

Kinetika otpuštanja djelatne tvari iz granula dobivenih taljenjem u fluidiziranom sloju

Kolman, Dora

Undergraduate thesis / Završni 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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:122201>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-06-26**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Dora Kolman

**KINETIKA OTPUŠTANJA DJELATNE TVARI IZ GRANULA
DOBIVENIH TALJENJEM U FLUIDIZIRANOM SLOJU**

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada:

Doc. dr. sc. Krunoslav Žižek

Članovi ispitnog povjerenstva:

Doc. dr. sc. Krunoslav Žižek

Prof. dr. sc. Gordana Matijašić

Izv. prof. dr. sc. Dragana Mutavdžić Pavlović

Zagreb, rujan 2017.

*Završni rad izrađen je u Zavodu za mehaničko i toplinsko procesno inženjerstvo
na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.*

SAŽETAK

Ovim istraživanjem sagledano je granuliranje u fluidiziranom sloju s *in-situ* taljenjem veziva kao moguća procesna tehnologija za pripravu mješavine azitromicin dihidrata i laktoze monohidrata pogodne za izradu tableta dobrih primjenskih svojstava. Dodatni ulazni procesni tokovi su zrak i čvrsti polietilen glikol (vezivo) čiji kolektiv kapljica nastaje *in-situ* taljenjem.

Studij fenomena granuliranja u laboratorijskom mjerilu usmjeren je k pronalaženju uvjeta provedbe procesa, geometrije raspršivanja i svojstava ulaznih procesnih tokova koji će sinergističkim djelovanjem upravljati mikro- i mezorazinskim događajima na povoljan i željeni način te time rezultirati kolektivom postojanih okrupnjenih jedinki, granula laktoze monohidrata u čiju je matricu ugrađena djelatna tvar, azitromicin dihidrat.

Uspješno granuliranje provedeno je *in-situ* taljenjem veziva. Dobiveni su kolektivi većih veličina čestica te izvrsne tecivosti. Spektrofotometrijskom analizom dokazana je uspješna ugradnja ciljanog sadržaja djelatne tvari u granulama veličinskog razreda 180-250 µm. Također, sagledani su profili otpuštanja djelatne tvari iz dobivenih granula.

Ključne riječi:

granuliranje u fluidiziranom sloju, *in-situ* taljenje, laktoza monohidrat, azitromicin dihidrat, polietilen glikol, raspodjela sadržaja djelatne tvari, otpuštanje djelatne tvari

DISSOLUTION KINETICS OF ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENT FROM GRANULES OBTAINED BY MELTING IN FLUIDIZED BED

With this study, fluidized bed granulation by *in-situ* binder melting is scrutinized as a potential process technology for preparation of azithromycin dihydrate and lactose monohydrate mixture that is suitable for manufacturing of tablets with good end-use properties. Additional inlet process streams are air and solid polyethylene glycol (binder), whose droplet population is formed using *in-situ* melting.

Study of the granulation phenomenon in a lab-scale is focused towards detection of process conditions, spraying geometry and formulation properties that will synergically drive micro- and meso-scale events in a favourable and desired way and therewith result in a collective of stable enlarged entities, lactose monohydrate granule matrices in which the active substance, azithromycin dihydrate, is incorporated.

Successful granulation is carried out for *in-situ* melting. Collectives of higher particle sizes and excellent flowability have been obtained. Efficient embedding of targeted active ingredient content in granules of size interval 180-250 μm has been proven using spectrophotometric analysis. Drug dissolution profiles of attained granules have been discussed as well.

Keywords:

fluidized bed granulation, *in-situ* melting, lactose monohydrate, azithromycin dihydrate, polyethylene glycol, distribution of active ingredient content, drug dissolution

Zahvaljujem mentoru, doc. dr. sc. Krunoslavu Žižeku na prihvaćenom mentorstvu, trudu, strpljenju, konstruktivnim savjetima i raspravama te prenesenom znanju tijekom izrade ovog rada.

