

Utjecaj procesnih parametara na granulometrijska svojstva sferičnih kristala

Sabol, Mirta

Master's thesis / Diplomski rad

2024

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:149:281322>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-29**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Mirta Sabol

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
POVJERENSTVO ZA DIPLOMSKE ISPITE

Kandidatkinja **Mirta Sabol**

Predala je izrađen diplomski rad dana: 25. rujna 2024.

Povjerenstvo u sastavu:

Prof. dr. sc. Jasna Prlić Kardum, Sveučilište u Zagrebu
Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

Prof. dr. sc. Ernest Meštrović, Sveučilište u Zagrebu Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije

Izv. prof. dr. sc. Željka Ujević Andrijić, Sveučilište u Zagrebu
Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

Prof. dr. sc. Gordana Matijašić, Sveučilište u Zagrebu
Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije (zamjena)

povoljno je ocijenilo diplomski rad i odobrilo obranu diplomskog
rada pred povjerenstvom u istom sastavu.

Diplomski ispit održat će se dana: 30. rujna 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ
KEMIJSKO INŽENJERSTVO

Mirta Sabol

UTJECAJ PROCESNIH PARAMETARA NA GRANULOMETRIJSKA SVOJSTVA
SFERIČNIH KRISTALA
DIPLOMSKI RAD

Mentor: prof. dr. sc. Jasna Prlić Kardum

Članovi ispitnog povjerenstva:

prof. dr. sc. Jasna Prlić Kardum

prof. dr. sc. Ernest Meštrović

izv. prof. dr. sc. Željka Ujević Andrijić

Zagreb, rujan 2024.

*Ovaj diplomski rad izrađen je na Zavodu za mehaničko i toplinsko procesno inženjerstvom
pod mentorstvom prof. dr. sc. Jasne Prlić Kardum i neposrednim voditeljstvom Ive Zokić,
mag. ing. oecoing.*

Ovaj rad izrađen je unutar projekta CrystAPC - Napredno vođenje procesa kristalizacije, KK.01.1.1.07.0017, sufinanciranog od strane Europske unije, sredstvima Europskog fonda za regionalni razvoj.

Zahvale

Zahvaljujem mentorici, prof. dr. sc. Jasni Prlić Kardum na brojnim savjetima, velikoj motivaciji i nesebičnom prenošenju znanja.

Hvala asistenciji Ivi Zokić, mag. ing. oecoing. na pomoći, savjetima i uvijek ugodnoj radnoj atmoSFERI.

Hvala djelatnicima Zavoda za mehaničko i toplinsko procesno inženjerstvo na pristupačnosti prilikom izrade eksperimentalnog djela ovog rada.

Hvala mojim kolegama koji su mi uljepšali i obilježili studiranje proteklih šest godina. Hvala svim prijateljima koji su mi bili vjetar u leđa.

Najveće hvala mojoj obitelji, posebno roditeljima i bratu, na neizmjernoj podršci tokom cijelog školovanja.

SAŽETAK

Formulacija lijekova postaje sve izazovniji proces unutar farmaceutske industrije zbog otkrivanja djelatnih tvari nepoželjnih fizikalno-kemijskih i biofarmaceutskih svojstava. Procesom sferične kristalizacije moguće je dobiti kristale djelatne tvari sferičnog oblika koji pokazuju bolja fizikalno-kemijska i biofarmaceutska svojstva te je s takvim kristalima lakše rukovati u usporedbi s kristalima koji nisu sferičnog oblika.

Ovim radom ispitan je utjecaj volumnog udjela otapala, antiotapala i kapljevine za premoštenje u sustavu za provedbu sferične kristalizacije na granulometrijska svojstva kristala ceritiniba, lijeka koji se koristi za liječenje uznapredovalog raka pluća nemalih stanica i koji pripada IV razredu BCS-a. Kristali su karakterizirani stereomikroskopom i pretražnim elektronskim mikroskopom te je određena raspodjela veličina čestica i zaobljenost kristala. Metoda dizajna eksperimenta za proces sferične kristalizacije provedena je u softverskom programu *Design Expert*, gdje je dobiven model koji najbolje opisuje utjecaj volumnog udjela svakog otapala u sustavu za provedbu sferične kristalizacije ceritiniba na zaobljenost kristala.

Utvrđeno je da u sustavu otapala za sferičnu kristalizaciju ceritiniba pri niskom udjelu otapala prema kapljevini za premoštenje neće nastati kristali sferičnog oblika, kao ni kod jako niskog udjela otapala u odnosu na antiotapalo. Optimizacijom procesa u *Design Expertu* dobiveni su sferični kristali najveće zaobljenosti od svih provedenih eksperimenta koja iznosi 0,91 što ukazuje na uspješno dizajniranje, modeliranje i optimiziranje sustava otapala za sferičnu kristalizaciju ceritiniba.

Ključne riječi: *ceritinib, dizajn eksperimenta, granulometrijska svojstva kristala, sferična kristalizacija*

ABSTRACT

The influence of process parameters on the granulometric properties of spherical crystals

Drug formulation is becoming an increasingly challenging process within the pharmaceutical industry due to the discovery of active pharmaceutical ingredients with undesirable physicochemical and biopharmaceutical properties. Through the process of spherical crystallization, it is possible to obtain crystals of the active pharmaceutical ingredient with a spherical shape, which exhibit improved physicochemical and biopharmaceutical properties, and such crystals are easier to handle compared to non-spherical crystals.

This thesis investigated the influence of the volume fraction of solvent, antisolvent, and bridging liquid in the spherical crystallization system on the granulometric properties of ceritinib crystals. Ceritinib is classified as a BCS class IV drug and is used for the treatment of advanced non-small cell lung cancer. The crystals were characterized using a stereomicroscope and a scanning electron microscope, and the particle size distribution and roundness of the crystals were determined. The design of the experiment for the spherical crystallization process was conducted using the *Design Expert* software, where a model that best describes the influence of the volume fraction of each solvent in the system on the roundness of ceritinib crystals was developed.

It was found that in the spherical crystallization system of ceritinib, spherical crystals do not form well at a low solvent-to-bridging liquid ratio, nor at a very low solvent-to-antisolvent ratio. By optimizing the process in *Design Expert*, spherical crystals with the highest roundness value of 0.91 were obtained, indicating successful design, modeling, and optimization of the process.

Keywords: *ceritinib, design of experiments, granulometric properties of crystals, spherical crystallization*

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO.....	2
2.1. Formulacija lijeka.....	2
2.1.1. Biofarmaceutski sustav klasifikacije lijekova	2
2.1.2. Oblik i veličina čestica djelatne tvari	2
2.2. Ceritinib.....	3
2.3. Kristalizacija.....	4
2.3.2. Metode kristalizacije	5
2.4. Sferična kristalizacija	6
2.4.2. Princip nastanka sferičnih kristala.....	7
2.4.3. Metode sferične kristalizacije.....	7
2.4.4. Utjecaj procesnih parametara na nastanak sferičnih kristala.....	9
2.5. Dizajn eksperimenta	10
3. EKSPERIMENTALNI DIO	11
3.1. Svrha rada.....	11
3.2. Materijali	11
3.3. Proces dobivanja ceritiniba forme A	11
3.4. Dizajn eksperimenta	12
3.5. Proces sferične kristalizacije ceritiniba	12
3.6. Filtracija i sušenje smjese.....	15
3.7. Karakterizacija sferičnih kristala.....	15
3.7.1. Raspodjela veličina čestica.....	15
3.7.2. Morfologija.....	16
4. REZULTATI I RASPRAVA	17
4.1. Dizajn eksperimenta	17
4.2. Eksperimenti.....	18
4.2.1. Eksperiment 1	18
4.2.2. Eksperiment 2.....	20
4.2.3. Eksperiment 3	22
4.2.4. Eksperiment 4.....	24
4.2.5. Eksperiment 5.....	26
4.2.6. Eksperiment 6.....	28
4.2.7. Eksperiment 7.....	30
4.2.8. Eksperiment 8.....	32

4.2.9.	Eksperiment 9.....	34
4.2.10.	Eksperiment 10.....	36
4.2.11.	Eksperiment 11.....	38
4.2.12.	Eksperiment 12.....	40
4.2.13.	Eksperiment 13.....	42
4.2.14.	Eksperiment 14.....	44
4.4.	Zaobljenost kristala.....	47
4.5.	Analiza dizajna eksperimenta.....	48
4.6.	Optimizacija.....	49
4.7.	Potvrda modela.....	51
5.	ZAKLJUČAK.....	52
6.	POPIS KRATICA I SIMBOLA.....	53
7.	LITERATURA.....	55

1. UVOD

Primjena lijeka oralnim putem jedna je od najvažnijih i najjednostavnijih ruta primjene lijekova još od početaka razvoja farmaceutika.¹ Tablete čine 70 % svih farmaceutskih pripravaka, a primjena im je široka zbog preciznosti doziranja, najmanje varijabilnosti sastava tablete, niske cijene i jednostavnosti primjene među pacijentima.²

Da bi se osigurala pravilna doza lijeka, prilikom formulacije tableta bitno je provesti istraživanja o utjecaju raznih svojstava na krajnji proizvod. Oblik i veličina čestica djelatnih tvari imaju znatan utjecaj na fizikalno-kemijska i biofarmaceutska svojstva djelatne tvari kao što su topljivost, brzina otapanja, bioraspoloživost i dr.³

Na oblik i veličinu kristala može se utjecati kristalizacijom, toplinsko-separacijskom metodom koja se koristi u svrhu pročišćavanja djelatnih tvari. Sferična kristalizacija metoda je kristalizacije razvijena u svrhu nastanka kristala idealnog, sferičnog oblika kako bi se smanjio broj procesnih koraka prilikom proizvodnje lijekova te kako bi se poboljšala fizikalno-kemijska i biofarmaceutska svojstva lijeka.

Dizajn eksperimenata metoda je koja koristi vjerojatnosti i statistiku za utvrđivanje minimalnog potrebnog broja eksperimenata za dobivanje poveznice između ulaznih varijabli i odziva procesa.

U ovom radu proveden je dizajn eksperimenta sferične kristalizacije u softverskom programu *Design Expert* te je dobiven model koji najbolje opisuje ovisnost između volumnih udjela vodene otopine PVP-a, heptana i zasićene otopine ceritiniba s granulometrijskim svojstvima kristala. Na temelju dobivenog modela provedena je optimizacija sustava za provedbu sferične kristalizacije ceritiniba.

2. OPĆI DIO

2.1. Formulacija lijeka

Najčešći put primjene lijeka u medicini je oralni. Zbog duge tradicije takve primjene, postoji velika fleksibilnost u farmaceutskom razvojnom stadiju lijeka. Ovakva primjena je prikladna pacijentima zbog svoje neinvazivnosti u usporedbi s ostalim putevima primjene, a najčešće je najsigurnija i najjeftinija opcija.⁴

Bez obzira na prednosti primjene lijeka oralnim putem, sve je teže stvoriti pravilnu formulaciju. Za nove djelatne tvari potrebno je provesti farmaceutsku analizu i biofarmaceutsko modeliranje s ciljem dobivanja što bolje strategije formulacije lijeka.¹

Temeljni parametri koji kontroliraju apsorpciju i biorasploživost lijeka su topljivost, otapanje i gastrointestinalna propusnost. Ono što predstavlja problem jest da se kroz godine otkrivaju lijekovi koji imaju lošu topljivost u vodi, što predstavlja bitnu ulogu u apsorpciji lijeka nakon oralne primjene.⁵

2.1.1. Biofarmaceutski sustav klasifikacije lijekova

Kako bi se djelatne tvari lakše svrstale prema njihovoj biorasploživosti, uveden je sustav biofarmaceutske klasifikacije lijekova (engl. *Biopharmaceutical classification system*, BCS), koji je podijeljen u četiri razreda (tablica 1.). Topljivost podrazumijeva volumen vode koji je potreban da se otopi najveća doza lijeka u pH rasponu od 1 do 7,5, dok propusnost predstavlja apsorpciju lijeka u organizmu.⁶

Tablica 1. Sustav biofarmaceutske klasifikacije lijekova.

Razred	Topljivost	Propusnost
I	Visoka	Visoka
II	Niska	Visoka
III	Visoka	Niska
IV	Niska	Niska

2.1.2. Oblik i veličina čestica djelatne tvari

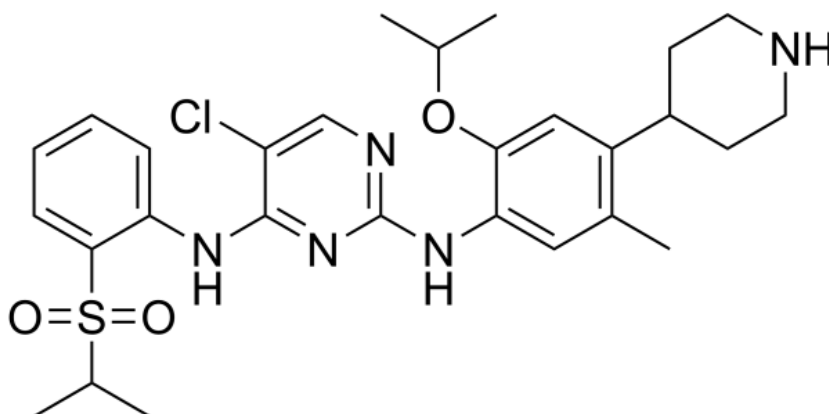
Veličina i oblik čestica utječu na razna fizikalna svojstva, proces izrade i kvalitetu tableta. Osim toga, veličina i oblik čestica imaju znatan utjecaj na brzinu otapanja i biorasploživost, tečivost

i kompaktnost, miješanje i segregaciju te karakterizaciju djelatne tvari. Razvijene su razne tehnike kristalizacije i mljevenja kako bi se postigla željena raspodjela veličina čestica djelatne tvari u svrhu uspješnog razvoja i proizvodnje lijeka.^{3,7}

2.2. Ceritinib

Ceritinib je djelatna tvar lijeka koji se koristi za liječenje odraslih osoba s uznapredovalim stadijem raka pluća nemalih stanica (engl. *non-small cell lung cancer*, NSCLC). Djeluje kao inhibitor anaplastične limfom kinaze (engl. *anaplastic lymphoma kinase*, ALK). Lijek je razvijen pod imenom *Zykadia*, a proizveo ga je *Novartis*.⁸

Molekulska formula ceritiniba je $C_{28}H_{36}ClN_5O_3S$, a kemijski mu je naziv 5-kloro-2-N-(2-izopropoksi-5-metil-4-(piperidin-4-il)fenil)pirimidin-2,4-diamin. Molarna masa mu je 558,1 g mol⁻¹.⁹ Strukturna formula nalazi se na slici 1.



Slika 1. Strukturna formula ceritiniba.¹⁰

Polimorfizam je svojstvo tvari koje se mogu kristalizirati u nekoliko različitih kristalnih oblika. Različiti polimorfni oblici neke tvari mogu se bitno razlikovati u fizikalnim svojstvima kao što su talište, boja, tvrdoća, gustoća, električna provodnost, toplina taljenja, topljivost i brzina otapanja. Također se mogu razlikovati u kemijskoj reaktivnosti.¹¹ Ceritinib posjeduje svojstvo polimorfnosti, a trenutni poznati polimorfni oblici su forma A, forma Beta i forma Gamma.¹²

Ceritinib spada u IV razred biofarmaceutske klasifikacije lijekova, što znači da ima nisku topljivost i nisku propusnost, a to rezultira lošom bioraspodjelivosti prilikom oralne primjene lijeka.⁸

2.3. Kristalizacija

Jedan od ključnih zahtjeva razvoja farmaceutskih proizvoda je kontrola nečistoća koje se mogu pojaviti u svakom koraku kemijske sinteze djelatne tvari. Nečistoće mogu biti neizreagirani reaktanti, rezultati degradacije, nečistoće nastale samim procesom ili su kombinacija navedenih nečistoća. Kako bi se takve nečistoće spriječile i uklonile, najčešće se provodi proces kristalizacije kojom se u svakom koraku proizvodnje djelatne tvari može utjecati na stupanj nečistoća u krajnjem farmaceutskom proizvodu.¹³

Kristalizacija je fizička promjena kapljevine, otopine ili plina u kristal, krutu tvar s uređenom kristalnom rešetkom molekula, iona ili atoma. Kristale željene veličine i oblika moguće je dobiti pravilnim odabirom uvjetima kristalizacije, kao što su temperatura, sustav otapala i način postizanja prezasićenosti otopine.¹⁴

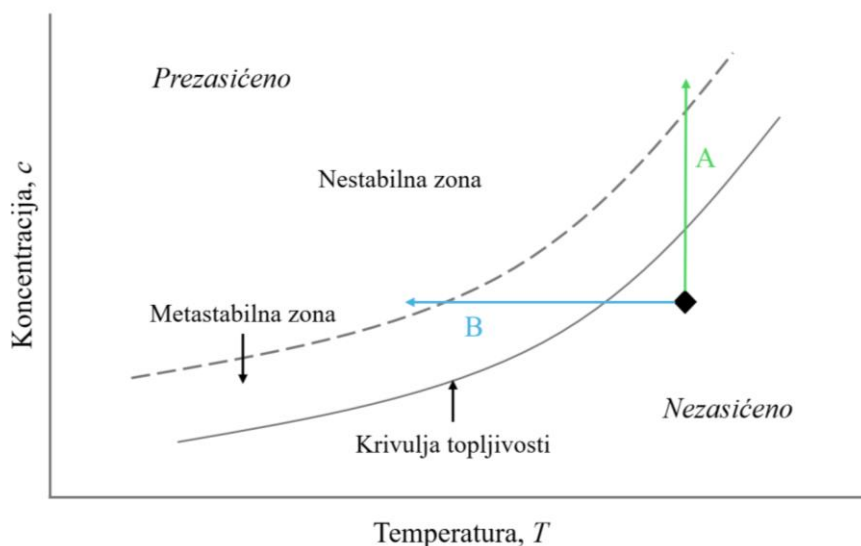
2.3.1. Kinetika kristalizacije

Kinetikom kristalizacije upravljaju dva mehanizma, nukleacija i rast kristala. Odvijaju se simultano, a brzina kojom se odvijaju ova dva mehanizma ovisi o pokretačkoj sili procesa kristalizacije, prezasićenosti otopine. Prezasićenost otopine postiže se kada je koncentracija otopljene tvari veća od ravnotežne topljivosti, odnosno potpune zasićenosti otopine.^{14,15}

Kod mehanizma nukleacije bitno je spomenuti primarnu i sekundarnu nukleaciju. Primarnom nukleacijom opisuju se homogeni i heterogeni mehanizmi nukleacije u kojima kristali otopljene tvari ne utječu na nastanak novih kristala, već je potrebno postići određenu razinu prezasićenosti otopine. Kako bi kristali nastali sekundarnom nukleacijom, u otopini iz koje se kristalizira moraju biti prisutni kristali otopljene tvari, npr. dodatkom kristala.¹⁵

Ovisno o geometriji kristala, rast kristala može se izraziti preko linearnog rasta svake površine kristala, promjene u karakterističnim dimenzijama kristala ili kao brzina promjene u masi kristala.

Brzina kristalizacije ovisi o temperaturi zato što temperatura kontrolira prezasićenost otopine i pokretljivost molekula unutar kristala. Na slici 2. prikazano je prezasićeno i nezasićeno područje odvojeno krivuljom topljivosti (puna krivulja). Da bi kristalizacija bila moguća, sustav mora biti u prezasićenom djelu, ali van metastabilne zone (područje između isprekidane krivulje i krivulje topljivosti) jer u metastabilnoj zoni otopina nije dovoljno prezasićena da bi kristali nastali spontano.¹⁴



Slika 2. Ravnotežne krivulje topljivosti i prezasićenosti.

2.3.2. Metode kristalizacije

Prezasićenost otopine je moguće postići na različite načine, stoga postoji nekoliko metoda kristalizacije. Odabir različite metode kristalizacije za isti sustav iz kojeg se kristalizira rezultira kristalima različitih svojstava (morfologija, polimorfni oblici, veličina, čistoća kristala i sl.).

Kristalizaciju je moguće postići isparavanjem pri konstantnoj temperaturi (slika 2, put A). Prelazak iz nezasićenog u prezasićeno područje provodi se s ili bez vakuuma, a sporim isparavanjem obično se dobivaju veliki kristali.

