

# Priprava poroznih peleta kao nosača lijeka

---

Cuculić, Leo

Master's thesis / Diplomski rad

2017

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:249632>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Leo Cuculić

# **DIPLOMSKI RAD**

Zagreb, srpanj 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

**Leo Cuculić**

**Priprava poroznih peleta kao nosača lijeka**

DIPLOMSKI RAD

Voditelj diplomskog rada: Prof. dr. sc. Gordana Matijašić

Članovi ispitne komisije: Prof. dr. sc. Gordana Matijašić

Doc. dr. sc. Krunoslav Žižek

Doc. dr. sc. Igor Dejanović

Zagreb, srpanj 2017.

*Ovaj rad izrađen je u Zavodu za mehaničko i toplinsko procesno inženjerstvo Fakulteta  
kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.*

*Zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Gordani Matijašić na stručnoj pomoći, savjetima, trudu i strpljenu pri izradi diplomskog rada*

*Veliko hvala i Matiji Gretiću, mag. ing. cheming. na pomoći i utrošenom vremenu prilikom izrade eksperimentalnog dijela rada.*

*Zahvaljujem obitelji, prijateljima i svima koji su mi omogućili studiranje i koji su vjerovali u mene. Posebno zahvaljujem kolegama s Fakulteta koji su me poticali i gurali u trenucima kada je bilo teško.*

## SAŽETAK

Napretkom novih sustava za dostavu lijeka došlo je i do razvoja lijekova za reguliranje srčane aritmije. Novi sustavi poboljšavaju doziranje, liječenje kroničnih stanja, smanjuju nuspojave i učestalost uzimanja doze. Istraživanje peleta kao nosača takvih lijekova potaknuto je raznim prednostima, kako terapijskih tako i tehnoloških jer njihova višestruka priroda nudi brojne prednosti u odnosu na konvencionalne oblike liječenja.

U ovom radu istraživanje je provedeno u nekoliko koraka te se sastoji od pripreme peleta, njihove karakterizacije, nanošenja i određivanja količine nanosene tvari. Određena je brzina i profil otpuštanja djelatne tvari s peleta. Profili su opisani kinetičkim modelom. Pripremljene su pelete mikrokristalne celuloze u kojima je maseni udio NaCl 70 % kako bi se postigla zadovoljavajuća poroznost peleta. Dronedaron hidroklorid nanosen je na pelete vakuumskom impregnacijom i potapanjem u otopini.

Raspodjela veličina pora i mikrografije su pokazale da su dobivene porozne pelete. Usporedbom količine nanosenog dronedarona vakuumskom impregnacijom i potapanjem u otopini etanola vidljivo je povećanje udjela dronedarona metodom vakuumske impregnacije. Međutim, nije uočena značajna razlika u profilima otpuštanja iz ovih peleta. Veće koncentracije otopine postignute su otapanjem dronedarona u metanolu, a vakuumskom impregnacijom nanoseno je čak 31,63 % dronedarona. Povećanjem udjela dronedarona u peletama povećava se brzina otpuštanja što je posljedica veće količine dronedarona na površini peleta. Profili otpuštanja opisani su Peppas-Sahlinovim modelom, a dobiveni parametri modela pokazuju da je dominirajući mehanizam otpuštanja difuzija. Rezultati pokazuju da ispitivane pelete imaju potencijal kao nosači lijeka za reguliranje srčane aritmije.

**Ključne riječi:** dronedaron hidroklorid, pelete, profili otpuštanja, nosači lijeka, kinetički modeli.

# Preparation of porous pellets as drug carriers

## Summary

With the advancement of new drug delivery systems, development of medicines to regulate cardiac arrhythmia has also occurred. New drug delivery systems improve dosage, help treat chronic conditions, reduce side effects, and dosage frequency. Research into pellets as carriers of such drugs is inspired by various benefits, both therapeutic and technological, as their multiparticulate nature offers many benefits in terms of conventional forms of treatment.

In this paper, the research has been carried out in several steps and consists of the preparation of pellets, their characterization, and application of drug onto pellets as well as determination of drug content. The release rate and profiles of the active substance were determined. Dissolution profiles were described by the kinetic model. Pellets of microcrystalline cellulose were prepared with 70 % of NaCl in order to achieve satisfactory pellet porosity. Dronedarone hydrochloride was applied onto pellets by vacuum impregnation and immersion into solution.

Pore size distribution and micrographs showed that porous pellets were obtained. Comparison of the amount of dronedarone applied by vacuum impregnation and immersion in an ethanol solution showed higher content of dronedarone in pellets obtained by vacuum impregnation. However, there is no significant difference in dissolution profiles from these pellets. Higher concentrations of solution were achieved by dissolving dronedarone in methanol, and by vacuum impregnation, up to 31.63 % of dronedarone was applied on pellets. By increasing the content of dronedarone in the pellets, the release rate increases as a result of the larger amount of dronedarone on the surface of the pellet. Dissolution profiles are described by the Peppas-Sahlin model, and the resulting model parameters show that the dominant release mechanism is diffusion. The results show that prepared pellets have potential as drug carriers for regulating cardiac arrhythmia.

**Key words:** dronedarone hydrochloride, pellets, dissolution profiles, drug carriers, kinetic models.

# SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO .....	2
2.1. Antiaritmijska sredstva .....	2
2.2. Dronedaron-hidroklorid.....	2
2.3. Kemijska struktura dronedaron-hidroklorida .....	3
2.4. Apsorpcija dronedarona.....	5
2.5. Otpuštanje djelatne tvari.....	5
2.5.1. <i>In vivo</i> i <i>in vitro</i> metode otpuštanja aktivne tvari .....	9
2.5.2. Opis kinetike otpuštanja lijeka .....	11
2.6. Porozne pelete kao sustav dostave djelatne tvari.....	18
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	21
3.1. Materijali .....	21
3.2. Tijek provedbe eksperimentalnog dijela.....	21
3.3. Priprava peleta .....	23
3.4. Ispiranje poroznih peleta .....	25
3.5. Određivanje specifične površine peleta .....	25
3.6. Morfologija peleta .....	26
3.7. Nanošenje dronedaron hidroklorida na pelete .....	27
3.8. Određivanje sadržaja dronedarona u peletama .....	28
3.8.1. Priprema standardnih otopina dronedarona .....	29
3.8.2. Određivanje sadržaja dronedarona u peletama .....	30
3.8.3. Ispitivanje brzine otpuštanja dronedarona iz peleta .....	30
4. REZULTATI.....	32
4.1. Raspodjela veličina pora i specifična površina.....	32
4.2. Morfologija peleta .....	34
4.3. Djelotvornost nanošenja dronedaron hidroklorida .....	38
4.4. Kinetika otpuštanja dronedaron hidroklorida iz poroznih peleta .....	38
5. RASPRAVA .....	44
6. ZAKLJUČAK .....	48
7. POPIS KRATICA I SIMBOLA .....	49
8. LITERATURA.....	52
9. ŽIVOTOPIS.....	54



# 1. UVOD

U posljednje vrijeme značajna pažnja usmjerena je na razvoj novih sustava za dostavu lijeka (engl. *novel drug delivery system*). Razlog tih promjena je niska cijena razvoja i vrijeme potrebno za uvođenje novih sustava za dostavu lijeka u odnosu na neke nove kemijske jedinice. Među različitim sustavima dostave lijeka, oralni sustav za kontrolirano otpuštanje je među najboljima zbog jednostavnosti doziranja te veće udobnosti pacijenata. Danas se više od 80 % lijekova upotrebljava u formi oralnih dozirnih oblika. Razlog tome je što takvi oblici nude mnoge prednosti. Kao što su točnost doziranja, jednostavna proizvodnja, praktično rukovanje, stabilnost u odnosu na druge dozirne oblike te niski troškovi proizvodnje. Razvoj novih sustava za dostavu lijeka ima svoje prednosti kao što su jednostavnost davanja, kontrolirano otpuštanje lijeka, učinkovitost u liječenju kroničnih stanja, smanjene nuspojave i dr. Dostupne su brojne mogućnosti oblikovanja pripravaka s kontroliranim otpuštanjem za izmjenu oralne apsorpcije s matricama peleta.

Pelete su definirane kao sferične čestice veličina od 500  $\mu\text{m}$  do 1500  $\mu\text{m}$  koje se koriste u farmaceutskoj industriji. Interes za peletama kao oblicima za doziranje raste kontinuirano jer njihova višestruka priroda pruža važne terapijske, farmakološke i tehnološke prednosti u odnosu na konvencionalne oblike doziranja. Jednolikost raspršivanja lijeka na pelete smanjuje rizik od visoke koncentracije lijeka, tj. prekomjerne doze te nadraživanja želučane sluznice i mogućnosti raznih komplikacija. Oralno doziranje peleta maksimizira apsorpciju lijeka u gastrointestinalnom dijelu zbog raspršivanja čestica po cijelom volumenu. Zbog sferonizacije, pelete imaju optimalnu veličinu i ravnomjernu raspodjelu veličina. Zbog dobrih mehaničkih svojstava pelete mogu postići željeno otpuštanje lijeka.

Cilj ovog rada bio je proizvesti porozne pelete i ispitati njihov potencijal kao nosača lijeka, dronedaron hidroklorida.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. Antiaritmijska sredstva

Antiaritmijska sredstva su skupina lijekova koji se koriste za suzbijanje abnormalnog srčanog ritma (srčane aritmije) kao što su: sinusna bradikardija, ventrikularna fibrilacija, ventrikularna tahikardija, supraventrikularna tahikardija.<sup>[1]</sup> Antiaritmijski lijekovi koriste se i za modifikaciju poremećenog provođenja impulsa. Krajnji cilj tih lijekova je vratiti normalan ritam rada srca i normalnu provodnost. Čak i kad konverzija u sinusni ritam nije moguća, antiaritmici mogu biti korisni u pojavi teških ili čak letalnih aritmija. Svi antiaritmici, direktno ili indirektno, mijenjajući provođenje iona kroz staničnu membranu, mijenjaju fizikalne osobine akcijskog potencijala. Prema široko prihvaćenoj Vaughan-Williamsovoj podjeli antiaritmici su podijeljeni prema svom predominantnom mehanizmu djelovanja u pet glavnih skupina: I. skupina – blokatori natrijskih kanala; II. skupina – blokatori beta-adrenergičkih receptora; III. skupina – blokatori kalijevih kanala; IV. skupina – blokatori kalcijevih kanala; V. skupina – lijekovi s drugim ili nepoznatim mehanizmima djelovanja. Međutim, podjela antiaritmika prema mehanizmu djelovanja nije jednostavna jer pojedini antiaritmik može imati višestruke načine djelovanja.<sup>[2]</sup>

### 2.2. Dronedaron-hidroklorid

Dronedaron, kemijski spoj koji sadrži benzofuran, je derivat amiodarona koji je klasificiran kao antiaritmik III. skupine. Amiodaron je popularan antiaritmik, ali potencijalna toksičnost povezana s ovim lijekom može uzrokovati nekoliko bolesti kao što su bolesti štitnjače, plućna fibroza te bolesti jetre koje bi mogle biti posljedica prisutnosti visokog udjela joda u amiodaronu. Iz tog razloga dronedaron je preporučan kao zamjena za amiodaron za liječenje atrijalne fibrilacije (AF) i atrijalnog podrhtavanja (AFL).<sup>[3]</sup> U kliničkim ispitivanjima utvrđeno je da dronedaron pokazuje bolja svojstva od amiodarona, poput kraćeg vremena poluraspada, smanjenu lipofilnost i zanemarivu kardiovaskularnu toksičnost. Poluvrijeme uklanjanja ( $t_{1/2}$ ) dronedarona je puno kraće (13-19 h) za razliku od amiodarona kod kojeg iznosi nekoliko tjedana. Dokazano je i da je dronedaron sasvim siguran i učinkovit lijek u kontroli sinusnog ritma i smanjenju ventrikularne proaritmije. U usporedbi s drugim antiaritmijskim lijekovima dronedaron se smatra kao najbolji izbor za kontrolu ritma srca, kod pacijenata s AF-om koji nemaju zapis o bolestima srca, bolesti koronarnih arterija i povišenog

krvnog tlaka bez hipertrofije lijeve klijetke, od bilo kojeg drugog lijeka iste vrste zbog svoje sigurnosti i djelotvornosti. Osim amiodarona postoje i drugi lijekovi koji se koriste za liječenje atrijske fibrilacije ili srčane aritmije poput sotalola, prokainamida, lidokaina, propafenona i flekainida.<sup>[4]</sup> Međutim, od svih lijekova korištenih za liječenje AF-a amiodaron pokazuje najveći potencijal za osiguravanje stabilnog sinusnog ritma.<sup>[3]</sup>

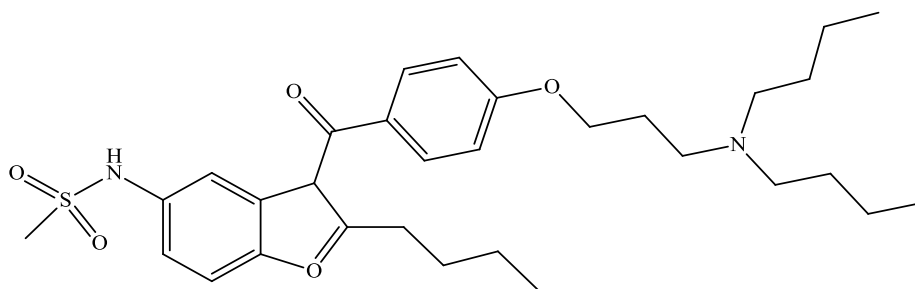
Dronedaron je propisan za liječenje kardiovaskularnog sustava pacijenata koji imaju paroksizmalne ili trajne atrijske fibrilacije kako bi se umanjila mogućnost za hospitalizaciju. Odobren je 2. srpnja 2009. godine od strane Američke agencije za hranu i lijekove (FDA, *Food and Drug Administration*) za kliničku upotrebu za atrijsku fibrilaciju. Trgovački naziv oralnih tableta dronedarona je Multaq (Slika 1) kojeg prodaje svjetska tvrtka Sanofi Aventis iz Pariza.



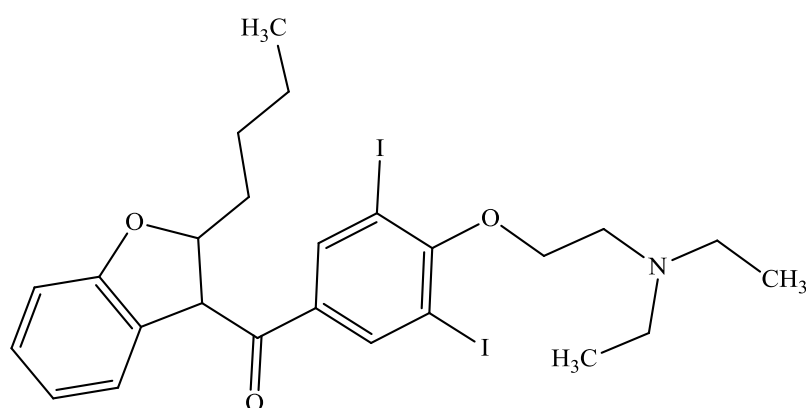
**Slika 1.** Komercijalne tablete dronedarona, Multaq®

### **2.3. Kemijska struktura dronedaron-hidroklorida**

Prema IUPAC-ovoj nomenklaturi dronedaron se naziva: N-(2-butil-3-(p-(3-(dibutilamino)propoksi)benzoi)-5-benzofuranil) metan-sulfonamid. Njegova molekulska formula je  $C_{31}H_{44}N_2O_5S$  s molekulskom masom  $556,758 \text{ g mol}^{-1}$  odnosno  $593,215 \text{ g mol}^{-1}$  za dronedaron-hidroklorid. Dronedaron je bijeli fini prašak koji je praktički netopljiv u vodi, a dobro topljiv u metanolu, etanolu i metilen kloridu.<sup>[4]</sup> Dronedaron (Slika 2) se bazira na strukturi amiodarona (Slika 3), s ciljem smanjenja štetnog utjecaja amiodarona na ljudski organizam i smanjenja poluvremena uklanjanja.



**Slika 2.** Kemijska struktura dronedarona



**Slika 3.** Kemijska struktura amiodarona

Amiodaronu su uklonjene dvije jodne skupine zbog visokog rizika od oštećenja organa poput štitnjače, jetre i sl., a vrijeme poluraspada je smanjeno smanjenjem lipofilnosti spoja, dodatkom metil-sulfonamidne skupine. Dronedaron je u prirodi kristalan s temperaturom tališta između 149 °C i 153 °C. Također, pokazuje aktivnost u svakoj od četiri Vaughan-Williamsove antiaritmijske skupine lijekova.