Također, asistentu Jošku Barbariću, mag. ing. cheming. zahvaljujem na velikoj pomoći i usmjerenjima prilikom provedbe eksperimentalnog dijela.

Posebno zahvaljujem svojoj obitelji, dečku i prijateljima na svakodnevnoj podršci, potpori i razumijevanju.

Sadržaj

| | | |
|--------|---|----|
| 1. | UVOD | 1 |
| 2. | OPĆI DIO..... | 2 |
| 2.1. | Proces granuliranja..... | 2 |
| 2.2. | Granuliranje u fluidiziranom sloju..... | 3 |
| 2.2.1. | Granuliranje u fluidiziranom sloju taljenjem | 5 |
| 2.3. | Mehanistički opis procesa granuliranja | 7 |
| 2.4. | Granuliranje - neizostavan procesni korak u proizvodnji dobrih tableta..... | 9 |
| 2.5. | Otpuštanje djelatne tvari | 12 |
| 3. | METODIKA..... | 13 |
| 3.1. | Ispitivani sustav – ulazni i izlazni procesni tokovi pri granuliranju taljenjem | 13 |
| 3.1.1. | Pomoćna tvar – laktoza monohidrat..... | 13 |
| 3.1.2. | Vezivo – polietilen glikol..... | 13 |
| 3.1.3. | Djelatna tvar – azitromicin dihidrat | 14 |
| 3.2. | Procesna jedinica – granulator s fluidiziranim slojem..... | 15 |
| 3.3. | Metode ispitivanja | 16 |
| 3.3.1. | Diferencijalna pretražna kalorimetrija..... | 16 |
| 3.3.2. | Podjela kolektiva okrupljenih jedinki po veličinskim razredima | 17 |
| 3.3.3. | Određivanje tecivosti čvrste tvari metodom nasipnog kuta | 18 |
| 3.3.4. | Spektrofotometrijska analiza..... | 19 |
| 3.3.5. | Ispitivanje otpuštanja djelatne tvari..... | 20 |
| 3.4. | Tijek provedbe istraživanja | 21 |
| 3.4.1. | Provedba testova šaržnog granuliranja..... | 21 |
| 3.4.2. | Podjela kolektiva okrupljenih jedinki na četiri veličinska razreda..... | 22 |
| 3.4.3. | Određivanje tecivosti čvrste tvari metodom nasipnog kuta | 22 |
| 3.4.4. | Određivanje sadržaja djelatne tvari | 23 |
| 3.4.5. | Ispitivanje otpuštanja djelatne tvari..... | 24 |
| 4. | REZULTATI I RASPRAVA | 25 |
| 4.1. | Utvrđivanje optimalnih uvjeta provedbe procesa granuliranja taljenjem..... | 26 |
| 4.2. | Ugradnja djelatne tvari u matrice granula | 27 |
| 4.3. | Karakterizacija izlaznog procesnog toka..... | 27 |
| 4.3.1. | Sagledavanje pomaka raspodjele u područje većih veličina | 27 |

| | | |
|--------|--|----|
| 4.3.2. | Određivanje tecivosti ulaznog i izlaznog procesnog toka..... | 28 |
| 4.3.3. | Određivanje sadržaja djelatne tvari..... | 29 |
| 4.3.4. | Ispitivanje otpuštanja djelatne tvari..... | 33 |
| 5. | ZAKLJUČAK | 38 |
| 6. | LITERATURA..... | 39 |
| 7. | SIMBOLI | 40 |

1. UVOD

Proizvodnja čvrstih dozirnih oblika za oralnu primjenu lijeka podrazumijeva korištenje mnogih procesnih tehnologija. Važan i neizostavan procesni korak u proizvodnji dobrih tableta jest granuliranje. Tom procesnom tehnologijom moguće je postići svu traženu funkcionalnost mješavine za tabletiranje: izvrsnu tecivost i kompresivnost, jednoliku raspodjelu svih tvari u matricama tablete te kontrolirano otpuštanje djelatne tvari.¹ Time, rad na procesnoj jedinici tabletiranja je znatno olakšan, a tablete su ciljanih primjenskih svojstava sa znatno umanjenom mogućnošću pojave neželjenih defekata tableta.