Kristalizacija se provodi promjenom temperature (slika 2, put B) kada se topljivost neke soli jako mijenja s promjenom temperature. U tom slučaju, prezasićenost se postiže hlađenjem otopine. Sporo hlađenje rezultira većim brojem manjih kristala, jer se nukleacija odvija pri manjoj prezasićenosti. U svrhu dodatne kontrole procesa, otopinu je moguće cijepiti na određenoj temperaturi, čime se poboljšava kontrola procesa nukleacije jer se odvija u metastabilnoj zoni. Kod ovako vođenog procesa rast kristala se također odvija u kontroliranim uvjetima što rezultira užim raspodjelama, bez nastanka aglomerata, a ujedno se povećava i iskorištenje procesa.

Kristalizacija antiotapalom provodi se s dva otapala koja su međusobno mješljiva. U jednom otapalu je sol dobro topljiva dok je u drugom topljivost iste soli loša, to otapalo se naziva antiotapalo. Dodatkom antiotapala u otopinu smanjuje se topljivost sustava te dolazi do naglog

izdvajanja kristala iz otopine što dobro utječe na granulometrijska svojstva kristala koja su zbog istovremenog taloženja podjednake veličine.¹⁴

Još neke od metoda kristalizacije su kristalizacija taloženjem, podešavanjem pH – vrijednosti, kristalizacija iz taline i dr.

2.4. Sferična kristalizacija

Sferična kristalizacija je metoda kristalizacije kojom nastaju veći kristali sferičnog oblika i boljih fizikalno-kemijskih svojstava, a metodom se ujedinjaju procesi sinteze, kristalizacije, separacije i aglomeracije u jedan korak.¹⁶ Prema Kawashimi, sferična kristalizacija je proces aglomeracije kojim kristalna tvar izravno prelazi u kompaktni, sferični oblik kako bi se poboljšala svojstva tečnosti, topljivosti i kompaktnosti.²

2.4.1. Potreba za sferičnom kristalizacijom

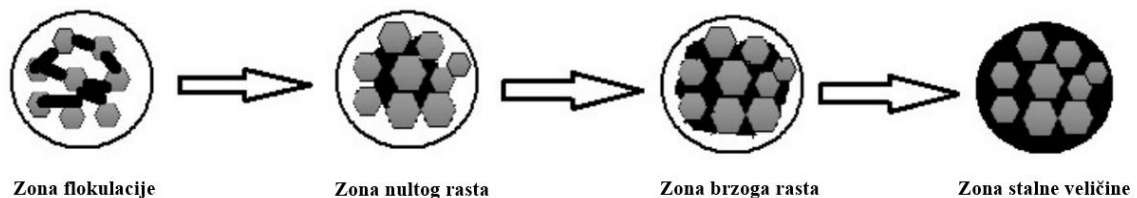
Sferična kristalizacija je proces kojim se koristi manje opreme i prostora u usporedbi s klasičnim metodama kristalizacije, smanjuju se troškovi proizvodnje, potrošnja energije te je vremenski učinkovitija. Kada se u farmaceutskoj industriji koriste klasične metode kristalizacije, nakon njih slijede procesi filtracije, sušenja, suhog miješanja, granulacije, ponovno sušenje te tabletiranje. Sferičnom kristalizacijom nastoje se dobiti kristali povoljnog oblika i veličine, stoga nije potrebno provoditi proces granulacije i ponovnog sušenja, već se nakon kristalizacije provode filtracija, sušenje, suho miješanje i tabletiranje, čime se štedi vrijeme i resursi.²

Prednosti sferične kristalizacije uključuju poboljšanje fizikalno-kemijskih svojstava kristala za lakšu i djelotvorniju provedbu procesa koji slijede nakon kristalizacije, mikromeritička svojstva kristala djelatne tvari također se drastično poboljšavaju, zajedno s močivostima i otapanjem nekih lijekova.¹⁷

Kao i sve metode, sferična kristalizacija ima nekoliko nedostataka, a najveći problem predstavljaju odabir povoljnih otapala za provedbu eksperimenta te optimizacija procesnih parametara.¹⁸

2.4.2. Princip nastanka sferičnih kristala

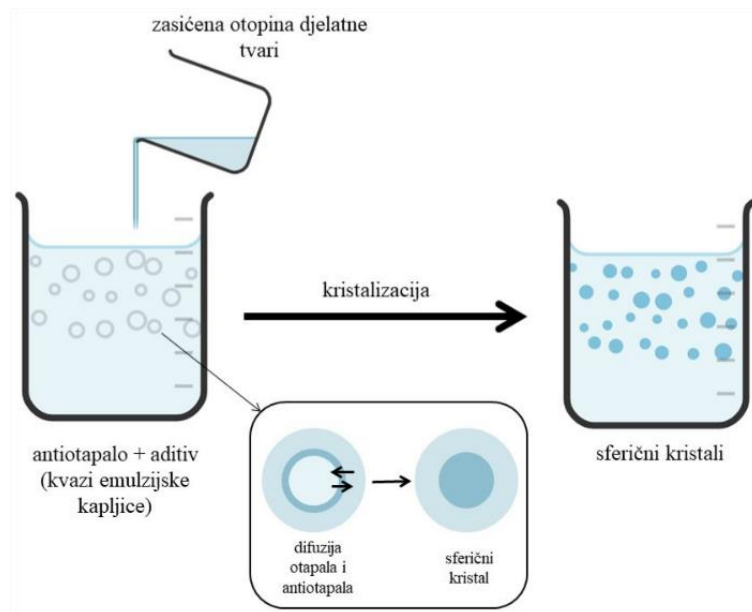
Sferični kristali nastaju aglomeracijom u četiri koraka: flokulacijom, nultim rastom, brzim rastom i konstantnom veličinom (slika 3). U flokulacijskoj zoni kapljevina za premoštenje istiskuje drugo otapalo te se adsorbira na površinu kristala i labavo povezuje čestice (flokule kristala). Nulta zona rasta počinje kada se labave flokule čvrsto zbiju, čime dolazi do istiskivanja ostatka otapala te kapljevina za premoštenje sada povezuje flokule s vrlo malo razmaka između njih. Pokretačka sila je miješanje sustava što osigurava turbulentnost i sudare između flokula. Kada se dovoljna količina kapljevine za premoštenje istisne s površine malih aglomeraata, počinje zona brzoga rasta. Nasumičnim sudarima između manjih aglomerata javlja se koalescencija, a da bi spajanje bilo uspješno, nukleusi moraju biti blago vlažni na površini. Ako aglomerati više ne rastu ili se čak smanjuju, sustav je postigao zonu konstantne veličine.¹⁹



Slika 3. Zone aglomeracije.²⁰

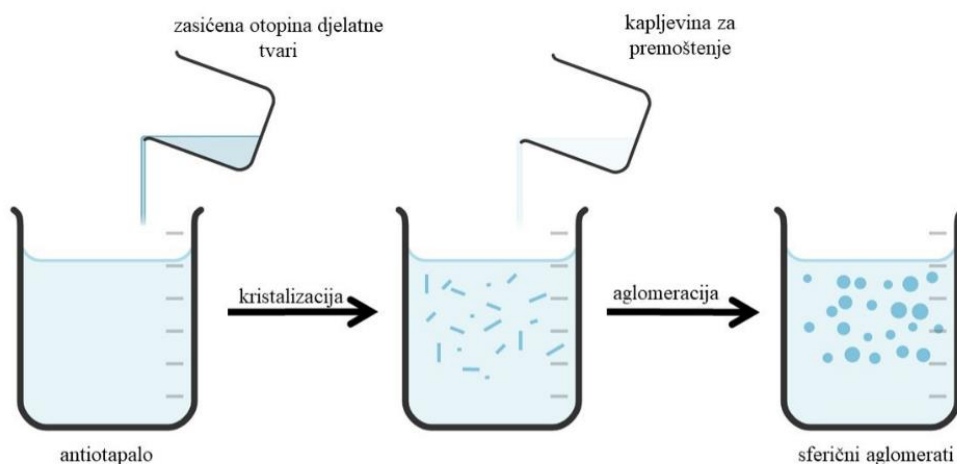
2.4.3. Metode sferične kristalizacije

Jedna od najčešće korištenih metoda sferične kristalizacije je metoda kvazi-emulzijske difuzije otapala (slika 4). Kod ove metode važno je da je afinitet između otapala i djelatne tvari jači nego između otapala i antiotapala. Djelatna tvar otapa se u otapalu koje se dispergira u antiotapalo, čime nastaju (kvazi) emulzijske kapljice, bez obzira na to što su otapala mješljiva. Otapalo postepeno difundira iz kapljica u antiotapalo, dok antiotapalo difundira prema kapljici, čime dolazi do kristalizacije unutar kapljica. U ovoj metodi, emulzija se stabilizira dodatkom polimera u antiotapalo.^{17,18}



Slika 4. Metoda kvazi – emulzijske difuzije otapala.

Sferična aglomeracija također je često korištena metoda sferične kristalizacije, a ovom metodom istovremeno se odvijaju proces kristalizacije i aglomeracije (slika 5). Koriste se otapalo, antiotapalo i kapljevina za premoštenje. Bitno je da su otapalo i antiotapalo međusobno mješljivi te afinitet između otapala i antiotapala mora biti veći nego afinitet između djelatne tvari i ostalih otapala. Kapljevina za premoštenje nije mješljiva s antiotapalom. Zasićena otopina djelatne tvari dodaje se u antiotapalo, odmah nastaju kristali te se uz miješanje dodaje kapljevina za premoštenje, koja spaja nastale kristale u veće, sferične kristale.^{17,18}



Slika 5. Metoda sferične aglomeracije.

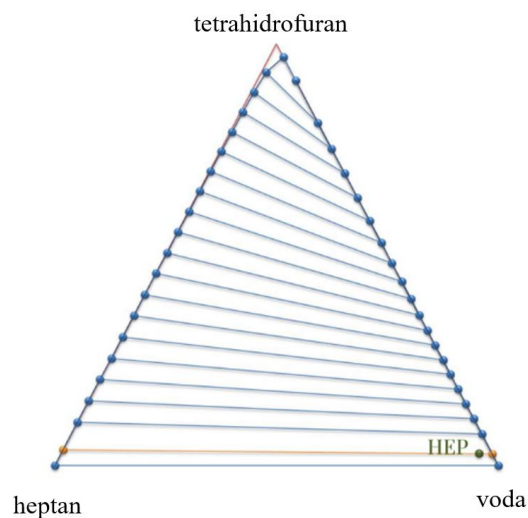
Metoda difuzije amonijaka može se provoditi s amfoternim djelatnim tvarima, gdje se kao otapalo i kapljevina za premoštenje koristi amonijak, koji formira kapljice. Antiotapalo istišće amonijak iz kapljica unutar kojih dolazi do kristalizacije i aglomeracije kristala.²

Osim navedenih metoda još postoje metode neutralizacije i kristalne ko-aglomeracije.

2.4.4. Utjecaj procesnih parametara na nastanak sferičnih kristala

Kod sferične kristalizacije u obzir se moraju uzeti utjecaji raznih procesnih parametara kao što su udjeli otapala, vrsta i brzina miješala, temperatura i vrijeme zadržavanja.

Prilikom provedbe sferične kristalizacije koristi se trokomponentni sustav otapala: dobro otapalo u kojemu topljiva tvar ima najbolju topljivost, antiotapalo u kojemu se kristalna tvar neće otopiti te služi kao kapljevina za suspendiranje trećeg otapala, kapljevine za premoštenje. Potrebno je odabrati pogodan sustav otapala koji ovisi o topljivosti korištene djelatne tvari. Sustavi se odabiru na temelju ternarnog dijagrama (slika 6), proučavanjem mješljivosti otapala te se u obzir mogu uzeti razni vodiči za odabir otapala.



Slika 6. Primjer ternarnog dijagrama za sustav voda-heptan-THF.

Hidrodinamičke uvjete u reaktoru potrebno je postaviti tako da se postigne potpuna disperzija kapljevina za premoštenje kroz sustav u kojem se kristalizira. Pravilnim odabirom pogodnog miješala i brzine miješanja postižu se željeni rezultati granulometrijskih svojstava kristala.

Temperatura je parametar koji utječe na topljivost djelatne tvari, stoga je vrlo bitno odrediti optimalnu temperaturu sustava u kojemu se provodi kristalizacija kako bi se postigla željena morfologija kristala.

Vrijeme zadržavanja predstavlja vrijeme koje je potrebno da bi nastali kristali željenih oblika. Ako je vrijeme zadržavanja prekratko, kristali neće nastati ili neće biti željenog oblika, a ako je vrijeme zadržavanja predugo, postoji mogućnost raspadanja kristala.²

2.5. Dizajn eksperimenta

Dizajn eksperimenta je organizirana metoda korištena za utvrđivanje veze između faktora koji utječu na proces i na ishod tog procesa. Pristup ove metode je da se ulazne varijable procesa sustavno i s razlogom mijenjaju kako bi se utvrdio njihov učinak na izlazne varijable.²¹

Ovakva metoda koristi se u svrhe istraživanja u laboratoriju, ali je koristan alat i u industrijskom okruženju. Koncept dizajna eksperimenta započeo je Fisher koji je ovu metodu implementirao u području agrokulture. Isti znanstvenik je izjavio: *Konzultirati se sa statističarom nakon završetka eksperimenta često znači da se od njega traži samo provedba obdukcije. On može samo reći od čega je eksperiment umro.*²¹ čime je dao naslutiti svoja razmišljanja o dizajnu eksperimenta i kako statistiku treba uvesti u dizajniranje eksperimenata. Dizajn eksperimenta danas najveću primjenu pronalazi među kemičarima, sve više u farmaceutskoj industriji.

Metode dizajna eksperimenta koriste statistiku i vjerojatnost kako bi se definirao najmanji broj eksperimenata potreban za uspostavljanje uzročno posljedične veze između raznih parametara procesa. Tri najvažnije komponente dizajna eksperimenta su dizajn, analiza i optimizacija.²²

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Svrha rada

Cilj ovog rada je odrediti utjecaj volumnog udjela otapala, antiotapala i kapljevine za premoštenje na granulometrijska svojstva sferičnih kristala ceritiniba. Ispitivanja se provode u svrhu poboljšanja fizikalno-kemijskih svojstava ceritiniba prilikom primjene lijeka. Proveden je postupak dizajna eksperimenta kojim se štedi novac i vrijeme provođenja istraživanja.

3.2. Materijali

U svrhu dobivanja ceritiniba forme A potrebnim za provedbu eksperimenata sferične kristalizacije, korištena je sol ceritinib dihidroklorid. Postupak dobivanja ceritiniba iz dihidroklorida objašnjen je u poglavlju 3.3.

Popis korištenih kemikalija nalazi se u tablici 2.

Tablica 2. Popis korištenih kemikalija.

Kemikalija	Čistoća	CAS broj	Proizvođač
heptan (C ₇ H ₁₆)	p.a.	142-82-5	Lach – Ner
tetrahidrofuran (C ₆ H ₈ O, THF)	p.a.	109-99-9	Lach – Ner
polivinilpirolidon, ((C ₆ H ₉ NO) _n , PVP)	99 + %	9003-39-8	Arcos organics

3.3. Proces dobivanja ceritiniba forme A

Ceritinib forme A dobiven je iz soli ceritinib dihidroklorida prema literaturi.²³ U reaktor je dodana sol ceritinib dihidroklorida potom je otopljena u vodi te je dodan aceton. Postavljeno je miješanje turbinskim miješalom na 300 min⁻¹. Miješanje se provodi 45 minuta na 45 °C, zatim se otopina filtrira Büchnerovim lijevkom i vraća u reaktor gdje se ponovno termostatira na 45°C. Slijedi dokapavanje NaOH kako bi se postigla pH vrijednost ~11. Otopina se zatim hladi brzinom od 15 °C h⁻¹. Dobiveni kristali ceritiniba filtriraju se Büchnerovim lijevkom, te se suše u zračnom sušioniku na 50 °C. Forma dobivenih kristala određuje se rendgenskom difrakcijom na uređaju *XRD 6000* (Shimadzu, Kyoto, Japan).

3.4. Dizajn eksperimenta

Za određivanje udjela antiotapala, kapljevine za premoštenje i zasićene otopine ceritiniba, koristi se program namijenjen za dizajn eksperimenata, *Design Expert* (*Stat-Ease, Inc.*, Mineapolis, SAD). Korišten je dizajn za dobivanje optimalnih omjera korištenih otapala. Minimalni i maksimalni volumni udjeli otapala, antiotapala i kapljevine za premoštenje koji su postavljeni kao granični uvjeti u *Design Expert*-u prikazani su u tablici 3, a određeni su preliminarnim eksperimentima. Kao rezultat program daje određen broj eksperimenata s različitim udjelima otapala.

Tablica 3. Minimalni i maksimalni volumni udio otapala.

Otapalo	Minimalni udio, vol. %	Maksimalni udio, vol. %
antiotapalo	70	88
kapljevine za premoštenje	5	15
zasićena otopina CRT-a	7	15

Nakon provedbe eksperimenata, potrebno je unijeti odziv u program, nakon čega slijedi analiza dizajna i biranje modela koji najbolje opisuje odnos ulaznih varijabli (udjela otapala, antiotapala i kapljevine za premoštenje) i odziva (zaobljenosti).

3.5. Proces sferične kristalizacije ceritiniba

Sferična kristalizacija ceritiniba provodi se kombinacijom metoda sferične aglomeracije i kvazi-emulzijske difuzije otapala. Preliminarnim istraživanjima odabran je sustav otapala gdje se koristi THF kao otapalo ceritiniba (do zasićenja pri 35 °C). Antiotapalo je voda u kojoj se otapa 1 mas. % PVP-a. Kapljevine za premoštenje je heptan. Preliminarnim ispitivanjima je određeno da je najpogodnije miješanje smjese postignuto spiralnim propellerskim miješalom (slika 7) koje uzrokuje miješani tok, a idealan broj okretaja je pri 800 min⁻¹.



Slika 7. Spiralno propellersko miješalo.

Konstantni parametri za sve eksperimente provedene mijenjajući volumne udjele otapala, antiotapala i kapljevine za premoštenje navedeni su u tablici 4.

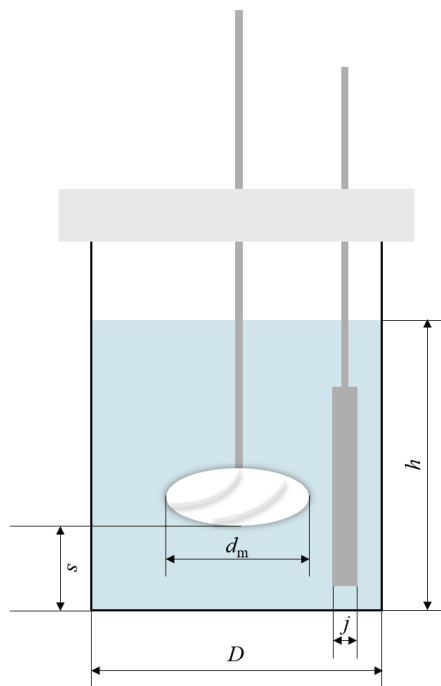
Tablica 4. Konstantni parametri procesa sferične kristalizacije određeni preliminarnim istraživanjima.

Otapalo	THF
Antiotapalo	Voda
Kapljevina za premoštenje	Heptan
Polimer	PVP
Miješalo	spiralno propellersko
Brzina okretaja miješala	800 min ⁻¹
Temperatura antiotapala	20 °C
Temperatura otopljenog ceritiniba	35 °C
Vrijeme zadržavanja	40 minuta

Kristalizacija je provedena u *CrystalSCAN*-u (E2153, h.e.l Ltd., Borehamwood, UK) koji je prikazan na slici 8, a procesni parametri podešavaju se pomoću računala programskim paketom *WinISO*. U kristalizatoru (slika 9) se nalaze temperaturno osjetilo i miješalo povezani s računalom te razbijalo kojim se sprječava nastanak vrtloga u kristalizatoru. Korišteno miješalo je spiralno propellersko koje uzrokuje miješani tok u reaktoru.



Slika 8. *CrystalSCAN*, uređaj za provedbu kristalizacije.



Slika 9. Shematski prikaz kristalizatora s miješalom i razbijalom.

U tablici 5 nalaze se dimenzije kristalizatora, razbijala i miješala.

Tablica 5. Dimenzije kristalizatora.

D, mm	62
d_m, mm	31
h, mm	62
j, mm	5
s, mm	20

Proces se provodi tako da se u kristalizator doda određena količina vode s otopljenim PVP-om 1 mas. %, zatim se umješava heptan. U programu *WinISO* postavi se broj okretaja miješala na 800 min^{-1} i temperatura u kristalizatoru na $20 \text{ }^\circ\text{C}$. Nakon što se sustav vodene otopine polimera i heptana temperira miješajući na $20 \text{ }^\circ\text{C}$, dokapava se zasićena otopina ceritiniba u THF-u (zagrijana na $35 \text{ }^\circ\text{C}$) pomoću klipne pumpe, brzinom $7,5 \text{ ml min}^{-1}$. Miješanje se provodi 40 minuta nakon čega slijedi filtracija.

