39x



Uzorak s etanolom i
heksanom, uvećanje 182x



Uzorak s etanolom i
heksanom, uvećanje 500x

Na *slici 19*. prikazani su rezultati rendgenske difrakcije dobivenih kristala, kao i originalni uzorak koji je služio za prekrizaciju. Karakteristični pikovi za dronedaron hidroklorid se bez obzira na promjenu uvjeta provedbe kristalizacije te uz dodatak različitih otapala ne mijenjaju se. Može se zaključiti da dronedaron hidroklorid egzistira u jednom polimorfnom obliku.

Sve određene raspodjele veličine kristala su višemodalne, što može ukazivati na sekundarnu nukleaciju ili, budući da su kristali u primjenjivanim sustavima skloni formirati nakupine kristala, nastanak određenog udjela agregata. Kako je već spomenuto, vidljiva je razlika u veličini kristala dobivenih u acetonitrilu, odnosno etanolu. Kristali nastali kristalizacijom u etanolu puno su sitniji od onih u acetonitrilu, iako to nije vidljivo iz mikrograma prikazanih u *tablici 10*. Naime, prije određivanja raspodjele veličina čestica svi uzorci raspršeni su u vodi djelovanjem ultrazvuka u trajanju od 2 sata, uz dodatak 0,5 % površinski aktivne tvari *Tween 80*. Djelovanje ultrazvuka raspršilo je aglomerate (nastale stajanjem osušenih uzoraka), ali ne i agregate dobivene srastanjem kristala u acetonitrilu.

Iskorištenja kristala dobivena su iz početne i konačne koncentracije otopine dobivene gravimetrijskom metodom, a prikazana su u *tablici 11*. Bolje iskorištenje dobiva se prekrizacijom u acetonitrilu. Iskorištenje dobiveno korištenjem etanola znatno je manje zbog velike topljivosti dronedaron hidroklorida te kratkog zadržavanja u kristalizatoru. Najbolje iskorištenje dobiva se prekrizacijom u acetonitrilu uz dodatka heptana.

6. ZAKLJUČAK

U radu je ispitan utjecaj dodatka cjepiva i različitih otapala na granulometrijske karakteristike te strukturu nastalih kristala dronedaron hidroklorida.

Radi postizanja optimalnih uvjeta za provedbu kristalizacije te dobrog iskorištenja procesa, odabrani su sustavi sa malom topljivošću na niskim temperaturama i strmom krivuljom topljivosti (acetonitril, etanol i diklormetan).

U sustavu acetonitril, voda i diklormetan dodatkom diklormetana dobiveni kristali skupljali su se unutar kapljica te stvarali sferične aglomerate. Zbog nastanka povoljnog oblika kristala, acetonitril je korišten za daljnje provođenje eksperimenata.

U istom sustavu otapala (acetonitril, voda, diklormetan) uz dodataka cjepiva nakon isparavanja istražen je utjecaj tri različita otapala (kloroform, heksan i heptan) na oblik nastalih kristala. Uz dodatak heksana došlo je do stvaranja sferičnih aglomerata kristala promjera do 5 mm.

Nakon početnog ispitivanja različitih sustava, ovisno o uspješnosti kristalizacije, odabrana su dva osnovna otapala; acetonitril i etanol s kojima je provedena kristalizacija hlađenjem uz dodatak cjepiva te drugog otapala.

Iz slika dobivenih na mikroskopu može se zaključiti da kristali dobiveni u acetonitrilu imaju veću sklonost stvaranju aglomerata od kristala dobivenih u etanolu.

Iz raspodjela veličina kristala vidi se da postoji značajna razlika u veličini čestica dobivenih u acetonitrilu i u etanolu. Kristali dobiveni u etanolu puno su sitniji od kristala dobivenih u acetonitrilu.

Provedene analize ukazuju da kristali nastali iz acetonitrila formiraju stabilne zvjezdaste nakupine dok kristali nastali u etanolu nisu stabilni te se razbijaju na sitnije štapićaste kristale pod utjecajem ultrazvuka.

XRD analiza ukazuje da dodatak aditiva nije utjecao na strukturnu promjena u materijalu.

Najbolje iskorištenje dobiva se prekristalizacijom u acetonitrilu uz dodataka heptana.