**Slika 4.** Dronedaron kao bijeli prah

Razvoj dronedarona je dugotrajan i složen. Glavni razlog složenosti procesa nije vezan direktno za strukturu već za patologiju bolesti. Atrijalna fibrilacija je neovisni razlog povećanja mortaliteta i morbiditeta. Međutim, životni vijek pacijenata koji pate od atrijalne fibrilacije je velik i jako je teško pokazati učinak lijeka s obzirom na vrstu terapije, farmakološki ili ne. Nadalje, aritmije su kompleksne i raznovrsne. Za razliku od nekih drugih vrsta kardiovaskularnih terapija, liječenje aritmija se ne može provoditi samo jednim lijekom. Antiaritmici imaju široko djelovanje, na različite ionske struje, kao i na receptore i pumpe. U većini slučajeva lakše je kontrolirati hipertenziju ili koncentraciju lipida nego aritmiju. Atrijska fibrilacija je aritmija čiji su mehanizmi najslženiji, uključuje četiri plućne vene, dva atrija i dvije šuplje vene. U većini slučajeva, ona se javlja kod starijih pacijenata s višestrukim bolesnim stanjima kao što je hipertenzija, koronarna arterijska bolest, zatajenje srca, kardiomiopatije, apnejički sindrom te pretilost.<sup>[5]</sup>

## **2.4. Apsorpcija dronedarona**

Dronedaron se treba uzimati uz hranu. Nakon oralne primjene u hranjivim uvjetima, dronedaron je dobro apsorbiran (70 – 94 %). Bioraspoloživost dronedarona bez prisustva hrane je niska (oko 4 %) i to uglavnom zbog prolaska prvog presistematskog metabolizma. U prisutnosti hrane, posebno masne hrane, bioraspoloživost raste i do 15 %, zbog toga se preporučuje uzimanje dronedarona s takvom hranom. Nakon oralnog doziranja, u prisustvu hrane, vršna koncentracija dronedarona u krvnoj plazmi se postiže 3 – 6 sati nakon uzimanja doze lijeka. Nakon ponovljene primjene 400 mg dronedarona dva puta dnevno, ravnotežno stanje postiže se unutar 4 do 8 dana liječenja, a srednji omjer akumulacije dronedarona je u rasponu od 2,6 do 4,5. U stanju dinamičke ravnoteže srednja maksimalna koncentracija ( $C_{max}$ ) dronedarona iznosi 84 – 147 ng mL<sup>-1</sup> u krvnoj plazmi.<sup>[3,6]</sup>

## **2.5. Otpuštanje djelatne tvari**

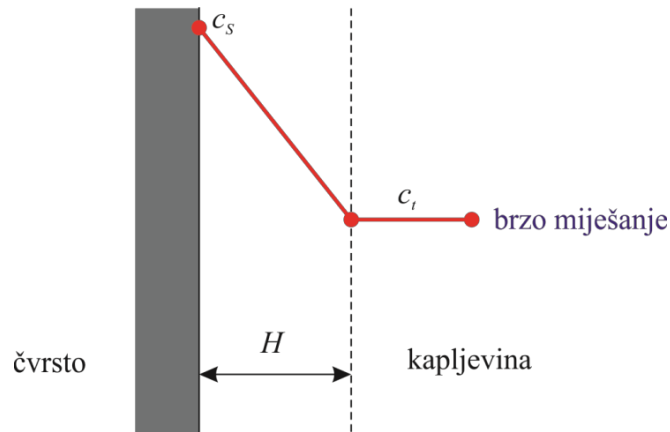
Otpuštanje djelatne tvari je proces u kojem se djelatna tvar otpušta iz lijeka, podvrgava apsorpciji, distribuciji, metabolizmu i izlučivanju (ADME) te postaje dostupna farmakološkom djelovanju. Otpuštanje tvari može se opisati na nekoliko načina: trenutno, modificirano, odgođeno, produženo, kontrolirano i impulsno otpuštanje. Trenutno

je otpuštanje ono u kojem se djelatna tvar otapa u što kraćem razdoblju bez namjere za odlaganjem ili produljenjem otpuštanja djelatne tvari. Modificirano otpuštanje djelatne tvari uključuje odgođeno i produženo otpuštanje. Kod odgođenog otpuštanja dolazi do kontroliranog otpuštanja kojem je cilj postizanje dostupnosti lijeka tijekom duljeg vremenskog razdoblja, održavanje konstantne razine koncentracije djelatne tvari kroz vrijeme ili oslobađanje u točno određenom dijelu probavnog trakta. Produženo otpuštanje podrazumijeva oslobađanje djelatne tvari tijekom duljeg vremenskog razdoblja. Naposljetku, kontrolirano otpuštanje uključuje produženo i impulsno otpuštanje. Impulsno otpuštanje uključuje otpuštanje djelatne tvari u točno određenim vremenskim intervalima, nakon konzumiranja lijeka, koji su programirani samim ljekovitim pripravkom.

Otapanje je farmaceutski definirano kao brzina prijenosa tvari s čvrste površine u otapalo pod standardiziranim uvjetima granice tekuće-čvrsto, temperature i sastava otapala. Osnovni korak otapanja lijeka je reakcija krute tvari s otopinom i/ili komponentama medija za otapanje. Ova reakcija se odvija na međufaznoj površini i stoga kinetika otapanja ovisi o tri faktora, protoku medija za otapanje, brzini reakcija na granici faza i molekulskoj difuziji molekula lijeka od granice faza u masu otopine. Na otpuštanje se može utjecati promjenom brzine miješanja, temperature, viskoznosti, pH vrijednosti, sastavom otapala te kombinacijom različitih pomoćnih tvari u dozirnom obliku.

Modeli koji opisuju brzinu otpuštanja djelatne tvari postavljeni su za tablete, ali se mogu primjenjivati i za druge oblike. Prema Higuchiju postoje tri modela koja mogu, samostalno ili u kombinaciji, opisati mehanizam otpuštanja:

- 1. Model difuzijskog sloja** (Slika 5) – pretpostavlja da sloj kapljevine debljine  $H$  ostaje nepokretan uz čvrstu površinu dok većina kapljevine prelazi preko površine određenom brzinom. Pretpostavlja se da je reakcija između krutine i kapljevine trenutna te dolazi do stvaranja zasićene otopine ( $c_s$ ) krute tvari u mirujućem difuzijskom sloju.



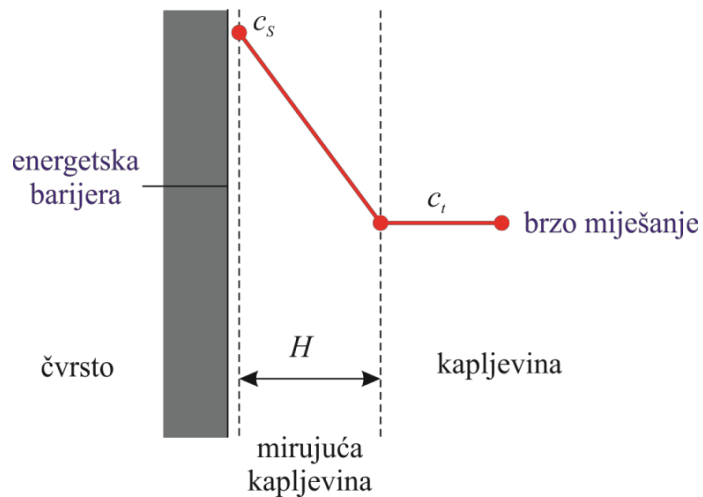
**Slika 5.** Model difuzijskog sloja

Brzina otapanja je tada u cijelosti kontrolirana difuzijom čvrstih molekula iz difuzijskog sloja u masu otopine prema prvom Fickovom zakonu:

$$J = -D_f \frac{dc}{dx} \quad (1)$$

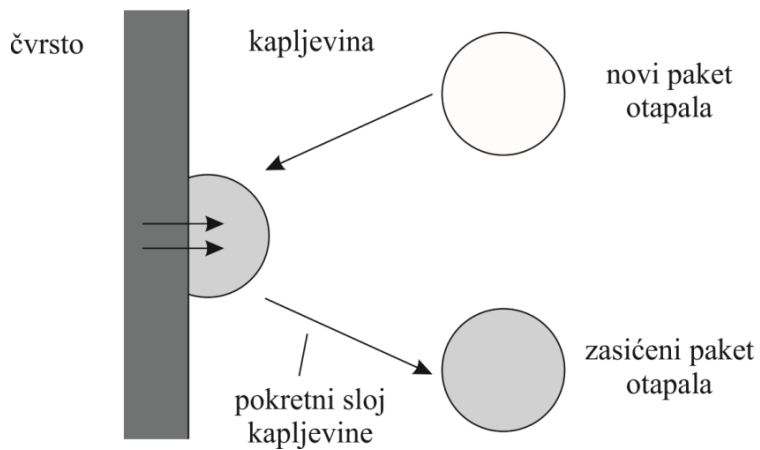
gdje  $J$  predstavlja količinu tvari u jediničnom vremenu koja prolazi kroz površinu,  $D_f$  je difuzijski koeficijent, a  $dc/dx$  koncentracijski gradijent. Nakon nekog vremena  $t$ , koncentracija na granici difuzijskog sloja i otopine postaje  $c_t$ . Jednom kada čvrste molekule prijeđu u otopinu, pretpostavlja se da je miješanje brzo i da koncentracijski gradijent nestaje.

- 2. Model površinske barijere** (Slika 6) – u ovom modelu pretpostavlja se da reakcija na granici faza nije trenutna zbog velike energetske barijere koja se mora nadvladati da bi se krutina mogla otopiti. Nakon toga mehanizam otapanja je isti kao u modelu difuzijskog sloja gdje koncentracija tvari u nepokretnom sloju nakon vremena  $t$  iznosi  $c_t$ . Brzina difuzije je relativno veća u usporedbi s prevladavanjem energetske barijere koja ograničava brzinu u procesu otapanja.



**Slika 6.** Model površinske barijere

3. **Danckwertov model** (Slika 7) – pretpostavlja da makroskopski paketi otapala dosegnu granicu faza vrtložnom difuzijom na slučajan način.



**Slika 7.** Danckwertov model

Na granici faza paket apsorbira otopljenu tvar u skladu sa zakonima difuzije, a zatim je zamijenjen novim paketom otapala. Ovaj površinski proces obnavljanja se odnosi na brzinu transporta otopljene tvari, a time i na otapanje.<sup>[7]</sup>



Ovisno o fizikalnim i kemijskim karakteristikama polimernih materijala, mehanizam otpuštanja aktivne tvari iz polimerne matrice se može karakterizirati u skladu s tri glavna procesa:

1. Difuzija aktivne tvari iz ne degradiranog polimera (difuzijski kontroliran proces).
2. Poboljšana difuzija lijeka zbog bubrenja polimera (proces kontroliran bubrenjem).
3. Otpuštanje tvari zbog degradacije polimera i erozije (proces kontroliran erozijom).

Difuzija je uključena u sva tri procesa. Kod polimera koji nisu biorazgradivi, otpuštanje djelatne tvari se događa difuzijom ili bubrenjem zbog koncentracijskog gradijenta između otopine i polimera. Kod biorazgradivih polimera otpuštanje je kontrolirano hidrolitičkim cijepanjem polimernih lanaca zbog kojeg dolazi do erozije matrice, iako difuzija može biti i dalje dominantan proces kada je erozija spora.<sup>[8]</sup>

### **2.5.1. *In vivo* i *in vitro* metode otpuštanja aktivne tvari**

Ljekoviti oblici se mogu ispitati *in vitro* (izvan živog organizma u umjetno stvorenim uvjetima) ili *in vivo* (ispitivanje u živom organizmu). Prva ispitivanja koja se provode su ispitivanja *in vitro* koja pokazuju određena svojstva ljekovitog oblika, ali nikako ne daju pouzdane prognoze o oslobađanju *in vivo* te se zbog toga trebaju provoditi dodatna *in vivo* ispitivanja. No, ako se postigne usporedba između farmaceutske i biološke raspoloživosti i ovi testovi dobivaju važnost. Određivanje oslobađanja ljekovite tvari iz oblika *in vitro* metodom nikako nije zamjena za studije bioraspoloživosti, ali može biti korisno za razvoj oblika, a nakon dobivanja usporedbe s pokusima *in vivo* i za nadzor proizvodnje. *In vitro* određivanje oslobađanja lijeka primjenjuje se tijekom razvoja novog pripravka. Ako se nakon zaključenih *in vivo* istraživanja utvrdi da novi pripravak posjeduje traženi produženi učinak, tada se mogu pokušati korelirati rezultati *in vitro* i *in vivo* eksperimenata. Bitni parametri u korelacijama su, s jedne strane, udio oslobođenog lijeka nekom standardnom *in vitro* metodom nakon određenog vremena te, s druge strane, postignute koncentracije lijeka u plazmi, vrijeme potrebno da se postigne maksimalna koncentracija, kumulativni udio lijeka izlučenog u urin, površina ispod krivulja, mjerljivi farmakološki učinak ili koji drugi parametar. Ako se uspije naći bitna korelacija, tada se pri vrednovanju određenog pripravka i dalje može upotrebljavati *in vitro* metoda umjesto *in vivo* metode.

Ideja da se ispitivanjem brzine oslobađanja ljekovite tvari *in vitro* može predvidjeti ponašanje iste tvari *in vivo* i kasnije uspostavljanje *in vivo-in vitro* korelacije (IVIVK) doveli su do osjetnijeg razvoja testa oslobađanja (engl. *dissolution test*). *In vitro-in vivo* korelacija se definira kao uspostavljanje odnosa između nekog biološkog svojstva ili parametra izvedenog na temelju biološkog efekta izazvanog djelovanjem ljekovitog oblika, i fizičko-kemijskih karakteristika danog ljekovitog oblika. Najčešće se ovaj pojam odnosi na uspostavu kvantitativnog odnosa između profila brzine otapanja *in vitro* i farmakokinetičkih parametara koji karakteriziraju vremenski tijek oslobađanja ili apsorpcije lijeka u organizmu. Cilj uspostavljanja IVIVK je smanjiti broj ponovljenih *in vivo* ispitivanja kod ljudi koja su skupa, komplicirana i dugotrajna te time smanjiti vrijeme i troškove potrebne za razvoj formulacije, kao i njezinu registraciju i post registracijske promjene. Kada se uspostavi kvantitativna korelacija između brzine oslobađanja ljekovite tvari iz ljekovitog oblika *in vitro* i *in vivo*, dovoljno je *in vitro* ispitivanje preparata da bi se procijenila i predvidjela bioraspoloživost i/ili pokazala biološka ekvivalencija gotovih proizvoda.

S ciljem da se napravi izvjesna sistematizacija i olakša rad na razvoju formulacija i uspostavljanju IVIVK, predložen je novi, takozvani biofarmaceutski sustav klasifikacije lijekova (*Biopharmaceutics Classification System, BCS*) temeljen na topljivosti ljekovite tvari, njezinoj permeabilnosti i brzini otapanja iz ljekovitog oblika *in vitro*. Značajno je naglasiti da se predložena klasifikacija ne zasniva na fizičko-kemijskoj topljivosti tvari, definirane kao maksimalna količina tvari koja se može osloboditi u određenom volumenu otapala, već na farmakološkoj, fiziološkoj ili gastrointestinalnoj topljivosti koja ovisi o terapijskoj dozi primjenjivanog lijeka. Podrazumijevajući da se topljivost, kao i propusnost ljekovitih tvari, mogu kvalitativno opisati kao *visoka* ili *niska*, formirane su u okviru predloženog sustava klasifikacije četiri skupine lijekova: <sup>[8-12]</sup>

- I. skupinu** predstavljaju tvari koje pokazuju visoku topljivost i visoku permeabilnost (VR/VP). Kod ovih tvari može se očekivati uspostavljanje IVIVK u slučajevima kada je brzina otapanja manja od brzine pražnjenja želuca. Ako se radi o dobro oslobađajućoj, visoko permeabilnoj tvari koja se brzo oslobađa iz ljekovitog oblika, kao što je slučaj kod konvencionalnih pripravaka s trenutnim oslobađanjem, ne treba očekivati uspostavljanje korelacije. Ljekovite tvari iz ove skupine koje pokazuju brzo oslobađanje iz ljekovitog oblika, veće od 85 % za manje od 15 min, osiguravaju dovoljnu bioraspoloživost.

- II. skupinu** čine tvari koje se slabo otapaju (niska topljivost), ali pokazuju visoku propusnost (NR/VP). Ova skupina je najinteresantnija jer se u nju svrstava najveći broj ljekovitih tvari. Kod ove je grupe brzina otapanja ograničavajući faktor za bioraspoloživost. Kao posljedica toga prisutna je velika vjerojatnost da se može uspostaviti značajna korelacija između *in vitro* i *in vivo* podataka.
- III. skupinu** čine tvari koje pokazuju dobru (visoku) topljivost, ali nisku permeabilnost (VR/NP). U ovom slučaju je permeabilnost ograničavajući faktor za apsorpciju lijeka tako da se ne očekuje uspostavljanje IVIVK.
- IV. skupinu** čine tvari koje pokazuju lošu (nisku) topljivost i nisku propusnost (NR/NP). Praktično je mali broj ovakvih tvari koje su namijenjene za peroralnu primjenu.

### 2.5.2. Opis kinetike otpuštanja lijeka

Tijekom posljednjih nekoliko desetljeća značajan medicinski napredak je postignut u području isporuke lijeka uz razvijene oblike doziranja s kontroliranim otpuštanjem. Postoji širok raspon oblika namijenjenih kontroliranom oralnom otpuštanju lijeka, kao i različita fizička svojstva koja utječu na otpuštanje lijeka iz tih preparata. Uzorci otpuštanja mogu se podijeliti na one koji sporo oslobađaju lijek, nultom brzinom ili brzinom prvog reda, i na one koji brzo osiguravaju početnu dozu, nakon čega slijedi, nultog ili prvog reda, sporo oslobađanje održive komponente. Svrha sustava kontroliranog otpuštanja tvari je održavanje koncentracije djelatne tvari u krvi ili u ciljanim tkivima što je duže moguće. U tu svrhu, u pravilu, sustav kontroliranog otpuštanja djelatne tvari u početku otpusti dio doze u svrhu brzog podizanja koncentracije djelatne tvari. Nadalje, kinetika otpuštanje djelatne tvari prati dobro definirano ponašanje u svrhu opskrbe održive doze omogućujući postizanje željene koncentracije lijeka.

U svjetlu svestrane primjene formulacija s kontroliranim otpuštanjem, u području medicinskih znanosti, oni su nezaobilazni alati za iskorištavanje suvremenog koncepta terapijskog liječenja čiji je cilj povećanje učinkovitosti lijeka i suradnju pacijenta, kako bi se smanjila učestalost administracije i nuspojave povezane s doziranjem.

U tu svrhu, upotreba matematičkog modeliranja pokazuje se vrlo korisnom jer ovakav pristup omogućava, u najboljem slučaju, predviđanje kinetike oslobađanja prije ostvarivanja sistema otpuštanja tvari. To omogućuje mjerenje nekih važnih fizikalnih parametara, kao što je koeficijent difuzije tvari i pribjegavanje prilagodbi modela na eksperimentalnim podacima otpuštanja. Matematičko modeliranje, čiji razvoj zahtijeva razumijevanje svih fenomena koji utječu na kinetiku oslobađanja lijeka, ima vrlo važnu vrijednost u procesu optimiranja takvog pripravka. Matematičko modeliranje se široko primjenjuje u različitim disciplinama kao što su genetika, medicina, psihologija, ekonomija, biologija, inženjerstvo, tehnologija i dr.

Osnovni princip za procjenu kinetike otpuštanja dali su Noyes i Whitney 1897. godine kao jednadžbu:

$$\frac{dM}{dt} = KS(c_s - c_t) \quad (2)$$

gdje  $M$  predstavlja masu prenesenu s obzirom na vrijeme  $t$ , otapanjem iz krute čestice s površine,  $S$ , pod utjecajem prevladavajućih koncentracija pokretačke sile ( $c_s - c_t$ ), pri čemu je  $c_t$  koncentracija u vremenu  $t$ , a  $c_s$  je ravnotežna koncentracija otopljene tvari pri određenoj temperaturi. Brzina otapanja  $dM/dt$  predstavlja količinu otopljene tvari po jedinici površine i vremena, a za većinu krutina može se izraziti kao  $\text{g cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ .

Brunner i Nerst su koristeći Fickov zakon difuzije uspostavili relaciju između konstanti jednadžbe i koeficijenta difuzije:

$$K = \frac{DS}{h\gamma} \quad (3)$$

gdje je  $D$  koeficijent difuzije,  $S$  područje otapanja površine ili površina difuzijskog sloja,  $\gamma$  predstavlja volumen otopine i  $h$  debljinu difuzijskog sloja. U formuliranju svoje teorije, Nerst i Brunner pretpostavili su da se proces na površini odvija puno brže nego prijenos tvari te da je linearni koncentracijski gradijent ograničen na sloj otopine vezane za čvrstu površinu. Idealno stanje se ne može nikada postići zbog stalne promjene površine napretkom procesa otpuštanja tvari tijekom određivanja otpuštanja lijeka. U Noyes-Whitneyjevoj jednadžbi proces otpuštanja tvari je proces prvog reda.