3.6. Filtracija i sušenje smjese

Filtracija smjese nakon sferične kristalizacije provodi se s Büchnerovim lijevkom. Filter papir se stavlja na površinu Büchnerovog lijevka, zatim se lijevak s filter papirom stavlja na bocu sisaljku koja je spojena na odvod kako bi se postigao podtlak. Sustav iz kristalizatora postepeno se ulijeva u Büchnerov lijevak te se kristali ispiru ohlađenom smjesom otapala THF – voda u mjerilu 1:7.

Nakon filtracije, filter papir s kristalima se prebacuje u petrijevu zdjelicu koja se stavlja u atmosferski sušionik (*TCN 115 PLUS*, Argo Lab, Sunnyvale, SAD) na 50 °C sve dok kristali nisu u potpunosti suhi.

3.7. Karakterizacija sferičnih kristala

3.7.1. Raspodjela veličina čestica

Raspodjela veličina čestica određena je pomoću laserskog čestičnog analizatora (*SALD 3101*, Shimadzu, Kyoto, Japan). Mjerenje je provedeno mokrom metodom kako se suhi sferični kristali ne bi raspali prilikom sudaranja u komori, a ultrazvuk nije korišten iz istog razloga. Suhi sferični kristali suspendirani su u otopini vode s dodatkom neionskog surfaktanta tritona X-100 (jedna kap u 40 ml vode).

Širina raspodjela veličina čestica izračunata je prema jednadžbi:

$$S = \frac{x_{90}}{x_{10}}, \quad (1)$$

Kada se prema jednadžbi (1) izračuna širina raspodjele S , moguće ju je karakterizirati prema tablici 6.²⁴

Tablica 6. Tablica za karakterizaciju širine raspodjele veličine čestica.

Širina	Vrijednost S
Monodisperzna	<1,02 (idealno 1)
Jako uska	1,02 – 1,05
Uska	1,05 – 1,5
Srednje širine	1,5 - 4
Široka	4 – 10
Jako široka	>10

3.7.2. Morfologija

Mikrografije suhих kristala snimljene su pomoću stereo mikroskopa modela Olympus *SZX16* (Tokio, Japan) te s pretražnim elektronskim mikroskopom (engl. *scanning electron microscope*, SEM) *VEGA31 TESCAN* (Brno, Češka). Za mikrografije snimljene SEM-om korištena je energija elektronskog snopa od 10 keV, dok je radna udaljenost 4 – 10 mm, ovisno o uzroku. Prije samog snimanja, uzorci su napareni zlatom uz jakost struje 17 mA tijekom 120 s upotrebljavajući *SC7620* neparivač (Quorum Technologies, Lewes, UK).

Zaobljenost kristala određena je digitalnom analizom mikrografija snimljenih stereo mikroskopom, korišten je računalni program *ImageJ*. Zaobljenost se računa prema jednadžbi (2).²⁵

$$R = \frac{4\pi \cdot \text{površina kristala}}{\text{obujam kristala}^2}, \quad (2)$$

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Dizajn eksperimenta

Dizajn eksperimenta proveden je u softverskom programu *Design Expert*. Kao rezultat, dizajnirano je 14 eksperimenata s određenim udjelima otapala za svaki eksperiment. Tablica 7 prikazuje rezultate dobivene *Design Expert*-om. Primjećuje se da postoji nekoliko jednakih dizajna eksperimenta, odnosno dobiveni su parovi. Takvi parovi su eksperimenti 3 i 14, 4 i 9 te 10 i 11. Eksperimenti su dizajnirani dvostruko kako bi se potvrdila valjanost krajnjih rezultata te kako bi se osiguralo da oni nisu slučajnost. Validacijska veličina u programu je zaobljenost dobivenih kristala.

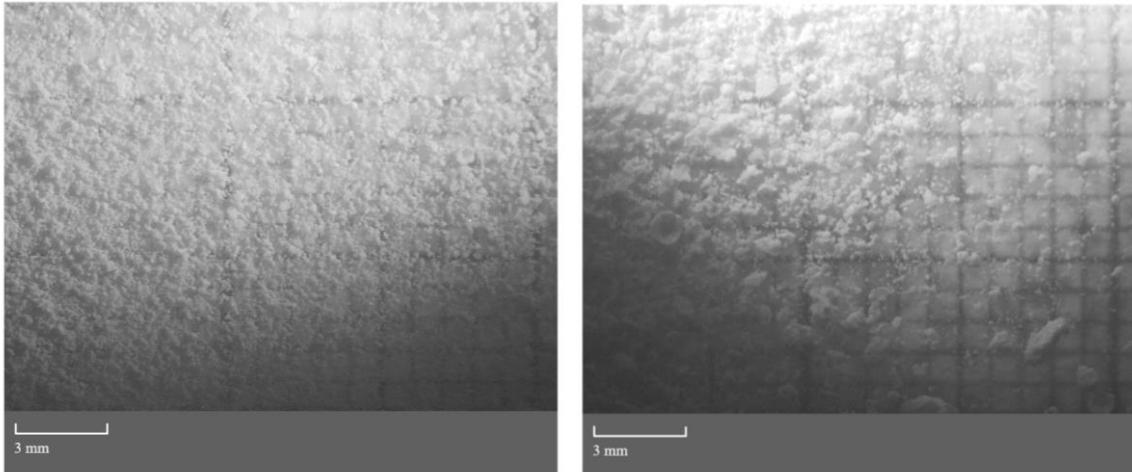
Tablica 7. Rezultati dobiveni dizajniranjem eksperimenata u *Design Expert*-u.

Broj eksperimenta	Udio vodene otopine PVP-a, vol. %	Udio heptana, vol. %	Udio zasićene otopine CRT u THF-u, vol. %
1	83,00	10,00	7,00
2	74,00	15,00	11,00
3	78,00	15,00	7,00
4	70,00	15,00	15,00
5	76,50	12,50	11,00
6	81,50	7,50	11,00
7	80,00	5,00	15,00
8	75,00	10,00	15,00
9	70,00	15,00	15,00
10	88,00	5,00	7,00
11	88,00	5,00	7,00
12	79,00	10,00	11,00
13	84,00	5,00	11,00
14	78,00	15,00	7,00

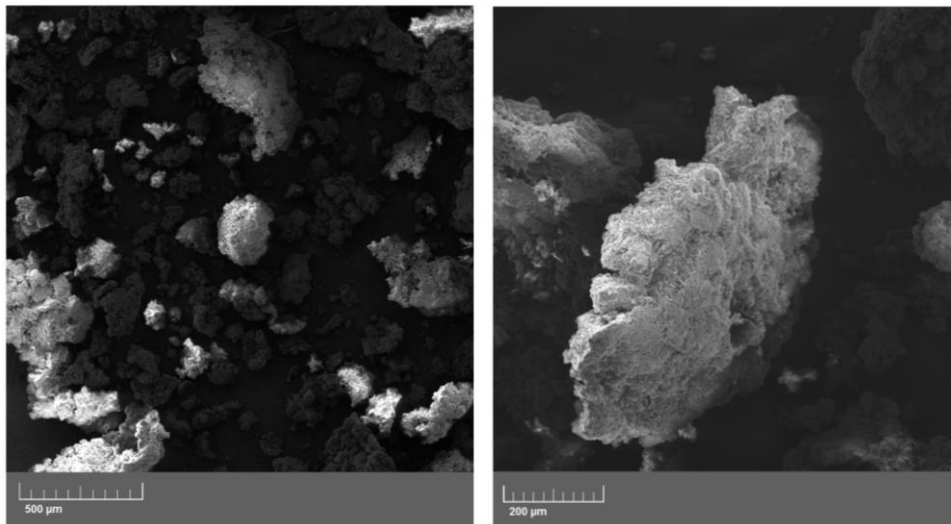
4.2. Eksperimenti

4.2.1. Eksperiment 1

Kristali nastali eksperimentom 1, kao što je to vidljivo na slici 10, nisu sferičnog oblika. Uočljive su različite veličine aglomeriranih kristala, različitih oblika, bez prisutnosti sferičnih kristala. Na slici 11 prikazane su mikrografije snimljene SEM-om na kojima je vidljivo kako površina nastalih kristala nije glatka, a nastali kristali su nepravilnog oblika.



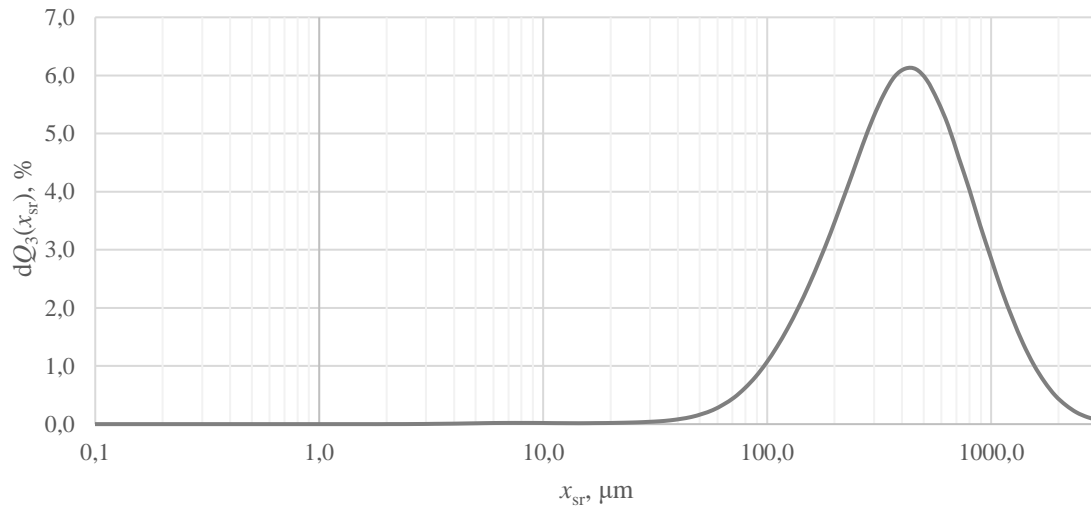
Slika 10. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 1, snimljene stereo mikroskopom.



Slika 11. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 1, snimljene SEM-om.

Na slici 12 vidi se raspodjela veličina čestica dobivenih eksperimentom 1 koja je monomodalna, a najučestalija veličina čestica je između 400 µm i 450 µm. Iz tablice 8 se može isčitati da širina

raspodjele veličina čestica iznosi 6,668, što karakterizira praške sa širokom raspodjelom. Bez obzira na dobivenu unimodalnu raspodjelu veličina kristala, ovaj eksperiment se smatra neuspjelim.



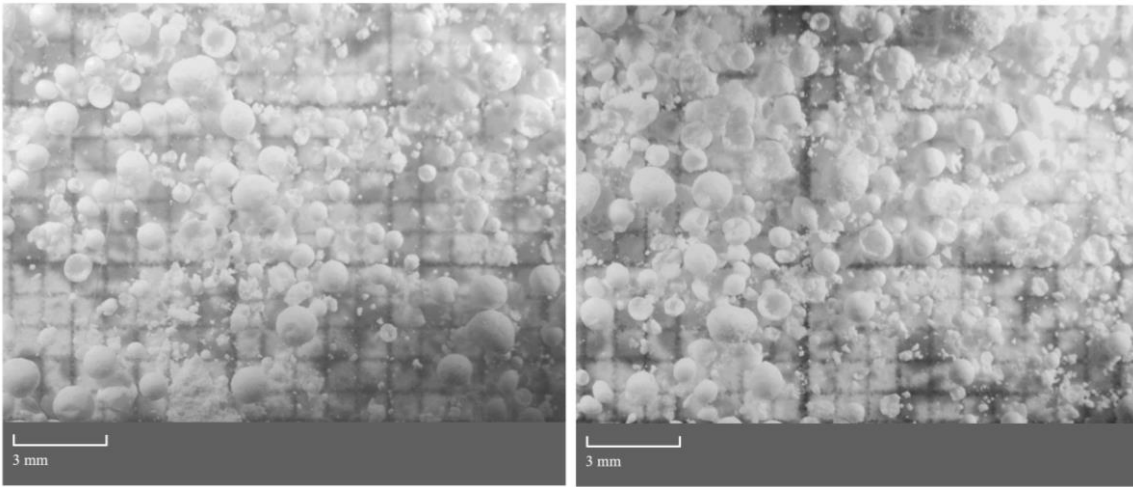
Slika 12. Grafički prikaz raspodjele veličina čestica dobivenih eksperimentom 1.

Tablica 8. Prikaz kvantila x_{10} , x_{50} , x_{90} i širine raspodjele veličina čestica za eksperiment 1.

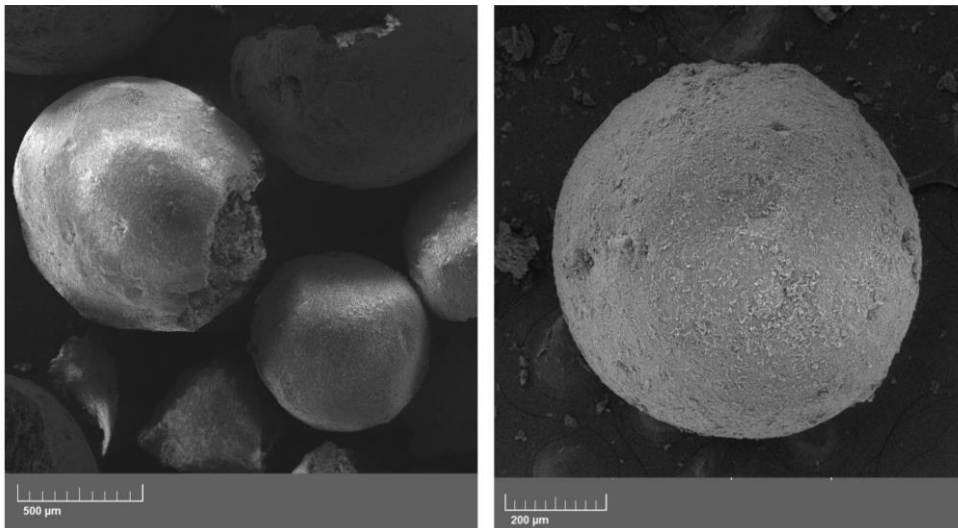
$x_{10}, \mu\text{m}$	$x_{50}, \mu\text{m}$	$x_{90}, \mu\text{m}$	S
141,748	386,947	945,248	6,668

4.2.2. Eksperiment 2

Mikrografije snimljene stereo mikroskopom dane su slikom 13. Mogu se uočiti kristali pravilnog sferičnog oblika različitih veličina, od 500 μm pa sve do 1 mm. Neki kristali izgledaju kao da su presječeni, do takvog loma može doći prilikom filtracije, sušenja ili pripreme uzorka za mikroskopiranje. Unutrašnjost im je šuplja, što je i bilo za očekivati s obzirom da se sferični kristali tvore od površine prema unutrašnjosti. Slika 14 prikazuje mikrografije snimljene SEM-om. Vidljivo je kako je površina kristala glatka s manjim nepravilnostima kao što su rupe ili izbočine na površini, dok unutrašnjost izgleda neravnije, hrapavije.

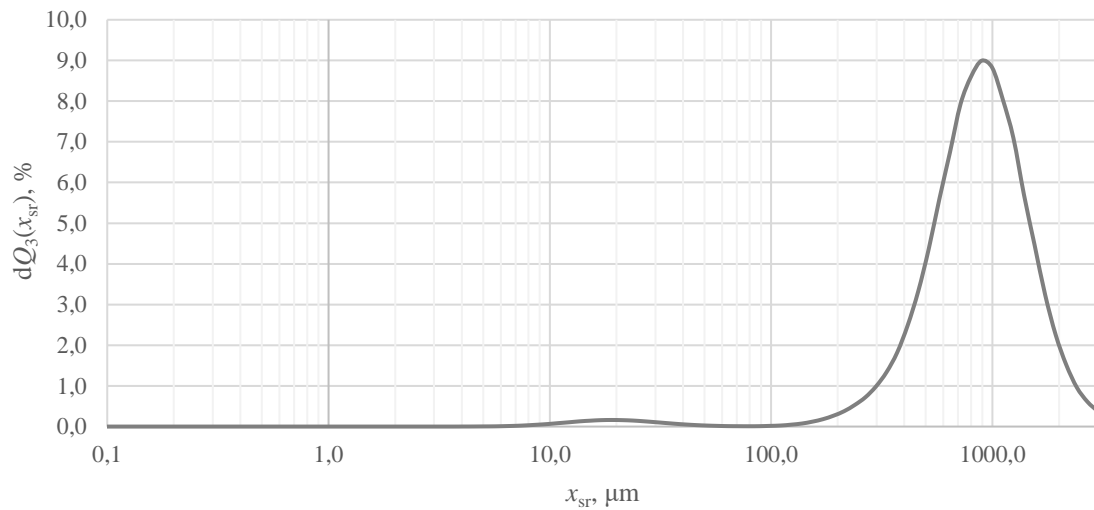


Slika 13. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 2, snimljene stereo mikroskopom.



Slika 14. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 2, snimljene SEM-om.

Slika 15 prikazuje bimodalnu raspodjelu veličina čestica, iako je maksimum u području sitnijih čestica znatno manji od drugoga te se može zanemariti jer se u tom rasponu veličina nalaze lomovi kristala i prašak nastao odvajanjem kristala od filter papira. Najučestalija veličina čestica očitana je na 900 μm . U tablici 9 je navedena širina raspodjele koja iznosi 3,833, što znači da je raspodjela čestica srednje širine.



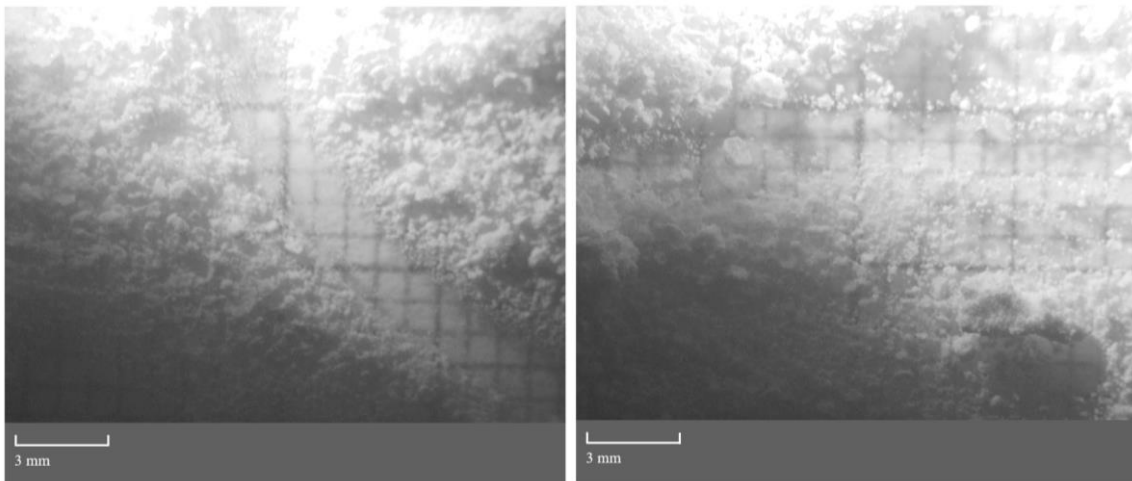
Slika 15. Grafički prikaz raspodjele veličina čestica dobivenih eksperimentom 2.

Tablica 9. Prikaz kvantila x_{10} , x_{50} , x_{90} i širine raspodjele veličina čestica za eksperiment 2.