Konvencionalne metode mokrog granuliranja pokazuju određene nedostatke zbog čega se javlja sve veći interes i ulaganja u razvoj alternativnih metoda. Granuliranje taljenjem predstavlja jednu od alternativnih metoda koja ima značajan potencijal za primjenu u proizvodnji čvrstih dozirnih oblika u farmaceutskoj industriji.²

Matricu tablete čine djelatna tvar (engl. *Active Pharmaceutical Ingredient, API*) te pomoćne tvari (engl. *excipients*) u znatno većem omjeru. Djelatna tvar je nositelj farmakološke aktivnosti tablete, a time i njezina najvažnija komponenta dok su pomoćne tvari farmakološki neaktivne, no čine većinski maseni udjel tablete. Mnoge procedure pripreme mješavine za tabletiranje podrazumijevaju granuliranje mješavine pomoćne i djelatne tvari.

Ovim istraživanjem nastoji se pripremiti mješavina za tabletiranje granuliranjem sustava azitromicin dihidrat (djelatna tvar) i laktoza monohidrat (pomoćna tvar) *in-situ* taljenjem polietilen glikola (vezivna tvar). Takvim okrupnjavanjem tvari u stohastičkom okruženju fluidiziranog sloja očekuje se dobivanje mješavine znatno pogodnije tecivosti, veće kompresivnosti, ujednačenijeg sadržaja svih komponenata te posljedično i konačnih dozirnih oblika (tableta) boljih primjenskih svojstava.

Niz testova šaržnog granuliranja pomoćne i djelatne tvari, očekuje se, dovest će do utvrđivanja optimalnih uvjeta provedbe procesa granuliranja za *in-situ* taljenje veziva i svojstava ulaznih struja materijala potrebnih za dobivanje kolektiva postojanih granula dobrih ciljanih svojstava (uske raspodjele veličina čestica pomaknutih u područje većih veličina čestica te izvrsne tecivosti).

Dodatno, za kolektive okrupljenih jedinki najboljih svojstava nastojat će se sagledati ujednačenost (raspodjela) sadržaja djelatne tvari po veličinskim razredima pogodnom spektrofotometrijskom metodom. Za granule ciljanog veličinskog razreda ispitat će se također otpuštanje djelatne tvari i usporediti s onim za čisti azitromicin dihidrat.

2. OPĆI DIO

2.1. Proces granuliranja

Granuliranje je kompleksan proces fizičke pretvorbe tvari u krajnje formulacije (konačni proizvod ili međuproizvod) željenih svojstava (reologija, tvrdoća, topljivost, trošivost, mogućnost kompaktiranja, itd.) u kojem dolazi do okrupnjavanja jedinki primjenom vezivnog sredstva. Ulaznu struju materijala čine praškasta tvar i vezivo (u većini slučajeva), dok izlaznu struju čini kolektiv jedinki željenih svojstava (granulat) koji se sastoji od granula (G, L, S) i neokrupnjenog materijala.

Istraživanja fenomena granuliranja započeta su sredinom prošlog stoljeća, a začetnicima istraživačkog rada vezanog za granuliranje smatraju se Newitt i Conway-Jones³ te Capes i Danckwerts.⁴ Razvoj procesne tehnologije granuliranja započeo je okrupnjavanjem pijeska u bubnjastom granulatoru.