7. POPIS SIMBOLA

m_k	– masa kristala, g
m_{cj}	– masa cjepiva, g
L_k	– srednja veličina kristala, mm
L_{cj}	– srednja veličina cjepiva, mm
c	– koncentracija soli, $\text{mg}_{\text{soli}}/\text{cm}^3_{\text{otapala}}$
T	– temperatura, °C
V	– volumen, cm^{-3}
m	– masa soli, g
BH	– brzina hlađenja, $^{\circ}\text{C h}^{-1}$
X	– koncentracija otopine, $\text{g}_{\text{soli}}/\text{g}_{\text{otapala}}$
$q_3(x)$	– funkcija gustoće raspodjele, $\% \mu\text{m}^{-1}$
x_{sr}	– srednja veličina čestica, μm

8. LITERATURA

1. Di Martino, P., Di Cristofaro, R., Barthelemy, C., Joiris, E., Palmieri Filippo, G., Sante, M., Improved compression properties of propyphenazone spherical crystals. *International journal of pharmaceutics*, **197(1)** (2000) 95-106.
2. Bharti, N., Bhandari, N., Sharma, P., Singh, K., Kumar, A., Spherical Crystallization: A Novel Drug Delivery Approach, *Asian journal of biomedical and pharmaceutical sciences*, **3(18)** (2013) 10-6.
3. Giulietti, M., Bernardo, A., Crystallization by Antisolvent Addition and Cooling, u: Andreetta, M., (Ed.), *Crystallization - Science and Technology*, (Ed.), (2012) 380-396
4. Sander, A., Jedinične operacije u ekoinženjerstvu, interna skripta, 2011.
5. Zhou, L., Optimal Control of Antisolvent and Cooling Crystallization, 2011.
6. Nagy, Z. K., Fujiwara, M., Braatz, R. D., Modelling and control of combined cooling and antisolvent crystallization processes. *Journal of Process Control*, **18(9)** (2008) 856-864.
7. Mersmann, A., et al., *Crystallization Technology Handbook*, CRC Press, 2001.
8. Myerson, A., *Handbook of industrial crystallization*, Butterworth-Heinemann, 2002.
9. Jones, A. G., *Crystallization process systems*, Butterworth-Heinemann, 2002.
10. Nyvlt, J., *Kinetics of industrial crystallization*, Elsevier; Elsevier Science Pub. Co., Inc.[distributor], 1984.
11. Vedantam, S., Ranade, V. V., Crystallization: Key thermodynamic, kinetic and hydrodynamic aspects, *Sadhana*, **38(6)** (2013) 1287-1337.
12. Sangwal, K., *Additives and crystallization processes: from fundamentals to applications*, John Wiley & Sons, (2007) 52, 273-298
13. Wening, K., Breitzkreutz, J., Oral drug delivery in personalized medicine: unmet needs and novel approaches, *International journal of pharmaceutics*, **404(1)** (2011) 1-9.
14. Tiwari, S., Verma, P., Spherical crystallization –A novel drug delivery system Department of Pharmaceutics, *Int. J. of Pharm. & Life Sci.*, **9** (2011)1065-1068.
15. Leon, R. A., Wan, W. Y., Badruddoza, A. Z. M., Hatton, T. A., Khan, S. A., Simultaneous spherical crystallization and co-formulation of drug (s) and excipient from microfluidic double emulsions, *Crystal growth & design*, **14(1)** (2013) 140-146.
16. Mahanty, S., Sruti, J., Patra, C. N., Rao, M. B., Particle design of drugs by spherical crystallization techniques, *Int. J. Pharm. Sci. Nanotech*, **3** (2010) 912-918.
17. Javadzadeh, Y., Vazifehasl, Z., Dizaj, S. M., Mokhtarpour, M., Spherical Crystallization of Drugs, *Intech open*, (2015) 85-104.

18. Kawashima, Y., Development of spherical crystallization technique and its application to pharmaceutical systems, Archives of Pharmacal Research, **7.2** (1984) 145-151.
19. Rogošić M., Kemijsko-inženjerska termodinamika, nastavni tekstovi, 2013.
20. Goczó, H., Szabo-Revesz, P., Farkas, B., Hasnozs-Nezdei, M., Serwanis, S. F., Pintye-Hodi, K., Marton, S., Development of spherical crystals of acetylsalicylic acid for direct tablet-making, Chemical and pharmaceutical bulletin, **48(12)** (2000) 1877-1881.
21. Patil, S. V., Sahoo, S. K., Pharmaceutical overview of spherical crystallization, Der Pharmacia Lettre **2.1** (2010) 421-426.
22. Chhabra, G. S., Banerjee, S. K., Stability indicating assay method development and validation of dronedarone hydrochloride in its bulk form by RP-HPLC, Bulletin of Pharmaceutical Research, **3.2** (2013) 58-65.

ŽIVOTOPIS

Rođena sam 01.05.1991. u Dubrovniku, gdje sam završila osnovnoškolsko obrazovanje, a zatim i srednjoškolsko obrazovanje u Gimnaziji Dubrovnik. Akademske godine 2009/2010. upisala sam preddiplomski studij Kemijsko inženjerstvo na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, koji sam završila obranom završnog rada u rujnu 2014. godine. Akademske godine 2014/2015. upisala sam diplomski studij Kemijsko inženjerstvo, modul: Kemijsko-procesno inženjerstvo na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.