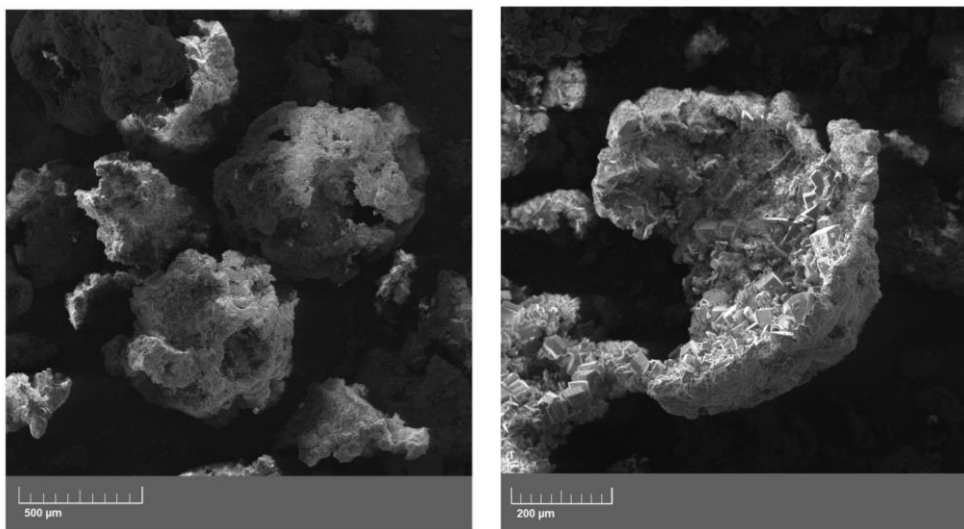
$x_{10}, \mu\text{m}$	$x_{50}, \mu\text{m}$	$x_{90}, \mu\text{m}$	S
399,516	828,014	1531,452	3,833

4.2.3. Eksperiment 3

Kristali nastali eksperimentom 3 nisu sferičnog oblika, kao što je prikazano na slici 11. Raznih su veličina i oblika s izostankom onih kristala koji su sferični. Površina kristala je hrapava, nehomogena i s rupama. Vidljiva je aglomeracija manjih kristala ceritiniba u jedan aglomerat kojeg karakteriziraju izbočenja i udubljenja (slika 16). Osim aglomerata, na mikrografijama su vidljivi sitni neaglomerirani kristali, što prikazuje i krivulja raspodjele veličine kristala (slika 17).



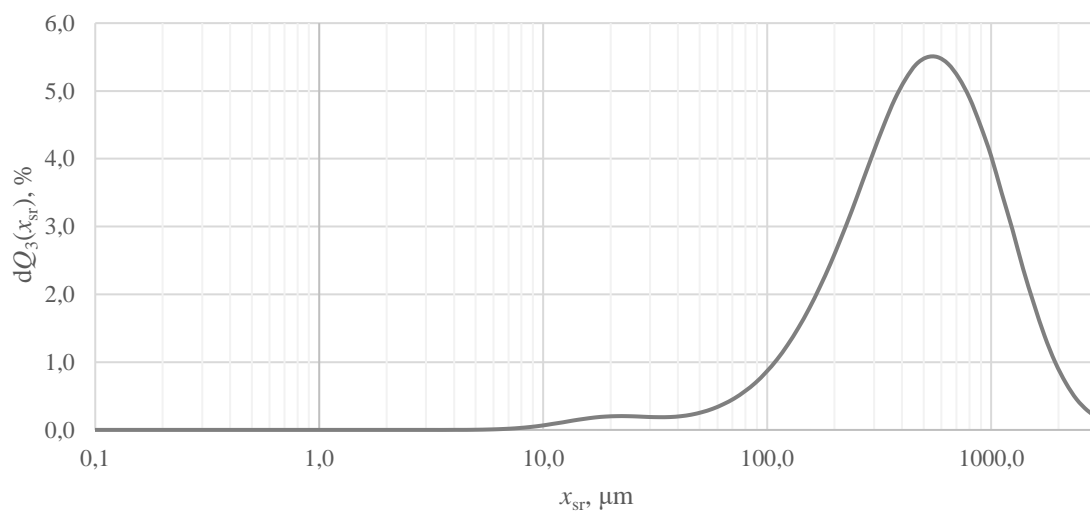
Slika 16. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 3, snimljene stereo mikroskopom.



Slika 17. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 3, snimljene SEM-om.

Kristali dobiveni eksperimentom 3 karakterizirani su monomodalnom raspodjelom veličina čestica, s najučestalijom veličinom kristala srednjeg promjera između 500 µm i 600 µm, što je

vidljivo na slici 18. Izračunata širina raspodjele iznosi 8,525 (tablica 10) čime se svrstava u raspon širokih raspodjela.



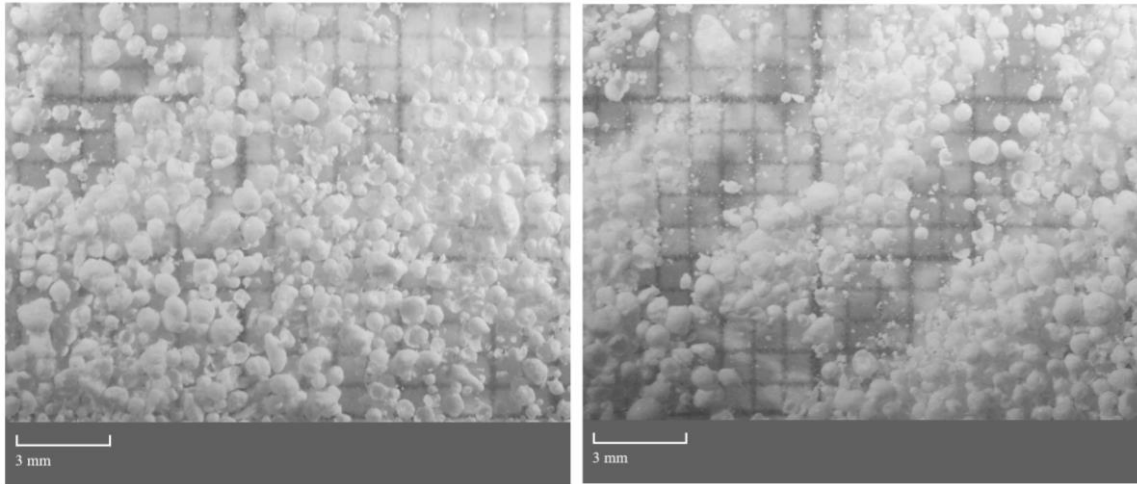
Slika 18. Grafički prikaz raspodjele veličina čestica dobivenih eksperimentom 3.

Tablica 10. Prikaz kvantila x_{10} , x_{50} , x_{90} i širine raspodjele veličina čestica za eksperiment 3.

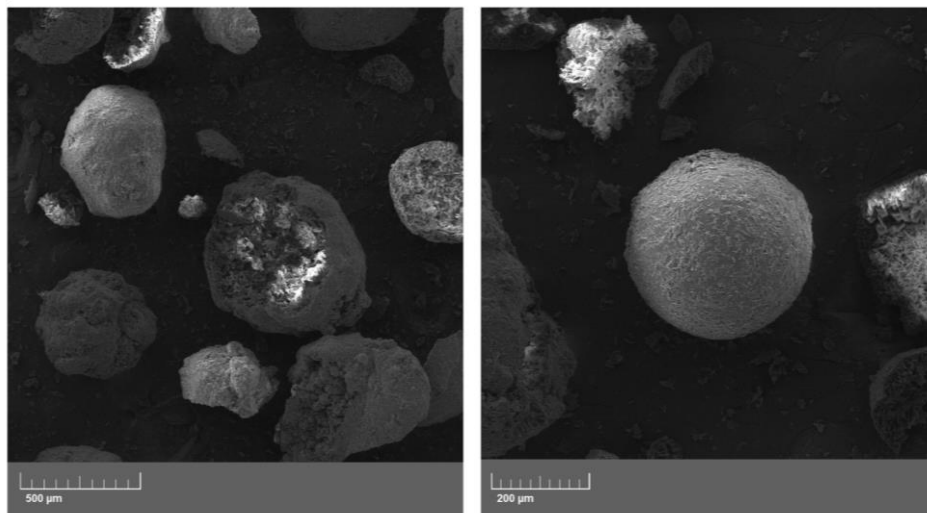
$x_{10}, \mu\text{m}$	$x_{50}, \mu\text{m}$	$x_{90}, \mu\text{m}$	S
137,878	461,402	1175,476	8,525

4.2.4. Eksperiment 4

Kristali dobiveni eksperimentom 4 različitih su oblika i veličina, no prevladavaju sferični kristali (slika 19). Neki sferični kristali su izduženi, dok je kod nekih površina nejednolika s udubinama i izbočenjima, a uočljivi su i polomljeni kristali kojima je unutrašnjost šuplja. Na slici 20 može se potvrditi raznolikost oblika kristala, no i prisutnost pravilnih sferičnih kristala kojima je površina glatka i homogena, bez rupa.



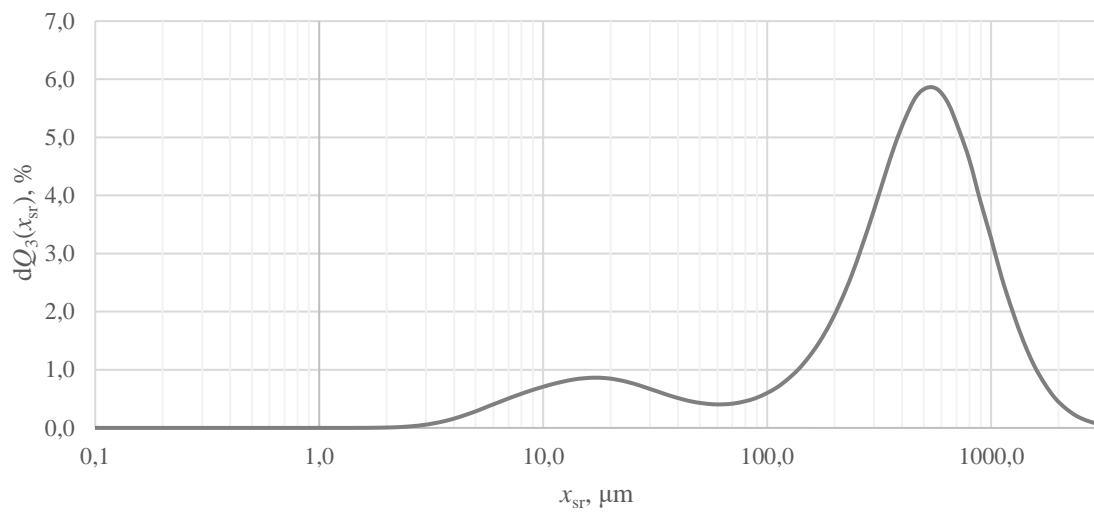
Slika 19. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 4, snimljene stereo mikroskopom.



Slika 20. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 4, snimljene SEM-om.

Raspodjela veličina čestica za eksperiment prikazana je slikom 21 gdje se vidi da je ona bimodalna. Najučestalija veličina čestica je između 500 i 600 μm . Izračunato je da širina raspodjele S iznosi 46,218 (tablica 11) što raspodjelu čini vrlo širokom. Bez obzira na

bimodalnu raspodjelu, sitne čestice su također u obliku sfera te se dio raspodjele sitnijih čestica ne odnosi na dijelove koji su ostali van sfera ili odlomljene dijelove čestica.



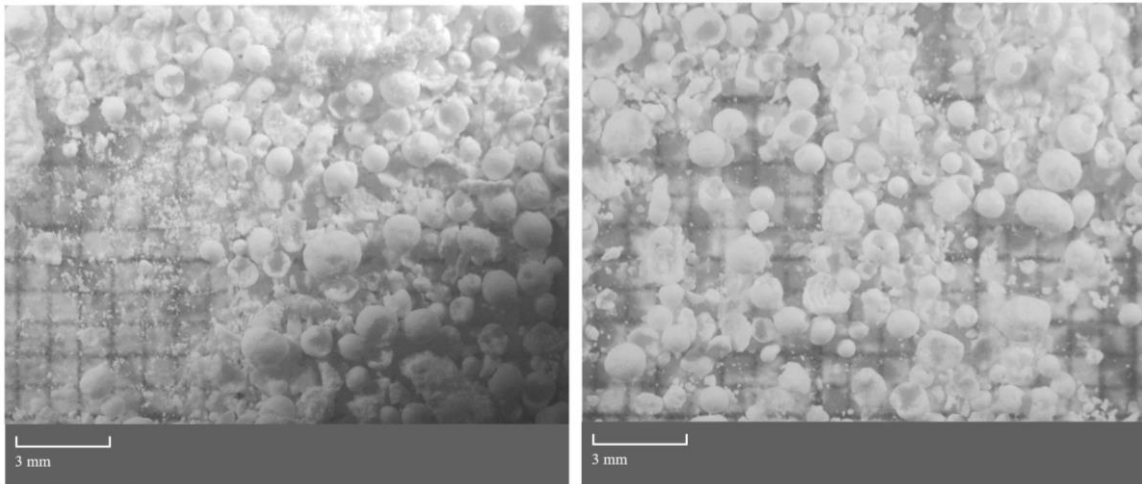
Slika 21. Grafički prikaz raspodjele veličina čestica dobivenih eksperimentom 4.

Tablica 11. Prikaz kvantila x_{10} , x_{50} , x_{90} i širine raspodjele veličina čestica za eksperiment 4.

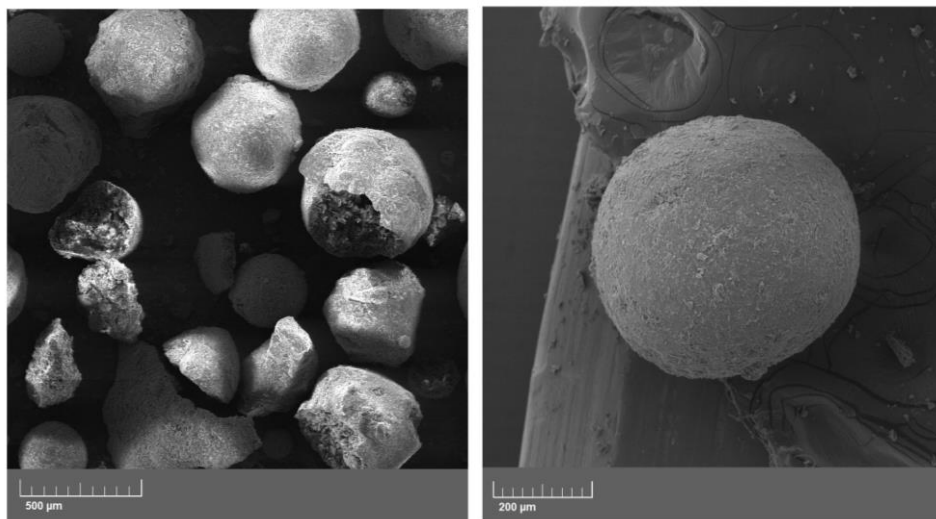
$x_{10}, \mu\text{m}$	$x_{50}, \mu\text{m}$	$x_{90}, \mu\text{m}$	S
21,102	407,155	975,310	46,218

4.2.5. Eksperiment 5

Oblici i veličine kristala dobivenih eksperimentom 5 su raznoliki (slika 22). Vidljivi su pravilni, sferični kristali, no ima i kristala koji su izduženi i veći te onih koji su polomljeni. Veličina im se kreće od ispod 500 μm pa sve do 1,5 mm. Kristali su šuplji, a onima koji su idealnog, sferičnog oblika, površina je glatka i homogena (slika 23). Veliki dio čestica ostao je neaglomeriran.



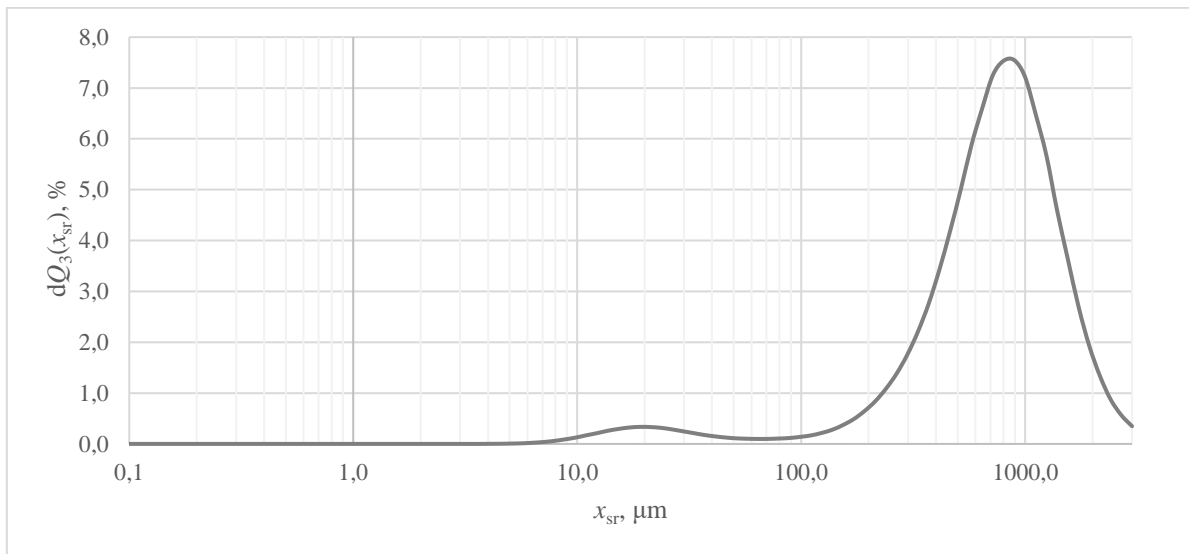
Slika 22. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 5, snimljene stereo mikroskopom.



Slika 23. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 5, snimljene SEM-om.

Raspodjela veličina čestica nastalih eksperimentom 5 je bimodalna (slika 24), no prvi maksimum krivulje je u području veličina koje odgovaraju krhotinama kristala i prahu koji mogu nastati uslijed svakog koraka procesa, od filtracije, pa sve do skladištenja uzorka ili

uzorkovanja. Najučestalije čestice su srednjeg promjera između 800 i 900 μm , a širina raspodjele, S , dana u tablici 12 iznosi 5,532, čime je svrstana u široku.



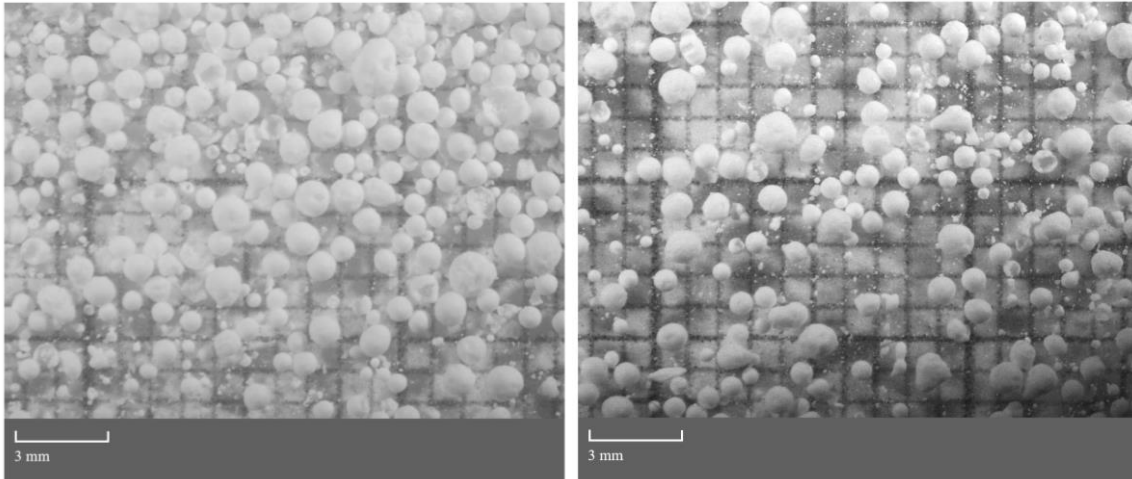
Slika 24. Grafički prikaz raspodjele veličina čestica dobivenih eksperimentom 5.

Tablica 12. Prikaz kvantila x_{10} , x_{50} , x_{90} i širine raspodjele veličina čestica za eksperiment 5.