Postoji nekoliko kinetičkih modela koji opisuju ukupno otpuštanje lijeka iz dozirnog oblika. Zbog kvalitativne i kvantitativne promjene u formulaciji može doći do promjene u oslobađanju lijeka i *in vivo* ponašanja, pa je razvijanje alata koji olakšava razvoj proizvoda

smanjujući potrebu za biološkim studijama uvijek poželjan. U tom pogledu, korištenje podataka *in vitro* otapanja lijeka za predviđanje *in vivo* biološkog ponašanja može se smatrati kao racionalni razvoj formulacija s kontroliranim oslobađanjem.

Metode pristupa za ispitivanje kinetike otpuštanja lijeka iz formulacije s kontroliranim otpuštanjem mogu se svrstati u tri kategorije:

### 1. Statističke metode

- a) metoda analize podataka – ovaj postupak se može koristiti u prvom stupnju za usporedbu podataka o profilu otapanja, na oba načina, grafički i numerički,
- b) ponovljena mjerenja,
- c) raznoliki pristup – metode se temelje na dizajnu ponavljanja mjerenja, gdje je vrijeme ponavljajući faktor, a postotak otopljenog predstavlja zavisnu varijablu.

2. Metode ovisne o modelima – metode ovisne o modelima baziraju se na različitim matematičkim funkcijama koje opisuju proces otpuštanja tvari. Jednom kada je model odabran, profil otpuštanja se ocjenjuje ovisno o izvedenim parametrima modela.

- a) **Model nultog reda** – idealno otpuštanje lijeka slijedilo bi model nultog reda, pri čemu se koncentracija lijeka u krvi održava konstantnom. Takav model otpuštanja posebno je važan kod antibiotika, lijekova za krv i tlak, lijekova za kontrolu boli te antidepresiva. Model se može prikazati jednadžbom:

$$Q_0 - Q_t = K_0 t \quad (4)$$

Sređivanjem slijedi jednadžba:

$$Q_t = Q_0 + K_0 t \quad (5)$$

gdje  $Q_t$  predstavlja količinu lijeka otpuštenu u vremenu  $t$ ,  $Q_0$  je početna doza lijeka u otopini (u većini slučajeva  $Q_0 = 0$ ), a  $K_0$  je konstanta brzine otpuštanja nultog reda izražena u jedinicama koncentracija/vrijeme. Dobiveni podaci iz *in vitro* studije otpuštanja lijeka mogu se prikazati kao kumulativna količina otpuštenog lijeka u odnosu na vrijeme. Ovaj odnos se može koristiti za opisivanje topljivosti nekoliko tipova modificiranih farmaceutskih oblika otpuštanja kao što su obložene tablete s niskom topljivosti lijekova, osmotski sustavi, transdermalni sustavi itd.

b) **Model prvog reda** – koristi se za opisivanje apsorpcije i/ili eliminacije pojedinih lijekova. Model prati jednadžbu:

$$\frac{dc}{dt} = -Kc \quad (6)$$

Gdje  $K$  predstavlja konstantu otpuštanja prvog reda koja je izražena u jedinici vremena. Gornja jednadžba se može napisati i u obliku:

$$\log c = \log c_0 - \frac{Kt}{2,303} \quad (7)$$

Gdje  $c_0$  predstavlja početnu koncentraciju lijeka,  $K$  je konstanta brzine otpuštanja prvog reda i  $t$  je vrijeme. Dobiveni podaci prikazuju se kao logaritam ukupnog postotka preostalog lijeka u odnosu na vrijeme i takav prikaz daje ravni pravac s nagibom od  $-\frac{K}{2,303}$ . Ovaj model može se koristiti

za opisivanje topljivosti lijeka u farmaceutskim oblicima doziranja kao što su oni koji sadrže vodotopljive lijekove u poroznim matricama.

c) **Higuchijev model** – ovaj model temelji se na sljedećim pretpostavkama:

- i. početna koncentracija lijeka u matrici puno je veća od topljivosti lijeka,
- ii. difuzija lijeka odvija se samo u jednoj dimenziji,
- iii. čestice lijeka su puno manje od debljine dozirnog oblika,
- iv. oticanje i topljenje matrice je zanemarivo,
- v. difuzivnost lijeka je konstantna,

prema tome, izraz modela dan je jednadžbom:

$$f_t = Q = A\sqrt{D(2c - c_s)c_s t} \quad (8)$$

gdje  $Q$  predstavlja količinu otpuštenog lijeka u vremenu  $t$  i po površini  $A$ ,  $c$  je početna koncentracija lijeka,  $c_s$  je topljivost lijeka u matričnom mediju i  $D$  je difuzivnost molekule lijeka (koeficijent difuzije) u matričnom sadržaju. Ovaj odnos vrijedi cijelo vrijeme, osim kada je sav sadržaj terapijskog oblika iscrpljen. Promatranje mehanizma otpuštanja iz planarne heterogene

matrice, gdje je koncentracija lijeka u matrici manja od njene topljivosti i oslobađanje se odvija kroz pore u matrici, može se izraziti izrazom:

$$f_t = Q = \sqrt{\frac{D\delta}{\tau} (2c - \delta c_s) c_s t} \quad (9)$$

gdje je  $D$  koeficijent difuzije molekule lijeka u otapalu,  $\delta$  je poroznost matrice,  $\tau$  zakrivljenost matrice, a  $Q$ ,  $A$ ,  $c_s$  i  $t$  imaju gornje značenje. Općenito moguće je pojednostaviti Higuchijev izraz:

$$f_t = Q = K_h t^{1/2} \quad (10)$$

gdje  $K_h$  predstavlja Higuchijevu konstantu otapanja. Dobiveni podaci izražavaju se kao kumulativni postotak otpuštenog lijeka u odnosu na kvadrat vremena. Ova ovisnost se koristi za opisivanje otpuštanja lijeka iz nekoliko vrsta modificiranih farmaceutskih oblika, kao što su tablete s vodotopljivim lijekovima i neki transdermalni sustavi.

- d) Hixon-Crowellov model** – Hixon i Crowell su uočili da je redovno područje čestica proporcionalno korijenu volumena kocke pa su izveli jednadžbu:

$$W_0^{1/3} - W_t^{1/3} = \kappa t \quad (11)$$

gdje je  $W_0$  početna koncentracija lijeka u dozirnom obliku,  $W_t$  je preostala koncentracija u dozirnom obliku u vremenu  $t$ , a  $\kappa$  je konstanta ugradnje površinsko-volumnog odnosa. Jednadžba opisuje otpuštanje iz sustava gdje postoji promjena površine i promjera čestice ili tableta. Ovaj izraz se odnosi na farmaceutske oblike za doziranje kao što su tablete, gdje se otapanje odvija u ravninama koje su paralelne sa površinom lijeka ako se dimenzije tableta smanjuju proporcionalno, na takav način da se početni geometrijski oblik održava konstantnim kroz cijelo vrijeme.

- e) Korsmejer-Peppasov model** – Korsmejer i suradnici izveli su jednostavnu relaciju koja opisuje otpuštanje lijeka iz polimernog sustava:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K t^n \quad (12)$$

gdje je omjer  $\frac{M_t}{M_\infty}$  dio otpuštenog lijeka u vremenu  $t$ ,  $K$  konstanta brzine otpuštanja, a  $n$  eksponent otpuštanja. Vrijednost  $n$  se koristi za karakterizaciju različitih otpuštanja za cilindričnu matricu.

- f) **Baker-Lonsdaleov model** – Baker i Lonsdale izveli su ovaj model iz Higuchijevog modela i opisali otpuštanje lijeka iz sferičnih matrica, prema jednadžbi:

$$f_1 = \frac{3}{2} \left[ 1 - \left( 1 - \frac{M_t}{M_\infty} \right)^{2/3} \right] \frac{M_t}{M_\infty} = k_t \quad (13)$$

gdje konstanta brzine otpuštanja  $k$ , odgovara nagibu.

Ova jednadžba se koristi za linearizaciju podataka otpuštanja iz nekoliko formulacija mikrokapsula ili mikrosfera.

- g) **Weibullov model** – ovaj model vrijedi za različite procese otapanja. Izražen je jednadžbom:

$$M = M_0 \left[ 1 - e^{-\frac{(t-T)^b}{a}} \right] \quad (14)$$

U jednadžbi,  $M$  je količina otpuštenog lijeka u vremenu  $t$ ,  $M_0$  je ukupna količina lijeka koja je otpuštena, a  $T$  je zaostalo vrijeme mjereno kao rezultat procesa otpuštanja. Parametar  $a$  označava parametar skale koji opisuje vremensku ovisnost, a  $b$  opisuje oblik pomaka krivulje topljivosti. Za  $b = 1$ , oblik krivulje odgovara eksponencijalnom obliku s konstantom  $k = \frac{1}{a}$ .

$$M = M_0 \left[ 1 - e^{-k(t-T)} \right] \quad (15)$$

Kada je  $b > 1$  krivulja dobiva sigmoidalan oblik sa zakrivljenim vrhom, a kada je  $b < 1$  krivulja pokazuje strmi rast. Weibullov model je koristan za uspoređivanje profila otpuštanja lijeka iz matrica.

- h) **Hopfenbergov model** – Hopfenberg je razvio matematički model za korelaciju oslobađanja lijeka s površinskim erodiranim polimerima sve dok površina ostaje konstantna tijekom postupka degradacije. Kumulativni udio lijeka koji je otpušten u vremenu  $t$  opisan je kao:



$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \left[ 1 - \frac{k_0 t}{C_L a} \right]^n \quad (16)$$

gdje je  $k_0$  konstanta brzine nultog reda koja opisuje degradaciju polimera (proces površinske erozije),  $C_L$  je početna količina lijeka u sustavu,  $a$  je polovica debljine sustava (tj. radijus za kuglu ili cilindar), a  $n$  je eksponent koji varira s geometrijom (1 = ravna ploča; 2 = cilindričan oblik; 3 = sferičan oblik).

**3. Metode neovisne o modelima** – ove metode koriste se za usporedbu profila otpuštanja i ne zasnivaju se na kinetičkim modelima. Jednostavan neovisni model pristupa koristi faktor razlike ( $f_1$ ) i faktor sličnosti ( $f_2$ ) kako bi se usporedili profili otpuštanja. Faktor razlike izračunava razliku u postotku između dviju krivulja u svakoj vremenskoj točki i mjera je relativne greške između dviju krivulja. Izražava se kao:

$$f_1 = \left\{ \frac{\left[ \sum_{t=1}^n (R_t - T_t) \right]}{\sum_{t=1}^n R_t} \right\} \cdot 100 \quad (17)$$

gdje je  $n$  broj vremenskih točaka,  $R$  je vrijednost otapanja referentne serije u vremenu  $t$ , a  $T_t$  je vrijednost otapanja ispitivane serije  $T$  u vremenu  $t$ . Faktor sličnosti je logaritamska vrijednost recipročnog kvadrata korijena transformacije od zbroja kvadrata pogreške, te je mjera sličnosti u postotnom raspadu između dviju krivulja. Ovaj model neovisne metode je najpogodniji za usporedbe profila otpuštanja kada su na raspolaganju tri do četiri ili više točaka vremena otpuštanja.

Statističke metode i metode neovisne o modelima su metode za opisivanje koje su dobivene čisto statističkim i numeričkim postupcima izrade modela, dok su metode ovisne o modelima dobivene iz empirijskih korelacija s provedenim eksperimentima u kojima se nalaze parametri koji ukazuju na sama svojstva otpuštanja djelatne tvari i omogućuju procjenu konstante brzine oslobađanja  $k$ .

Odabir modela provodi se na temelju  $R^2$  vrijednosti. Kada se uspoređuju modeli koji ne sadrže jednak broj parametara uobičajeno je koristiti prilagođenu vrijednost  $R^2$  koja se izračunava iz izraza:

$$R_p^2 = 1 - \frac{(n-1)}{(n-p)}(1-R^2) \quad (18)$$

gdje je  $p$  broj parametara modela, a  $n$  broj eksperimentalnih podataka.<sup>[8,12]</sup>

## 2.6. Porozne pelete kao sustav dostave djelatne tvari

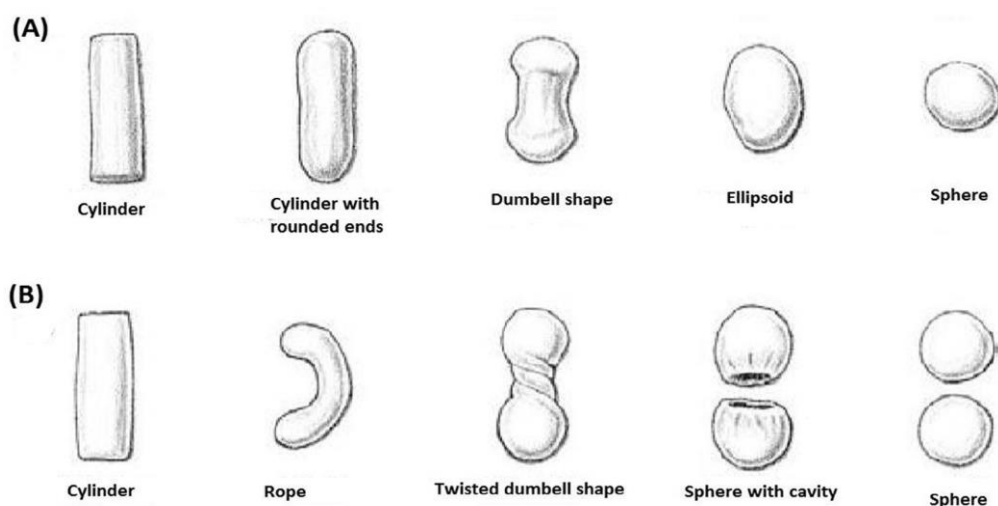
U farmaceutskoj industriji pelete se mogu definirati kao male sferične čestice proizvedene aglomeracijom sitnih prašaka ili granula ljekovitih i pomoćnih tvari upotrebom odgovarajuće opreme za obradu. *Multipartikularni* oblici doziranja ili sustavi za primjenu lijeka s više čestica imaju mnogo prednosti u odnosu na pojedinačne oblike doziranja zbog njihovih potencijalnih prednosti kao što su predvidljivo otpuštanje lijeka, imaju mali rizik od prebrzog ili predugačkog otpuštanja lijeka, mogu imati različite profile otpuštanja te povećanu bioraspoloživost uz manje varijacije između *in vitro* i *in vivo* ispitivanja. Pelete su jedan od najpopularnijih višečestičnih oblika doziranja. Peletiranje je proces aglomeriranja koji pretvara sitni prašak ili granule djelatne tvari u male, sferične ili polusferične čestice koje se nazivaju pelete. Veličine peleta se kreću između 0,05 mm i 2 mm. Pelete kao sustav za dostavu lijeka nude ne samo terapijske i farmakološke prednosti nego i tehnološke prednosti (Tablica 1) u odnosu na konvencionalne metode doziranja lijekova. Neke od terapijskih prednosti peleta: pelete se mogu slobodno raspršiti kroz gastrointestinalni trakt nakon uzimanja lijeka, i samim time je maksimizirana apsorpcija lijeka, široka raspodjela sferičnih čestica u gastrointestinalnom traktu ograničava lokalizaciju nakupine lijeka, izbjegavajući nadražujući učinak nekih lijekova na želučanu sluznicu. Višečestični oblici doziranja s modificiranim otpuštanjem manje su osjetljivi na naglo smanjenje doze nego pojedinačni dozirni oblici.

Ipak postoji nekoliko nedostataka peleta i peletiranja kao procesa: teško je komprimirati pelete u tablete jer su jako krute. Zato se pelete isporučuju kapsulirane u čvrste kapsule od želatine. Peletiranje zahtijeva visoko sofisticiranu i specijaliziranu opremu, što zahtijeva dodatna ulaganja i poskupljuje sam proces. Kontroliranje procesa proizvodnje je komplicirano zbog jako puno procesnih i formulacijskih varijabli.

**Tablica 1.** Tehnološke prednosti peleta

<b>PREDNOST</b>	<b>OPIS</b>
UJEDNAČENOST DOZE	Tehnike oblaganja, ekstrudiranja i sferoniziranja nude veliku točnost prilikom doziranja lijeka u pelete.
DOBRA TECIVOST	Sfere imaju dobra svojstva tecivosti. Ovo svojstvo je posebno dobro u automatiziranim procesima ili u procesima gdje je potrebna točno određena doza lijeka, poput tabletiranja, punjenja kapsula i raznih ambalaža.
SPRJEČAVANJE STVARANJA PRAŠINE	Sprječavanje stvaranja prašine rezultira u povećanoj sigurnosti procesa jer udisanje prašine može uzrokovati probleme sa zdravljem te fina prašina prašaka može eksplodirati.
VELIKA SPECIFIČNA POVRŠINA	Postiže se kontrolirano otpuštanje lijeka zbog sferičnog oblika peleta koji predstavlja idealan omjer površine i volumena čestica za primjenu film-prevlaka.
MOGUĆNOST DOZIRANJA NEKOMPATIBILNIH LIJEKOVA	Pelete mogu nositi različite vrste lijekova pa čak i one koji su međusobno nekompatibilni. Takve čestice mogu imati različite profile otpuštanja te se lijekovi mogu otpuštati u različitim dijelovima gastrointestinalnog trakta.

Najčešće korištena tehnika peletiranja je ekstrudiranje i sferoniziranje. Taj se postupak sastoji od nekoliko koraka za dobivanje ujednačenih peleta iz mokrih granula. Na početku se komponente miješaju suhim postupkom da se dobije homogena mješavina, zatim se komponente povezuju postupkom mokrog miješanja. U ekstruderu se iz tako dobivene homogene smjese dobiju cilindrični oblici koji se nadalje sferoniziraju da se dobiju pravilne sferične čestice. Takve čestice se ostavljaju da se osuše da se dobije željena količina vlage u česticama.



**Slika 8.** Mehanizam nastajanja peleta prema Roweu (A) i Baertu (B)<sup>[13]</sup>

Ono što čini dobre pelete su sferičan oblik i glatka površina, veličina čestica između 600 – 1000  $\mu\text{m}$ , te maksimalna količina djelatne tvari u peletama zbog održavanja oblika peleta.<sup>[13-15]</sup>

Svojstva peleta znatno ovise o načinu pripreme, procesnim uvjetima, postupku sušenja, formulaciji čvrste tvari i otopine te su ta svojstva opisana u istraživanjima.<sup>[16-18]</sup> U provedenim eksperimentima određena je maksimalna koncentracija pora u peletama koja je nastala ispiranjem natrijeva klorida iz peleta. Rezultati su pokazali da je maksimalni maseni udio natrijeva klorida 70 %, a analiza slika je otkrila da su dobivene sferične pelete. Procijenjeno je da je poroznost  $33 \pm 0,8$  %, a srednji promjer pora u peletama  $0,7 \pm 0,2$   $\mu\text{m}$ , dok se odgovarajuća vrijednost konvencionalnih neporoznih MCC peleta iznosi  $15,1 \pm 1,2$  % i  $0,02 \pm 0,01$   $\mu\text{m}$ . Iako se 70 % NaCl-a odstrani iz poroznih kuglica ekstrakcijom, njihova poroznost je samo 33,2% zbog sakupljanja kuglica tijekom sušenja.