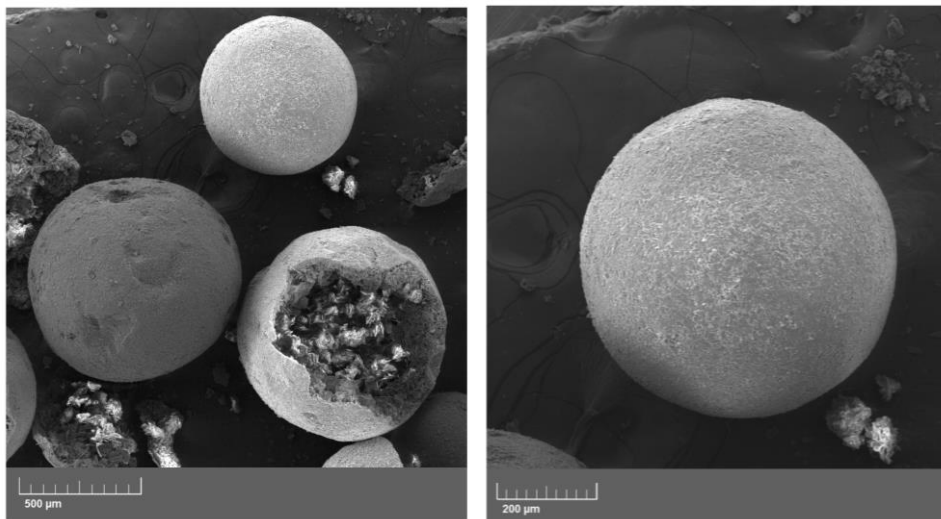
$x_{10}, \mu\text{m}$	$x_{50}, \mu\text{m}$	$x_{90}, \mu\text{m}$	S
265,979	727,856	1471,461	5,532

4.2.6. Eksperiment 6

Eksperimentom 6 dobiveni su kristali sferičnog oblika (slika 25). Kristali su različitih promjera, postoje oni kojima je promjer ispod 500 μm , a prisutni su i veći kristali od preko 1,5 mm. Unutrašnjost kristala je djelomično ispunjena, što je vidljivo na slici 26, no površinski sloj kristala je deblji te ne djeluje krhko. Površina je glatka i homogena, bez prisutnosti udubljenja. Mali dio kristala je ostao neaglomeriran.

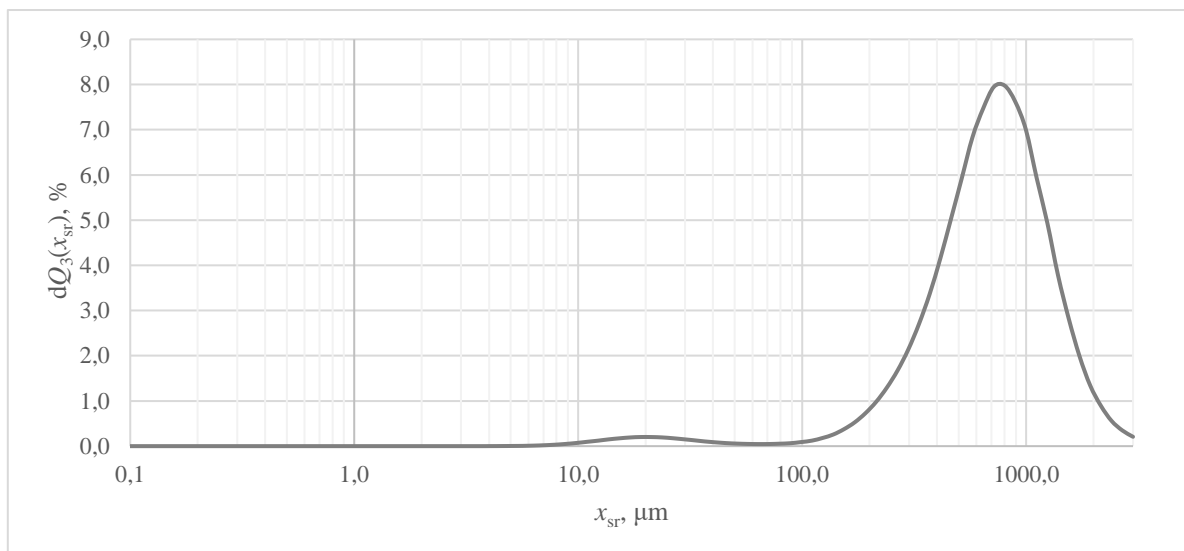


Slika 25. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 6, snimljene stereo mikroskopom.



Slika 26. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 6, snimljene SEM-om.

Raspodjela veličina čestica nastalih eksperimentom 6 je bimodalna (slika 27). S obzirom na raspon veličina prvog maksimuma, može se zaključiti kako tamo spadaju manje čestice koje nastaju lomom kristala. Najučestalija veličina kristala je promjera 750 μm , a širina raspodjele je široka s iznosom od 4,671 (tablica 13).



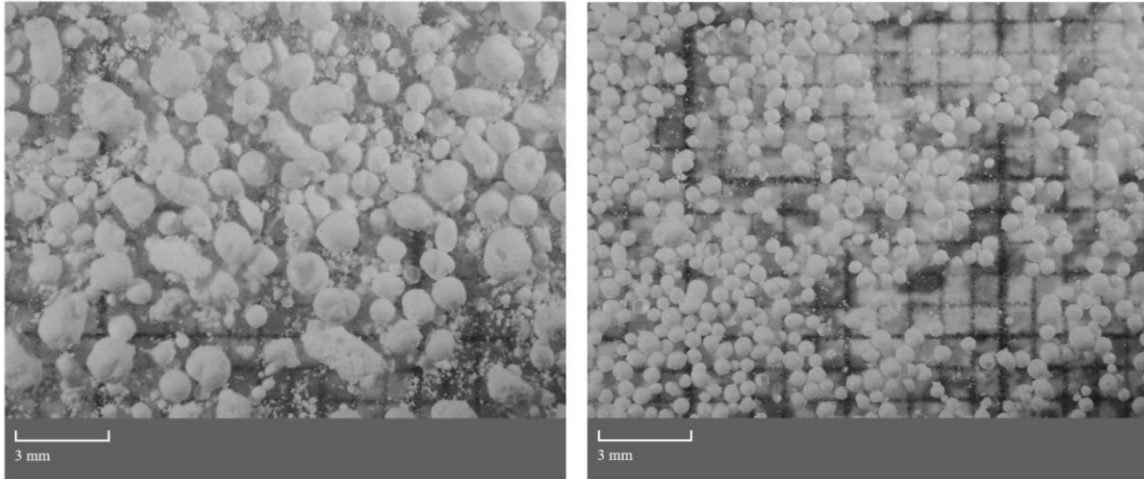
Slika 27. Grafički prikaz raspodjele veličina čestica dobivenih eksperimentom 6.

Tablica 13. Prikaz kvantila x_{10} , x_{50} , x_{90} i širine raspodjele veličina čestica za eksperiment 6.

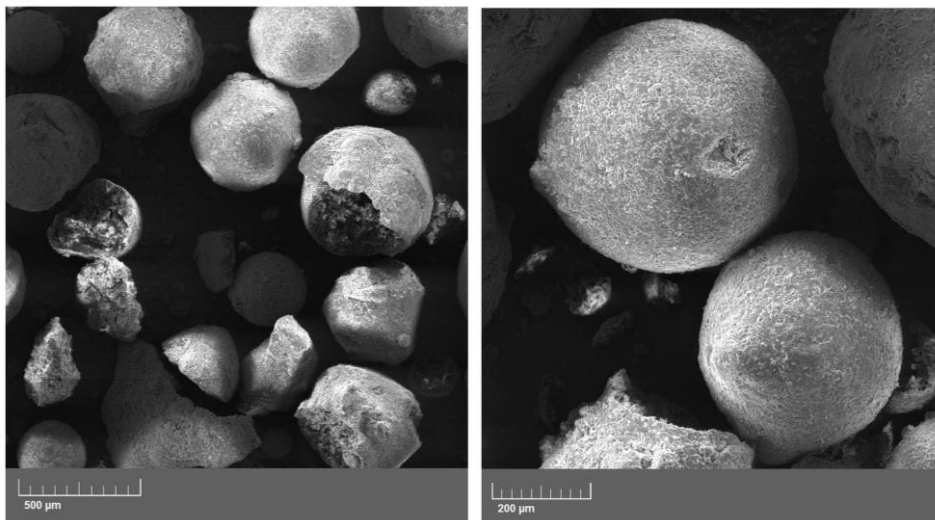
x_{10} , μm	x_{50} , μm	x_{90} , μm	S
284,279	676,721	1327,913	4,671

4.2.7. Eksperiment 7

Slikom 28 dane su mikrografije nastale stereo mikroskopom gdje se vidi da su kristali različitih veličina. Veći kristali su nepravilnijeg sferičnog oblika (izduženi su), dok su kristali promjera manjeg od 1 mm pravilnog sferičnog oblika. Na mikrografijama snimljenim SEM-om (slika 29) uočljive su izbočine na površini kristala i gdje koje udubljenje na kristalu.

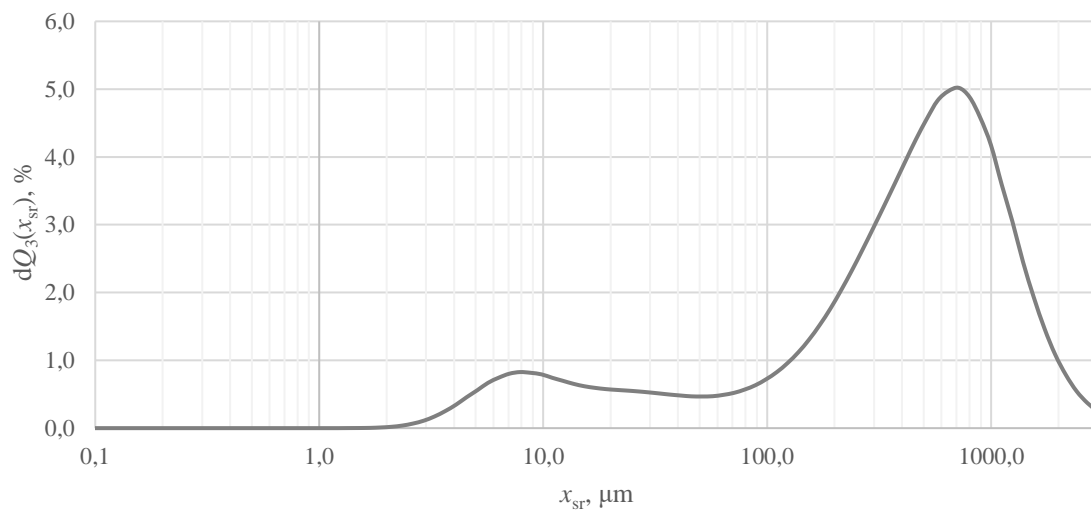


Slika 28. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 7, snimljene stereo mikroskopom.



Slika 29. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 7, snimljene SEM-om.

Raspodjela veličina čestica dobivenih eksperimentom 7 je bimodalna s najučestalijom veličinom čestica srednjeg promjera 700 μm (slika 30). Širina raspodjele je jako široka, $S=71,028$ (tablica 14).



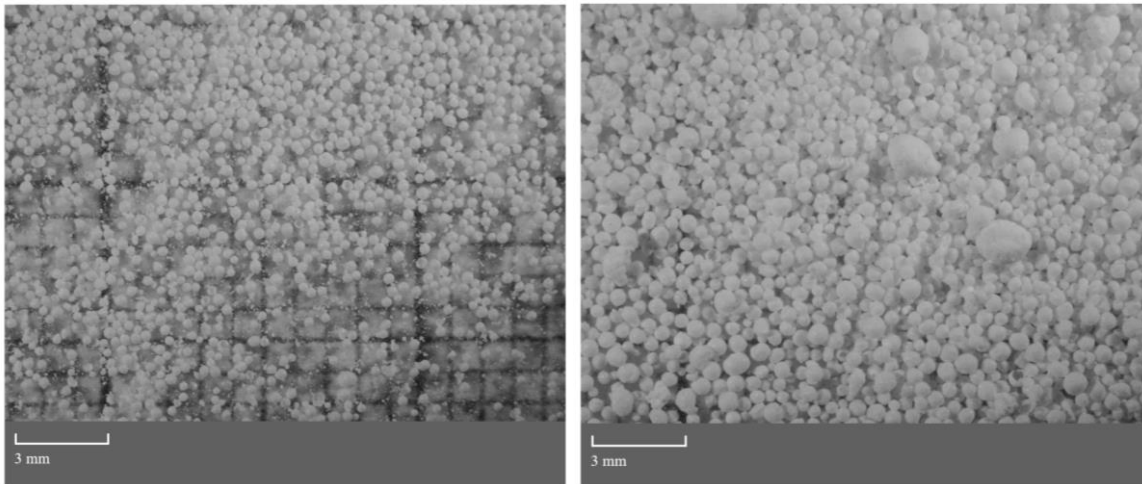
Slika 30. Grafički prikaz raspodjele veličina čestica dobivenih eksperimentom 7.

Tablica 14. Prikaz kvantila x_{10} , x_{50} , x_{90} i širine raspodjele veličina čestica za eksperiment 7.

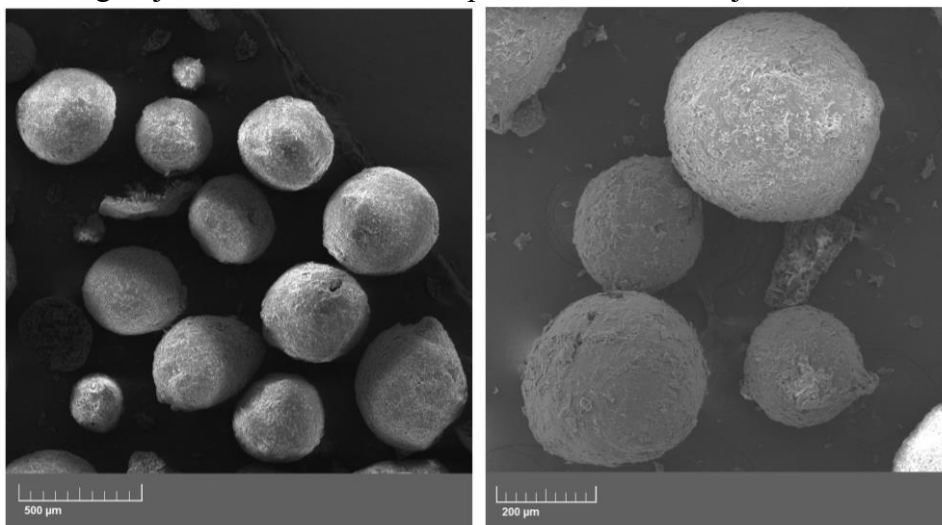
$x_{10}, \mu\text{m}$	$x_{50}, \mu\text{m}$	$x_{90}, \mu\text{m}$	S
17,058	449,636	1211,575	71,028

4.2.8. Eksperiment 8

U ovom eksperimentu dobiveni su najsitniji kristali u usporedbi s ostalim eksperimentima (slika 31). Svi kristali su pravilnog sferičnog oblika, no mogu se primijetiti veći kristali koji su nepravilnijeg oblika. SEM-om (slika 32) je utvrđeno da je površina nastalih kristala glatka i homogena, bez izraženih udubljenja, no neki kristali su veliki i nepravilni što ukazuje na nastanak većih kapljica tijekom miješanja, što onda rezultira većim sferama.



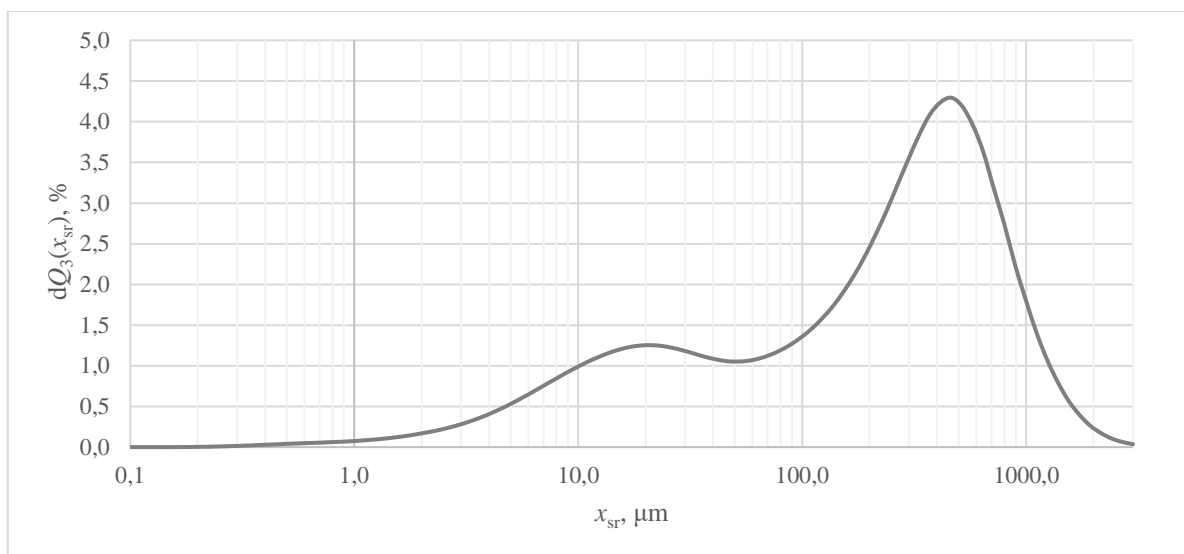
Slika 31. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 8, snimljene stereo mikroskopom.



Slika 32. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 8, snimljene SEM-om.

Raspodjela veličina čestica je bimodalna za eksperiment 8, što je i bilo za očekivati s obzirom na analizu mikrografija. Naime, mikrografije pokazuju veliki udio sitnijih, sferičnih kristala. Najučestalija veličina čestica je srednjeg promjera 450 µm (slika 33). Tablicom 15 su prikazani rezultati analize širine raspodjele koja iznosi 70,470 čime spada pod vrlo široku raspodjelu. Iako u ovom eksperimentu nastaju uglavnom pravilne sfere, raspodjela veličina čestica je vrlo

široka što može ukazivati na loše hidrodinamičke uvjete. Naime, broj okretaja miješala bio je konstantan za sve ispitane omjere otapala, iako se fizikalna svojstva sustava mijenjaju s promjenom udjela udjela pojedinog otapala.



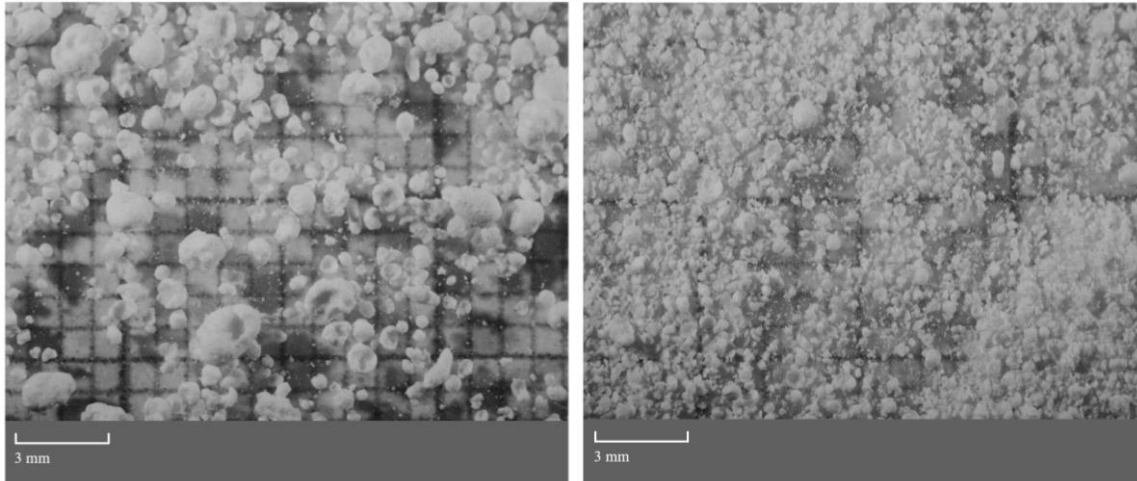
Slika 33. Grafički prikaz raspodjele veličina čestica dobivenih eksperimentom 8.

Tablica 15. Prikaz kvantila x_{10} , x_{50} , x_{90} i širine raspodjele veličina čestica za eksperiment 8.

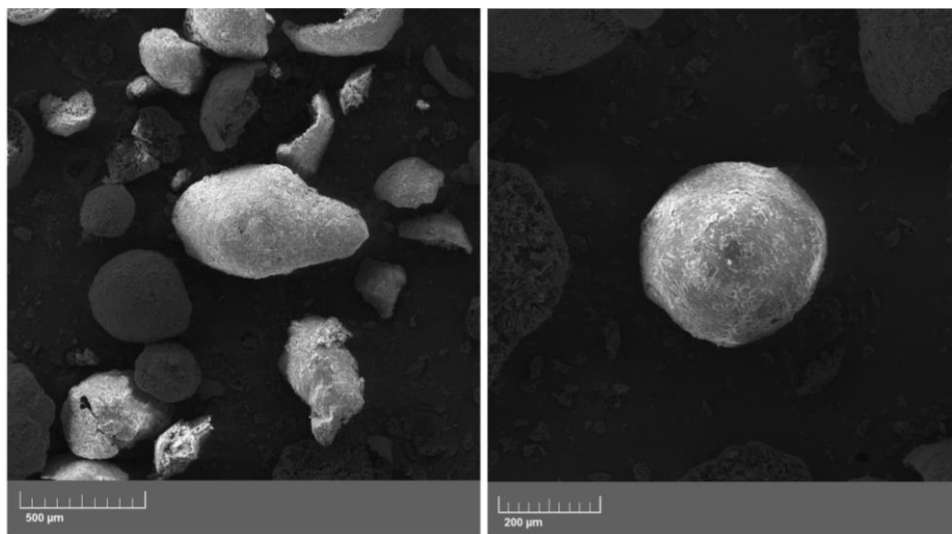
x_{10} , μm	x_{50} , μm	x_{90} , μm	S
10,908	237,554	768,659	70,470

4.2.9. Eksperiment 9

Eksperiment 9 proveden je pod jednakim uvjetima kao i eksperiment 4. Na slici 34 se vidi da su, kao i kod eksperimenta 4, kristali različitih veličina i oblika uz prisutnost manjeg broja kristala koji su pravilnog sferičnog oblika (slika 35). Kristali koji su pravilnog oblika imaju glatku površinu bez udubljenja ili izbočenja.

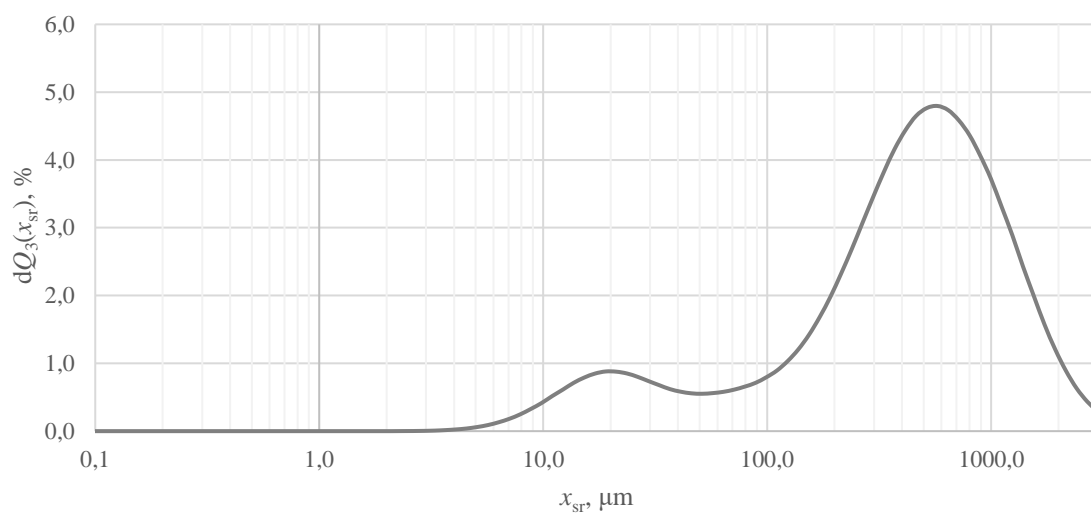


Slika 34. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 9, snimljene stereo mikroskopom.



Slika 35. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 9, snimljene SEM-om.

Kao i kod eksperimenta 4, raspodjela veličina čestica dobivenih eksperimentom 9 je bimodalna (slika 36), a širina raspodjele iznosi 36,521 (tablica 16), stoga se svrstava pod jako široku. Najučestalija veličina čestica je srednjeg promjera između 500 i 600 μm , kao i kod eksperimenta 4, što dovodi do zaključka da su eksperimentom 9 potvrđeni rezultati eksperimenta 4.



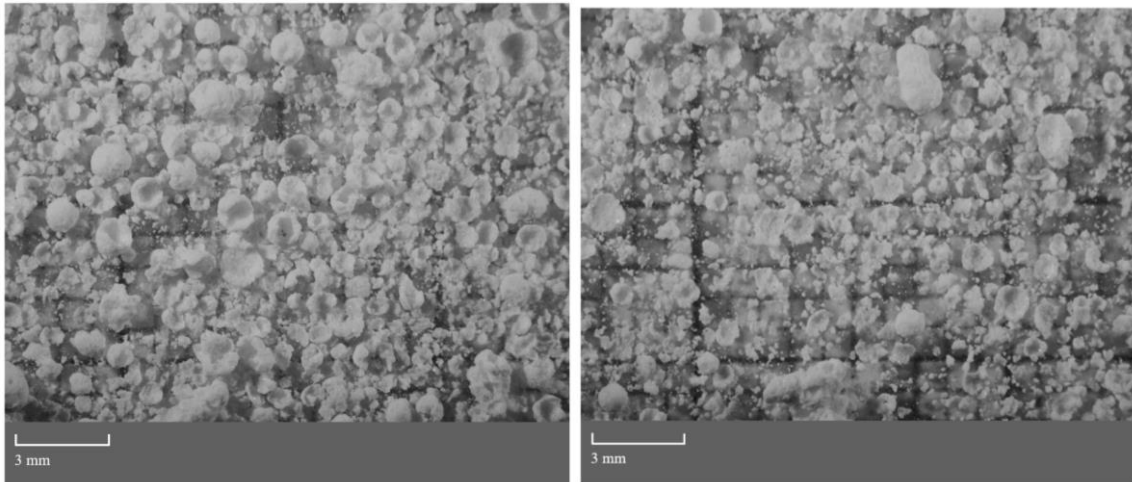
Slika 36. Grafički prikaz raspodjele veličina čestica dobivenih eksperimentom 9.

Tablica 16. Prikaz kvantila x_{10} , x_{50} , x_{90} i širine raspodjele veličina čestica za eksperiment 9.

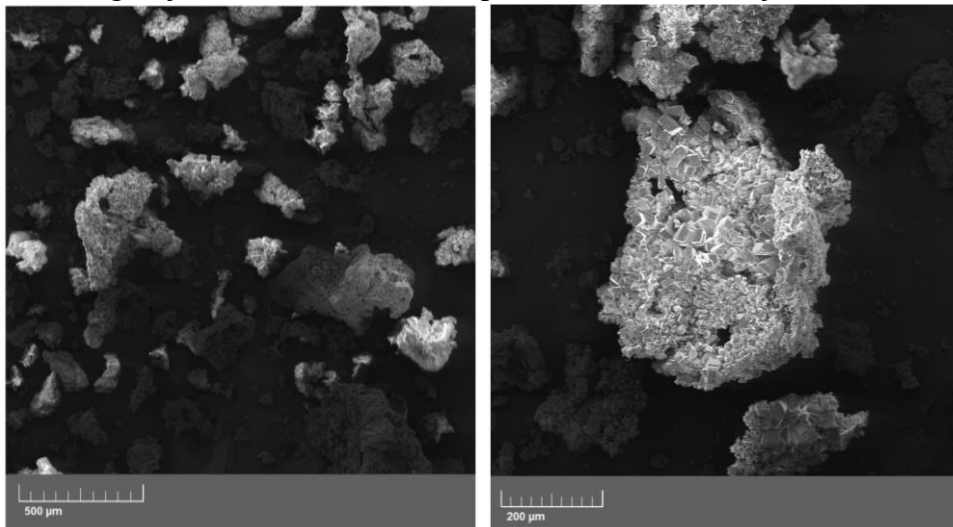
$x_{10}, \mu\text{m}$	$x_{50}, \mu\text{m}$	$x_{90}, \mu\text{m}$	S
33,893	431,971	1237,809	36,521

4.2.10. Eksperiment 10

Slikama 37 i 38 su prikazane mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 10. Već je na slici 37 vidljivo kako su kristali različitih veličina i oblika, a sferični kristali koji su nastali su polomljeni, što znači da su vrlo krhki. Isto tako, unutrašnjost im je šuplja, dok je površina, vidljiva na slici 38, neravna s udubljenjima i izbočenjima.

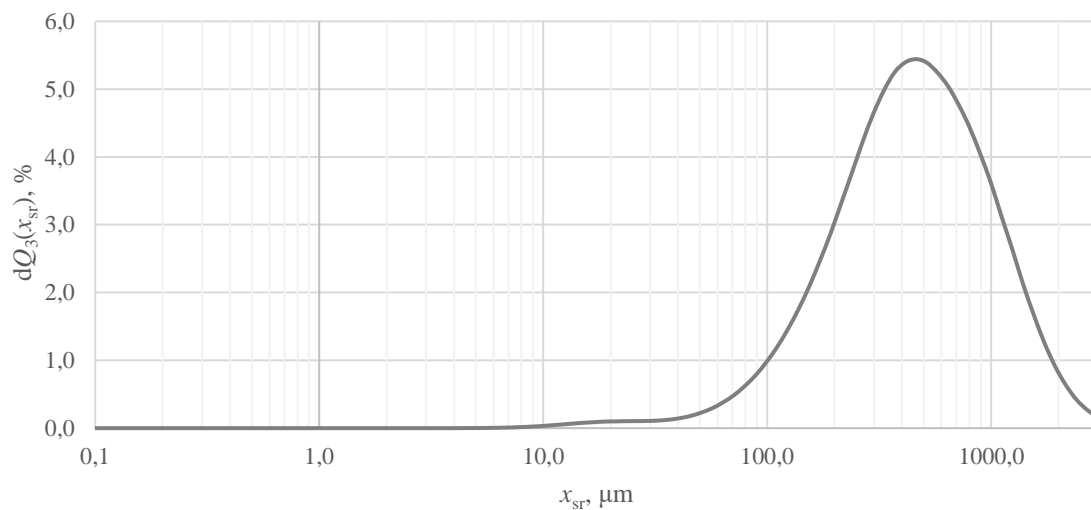


Slika 37. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 10, snimljene stereo mikroskopo



Slika 38. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 10, snimljene SEM-om.

Raspodjela veličina čestica eksperimenta 10 je monomodalna, s najučestalijom veličinom čestica između 400 i 500 μm . (slika 39) U tablici 17 je prikazana izračunata vrijednost širine raspodjele S koja iznosi 8,035, dakle raspodjela je široka.



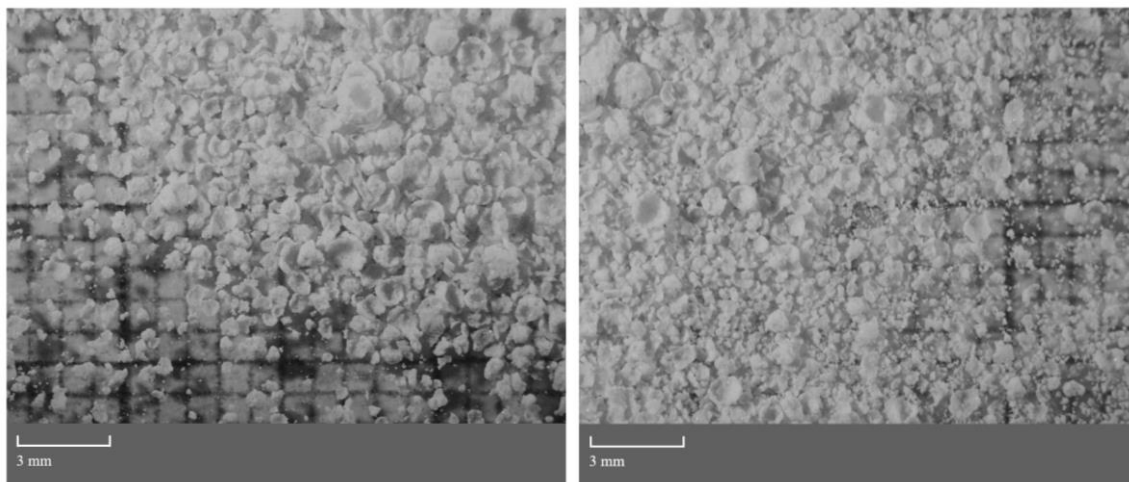
Slika 39. Grafički prikaz raspodjele veličina čestica dobivenih eksperimentom 10.

Tablica 17. Prikaz kvantila x_{10} , x_{50} , x_{90} i širine raspodjele veličina čestica za eksperiment 10.

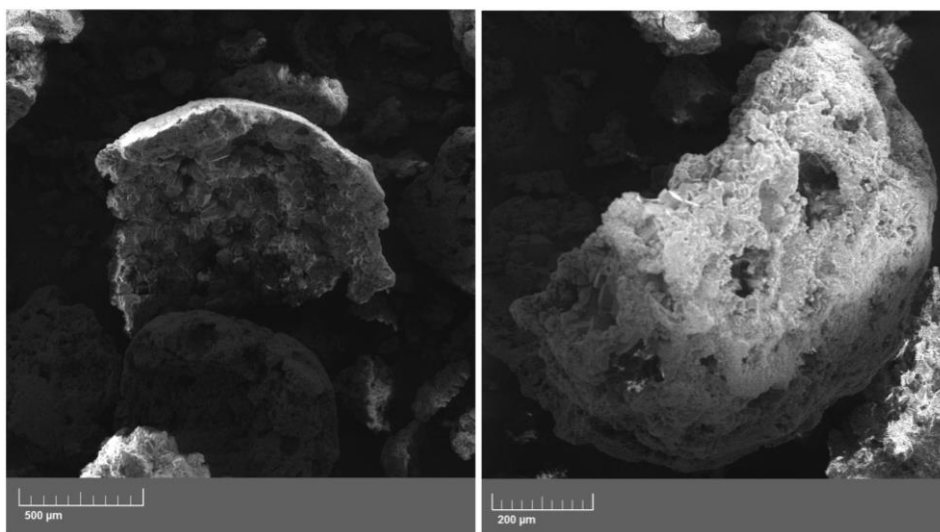
$x_{10}, \mu\text{m}$	$x_{50}, \mu\text{m}$	$x_{90}, \mu\text{m}$	S
140,287	425,988	1127,166	8,035

4.2.11. Eksperiment 11

Eksperiment 11 proveden je s jednakim volumnim udjelom otapala, antiotapala i kapljevine za premoštenje kao i eksperiment 10. Kristali su različitih veličina i oblika, sličnih karakteristika poput eksperimenta 10, no kristali su puno manjih dimenzija (slike 40 i 41).

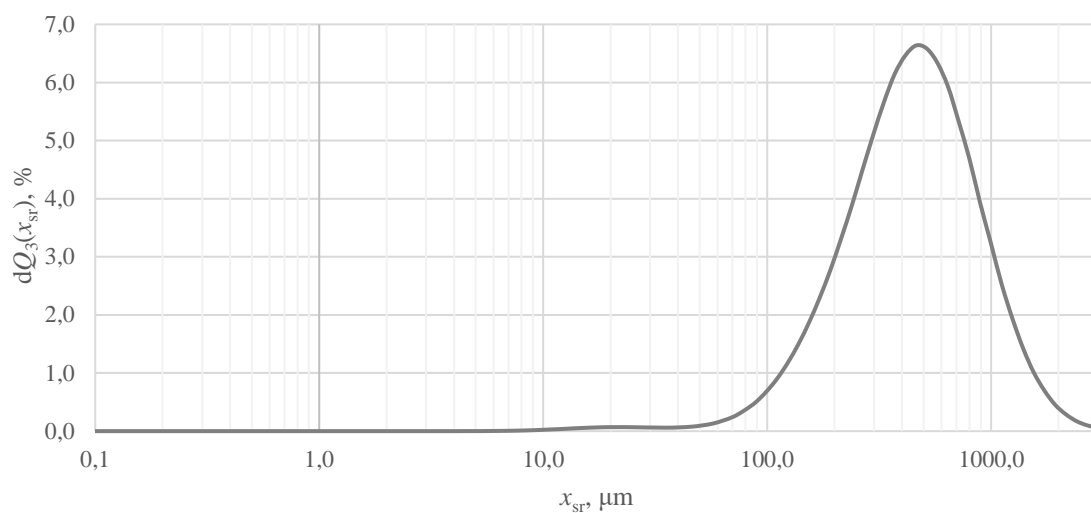


Slika 40. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 11, snimljene stereo mikroskopom.



Slika 41. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 11, snimljene SEM-om.

Isto kao i kod eksperimenta 10, raspodjela veličina čestica je monomodalna (slika 42), a najučestalija veličina čestica je promjera između 400 i 500 μm . Širina raspodjele S je nešto manja, iznosi 5,790 (tablica 18), no i dalje se svrstava pod široku raspodjelu.



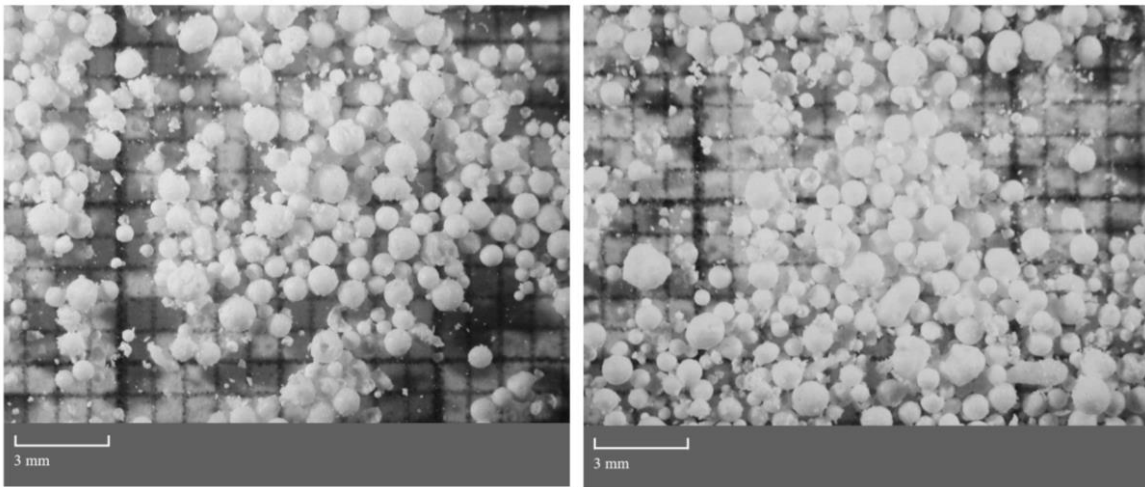
Slika 42. Grafički prikaz raspodjele veličina čestica dobivenih eksperimentom 11.

Tablica 18. Prikaz kvantila x_{10} , x_{50} , x_{90} i širine raspodjele veličina čestica za eksperiment 11.

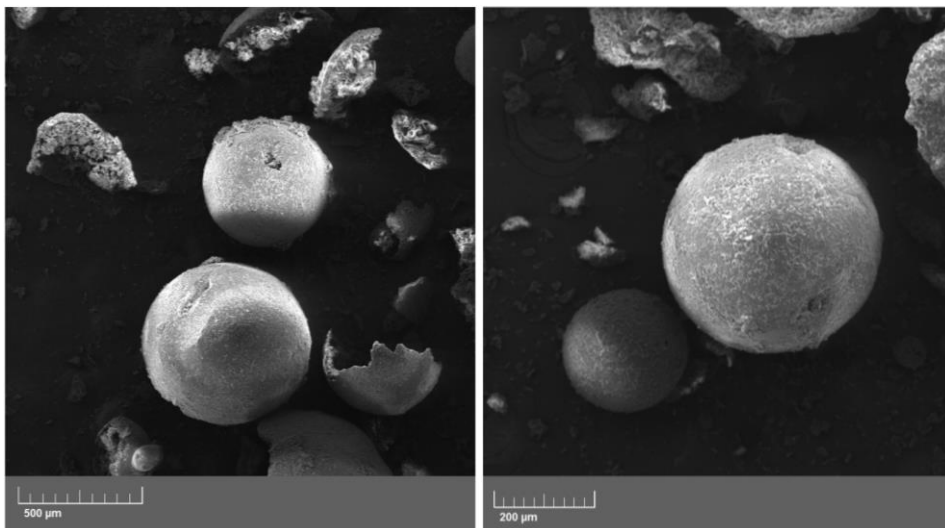
$x_{10}, \mu\text{m}$	$x_{50}, \mu\text{m}$	$x_{90}, \mu\text{m}$	S
165,272	423,665	956,893	5,790

4.2.12. Eksperiment 12

Kristali nastali eksperimentom 12 su pravilnog sferičnog oblika, različitih veličina u rasponu od 200 μm pa sve do veličine od otprilike 1,5 mm (slika 43). Na mikrografijama snimljenim SEM-om (slika 44) može se vidjeti površina kristala koja je glatka, no na nekim sferama prisutna su udubljenja i rupe, a ima i deformiranih sfera s izbočenjima. Do takvih deformacija može doći prilikom filtracije, kada su sferični kristali još mokri. Vidljivi su i lomovi sferičnih kristala iz kojih se može zaključiti da su sferični kristali šuplji i krhki. Površina kristala je glatka i homogena.