Tehnika samoga inkorporiranja lijeka u pore peleta sastoji se od prskanja porozne strukture peleta s lijekom, nakon kojeg lijek prodire u unutrašnju strukturu pora i poslije sušenja se taloži u pore peleta. Na taj način je lijek ravnomjerno raspoređen u unutrašnjosti i na površini peleta. Količina lijeka pohranjenog u peletama je uglavnom povezana s temperaturom. Povišenje temperature proporcionalno je povećanju količine lijeka u peletama. Na primjeru ibuprofena, spektroskopski je dokazano da peleta s najvećim udjelom lijeka pokazuje da je lijek deponiran na površini, kao i unutrašnjosti pelete.<sup>[19-21]</sup>

## **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

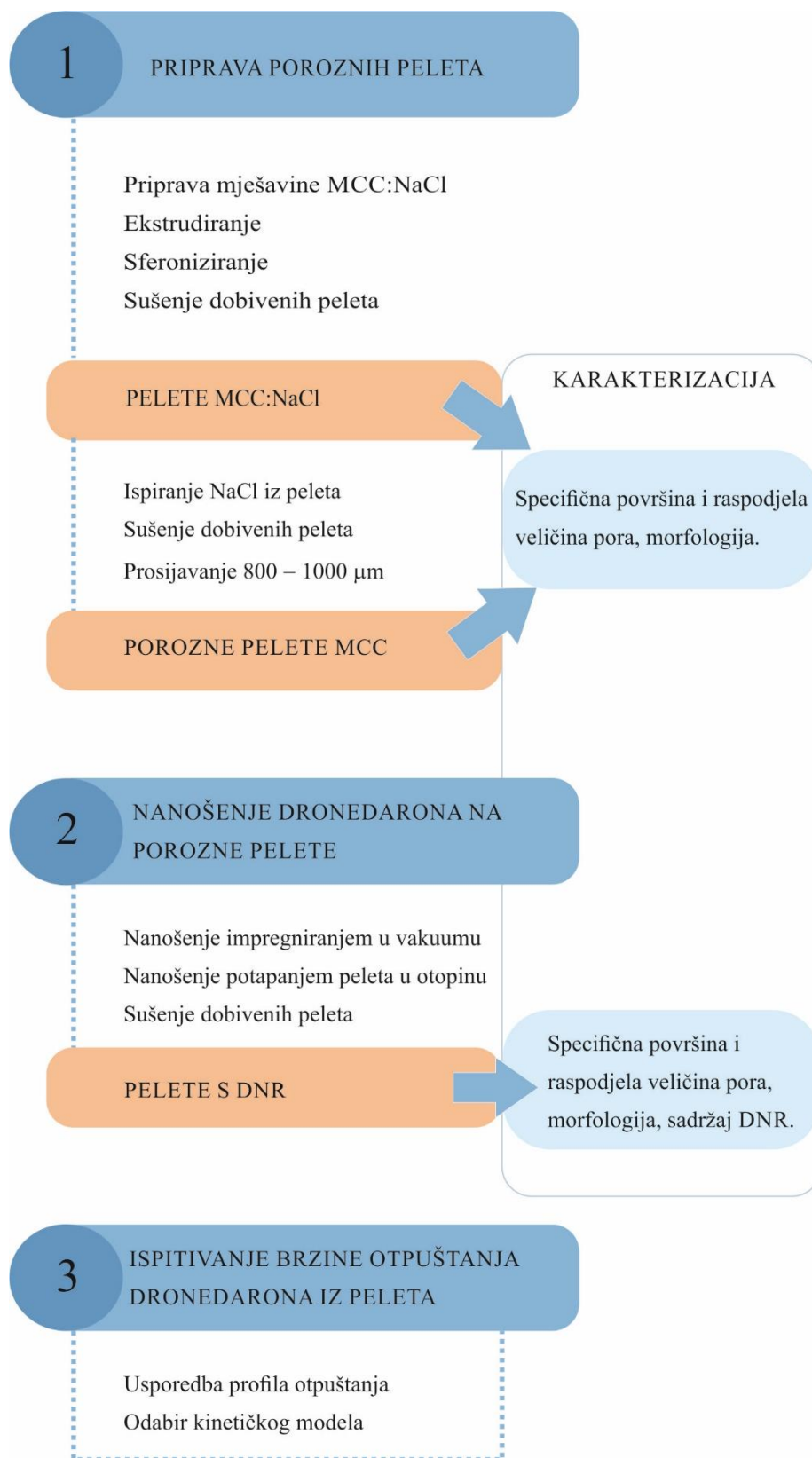
### **3.1. Materijali**

Za pripravu peleta korišten je Avicel PH 101 (mikrokristalna celuloza) dobiven od tvrtke Pliva Hrvatska d. o. o. Natrijev klorid dodan je kao sredstvo za formiranje pora.

Dronedaron hidroklorid (DNR), djelatna tvar za reguliranje srčane aritmije, korišten je kao modalni lijek koji je nanošen na pelete impregnacijom u vakuumu i uranjanjem peleta u otopinu DNR-a. Dronedaron hidroklorid dobiven je od tvrtke Pliva Hrvatska d. o. o.

### **3.2. Tijek provedbe eksperimentalnog dijela**

Eksperimentalni dio proveden je u nekoliko koraka priprave peleta, njihove karakterizacije, nanošenja i određivanja udjela nanosene aktivne tvari. Slika 9. prikazuje tijek eksperimentalnog dijela rada.

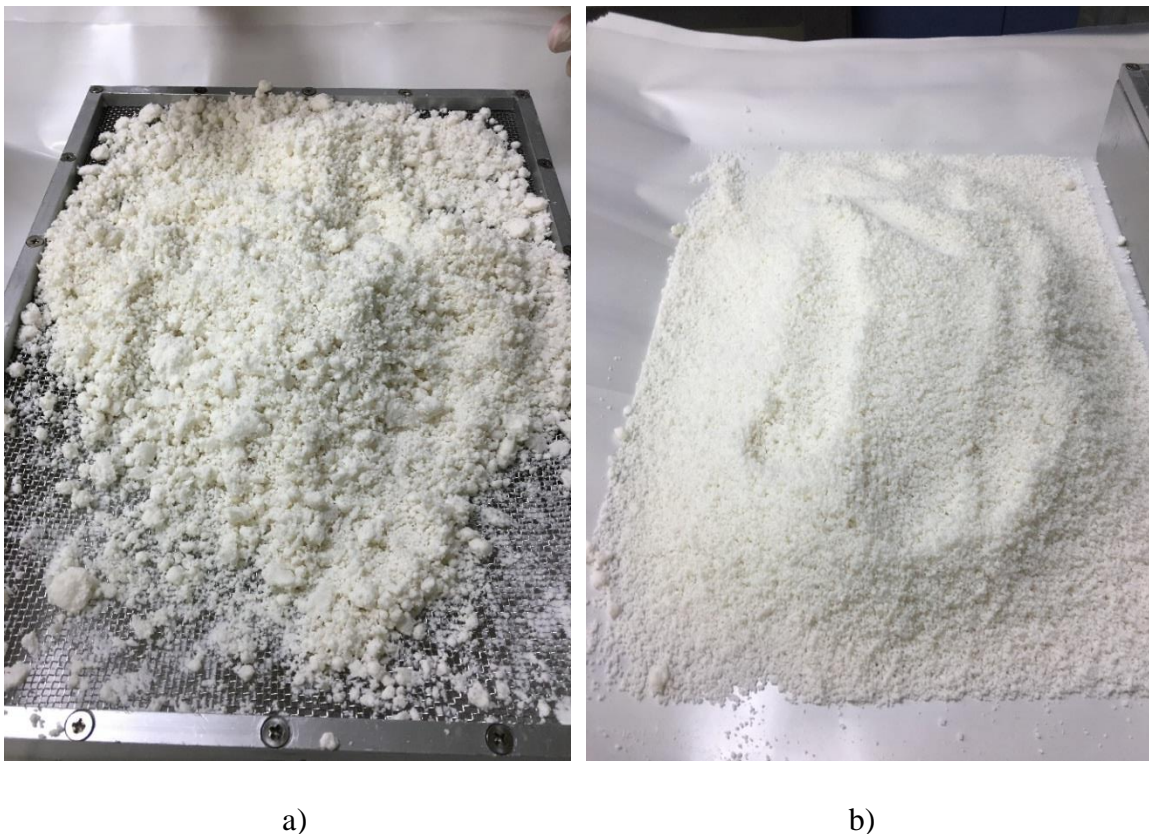


**Slika 9.** Shematski prikaz provedbe eksperimentalnog dijela

### 3.3. Priprava peleta

Masa za miješanje pripravljena je od Avicela PH 101 i NaCl u masenim omjerima 30:70. 1 kg mješavine miješan je u smičnom granulatoru pri brzini miješala od 200 o/min tijekom dvije minute. Potom je mješavini dodano 420 mL destilirane vode kao vezivo (42 % ukupne mase) te je uz miješalo (engl. *mixer*) uključen i sjekač (engl. *chopper*) pri brzini od 500 o/min. Voda se dodaje tijekom 150 sekundi konstantnim protokom. Nakon što je potrošena voda, brzina sjekača povećana je na 750 o/min i tako je miješano dvije minute da se nastale granule usitne.

Nastala mješavina (Slika 10a) prosijana je kroz otvor očice sita od 2 mm da bi se dobile čestice ujednačene veličine. (Slika 10b)



**Slika 10.** Mješavina dobivena u granulatoru: a) prije prosijavanja, b) nakon prosijavanja.

150 do 200 grama ekstrudirano je u aksijalnom ekstruderu MG-55 (Fuji Paundal, Japan) (Slika 11) pri brzini od 50 o/min i sobnoj temperaturi, te je potisnuto kroz otvore promjera 1 mm. Dobiven ekstrudat sferoniziran je 2 minute u sferonizatoru QJ-230T-1 (Fuji Paundal,

Japan) (Slika 12) pri 1000 o/min kako bi se dobile sferične pelete. Dobivene vlažne pelete, nakon sferoniziranja su sušene 24 sata pri sobnoj temperaturi.



**Slika 11. Ekstruder**



**Slika 12. Sferonizator**



### 3.4. Ispiranje poroznih peleta

Pelete su isprane kako bi se uklonio NaCl koji služi samo za formiranje pora u peleti. Isprane su potapanjem u destiliranoj vodi 30 minuta, te su potom ispirane iznad filter papira i običnog lijevka iznad vakuum boce od jedne litre. Pelete su isprane s 2 litre destilirane vode i provedena je provjera prisustva klorida na način da je maloj količini filtrata dodan 0,25 M AgNO<sub>3</sub> koji u prisustvu klorida stvara bijeli talog, AgCl. Po potrebi su pelete isprane s još jednom litrom vode i ponovljen je postupak provjere količine klorida. Nakon ispiranja i sušenja, pelete su odvojene na sitima na veličinu 800 – 1000 μm.

### 3.5. Određivanje specifične površine peleta

Specifična površina određena je snimanjem adsorpcijsko-desorpcijskih izoterma dušika pomoću uređaja ASAP 2000 (*Micromeritics, SAD*) prikazanog na slici 13. Ovom metodom može se odrediti specifična površina, veličina pora i raspodjela veličina pora.

Uzorak je smješten u vakuumskoj komori pri konstantnoj i vrlo niskoj temperaturi, najčešće temperaturi tekućeg dušika (–195,6 °C). Uzorak se podvrgava širokom rasponu tlakova da bi se dobile izoterme adsorpcije i desorpcije. Mjeri se volumen plina, u ovom slučaju dušika, adsorbiranog u porama u ovisnosti o parcijalnom tlaku i konstantnoj temperaturi. Adsorpcijska izoterma opisuje se najčešće BET jednadžbom:

$$\frac{P}{n(P_0 - P)} = \frac{1}{cn_m} + \frac{c-1}{cn_m} \cdot \frac{P}{P_0} \quad (19)$$

gdje je  $P$  tlak adsorpcije,  $P_0$  tlak zasićenja isparavanja,  $c$  konstanta,  $n$  množina adsorbirane tvari,  $n_m$  količina tvari adsorbirana u monosloju.

Volumen adsorbiranog dušika proporcionalan je specifičnoj površini tijela. Specifična površina je realna površina u kojoj su uključene sve mikroskopski male neravnine i pore. Specifična površina određena je pomoću jednadžbe:

$$S = N_A \cdot n_m \cdot \sigma \quad (20)$$

gdje je  $N_A$  Avogadrova konstanta.



**Slika 13.** Uređaj za određivanje veličina pora, ASAP 2000 (*Micromeritics, SAD*)

### 3.6. Morfologija peleta

Morfologija peleta istražena je pretražnom elektronskom mikroskopijom (SEM) pomoću uređaja Tescan Vega 3 SEM (Slika 14.).



**Slika 14.** Pretražni elektronski mikroskop

Prije analize morfologije uzorka, potrebno je izvršiti njegovu pripremu. Uzorak se nanosi na vodljivu vrpcu te se fiksira na metalni nosač, koji se potom stavlja u komoru neparivača (*sputter coater*) Quorum SC7620 u atmosferu inertnog plina (Ar). Radna

komora mora biti pod tlakom  $< 10^{-2}$  mbar, koji se ostvaruje uključivanjem rotacijske pumpe. Katoda, omotač komore, građena je od platine i rodija te služi za oblaganje uzorka ovim metalima. Kada se elektrode priključe na visoki napon (800 – 1200 V), električno polje ionizira argon te njegovi ioni udaraju u katodu i izbijaju atome platine i rodija koji oblažu uzorak te time uzorak postaje vodljiv i spreman za analizu elektronskim mikroskopom. Navedeni uređaj namijenjen je uvidu u strukturu površine sve do nanometarske razine i s mogućnošću povećanja do milijun puta.

### 3.7. Nanošenje dronedaron hidroklorida na pelete

Dronedaron hidroklorid nanesen je na dva načina na porozne pelete:

1. vakuumskom impregnacijom i
2. potapanjem peleta u otopinu DNR-a.

**Vakuumska impregnacija.** Porozne pelete impregnirane su u uređaju za vakuumsku impregnaciju (CitovacStruers). Priređene su otopine dronedaron hidroklorida i etanola koncentracije  $60 \text{ kg m}^{-3}$ , te otopine dronedaron hidroklorida i metanola koncentracija  $120 \text{ kg m}^{-3}$  i  $240 \text{ kg m}^{-3}$ .

Svrha impregnacije pod vakuumom je uklanjanje zraka iz uzorka kako bi se omogućilo potpuno prodiranje otopine dronedarona u pore peleta. Uzorci peleta stavljani su u staklenu posudu, postavljeni u uređaj (Slika 15) i vakuumirani. Nakon postizanja vakuuma, otopina dronedarona propuštena je u staklenu posudu do potpunog prekrivanja peleta. Zatim je vakuum zaustavljen kako bi tlak zraka potisnuo otopinu dronedarona u pore peleta i nakon nekoliko minuta tlak je vraćen na atmosferski. Pelete su puštene 24 sata potopljene u otopini. Nakon toga otopina je dekantirana i pelete su puštene još 24 sata na sušenju pri sobnoj temperaturi nakon čega su karakterizirane.



**Slika 15.** Uređaj za vakuumsku impregnaciju (CitovacStruers)

**Potapanje u otopini.** Napravljena je otopina dronedaron hidroklorida i etanola koncentracije  $60 \text{ kg m}^{-3}$  te su pelete uronjene u otopinu i jednostavnim potapanjem nanesen je DNR na pelete. Pelete su tako ostavljene u otopini 24 sata te je nakon toga otopina dekantirana. Pelete su se 24 sata sušile pri sobnoj temperaturi.

### 3.8. Određivanje sadržaja dronedarona u peletama

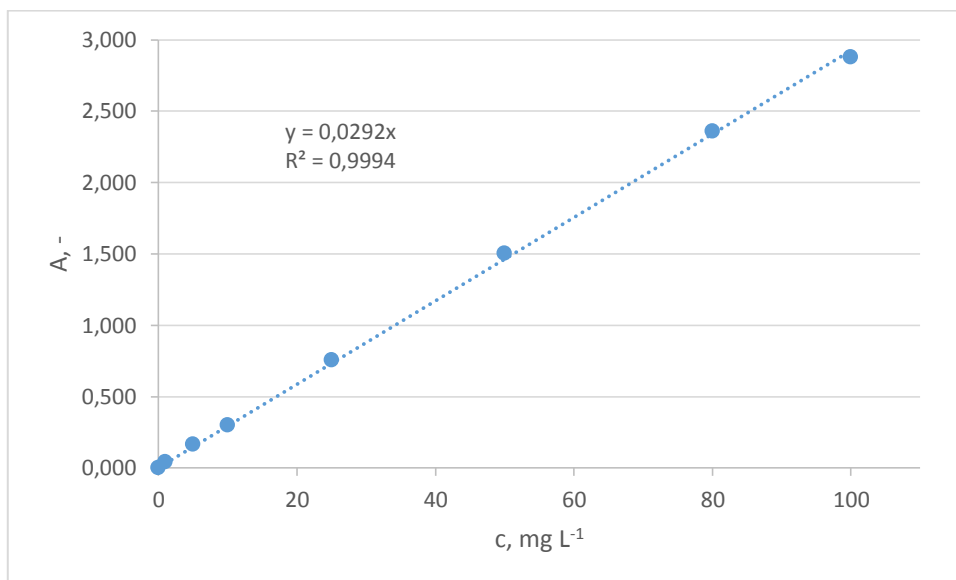
Određivanje sadržaja dronedarona provedeno je pomoću UV/Vis spektrofotometra UV-1280, Shimadzu (Slika 16). Radno područje spektrofotometra je od 190,0 nm do 1100,0 nm, a širina vrpce 0,1 nm. Ima dva izvora zračenja: deuterijevu i volframovu lampu. Karakterizira ga brzina snimanja, jednostavnost uporabe, nekoliko specifičnih načina snimanja, pohrana podataka na USB disk i dr.<sup>[22,23]</sup>



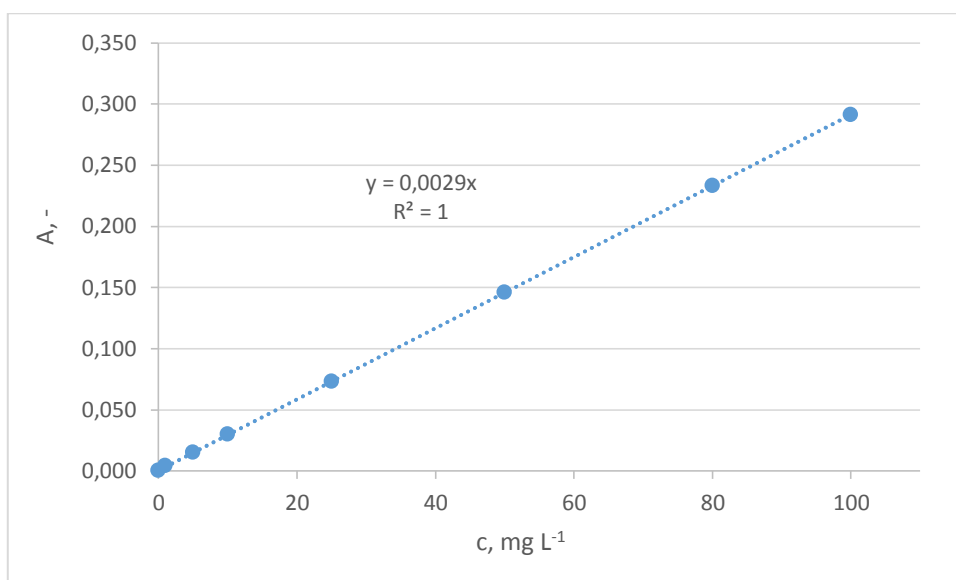
**Slika 16.** UV/VisS spektrofotometar UV-1280

### 3.8.1. Priprema standardnih otopina dronedarona

Temeljna standardna otopina dronedarona priprema se točnim vaganjem određene količine dronedarona na analitičkoj vagi te otapanjem odvaga u određenom volumenu etanola, odnosno metanola. Daljnjim razrjeđivanjem pripremaju se ostale radne standardne otopine koncentracija 1, 5, 10, 25, 50, 80 i 100 mg L<sup>-1</sup>. Spomenute standardne otopine su se koristile radi određivanja umjernog pravca (Slike 17 i 18) na osnovu kojeg je u uzorcima peleta određena masa deponiranog dronedarona.