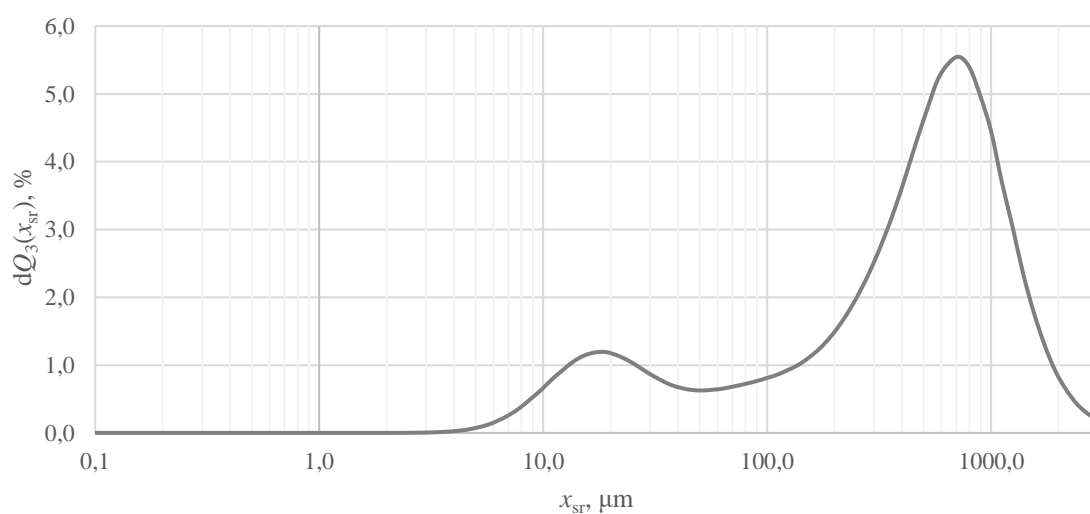
Slika 43. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 12, snimljene stereo mikroskopom.



Slika 44. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 12, snimljene SEM-om.

Raspodjela veličina čestica eksperimenta 12 je bimodalna (slika 45), a najučestalija veličina čestica je 700 μm . Širina raspodjele iznosi 53,339 (tablica 19), što znači da su čestice nastale

pod uvjetima zadanim za eksperiment 12 karakterizirane jako širokom raspodjelom veličina čestica.



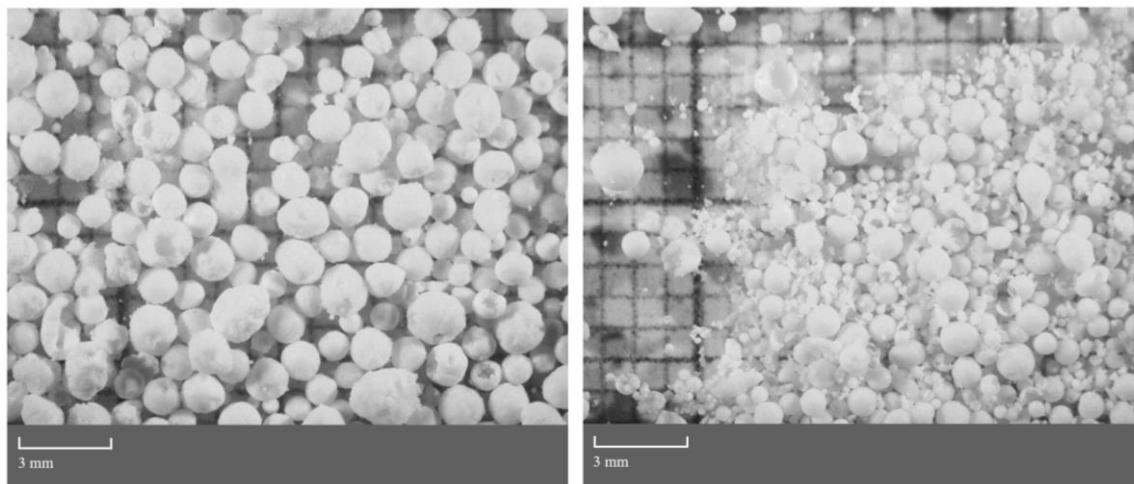
Slika 45. Grafički prikaz raspodjele veličina čestica dobivenih eksperimentom 12.

Tablica 19. Prikaz kvantila x_{10} , x_{50} , x_{90} i širine raspodjele veličina čestica za eksperiment 12.

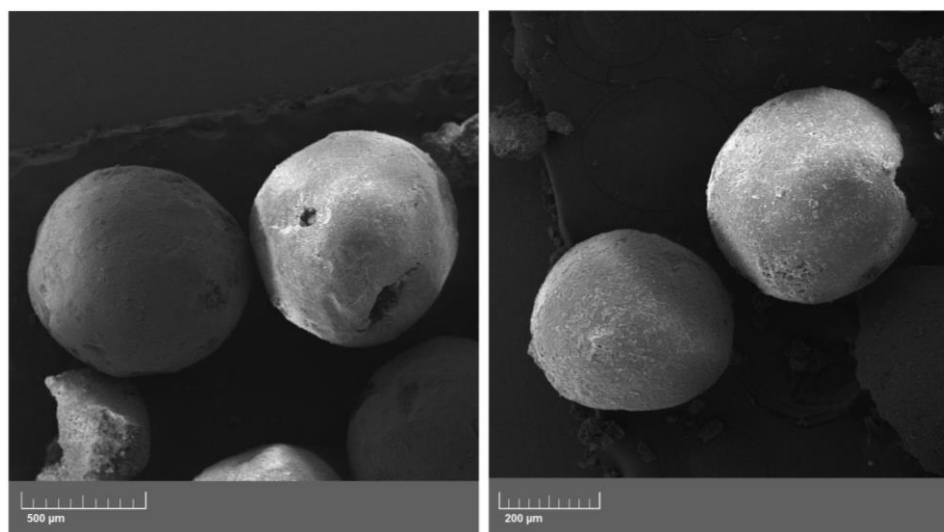
$x_{10}, \mu\text{m}$	$x_{50}, \mu\text{m}$	$x_{90}, \mu\text{m}$	S
21,865	470,029	1166,265	53,339

4.2.13. Eksperiment 13

Kristali nastali eksperimentom 13 su sferičnog oblika (slika 46). Primjetan je i prah koji nastaje lomljenjem sferičnih kristala i prilikom odvajanja kristala od filter papira. Veličine sferičnih kristala su u rasponu od 0,2 do 1,5 mm, a na slici 47 se može vidjeti i površina kristala koja je glatka i homogena, ali na nekim kristalima postoje deformacije poput udubljenja ili rupa.

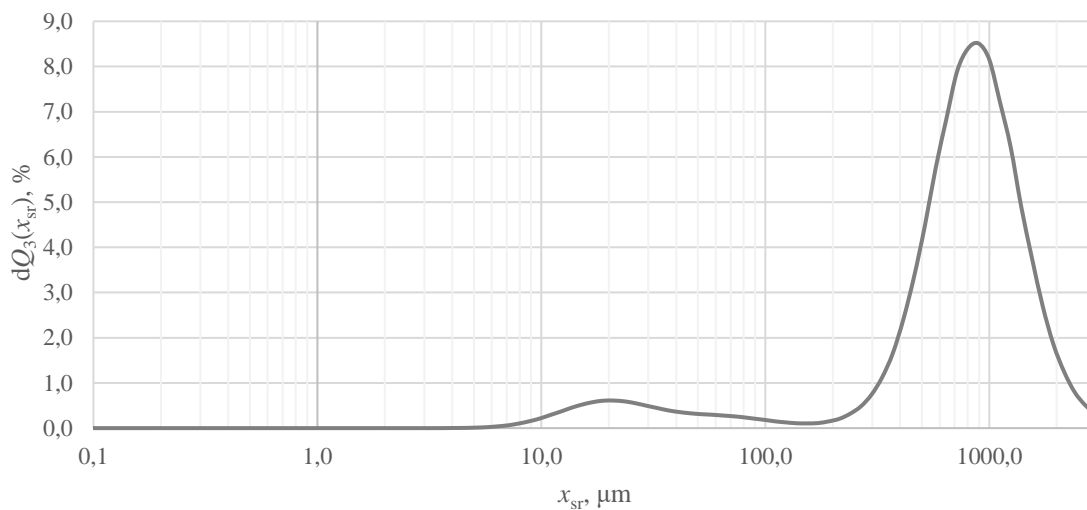


Slika 46. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 13, snimljene stereo mikroskopom.



Slika 47. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 13, snimljene SEM-om.

Raspodjela veličina čestica je bimodalna (slika 48), a najučestalija veličina čestica je između 800 i 900 μm . Širina raspodjele iznosi 6,648 (tablica 20) što znači da kristali nastali eksperimentom 13 imaju široku raspodjelu.



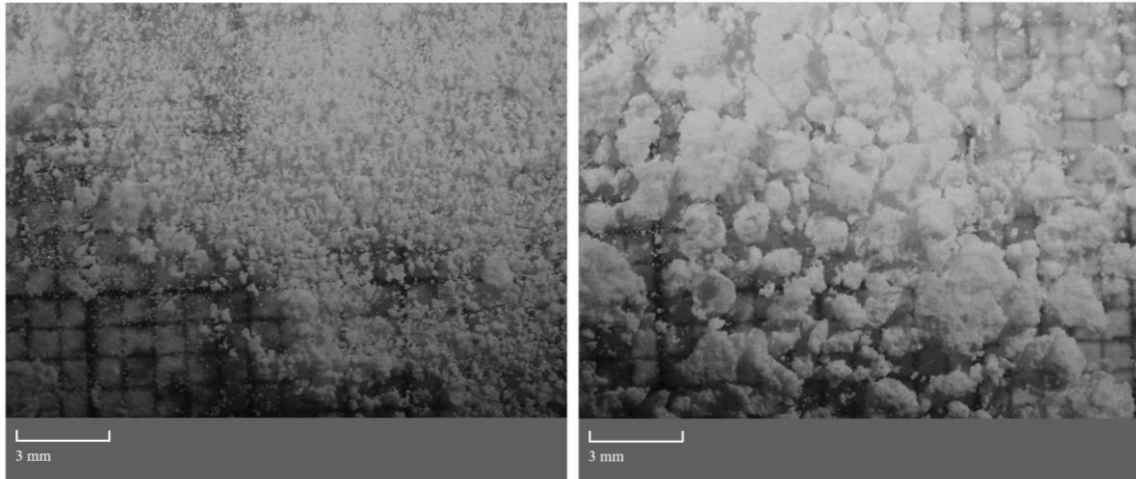
Slika 48. Grafički prikaz raspodjele veličina čestica dobivenih eksperimentom 13.

Tablica 20. Prikaz kvantila x_{10} , x_{50} , x_{90} i širine raspodjele veličina čestica za eksperiment 13.

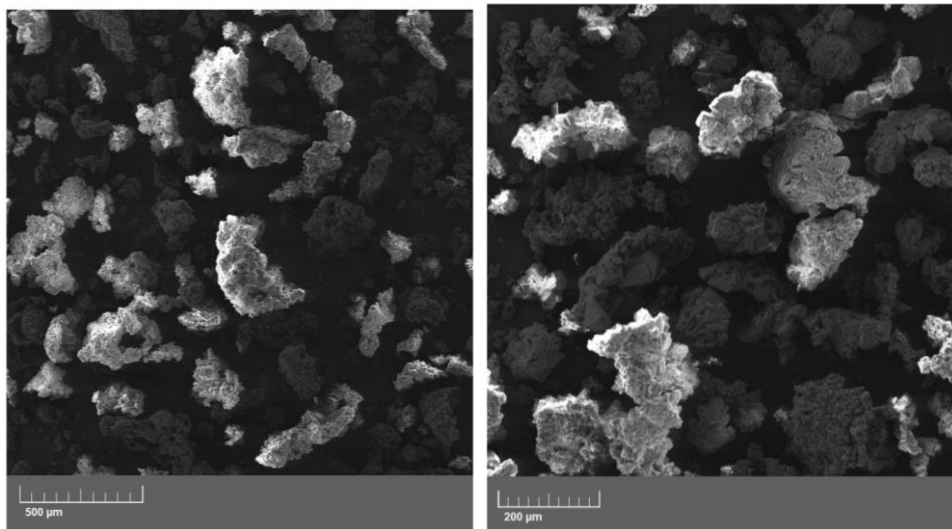
$x_{10}, \mu\text{m}$	$x_{50}, \mu\text{m}$	$x_{90}, \mu\text{m}$	S
219,141	767,331	1456,838	6,648

4.2.14. Eksperiment 14

Eksperiment 14 proveden je pod jednakim uvjetima i omjerima otapala kao i eksperiment 3. Vidljivo je (slika 49), kao i kod eksperimenta 3, da u uzorku izostaju kristali koji su sferičnog oblika, dakle oblici kristala su raznoliki s raznolikim veličinama. Površine kristala su nejednolike s puno udubljenja i izbočenja (slika 50).

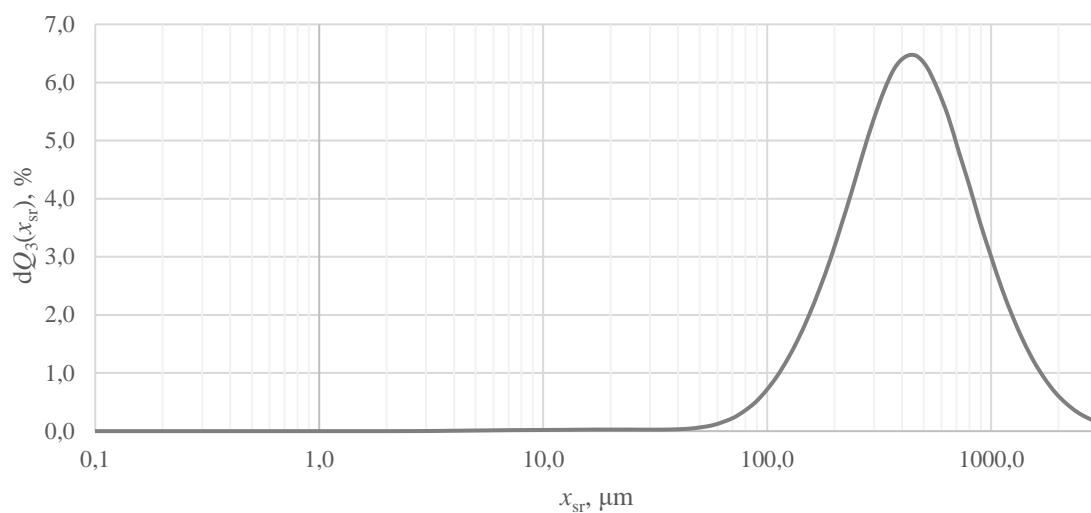


Slika 49. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 14, snimljene stereo mikroskopom.



Slika 50. Mikrografije kristala dobivenih eksperimentom 14, snimljene SEM-om.

Raspodjela veličina čestica nastalih eksperimentom 14 je monomodalna (slika 51), s najučestalijom veličinom od 450 µm, a širina raspodjele iznosi 6,099 (tablica 21) čime ju se svrstava u široku raspodjelu, isto kao i eksperiment 3.



Slika 51. Grafički prikaz raspodjele veličina čestica dobivenih eksperimentom 14.

Tablica 21. Prikaz kvantila x_{10} , x_{50} , x_{90} i širine raspodjele veličina čestica za eksperiment 14.

$x_{10}, \mu\text{m}$	$x_{50}, \mu\text{m}$	$x_{90}, \mu\text{m}$	S
165,344	413,013	1008,415	6,099

4.3. Odabir najboljih eksperimenata u svrhu uvećanja procesa

Kako je daljnji tijek istraživanja uvećanje procesa sferične kristalizacije ceritiniba, potrebno je odabrati sustave koji pokazuju najbolja granulometrijska svojstva.

Eksperimenti 1, 3, 10, 11 i 14 ne zadovoljavaju svojstvo sferičnosti kristala, stoga se odmah odbacuju kao mogući sustavi za uvećanje procesa. Navedenim eksperimentima je zajednički udio zasićene otopine ceritiniba u THF-u koji je najmanji od svih provedenih eksperimenata i iznosi 7 %, što ukazuje na prenisko postavljanje donje granice prilikom dizajniranja eksperimenta. Eksperimenti 3 i 14 imaju najveći omjer između udjela heptana i zasićene otopine ceritiniba u THF-u, čime se može zaključiti da suvišak heptana naspram ceritiniba ne pogoduje nastanku sferičnih kristala ceritiniba jer su čestice previše vlažne da bi aglomerirale u veće kristale. Eksperimenti 10 i 11 provedeni su uz najveći udio vodene otopine PVP-a, dok heptana ima vrlo malo, 5 %. Kako drugi eksperimenti (7 i 13) koji su provedeni s jednakim udjelom heptana pokazuju povoljnije rezultate, zaključuje se da je u navedenom sustavu previše vodene otopine PVP-a s obzirom na nizak udio zasićene otopine ceritiniba u THF-u. Svi navedeni eksperimenti imaju široku raspodjelu veličina čestica, a željeni oblik kristala nije postignut.

Pri ostalim eksperimentima (2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 13) nastaju kristali sferičnog oblika. Eksperimentima 4, 5, 7, 9 i 12 dobiveni su većinom sferični kristali različitih veličina, a uz njih mogu se uočiti i kristali koji odstupaju od sferičnog oblika. Osim toga, eksperimenti 4, 7, 9 i 12 pokazuju jako široku, bimodalnu raspodjelu veličina čestica, stoga je odlučeno da se uvjeti u kojima su provedeni eksperimenti 4, 5, 7, 9 i 12 neće koristiti za uvećanje procesa.

U eksperimentima 2, 6, 8 i 13 nastaju kristali najveće zaobljenosti te su uvjeti pri kojima su provedeni ovi eksperimenti odabrani za provedbu uvećanja procesa. Eksperiment 2 ima najužu raspodjelu veličina čestica od svih eksperimenata, no ona spada u srednje široku raspodjelu. Eksperimenti 6 i 3 daju kristale široke raspodjele veličina čestica. Eksperimentom 8 nastaju kristali jako široke raspodjele veličina čestica, ali su oni najpravilnijeg sferičnog oblika.

Vidljivo je da dolazi do nelogičnosti između rezultata sferičnosti kristala i raspodjele veličine čestica. Najbolji rezultat sferičnosti, koja je primarni kriterij uspješnosti provedbe eksperimenata, vidljiv je kod eksperimenta 8, a isti kristali su karakterizirani drugom najširokom raspodjelom veličina čestica, što nije poželjno. Prijedlog rješenja ovog problema je prosijavanje čestica kroz sito kako bi se sitniji sferični kristali odvojili od većih, dodatno podešavanje hidrodinamičkih uvjeta te povećanje brzine dodatka zasićene otopine THF u vodu.

4.4. Zaobljenost kristala

Zaobljenost kristala odziv je provedenih eksperimenata dizajniranih u *Design Expertu*. Rezultati zaobljenosti dobiveni digitalnom analizom mikrografija prikazani su u tablici 22. Kada se zaobljenost računa prema izrazu (2), dobivene vrijednosti moraju biti u rasponu od 0 do 1. Što je vrijednost zaobljenosti bliža 1, to je čestica, odnosno kristal zaobljeniji²⁶, pa se prema tome može zaključiti da je najveća zaobljenost postignuta eksperimentom 8, a iznosi 0,89. S druge strane, najlošija zaobljenost kristala je pri eksperimentima 1 i 11 te iznosi 0,53.

Tablica 22. Rezultati digitalne analize mikrografija.

Eksperiment	Zaobljenost
1	0,53
2	0,78
3	0,56
4	0,77
5	0,72
6	0,83
7	0,74
8	0,89
9	0,77
10	0,60
11	0,53
12	0,81
13	0,84
14	0,54

4.5. Analiza dizajna eksperimenta

Regresijskom analizom u *Design Expert*-u odabran je specijalni kvadratni model Scheffé kao model koji najbolje opisuje odnos ulaznih varijabli (udjela otapala) i odziva (zaobljenosti). Jednadžba modela glasi:

$$R = 0,56\varphi_1 + 0,84\varphi_2 - 1,20\varphi_3 - 0,58\varphi_1\varphi_2 + 3,88\varphi_1\varphi_3 + 3,4\varphi_2\varphi_3 - 3,39\varphi_1^2\varphi_2\varphi_3 - 14,56\varphi_1\varphi_2^2\varphi_3 + 23,07\varphi_1\varphi_2\varphi_3^2 \quad (3)$$

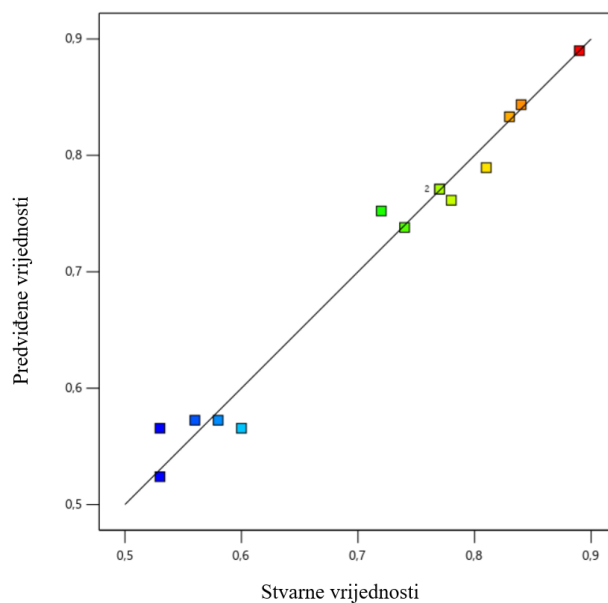
gdje je R zaobljenost, φ_1 volumni udio vodene otopine PVP-a, φ_2 volumni udio heptana i φ_3 volumni udio zasićene otopine ceritiniba u THF-u.

Program provodi analizu varijance kako bi se utvrdio značaj modela nad eksperimentalnim podacima, a rezultati su prikazani u tablici 22. Prilikom odabira modela potrebno je obratiti pozornost na F i p vrijednosti modela i procjene neprikladnosti modela. F -vrijednost modela mora biti veća od 5, dok p -vrijednost modela mora biti manja od 0,05 kako bi model za provedene eksperimente bio značajan. Suprotno tome, za procjene neprikladnosti modela F -vrijednost mora biti manja od 5, dok p -vrijednost mora biti veća od 0,05. Prema tablici 23 je vidljivo da su ti kriteriji zadovoljeni.

Tablica 23. Analiza varijance.

	F-vrijednost	p-vrijednost
Model	27,37	0,0010
Procjena neprikladnosti modela	1,07	0,4469

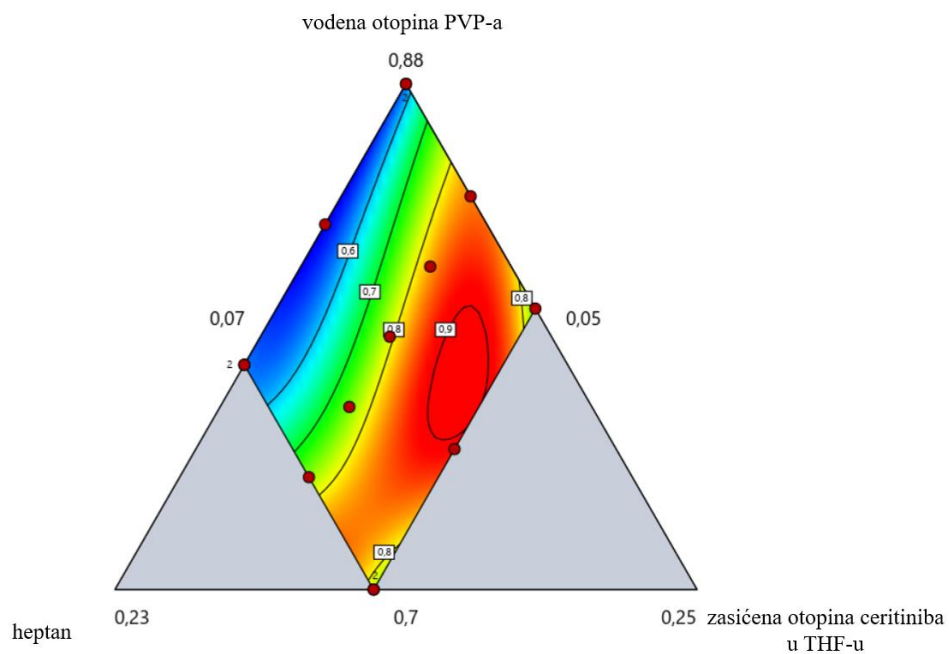
Korelacijski faktor, R^2 za navedeni model iznosi 0,9777, što ukazuje na značajno podudaranje eksperimentalnih podataka s modelom (slika 52).



Slika 52. Odnos modela i eksperimentalnih podataka.

4.6. Optimizacija

Slikom 53 prikazano je područje ternarnog dijagrama za koji su provedeni eksperimenti. Crvene točke označuju udjele otapala za svaki provedeni eksperiment. Narančastom bojom označeno je područje u ternarnom dijagramu kojeg program nudi kao optimalno za provedbu eksperimenta u odabranom sustavu.



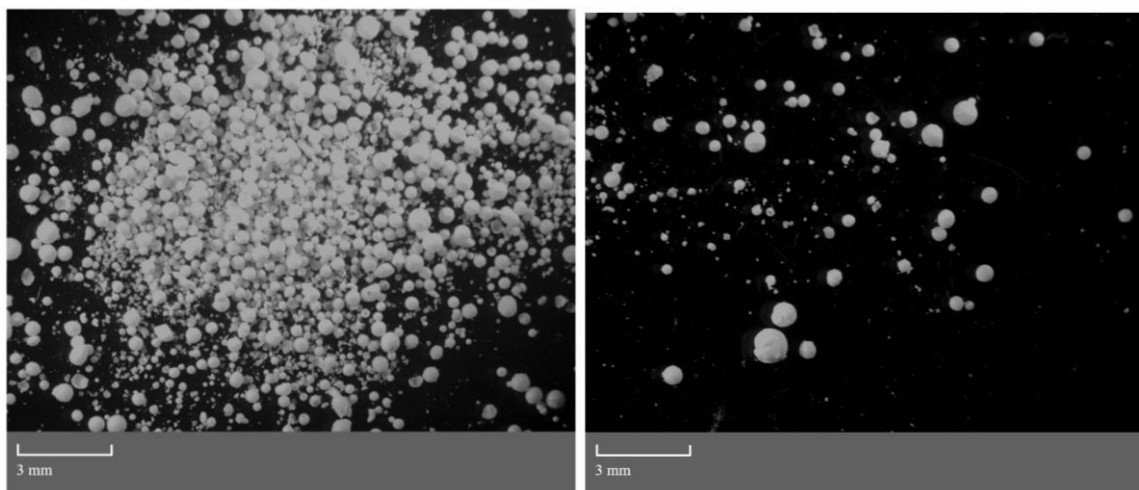
Slika 53. Područje ternarnog dijagrama u kojemu su provedeni eksperimenti.

U *Design Expert*-u provedena je optimizacija tako da je zadana ciljana vrijednost zaobljenosti 1. Osim ciljane vrijednosti, unesene su i granične vrijednosti zaobljenosti pa je tako poželjna minimalna vrijednost postavljena na 0,9, dok je maksimalna vrijednost 1. Program izbacuje dva rješenja optimizacije (tablica 24), a najbolje je ono s najvećom predviđenom vrijednošću zaobljenosti. S obzirom da je predviđena zaobljenost rješenja 1 bliža vrijednosti idealne zaobljenosti od rješenja 2, proveden je eksperiment s tim sustavom otapala.

Tablica 24. Rješenja optimizacije dobivena *Design Expert*-om.

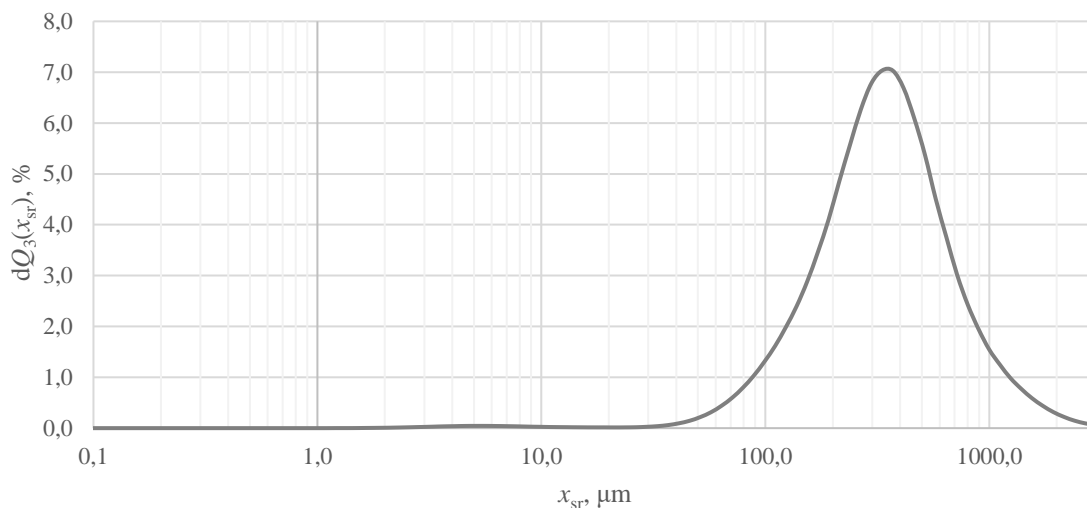
Rješenje	Volumni udio vodene otopine PVP-a, %	Volumni udio heptana, %	Volumni udio zasićene otopine CRT u THF-u, %	Predviđena zaobljenost
1	77,5	8,5	14,0	0,92
2	76,3	8,7	15,0	0,90

Mikrografija kristala dobivenih rješenjem 1 nalazi se na slici 54. Svi kristali nastali ovim eksperimentom pravilnog su, sferičnog oblika. Prema presjecima kristala koji su nastali lomom može se zaključiti da su sferični kristali šuplji. Veličine kristala su raznolike, od ispod 0,25 mm pa sve do 1 mm.



Slika 54. Mikrografija sferičnih kristala dobivenih rješenjem 1, snimljeno stereo mikroskopom.

Raspodjela veličina čestica je monomodalna, kao što se vidi na slici 55. Najučestalija veličina čestica je između 300 μm i 400 μm . Širina raspodjele iznosi 5,856, što znači da rješenjem 2 nastaju kristali široke raspodjele (tablica 25).



Slika 55. Grafički prikaz raspodjele veličina čestica dobivenih rješenjem 1.

Tablica 25. Prikaz kvantila x_{10} , x_{50} , x_{90} i širine raspodjele veličina čestica za rješenje 1.

x_{10} , μm	x_{50} , μm	x_{90} , μm	S
127,572	319,110	747,057	5,856

4.7. Potvrda modela

Digitalna analiza mikrografija (slika 54) snimljenih optičkim mikroskopom ponovno je provedena u programu *ImageJ* te je prema izrazu (2) dobivena zaobljenost za rješenje 1 i iznosi 0,91. Relativna pogreška između vrijednosti zaobljenosti dobivene eksperimentom i predviđene vrijednosti iznosi 1,09 %, što dovodi do zaključka da je sustav za provedbu proces sferične kristalizacije ceritiniba uspješno dizajniran, modeliran i optimiziran.

5. ZAKLJUČAK

Provedeno je ispitivanje utjecaja udjela vodene otopine PVP-a, heptana i zasićene otopine ceritiniba u THF-u. Eksperimenti su dizajnirani u softverskom programu *Design Expert* gdje je dobiveno 14 eksperimenata različitih udjela otapala.

Analizom mikrografija zaključeno je kako su kristali najpravilnijeg sferičnog oblika dobiveni eksperimentom 8, a uz njega za uvećanje procesa odabrani su eksperimenti 2, 6 i 13. Eksperimenti 4, 5, 7, 9 i 12 daju kristale sferičnog oblika, no prisutni su izduženi i deformirani kristali koji odstupaju od željenog oblika. Eksperimentima 1, 3, 10, 11 i 14 nisu dobiveni kristali sferičnog oblika.

Raspodjela veličina čestica dobivenih kristala najuža je kod eksperimenta 2, iznosi 3,833 čime se raspodjela karakterizira kao srednje široka. S obzirom da je ostatak raspodjela veličina čestica široka ili jako široka, a sferičnost kristala je najbolja kod eksperimenta 8 s jako širokom raspodjelom veličina čestica, potrebno je provesti daljnje korake nakon kristalizacije (prosijavanje) ili daljnja istraživanja kako bi se ustvrdila veza između udjela otapala, sferičnosti kristala i raspodjele veličina čestica.

Zaobljenost kristala određena je digitalnom analizom mikrografija snimljenih optičkim mikroskopom te eksperiment 8 ponovno pokazuje najbolji rezultat, 0,89 što znači da su dobiveni kristali najbliže sferičnom obliku od svih eksperimenata.

Zaobljenost je odziv provedenih eksperimenata te je u *Design Expert*-u dobiveno da specijalni kvadratni model Scheffé najbolje opisuje odnos između zaobljenosti kristala i udjela vodene otopine PVP-a, heptana i zasićene otopine ceritiniba u THF-u.

Provedbom rješenja optimizacije sustava otapala za provedbu sferične kristalizacije ceritiniba koje je ponuđeno u *Design Expert*-u, dobivena je zaobljenost kristala ceritiniba iznosa 0,91. Zaključuje se da je sustav otapala za provedbu procesa sferične kristalizacije ceritiniba uspješno dizajniran, modeliran i optimiziran.

6. POPIS KRATICA I SIMBOLA

POPIS KRATICA

ALK – engl. *anaplastic lymphoma kinase*, anaplastična limfom kinaza

BCS – engl. *biopharmaceutical classification system*, biofarmaceutski sustav klasifikacije

CRT – ceritinib

NSCLC – engl. *non – small cell lung cancer*; rak pluća nemalih stanica

THF – tetrahidrofur

PVP – polivinilpirolidon

SEM – engl. *scanning electron microscope*, pretražni elektronski mikroskop

POPIS SIMBOLA

D , mm – promjer reaktora

d_m , mm – promjer miješala

j , mm – širina razbijala

h , mm – visina kapljevine u reaktoru

Q_3 , % – masena raspodjela veličina čestica

R – zaobljenost

R^2 – korelacijski faktor

S – širina raspodjele čestica

s , mm – udaljenost miješala od dna reaktora

x_{10} , μm – kvantil koji pokazuje da je 10 % čestica u uzorku manjih od te veličine čestica

x_{50} , μm – medijan; kvantil koji pokazuje da je 50 % čestica u uzorku manjih od te veličine čestica

x_{90} , μm – kvantil koji pokazuje da je 90 % čestica u uzorku manjih od te veličine čestica

x_{sr} , μm – srednji promjer čestica

POPIS GRČKIH SLOVA

φ_1 – volumni udio vodene otopine PVP-a

φ_2 – volumni udio heptana

φ_3 – volumni udio zasićene otopine ceritiniba u THF-u

7. LITERATURA

- (1) Kuentz, M.; Holm, R.; Elder, D. P. Methodology of Oral Formulation Selection in the Pharmaceutical Industry. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2016**, *87*, 136–163. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2015.12.008>.
- (2) Saini, S. Spherical Crystallization: An Overview. *IJDDT* **2014**, *4* (4), 72–80. <https://doi.org/10.25258/ijddt.v4i4.8862>.
- (3) Shekunov, B. Y.; Chattopadhyay, P.; Tong, H. H. Y.; Chow, A. H. L. Particle Size Analysis in Pharmaceutics: Principles, Methods and Applications. *Pharm Res* **2007**, *24* (2), 203–227. <https://doi.org/10.1007/s11095-006-9146-7>.
- (4) Dahlgren, D.; Lennernäs, H. Oral Drug Delivery, Absorption and Bioavailability. In *Comprehensive Pharmacology*; Elsevier, 2022; pp 406–437. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820472-6.00022-0>.
- (5) Khadka, P.; Ro, J.; Kim, H.; Kim, I.; Kim, J. T.; Kim, H.; Cho, J. M.; Yun, G.; Lee, J. Pharmaceutical Particle Technologies: An Approach to Improve Drug Solubility, Dissolution and Bioavailability. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences* **2014**, *9* (6), 304–316. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2014.05.005>.
- (6) Lennernäs, H.; Abrahamsson, B. The Biopharmaceutics Classification System. In *Comprehensive Medicinal Chemistry II*; Elsevier, 2007; Vol. 5, pp 971–988.
- (7) Šašić, S.; Yu, W.; Zhang, L. Monitoring of API Particle Size during Solid Dosage Form Manufacturing Process by Chemical Imaging and Particle Sizing. *Anal. Methods* **2011**, *3* (3), 568. <https://doi.org/10.1039/c0ay00562b>.
- (8) Awasthi, A.; M. Dheeraj, H.; Birangal, S.; Pai, A.; Pai, G.; Sathyanarayana, M. B. FABRICATION OF CERITINIB COCRYSTALS WITH IMPROVED SOLUBILITY: PREPARATION, SOLID-STATE CHARACTERIZATION, SOLUBILITY STUDIES, AND MOLECULAR DOCKING STUDIES. *RJC* **2021**, *14* (02), 905–913. <https://doi.org/10.31788/RJC.2021.1426244>.
- (9) <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/57379345> (pristup 2. rujna 2024.)
- (10) <https://www.medchemexpress.com/LDK378.html> (pristup 2. rujna 2024.)
- (11) Cairra, M. R. CRYSTALLIZATION | Polymorphism. In *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*; Elsevier, 2014; p B9780124095472109849. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.10984-9>.
- (12) Grebenar, I.; Ratkaj, M.; Mundofer, T.; Nežić, I. Solid State Forms of Ceritinib and Salts Thereof, 2016.

- (13) Nordstrom, F. L.; Sirota, E.; Hartmanshenn, C.; Kwok, T. T.; Paoello, M.; Li, H.; Abeyta, V.; Bramante, T.; Madrigal, E.; Behre, T.; Capellades, G. Prevalence of Impurity Retention Mechanisms in Pharmaceutical Crystallizations. *Org. Process Res. Dev.* **2023**, *27* (4), 723–741. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.3c00009>.
- (14) Yu, L.; Reutzel-Edens, S. M. CRYSTALLIZATION | Basic Principles. In *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*; Elsevier, 2003; pp 1697–1702. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00313-8>.
- (15) Rousseau, R. W. Crystallization Processes☆. In *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*; Elsevier, 2014; p B9780124095472109990. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.10999-0>.
- (16) Katta, J.; Rasmuson, A. C. Spherical Crystallization of Benzoic Acid. *International Journal of Pharmaceutics* **2007**, *348*, 61–69.
- (17) Putta, S. K.; Srikumar, P. Spherical Crystallization and Its Process Optimization. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* **2016**, *8* (7), 611–623.
- (18) Swapna Velivela; Nikunja B. Pati; Ramamohan Gupta. Spherical Crystallization: A Novel Technique in Drug Particle Designing. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* **2018**, *7* (10), 363–376.
- (19) Ghenge, G. R.; Pande, S. D.; Birari, T. K.; Jejurkar, L. S.; Ahmad, A. An Overview to Spherical Crystallization and Its Evaluation. *International Journal of Applied Pharmaceutics* **2011**, *3* (3), 1–6.
- (20) Javadzadeh, Y.; Vazifehasl, Z.; Dizaj, S. M.; Mokhtarpour, M. Spherical Crystallization of Drugs. In *Advanced Topics in Crystallization*; IntechOpen, 2015.
- (21) N. Politis, S.; Colombo, P.; Colombo, G.; M. Rekkas, D. Design of Experiments (DoE) in Pharmaceutical Development. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **2017**, *43* (6), 889–901. <https://doi.org/10.1080/03639045.2017.1291672>.
- (22) Alben, K. T. Books and Software: Design, Analyze, and Optimize with Design-Expert. *Anal. Chem.* **2002**, *74* (7), 222 A-223 A. <https://doi.org/10.1021/ac0219703>.
- (23) Zokić, I.; Prlić Kardum, J. Crystallization Behavior of Ceritinib: Characterization and Optimization Strategies. *ChemEngineering* **2023**, *7* (5), 84. <https://doi.org/10.3390/chemengineering7050084>.
- (24) Matijašić, G. *Uvod u mehaničko procesno inženjerstvo*, 1st ed.; HDKI: Zagreb, 2022.
- (25) Islam, S. F.; Hawkins, S. M.; Meyer, J. L. L.; Sharman, A. R. C. Evaluation of Different Particle Size Distribution and Morphology Characterization Techniques. *Additive Manufacturing Letters* **2022**, *3*, 100077. <https://doi.org/10.1016/j.addlet.2022.100077>.

- (26) Pons, M.-N.; Dodds, J. Particle Shape Characterization by Image Analysis. In *Progress in Filtration and Separation*; Elsevier, 2015; pp 609–636. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384746-1.00015-X>.