**Slika 17.** Umjerni pravac (dronedaron u etanolu)



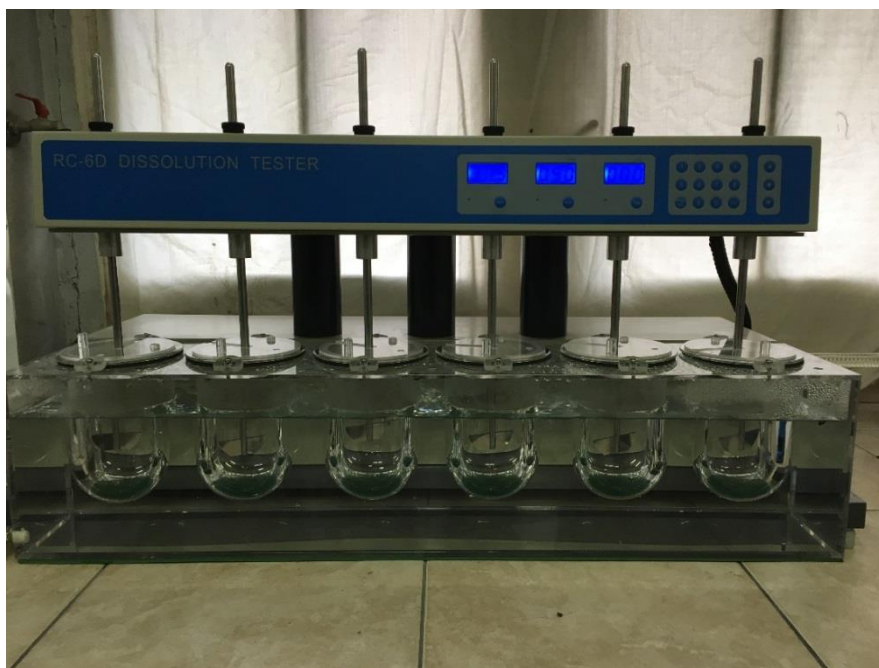
**Slika 18.** Umjerni pravac (dronedaron u metanolu)

### 3.8.2. Određivanje sadržaja dronedarona u peletama

Prije početka mjerenja potrebno je podesiti valnu duljinu uređaja na 288,2 nm, što odgovara maksimumu apsorpcije dronedarona. Zatim se u kivete ulije etanol, odnosno metanol, i u programu se pokrene automatsko podešavanje nule. Nakon podešavanja mjerenje započinje standardnim otopinama dronedarona koje se izmjenjuju redom od najmanje do najveće koncentracije nakon čega se u kivetu stavljaju uzorci dobiveni ispiranjem peleta. Kako bi se odredila masa deponiranog dronedarona odvagano je 340 mg peleta koje su otopljene u etanolu i 430 mg peleta koje su otopljene u metanolu te su one usitnjene u tarioniku. Prije ispitivanja otopine su filtrirane pomoću filtra CHROMAFIL® Xtra H-PTFE-45/25. Količina dronedarona u svakom pojedinom uzorku peleta određena je iz prethodno konstruiranog umjernog pravca.

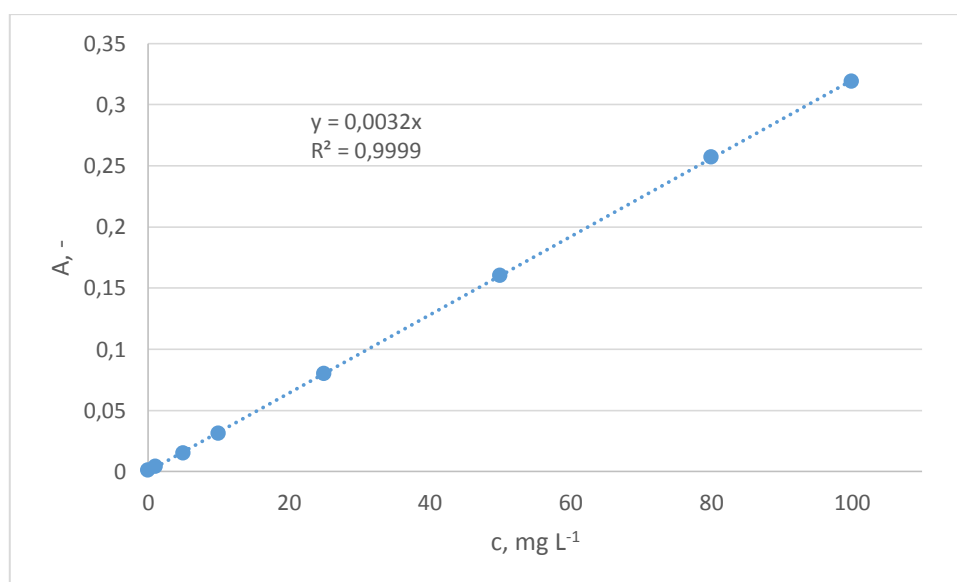
### 3.8.3. Ispitivanje brzine otpuštanja dronedarona iz peleta

Ispitivanje je provedeno na uređaju za ispitivanje otpuštanja djelatnih tvari (Dissolution tester RC-6D, Zhengzhou Nanbei Instrument) (Slika 19). Kao medij je korišten fosfatni pufer volumena 1000 ml, pH 4,5, a za miješanje su korištene košarice (USP I). Temperatura pufera podešena je na  $37 \pm 0,5$  °C, a broj okretaja lopatica na 75 o/min.



**Slika 19.** Uređaj za ispitivanje otpuštanja djelatnih tvari

Uzorkovanje je provedeno u vremenima 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90 i 120 minuta u skladu s FDA metodom za ispitivanje otpuštanja dronedarona iz tableta.<sup>24</sup> Prilikom uzorkovanja uzorci su filtrirani kroz filtar CHROMAFIL<sup>®</sup> Xtra H-PTFE-45/25 nakon čega su analizirani na UV/Vis spektrofotometru UV-1280, Shimadzu pri valnoj duljini 289,8 nm što odgovara maksimumu apsorbanije dronedarona u fosfatnom puferu. Na temelju dobivenih vrijednosti apsorbanija i umjernog pravca (Slika 20) izračunate su vrijednosti koncentracija dronedarona u navedenim vremenima te je prikazan njegov profil otpuštanja.



**Slika 20.** Umjerni pravac (dronedaron u fosfatnom puferu)

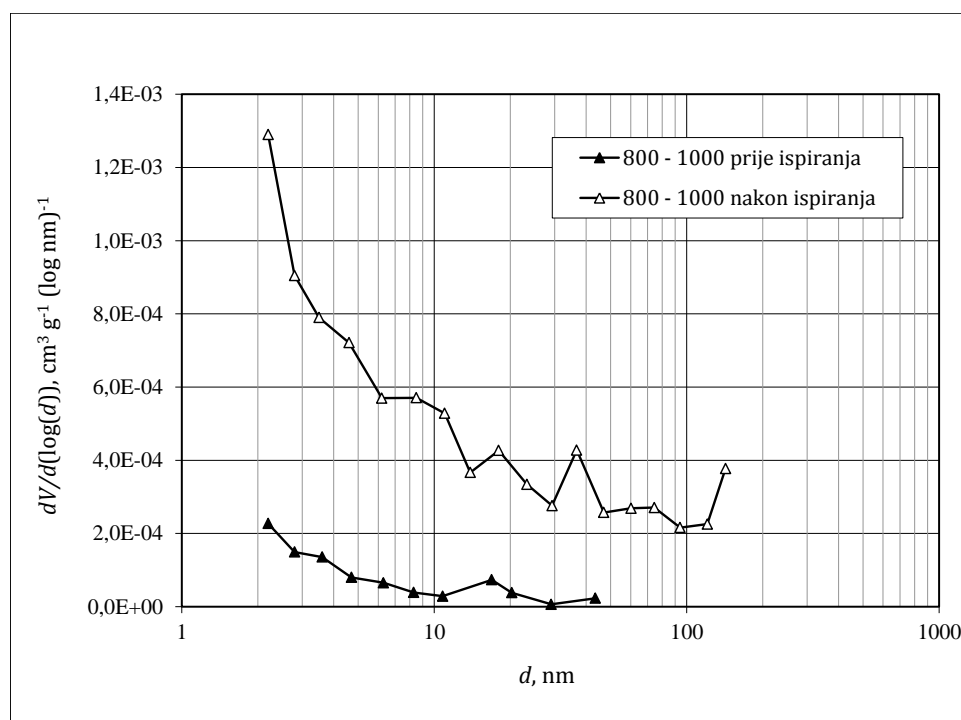
## 4. REZULTATI

U ovom poglavlju dan je pregled dobivenih rezultata.

### 4.1. Raspodjela veličina pora i specifična površina

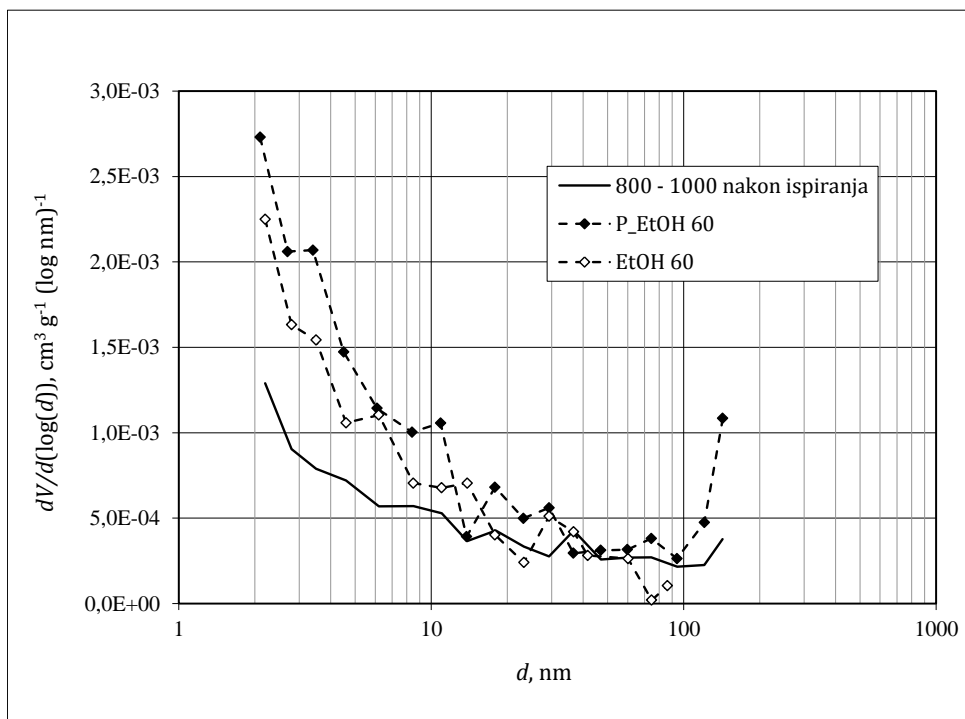
**Tablica 2.** Vrijednosti specifične površine, volumena pora i srednjeg promjera pora peleta

<i>uzorak</i>	$S_{\text{BET}}, \text{m}^2 \text{g}^{-1}$	$V_{\text{pora}}, \text{cm}^3 \text{g}^{-1}$	$d_{\text{srednji}}, \text{nm}$
Prije ispiranja	0,149	9,8E-05	3,53
Nakon ispiranja	0,940	1,6E-03	4,56
P_EtOH 60	3,504	3,7E-03	2,44
EtOH 60	1,967	1,5E-03	3,62
MeOH 120	0,824	8,1E-04	4,42
MeOH 240	0,627	8,6E-04	5,53

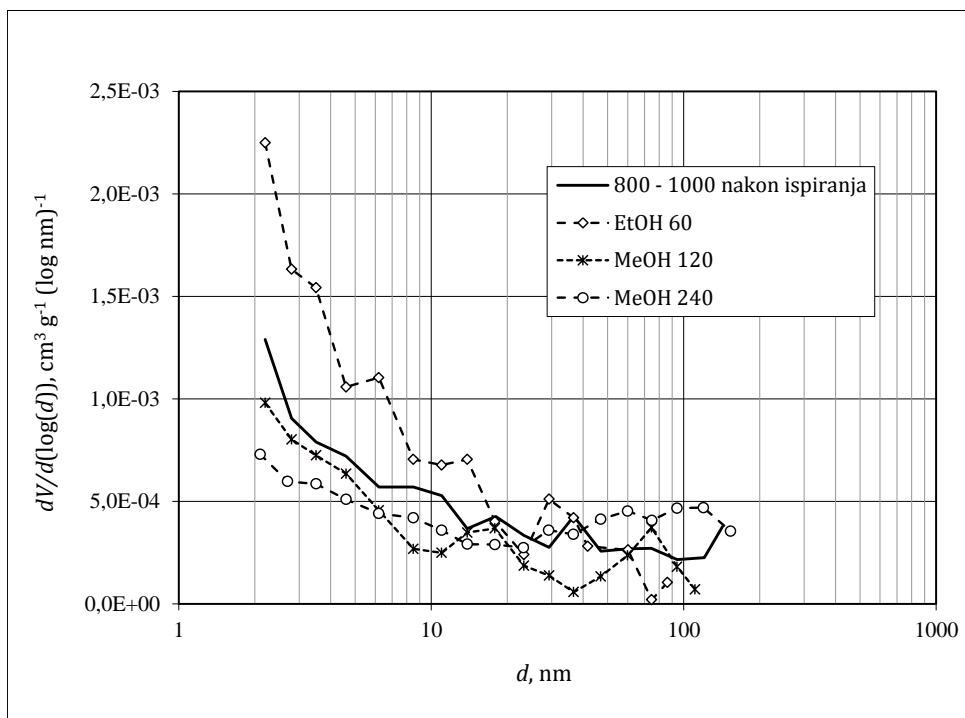


**Slika 21.** Usporedba raspodjele veličine pora peleta prije i nakon ispiranja



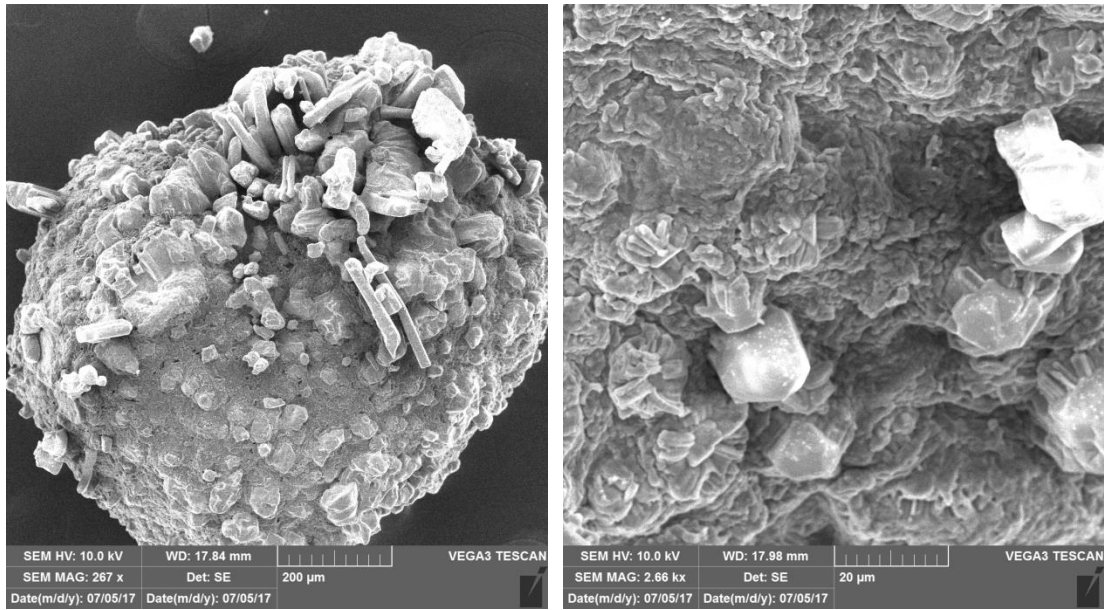


**Slika 22.** Usporedba raspodjele veličina pora potopljenih i impregniranih peleta otopinom dronedarona u etanolu

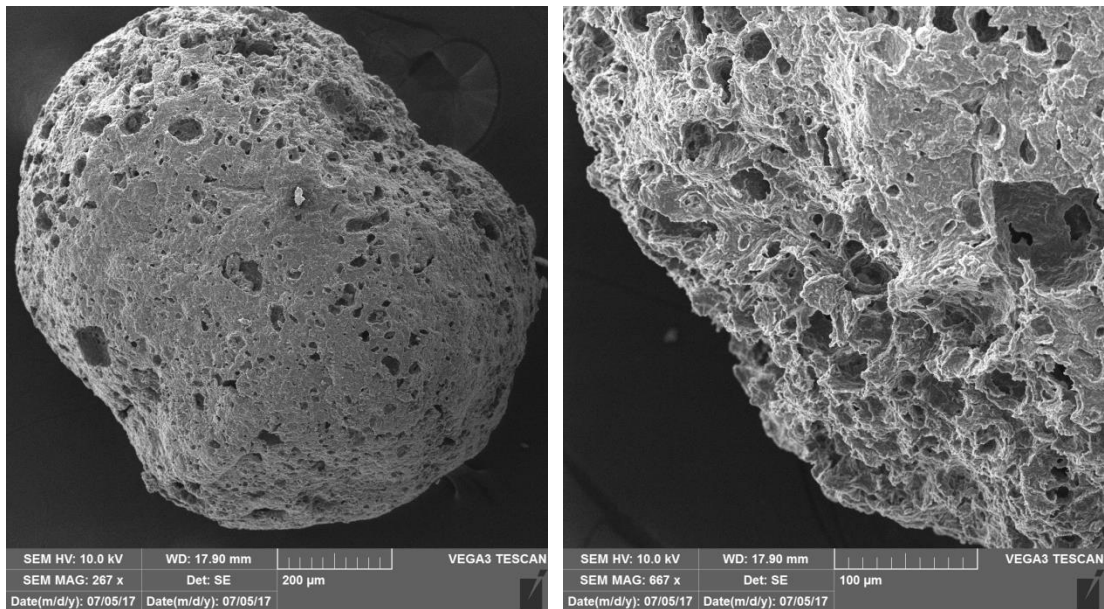


**Slika 23.** Usporedba raspodjele veličina pora impregniranih peleta otopinama različitih koncentracija

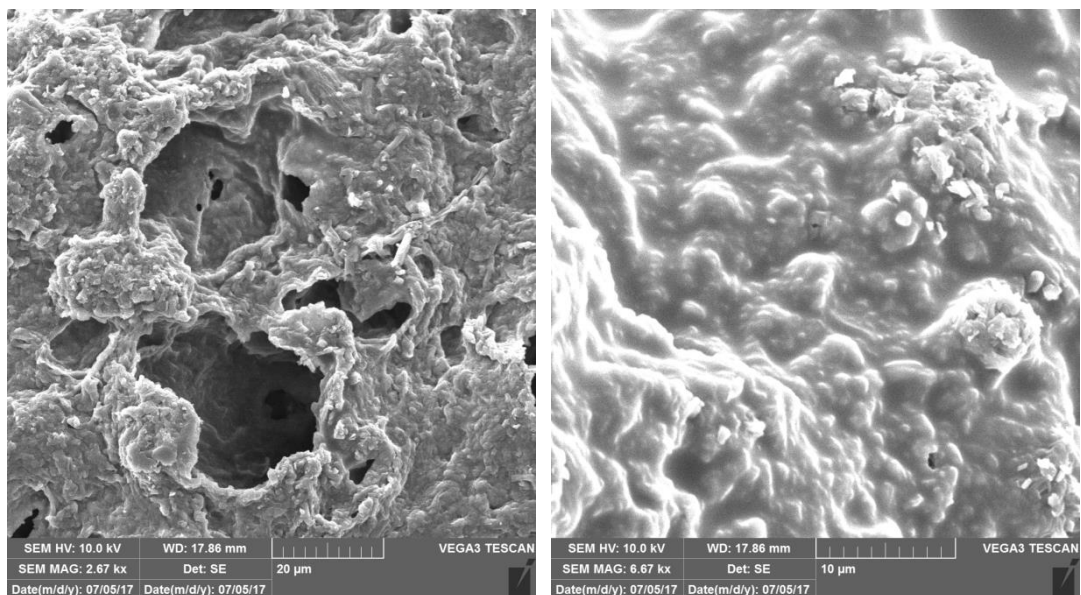
## 4.2. Morfologija peleta



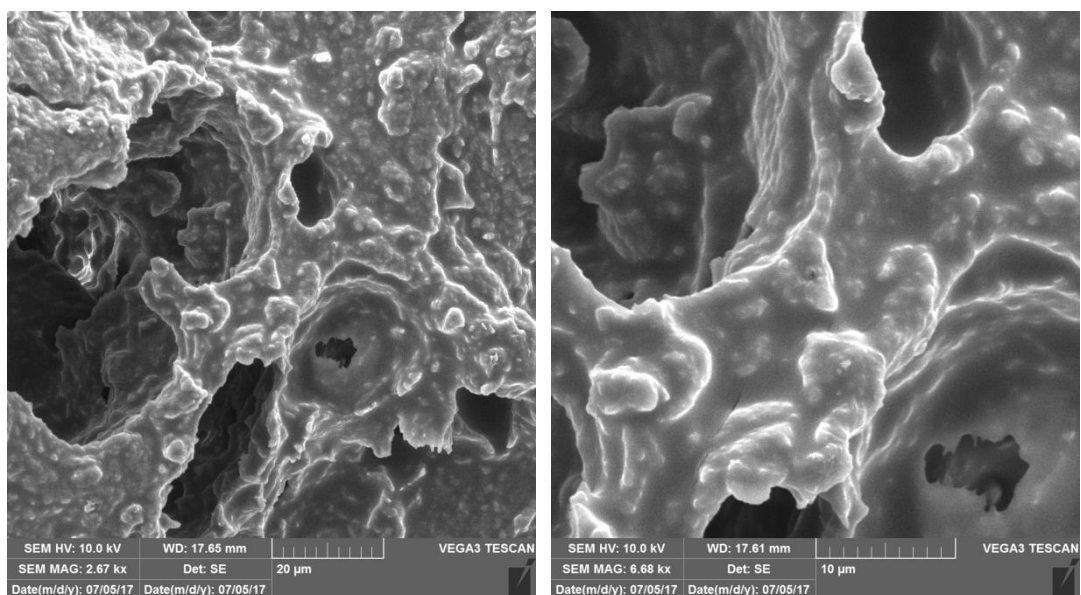
Slika 24. Prije ispiranja; a) 200X, b) 1000X



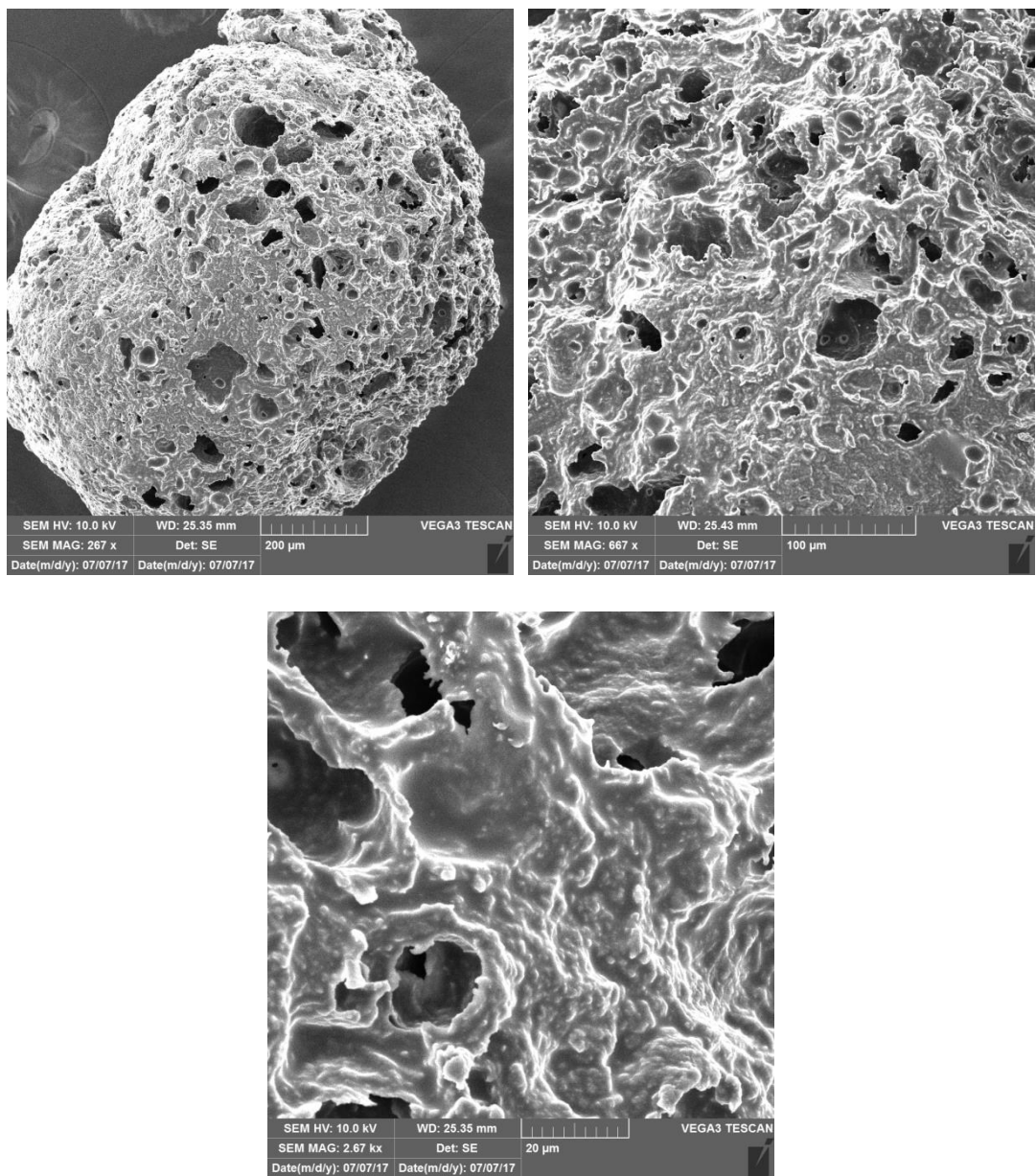
Slika 25. Nakon ispiranja; a) 200X, b) 500X



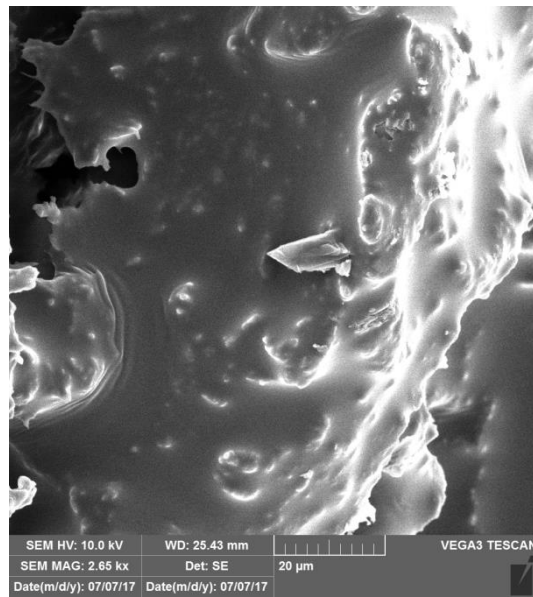
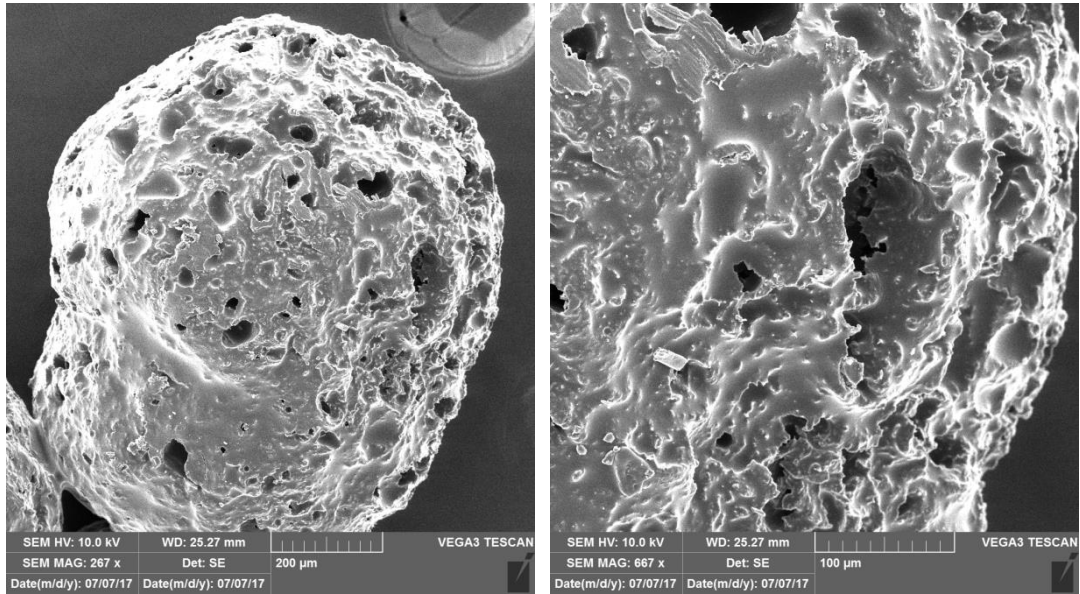
**Slika 26.** P\_EtOH 60; a) 2000X, b) 5000X



**Slika 27.** EtOH 60; a) 2000X, b) 5000X



**Slika 28.** MeOH 120; a) 200X, b) 500X, c) 2000X



**Slika 29.** MeOH 240; a) 200X, b) 500X, c) 2000X

### 4.3. Djelotvornost nanošenja dronedaron hidroklorida

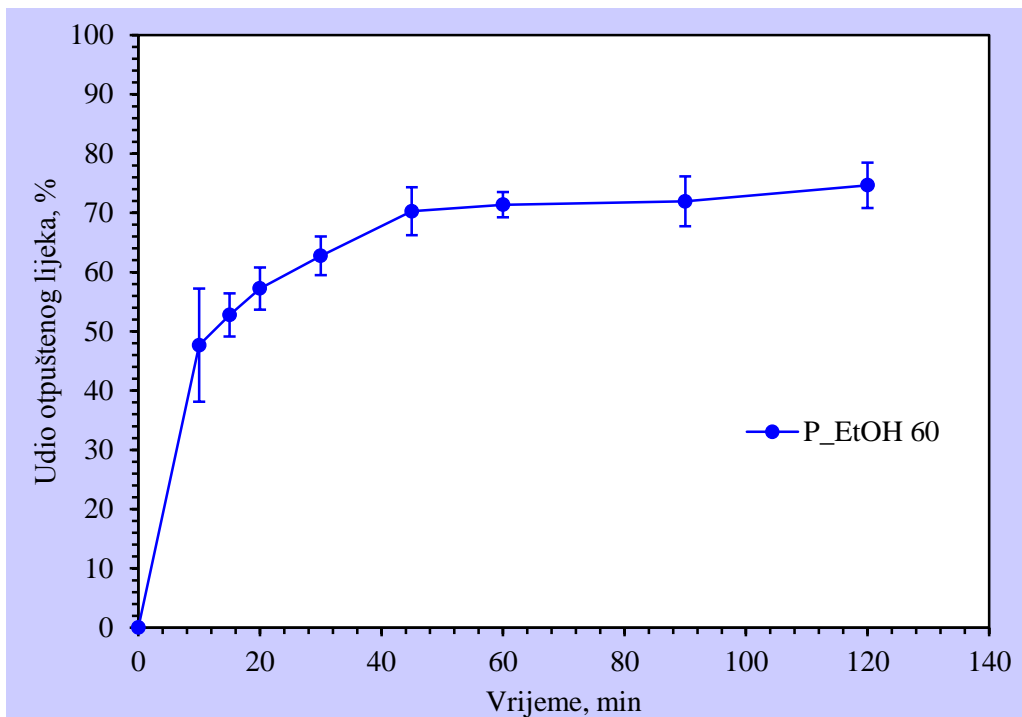
Tablica 3. Količina dronedarona nanosena na pelete različitim metodama

<i>uzorak</i>	<b>Udio DNR-a u peletama, %</b>
P_EtOH 60	10,31
EtOH 60	11,94
MeOH 120	19,50
MeOH 240	31,63

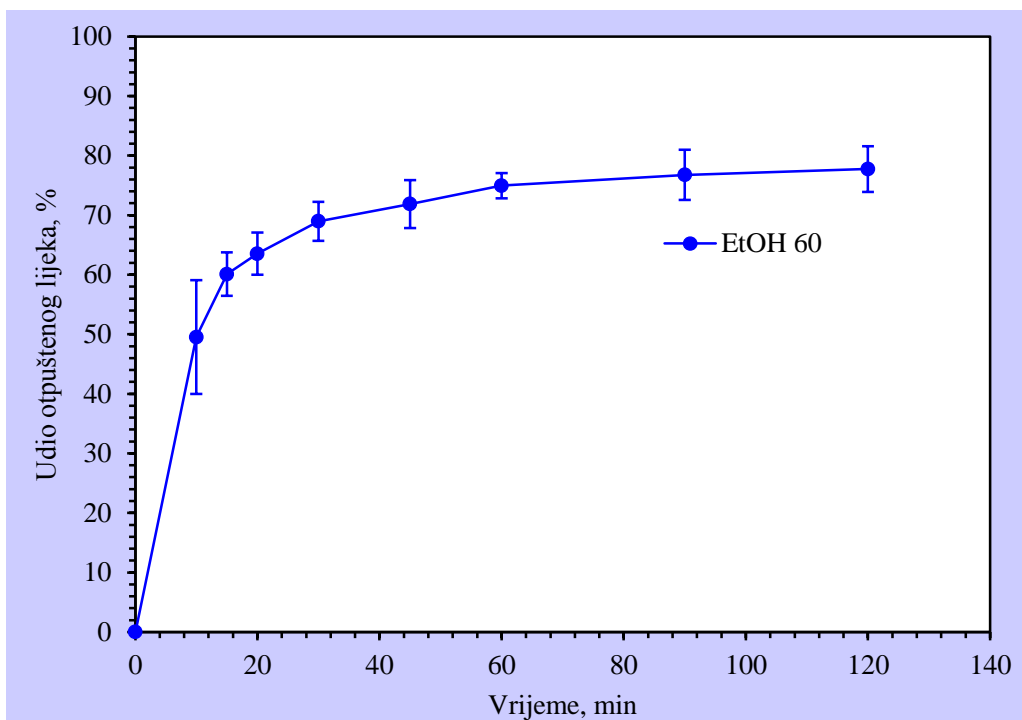
### 4.4. Kinetika otpuštanja dronedaron hidroklorida iz poroznih peleta

Tablica 4. Količina dronedarona otpuštena u vremenu

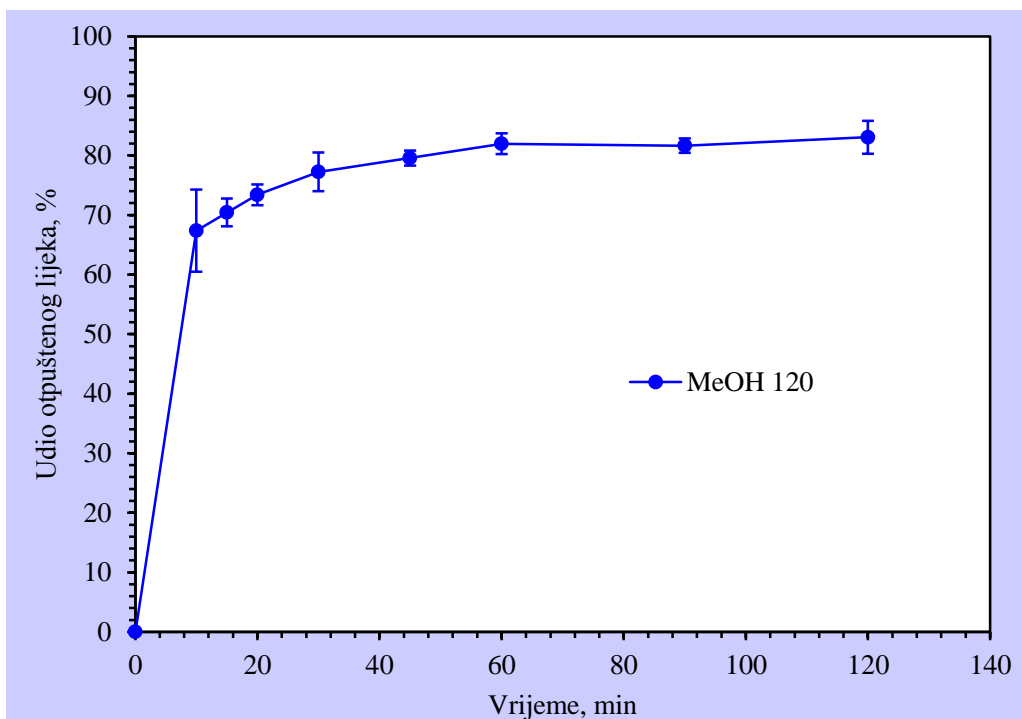
<b>Vrijeme</b>	<b>Koncentracija, mg L<sup>-1</sup></b>			
	<b>P_EtOH 60</b>	<b>EtOH 60</b>	<b>MeOH 120</b>	<b>MeOH 240</b>
<b>0</b>	0	0	0	0
<b>10</b>	21,21	25,51	56,70	78,42
<b>15</b>	23,48	30,97	59,28	94,24
<b>20</b>	25,48	32,74	61,79	101,44
<b>30</b>	27,95	35,57	65,06	112,29
<b>45</b>	31,34	37,08	67,05	118,75
<b>60</b>	31,84	38,69	69,08	120,56
<b>90</b>	32,09	39,64	68,82	123,96
<b>120</b>	33,33	40,16	70,02	124,37



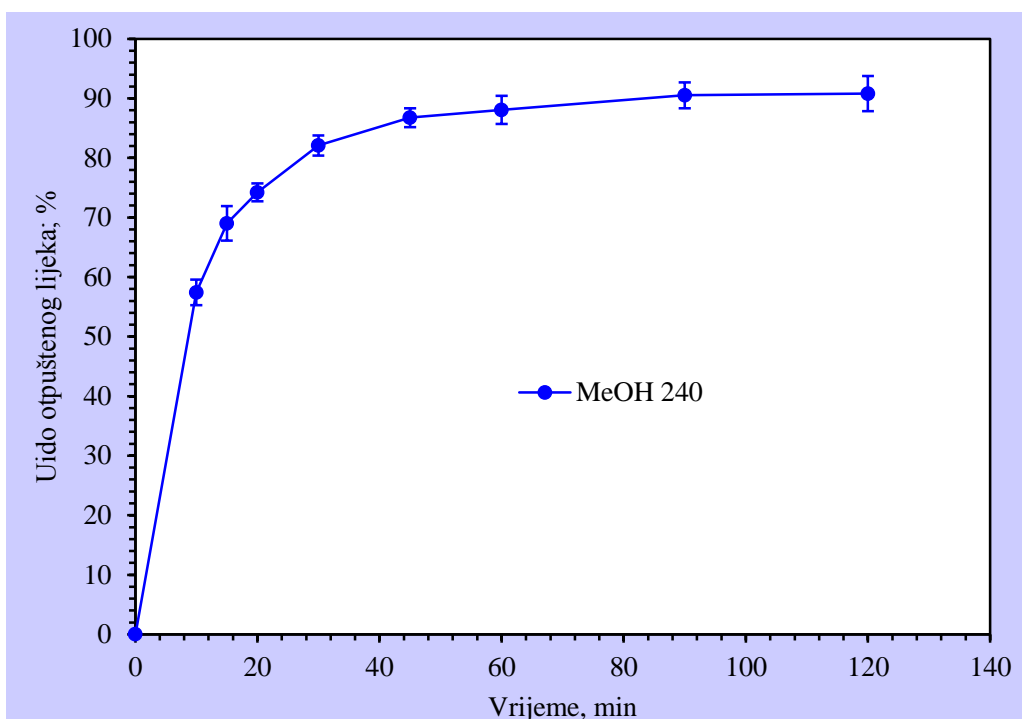
**Slika 30.** Prosječne vrijednosti udjela otpuštenog DNR-a iz P\_EtOH 60 peleta



**Slika 31.** Prosječne vrijednosti udjela otpuštenog DNR-a iz EtOH 60 peleta

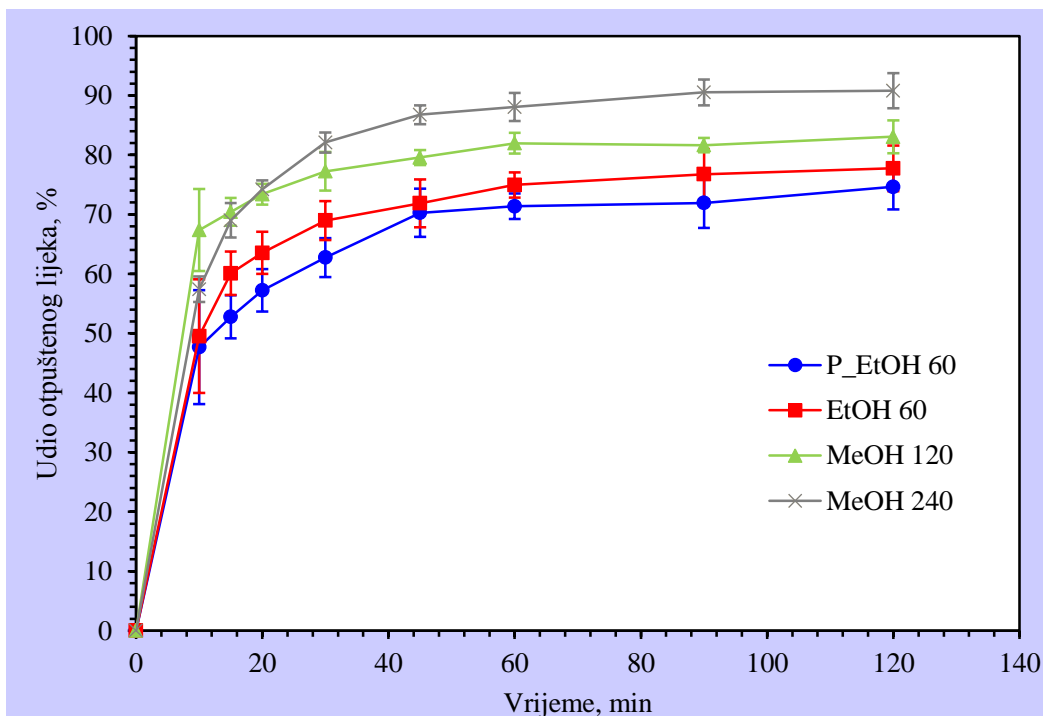


Slika 32. Prosječne vrijednosti udjela otpuštenog DNR-a iz MeOH 120 peleta

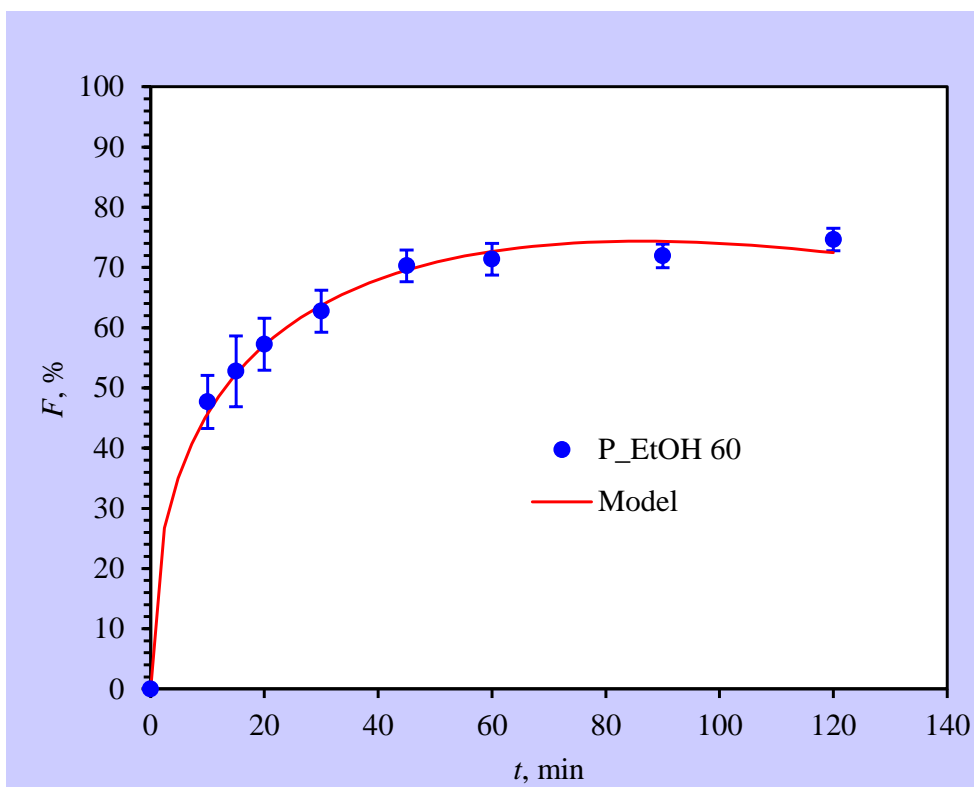


Slika 33. Prosječne vrijednosti udjela otpuštenog DNR-a iz MeOH 240 peleta

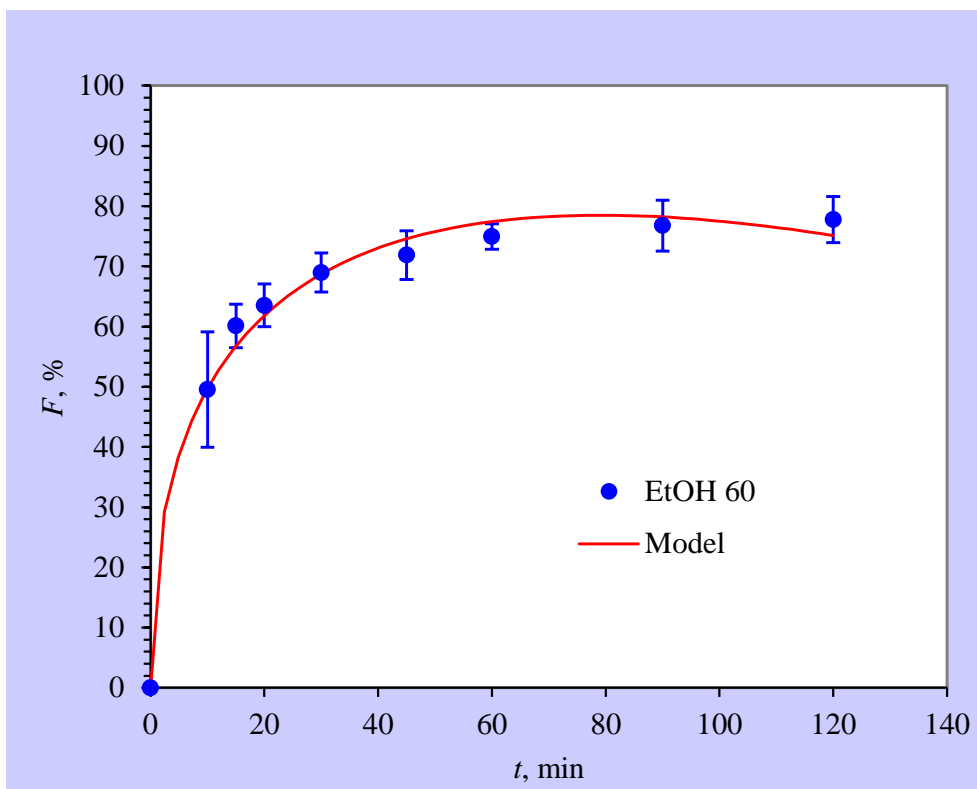




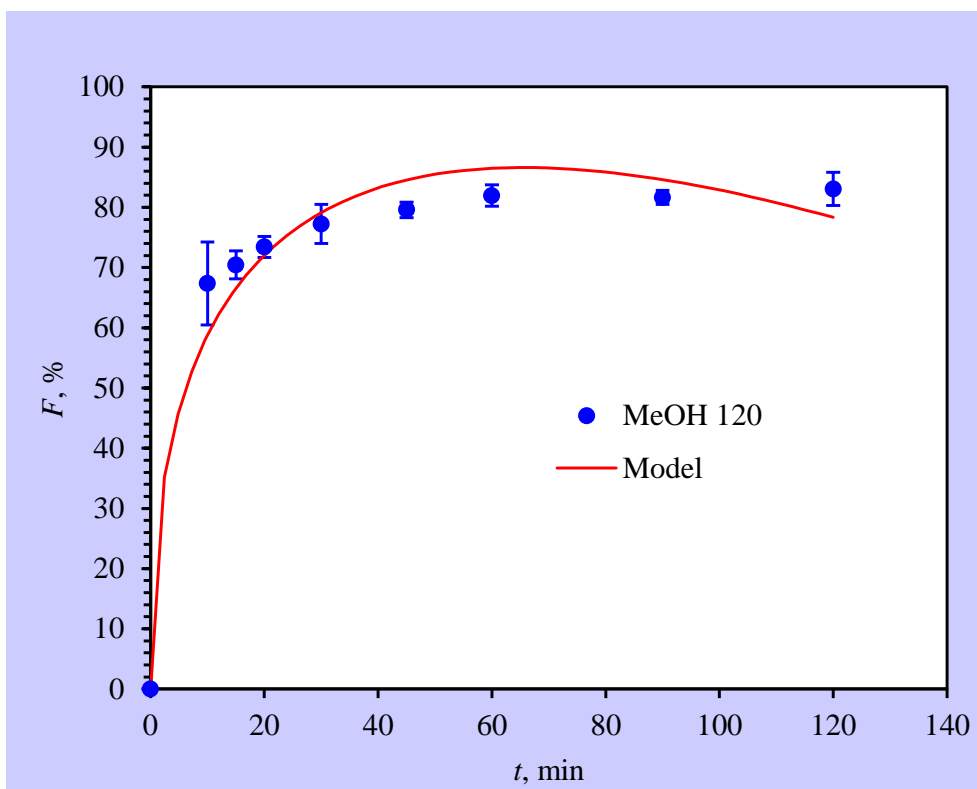
Slika 34. Usporedba profila otpuštanja DNR-a iz različitih peleta



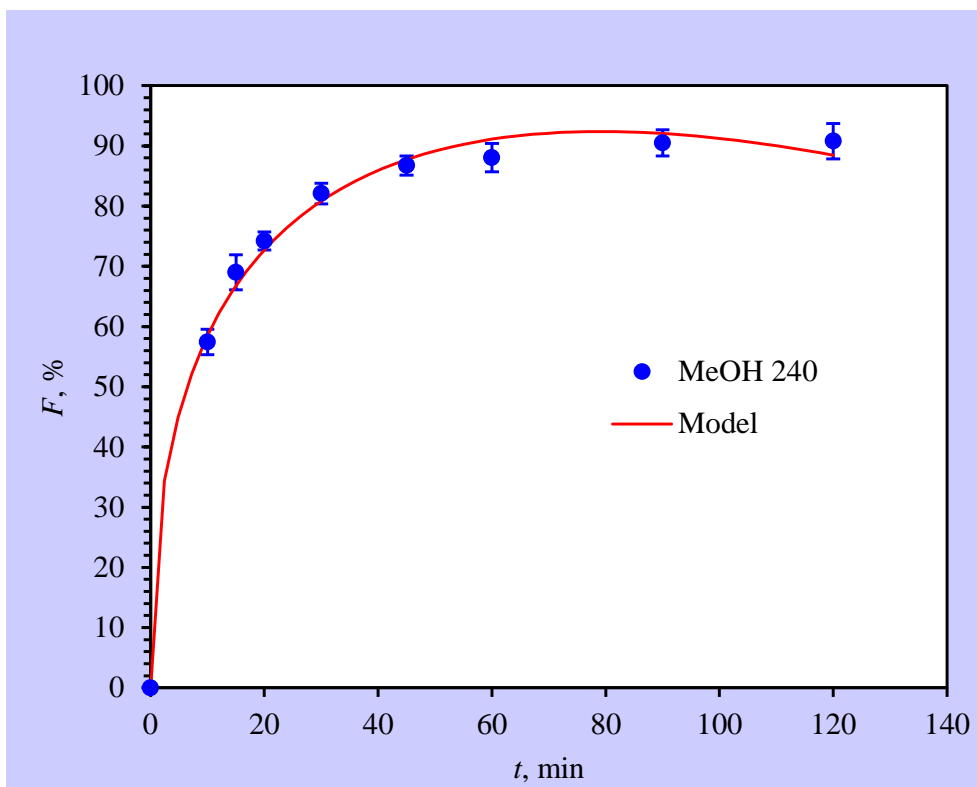
Slika 35. Kinetika otpuštanja DNR-a opisana Peppas-Sahlinovim modelom, potopljene pelete



**Slika 36.** Kinetika otpuštanja DNR-a opisana Peppas-Sahlinovim modelom, EtOH 60



**Slika 37.** Kinetika otpuštanja DNR-a opisana Peppas-Sahlinovim modelom, MeOH 120



**Slika 38.** Kinetika otpuštanja DNR-a opisana Peppas-Sahlinovim modelom, MeOH 240

**Tablica 5.** Parametri Peppas-Sahlinovog modela

Parametar	Potopljene	EtOH 60	MeOH 120	MeOH 240
$k_1, \text{min}^{-1}$	20,010	21,976	26,919	25,845
$k_2, \text{min}^{-1}$	-1,346	-1,538	-2,090	-1,808
$m$	0,450	0,450	0,445	0,450

## 5. RASPRAVA

U ovom radu istražena je mogućnost korištenja poroznih peleta kao nosača lijeka za reguliranje srčane aritmije, dronedaron hidroklorida. Eksperiment je proveden u nekoliko koraka koji su se sastojali od priprave peleta mikrokrystalne celuloze i natrijeva klorida u masenom omjeru 30:70, njihove karakterizacije te nanošenja, određivanja udjela nanese tvari i određivanja brzine otpuštanja lijeka s peleta. Profili otpuštanja su opisani kinetičkim modelom.

Pelete su pripravljene miješanjem MCC-a i NaCl-a s vodom što je dalo pogodnu mješavinu za ekstrudiranje. Nakon što je dobiven ekstrudat, sferične pelete dobivene su u sferonizatoru te su naposljetku sušene. NaCl je dodan kako bi stvorio pore u peletama stoga ga je bilo potrebno isprati vodom. U tablici 2 prikazane su vrijednosti specifične površine i veličine pora samih peleta prije i nakon ispiranja te nakon nanošenja djelatne tvari. Nakon ispiranja NaCl-a specifična površina peleta znatno se povećala (6,3 puta), a raspodjela veličina pora (Slika 21) pokazuje da je došlo do značajnog povećanja udjela pora, posebno manjih od 10 nm. Na mikrografijama peleta prije i nakon ispiranja (Slike 24 i 25) vidljiva je morfologija peleta. Prije ispiranja, pri uvećanju od 200 puta, vidljivi su u strukturi peleta veliki kristali NaCl-a koji se posebno ističu pri uvećanju od 1000 puta. Kada se usporede mikrografije prije (Slika 24) i poslije ispiranja (Slika 25) vidljiva je velika razlika u samoj površini peleta. Nakon ispiranja nema kristala soli, što je još jedan dokaz da je u potpunosti ispran. Vidljiva je i poroznija struktura same pelete. Na taj je način dokazano da su pripravljene pelete porozne strukture koje će poslužiti kao nosač lijeka.

Prije nanošenja dronedarona pelete su sušene. Nanošenje djelatne tvari provedeno je na dva načina, vakuuskom impregnacijom i potapanjem u otopini dronedaron hidroklorida. Cilj je bio nanijeti što veću količinu dronedarona. Pelete su potopljene u otopini dronedarona u etanolu (P\_EtOH 60) koncentracije  $60 \text{ kg m}^{-3}$ , vakuuski impregnirane otopinom iste koncentracije (EtOH 60) te otopinama dronedarona u metanolu koncentracija  $120 \text{ kg m}^{-3}$  (MeOH 120) i  $240 \text{ kg m}^{-3}$  (MeOH 240).

Kako bi rezultati bili usporedivi, potapanje peleta trajalo je 24 sata, uz sušenje koje je trajalo isto toliko. Pelete EtOH 60, koje su impregnirane u vakuumu, nakon samog postupka potapanje su u ostatak otopine na 24 sata, te se isto toliko sušile. Usporedbom mikrografija P\_EtOH 60 i EtOH 60 peleta (Slike 26 i 27), na koje je nanesena ista koncentracija dronedarona u otopini EtOH, ali na različite načine, vidljivo je i da metoda s kojom se nanosi

aktivna tvar utječe na količinu adsorbirane tvari. Iako se ne može sa sigurnošću tvrditi da je nanosena količina različita kod ovih slučajeva, kod P\_EtOH 60 peleta vidljiva je grublja površina (Slika 26) za razliku od EtOH 60 peleta (Slika 27). Raspodjela veličina pora (Slika 22) pokazala je veći udio sitnih pora kod P\_EtOH 60 peleta pa se pretpostavlja da je vakuomskom impregnacijom dronedaron unesen i u sitne pore u unutrašnjosti pelete dok se potapanjem dronedaron uglavnom adsorbira na površini peleta, a vrlo malo u porama. Impregnacija u vakuumu pokazala se znatno boljom od potapanja jer vakuumiranje peleta, a potom uvođenje otopine, dovodi do deponiranja aktivne tvari u pore pelete. To pokazuje i veći maseni udio nanosenog dronedarona, 11,94 % (Tablica 3).

Usporedno s time pelete su impregnirane u vakuumu s otopinom metanola koncentracije 120 i 240 kg m<sup>-3</sup>. Topljivost dronedarona u metanolu, pri sobnoj temperaturi, je puno veća od topljivosti u etanolu te je iz tog razloga izabrano ovo otapalo kako bi se postigle veće koncentracije dronedarona.<sup>[25]</sup> Analizom morfologije peleta nakon nanošenja dronedarona (Slike 28 i 29) vidljivo je da je došlo do popunjavanja i zaglađivanja površine. Iako se na temelju mikrofografija ne može sa sigurnošću tvrditi da je na površini deponiran dronedaron, vidljivo je da je struktura pelete promijenjena. Najveća promjena uočena je kod upotrebe otopine dronedarona u metanolu koncentracije 240 kg m<sup>-3</sup> (Slika 29). Raspodjela veličina pora (Slika 23) pokazala je da se povećanjem koncentracije otopine smanjuje ukupni volumen pora, a time i površina impregniranih peleta.

Ispitivanje djelotvornosti nanošenja dronedarona na pelete potvrdilo je dobivene rezultate. Pelete su potopljene u metanolu kako bi se dronedaron otopio. UV/Vis spektrofotometrom utvrđen je sadržaj dronedarona. Rezultati (Tablica 3) potvrđuju da je impregnacija u vakuumu djelotvorniji način nanošenja dronedarona na pelete te da se povećanjem koncentracije otopine dronedarona, povećava i udio DNR-a u peletama.

Konačni korak u ispitivanju je utvrđivanje brzine otpuštanja dronedarona s peleta, tzv. profila otpuštanja. Ispitivanje je provedeno prema propisanoj FDA metodi za ispitivanje tableta dronedarona.<sup>[24]</sup> U tablici 4 prikazana je promjena koncentracije dronedarona u fosfatnom puferu tijekom vremena. Rezultati predstavljaju srednje vrijednosti koncentracija dobivene na temelju četiri mjerenja. U ispitivanju je korišteno 430 mg peleta što je količina koju mogu zaprimiti komercijalne kapsule veličine 000. Koncentracije pokazuju da je nakon 120 minuta najmanja količina dronedarona u puferu postignuta iz P\_EtOH 60 peleta, a najveća iz MeOH 240 peleta. Prosječne vrijednosti otpuštenog dronedarona iz peleta prikazane su na slikama 30 – 34. Najmanja količina dronedarona otpustila se iz P\_EtOH 60 peleta (74 %), zatim iz EtOH

60 (78 %), MeOH 120 (83 %), te naposljetku, pelete s najvećom količinom otpuštene tvari MeOH 240 (91 %). Vidljivo je da koncentracija dronedarona naglo raste do 45. minute, a potom ima blagi porast. Može se zaključiti da se dronedaron otpušta s površine peleta do tog vremena, a nakon toga prevladava difuzijski proces dopreme aktivne tvari iz pora do površine. Zbog toga je i brže otpuštanje s peleta koje sadrže veliki udio dronedarona jer se pretpostavlja da je on većinom deponiran na površini peleta.

Kinetika otpuštanja dronedarona opisana je Peppas-Sahlinovim matematičkim modelom (jedn. 19):

$$F = k_1 \cdot t^m + k_2 \cdot t^{2m} \quad (19)$$

gdje je  $F$  udio otpuštene tvari u vremenu  $t$ ,  $k_1$  je konstanta koje označava doprinos difuzije prema Fickovom zakonu,  $k_2$  je konstanta koja označava doprinos otpuštanja i relaksacije polimernih lanaca. EkspONENT  $m$  je difuzijski eksponent za tvar bilo kojeg oblika koji inhibira kontrolirano otpuštanje i služi za karakterizaciju različitih mehanizama otpuštanja. Kada eksponent  $m$  ima vrijednost 0,45 ili manju, mehanizam otpuštanja biti će jednak mehanizmu Fickove difuzije. Kada je  $0,45 < m < 0,85$  mehanizam neće biti jednak Fickovoj difuziji, odnosno predstavlja kombinaciju difuzije i relaksacije polimerne matrice. Za vrijednosti eksponenta veće od 0,89 mehanizam otpuštanja djelatne tvari prati tzv. mehanizam prijenosa II.<sup>[26]</sup>

U tablici 5 prikazane su vrijednosti pojedinih parametara modela. Vrijednosti konstanti  $k_1$  i eksponenta  $m$  pokazuju otpuštanje djelatne tvari koje odgovara Fickovoj difuziji. Peppas-Sahlinov model odabran je na temelju vrijednosti prilagođene sume kvadrata odstupanja ( $R_p^2$ ) prikazanih u tablici 6.

**Tablica 6.**  $R_p^2$  za Peppas-Sahlinov model

Uzorak	$R_p^2$
<i>P_EtOH 60</i>	0,983
<i>EtOH 60</i>	0,973
<i>MeOH 120</i>	0,946
<i>MeOH 240</i>	0,992

Vidljivo je izvrsno slaganje odabranog modela. Na slikama 35 – 38 prikazani su eksperimentalni profili otpuštanja i slaganje modela za svaki uzorak peleta. Model pretpostavlja da je nakon nekog vremena došlo do smanjenja koncentracije djelatne tvari na površini peleta zbog čega dolazi do pada brzine otpuštanja. Do trenutka pada koncentracije, otpuštanje je u skladu s Fickovim zakonom difuzije nakon čega se pretpostavlja da dolazi do sporijeg otpuštanja iz pora peleta te do djelomične degradacije oblika.

Različite metode nanošenja dronedarona na porozne pelete upotrebom različitih koncentracija otopine pokazano je da je moguće postići velike količine deponiranog dronedarona te regulirati brzine njegovog otpuštanja. Time je pokazano da pelete mogu poslužiti kao vrlo djelotvoran oblik za dostavu lijeka.

## 6. ZAKLJUČAK

Ekstrudiranjem i sferonizacijom pripremljene su porozne pelete mikrokrystalne celuloze koje mogu poslužiti kao nosač lijeka.

Vakuumska impregnacija pokazala se boljom metodom nanošenja dronedarona na porozne pelete u odnosu na jednostavno potapanje u otopini.

Povećanje koncentracije dronedarona u otopini doprinosi i povećanju udjela nanesenog dronedarona na površinu peleta.

Profili otpuštanja opisani su Peppas-Sahlinovim modelom, a dobiveni parametri modela pokazuju da je dominirajući mehanizam otpuštanja difuzija. Brzina otpuštanja je veća što je veća koncentracija dronedarona na površini peleta.

Rezultati pokazuju da ispitivane pelete imaju potencijal kao nosači lijeka za reguliranje srčane aritmije te da je odabirom metode i uvjeta nanošenja moguće postići kontrolirano otpuštanje lijeka.



## 7. POPIS KRATICA I SIMBOLA

ADME – apsorpcija, distribucija, metabolizam, izlučivanje

AF – atrijalna fibrilacija

AFL – atrijalno podrhtavanje

AgCl – srebro klorid

AgNO<sub>3</sub> – srebro nitrat

BCS – *Biopharmaceutics Classification System*

DNR – dronedaron hidroklorid

FDA – *Food and Drug Administration*

IUPAC – *Internation Union of Pure and Applied Chemistry*

IVIVK – *In vivo-in vitro* korelacija

NaCl – natrijev klorid

MCC – mikrokristalna celuloza

NR/NP – niska topljivost, niska permeabilnost

NR/VP – niska topljivost, visoka permeabilnost

SEM – pretražni elektronski mikroskop

USP – *The United States Pharmacopeia*

UV/Vis – ultraljubičasti / vidljivi spektar elektromagnetskog zračenja

VR/VP – visoka topljivost, visoka permeabilnost

VR/NP – visoka topljivost, niska permeabilnost

## SIMBOLI

$A$  – površina,  $m^2$

$a$  – parametar skale koji opisuje vremensku ovisnost

$a$  – polovica debljine sustava (tj. radijus za kuglu ili cilindar),  $m$

$b$  – oblik pomaka krivulje topljivosti

$c$  – parametar u BET jednadžbi

$dc/dx$  - koncentracijski gradijent,  $\text{mol s m}^{-3}$

$C_{\max}$  – srednja maksimalna koncentracija,  $\text{mol m}^{-3}$

$c_s$  – koncentracija zasićene otopine,  $\text{mol m}^{-3}$

$C_L$  – početna količina lijeka u sustavu,  $\text{kg m}^{-3}$

$c_t$  – koncentracija u vremenu  $t$ ,  $\text{mol m}^{-3}$

$c_0$  – početna koncentracija lijeka,  $\text{kg m}^{-3}$

$D_f$  – difuzijski koeficijent

$F$  – udio otpuštene tvari u vremenu  $t$ , %

$f_1$  – faktor razlike

$f_2$  – faktor sličnosti

$h$  – debljina difuzijskog sloja,  $m$

$K$  – konstanta brzine otpuštanja prvog reda,  $s^{-1}$

$K_h$  – Higuchijeva konstanta otapanja,  $\text{kg m}^{-3} s^{-1}$

$K_0$  – konstanta brzine otpuštanja nultog reda,  $\text{kg m}^{-3} s^{-1}$

$k_0$  – konstanta brzine nultog reda koja opisuje degradaciju polimera,  $s^{-1}$

$k_1$  – konstanta koje označava doprinos difuzije prema Ficku,  $s^{-1}$

$k_2$  – konstanta koja označava doprinos otpuštanja i relaksacije polimernih lanaca,  $s^{-1}$

$M$  – količina otpuštenog lijeka u vremenu  $t$ ,  $\text{kg m}^{-3}$

$dM/dt$  – količina otopljene tvari po jedinici vremena i površine,  $\text{kg m}^{-2} \text{s}^{-1}$

$M_0$  – ukupna količina lijeka koja je otpuštena,  $\text{kg m}^{-3}$

$m$  – difuzijski eksponent

$n$  – eksponent otpuštanja

$n$  – eksponent koji varira s geometrijom

$n$  – broj eksperimentalnih podataka

$N_A$  – Avogadrova konstanta,  $\text{mol}^{-1}$

$P$  – tlak adsorpcije, Pa

$p$  – broj parametara modela

$P_0$  – tlak zasićenja isparavanja, Pa

$R_p^2$  – prilagođeni  $R^2$

$S$  – površina,  $\text{m}^2$

$T$  – zaostalo vrijeme mjereno kao rezultat procesa otpuštanja, s

$t_{1/2}$  – poluvrijeme uklanjanja, s

$Q_t$  – količinu lijeka otpuštenu u vremenu  $t$ ,  $\text{kg m}^{-3}$

$Q_0$  – početna doza lijeka u otopini,  $\text{kg m}^{-3}$

$W_0$  – početna koncentracija lijeka u dozirnom obliku,  $\text{kg m}^{-3}$

$W_t$  – preostala koncentracija u dozirnom obliku u vremenu  $t$ ,  $\text{kg m}^{-3}$

### **Grčki simboli**

$\gamma$  – volumen otopine,  $\text{m}^3$

$\delta$  – poroznost matrice

$\kappa$  – konstanta ugradnje površinsko-volumnog odnosa

$\tau$  – zakrivljenost matrice

## 8. LITERATURA

1. <http://www.cvpharmacology.com/antiarrhy/antiarrhythmic> (pristup 19. 6. 2017.)
2. M. Bilušić, A. Bilušić, Antiaritmici: Principi farmakoterapije kardiovaskularnih bolesti, *Medicus* **19** (2010) 197-202.
3. F. Iram, S. Ali, A. Ahmad, S. A. Khan, A. Husain, A review on dronedarone: Pharmacological, pharmacodynamic and pharmacokinetic profile, *J. Acute. Dis.* **5** (2016) 102-108.
4. M. Vamos, S. H. Hohnloser, Amiodarone and Dronedarone: An Update, *Trends Cardio. Med.* **26** (2016) 597-602.
5. J.Y. Le Heuzey, Dronedarone: From buzz to reality, *Arch Card Dis* **103** (2010) 427-429
6. European Medicines Agency, ASSESSMENT REPORT FOR Multaq; International Non-proprietary Name: dronedarone, Procedure No. EMEA/H/C/001043, 2009.
7. R. Tadros, S. Nattel, J. G. Andrade: Dronedarone, Basic Pharmacology and Clinical Use, *Cardiac Electrophysiology Clinics* **8** (2016) 453-465
8. G. Singhvi, M. Singh, Review: In – vitro drug release characterization models, *Int. J. Pharm. Stud. Res.* **2** (2011) 77-84.
9. D. Y. Arifin, L. Y. Lee, C. Wang: Mathematical modeling and simulation of drug release from microspheres: Implication to drug delivery systems, *Adv. Drug Del. Rev.* **58** (2006) 1274-1325.
10. V. Jelšanek, Farmaceutika, Školska knjiga, Zagreb, 1998.
11. J. Emami: In vitro - In vivo correlation: From Theory to Applications, *J. Pharm. Pharm. Sci.* **9** (2006) 169-189.
12. S. Dash, P. N. Murthy, L. Nath, P. Chowdhury: Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems, *Acta Poloniae Pharm. – Drug Res.* **67** (2010) 217-223.
13. S. Muley, T. Nandgude, S. Poddar; Extrusion – spheronization a promising pelletization technique: In – depth review; *Asian J. Pharm. Sci.* **II** (2016) 684-699.
14. D. Ratul, A. A. Baquee: Pellets and Pelletization techniques: A critical review, *Int. Res. J. Pharm.* **4** (2013) 90-95.
15. N. S. Dey, S. Majumdar, M. E. B. Rao: Multiparticulate Drug Delivery Systems for Controlled Release, *Trop. J. Pharm. Res.* **7** (2008), 1067-1075.

16. B. Johansson, M. Wikberg, R. Ek, G. Alderborn: Compression behaviour and compactability of microcrystalline cellulose pellets in relationship to their pore structure and mechanical properties, *Int. J. Pharm.* **117** (1995) 57-73.
17. J. J. Sousa, A. Sousa, F. Podczeck, J. M. Newton: Factors influencing the physical characteristics of pellets obtained by extrusion-spheronisation, *Int. J. Pharm.* **23** (2002) 91-106.
18. C. Vervaet, L. Baert, J. P. Remon: Extrusion-spheronisation. A literature review, *Int. J. Pharm.* **116** (1995) 131-146.
19. S. G. Kazarian, G. G. Martirosyan: Spectroscopy of polymer/drug formulations processed with supercritical fluids: In situ ATR-IR and Raman study of the impregnation of ibuprofen into PVP, *Int. J. Pharm.* **232** (2002) 81–90.
20. C. R. Hicks, K. V. Turner: Fundamental concepts in the design of experiments; University Press, Oxford, England, 1999.
21. A. Duarte, A. Simplicio, A. Vega-Gonzalez, P. Coimbra, H. C. de Sousa, C. M. M. Duarte: Supercritical fluid impregnation of a biocompatible polymer for ophthalmic drug delivery, *J. Supercrit. Fluids.* **41** (2007) 231–42
22. <https://www.shimadzu.hr/uv-1280> (pristup 28. 6. 2017.)
23. <https://biosentec.fr/docs/Tech/UV-1280.pdf> (pristup 28. 6. 2017.)
24. [http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp\\_getallData.cfm](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_getallData.cfm) (pristup 28. 6. 2017.)
25. E.-S. Ha, Y.-R. Lee, M.-S. Kim: Solubility of dronedarone hydrochloride in six pure solvents at the range of 298,15 to 323,15 K, *J. Mol. Liq.* **216** (2016) 360-363
26. O. Mady: Mechanisms and Percent of Drug Release of Each New Mathematic Approach, *Int. Res. J. Pharm. App. Sci.* **3** (2016) 56-69.

## 9. ŽIVOTOPIS

Leo Cuculić [REDACTED] 2008. godine upisuje Prirodoslovnu i grafičku školu u rijeci, smjer Prirodoslovna gimnazija. Nakon završetka srednje škole upisuje Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, studij Kemijsko inženjerstvo, koje završava 2015. godine, čime stječe titulu sveučilišni prvostupnik inženjer kemijskog inženjerstva. Iste godine upisuje diplomski studij na istom fakultetu, studij Kemijsko inženjerstvo, modul Kemijske tehnologije i proizvodi. Za vrijeme studiranja sudjelovao je u raznim izvannastavnim aktivnostima i sportskim natjecanjima. Sudjelovao je u radu, i bio član, Studentskog zbora Fakulteta.