Granuliranjem se mogu poboljšavati i kontrolirati mnoga svojstva partikulskog sustava: reologija, permeabilnost, poroznost, topivost, nasipna gustoća, atraktivnost, pogodnost pri rukovanju, itd. Uslijed toga što praškasti sustavi čine trećinu svih proizvoda kemijske procesne industrije, proces granuliranja svoju primjenu pronalazi u farmaceutskoj te prehrambenoj industriji, industriji detergenata, metalurgiji, proizvodnji mineralnih gnojiva u poljoprivredi, proizvodnji keramike te katalizatora. Procesna tehnologija granuliranja je vrlo zastupljena u farmaceutskoj domeni, a sam proces granuliranja nerijetko prethodi procesu tabletiranja u svrhu osiguravanja željene funkcionalnosti mješavine za tabletiranje.

Stohastičko kretanje čvrste tvari osigurava mnogobrojne međusobne sudare jedinki u procesnom prostoru i ono je neophodno za induciranje njihova rasta. Ukoliko su jedinke vrlo sitne (fini prašak) dodatak vezivnog sredstva nije potreban već će, radi izrazite kohezivnosti takvih prašaka, međusobni sudari jedinki rezultirati nastankom čvrstih premoštenja i, u konačnici, nastankom granula. U tom slučaju, procesna tehnologija se naziva suho granuliranje. No, u većini slučajeva čvrsta premoštenja među sudarajućim jedinkama nemaju dostatnu razinu otpornosti degradacijama uslijed daljnjih sudara. Međučestična djelovanja potrebno je dodatno potaknuti dodatkom kapljevite vezivne tvari prilikom čega se stvaraju kapljevita premoštenja, najčešće pokretna. Tada je riječ o procesnoj tehnologiji mokrog granuliranja. Granuliranje taljenjem je relativno nova procesna tehnologija za koju se u novije vrijeme iskazuje pojačan interes u farmaceutskim krugovima.² Uključuje upotrebu rastaljene vezivne tvari koja rezultira nastankom kapljevityh premoštenja među česticama. Granule

nastaju očvršćivanjem nastalih kapljevitih premoštenja hlađenjem procesnog prostora. U ovom radu korištena je isključivo tehnologija granuliranja s taljenjem.

Ovisno o načinu postizanja i održavanja stohastičkog kretanja čestica postoje: granuliranje u fluidiziranom sloju, granuliranje prevrtanjem te smično granuliranje. Granuliranje prevrtanjem može se odvijati u disku, bubnju ili konusu. Ukoliko je stohastičko kretanje čvrste tvari omogućeno njezinim prevrtanjem na kosom disku, bubnju ili konusu tada govorimo o granuliranju prevrtanjem. Prilikom smičnog granuliranja, stohastičko kretanje čvrste tvari omogućeno je vrtnjom rotirajućeg radnog elementa, miješala, unutar fiksne posude što zajedno nazivamo miješalicom. Prilikom svake procesne tehnike granuliranja dodavanjem vezivne formulacije utječe se na postizanje pogodnih uvjeta za razvoj željenih događaja na mikro-, mezo- i makrorazini koji posljedično pogoduju mehanističkoj slici fenomena, a time i na konačan produkt željenih svojstava, tzv. dizajnirani sustav jedinki. U ovom radu korištena je fluidizacija pri ostvarivanju željenog stohastičkog kretanja tvari.

2.2. Granuliranje u fluidiziranom sloju

Fritz Winkler zaslužan je za prvu industrijsku primjenu fluidizacije u procesu otplinjavanja ugljena 1922. godine. Četrdesetih godina prošlog stoljeća fluidizacija se počinje primjenjivati kao proces kontaktiranja u katalitičkom krekiranju nafte (FCC), a potom započinje i njezina primjena u metalurškim procesima za sušenje i kalciniranje. Danas je fluidizacija neizostavna u procesima granuliranja tvari, a primjenjuje se i u procesima polimerizacije. Prednosti i nedostaci granulatora s fluidiziranim slojem prikazani su u tablici 2.1.

Tablica 2.1. Prednosti i nedostaci granuliranja u fluidiziranom sloju.

| PREDNOSTI | NEDOSTATCI |
|---|---|
| Iznimno visoke kontaktne površine fluid-čvrsto po jedinici volumena procesnog prostora | Defluidizacija zbog pretjeranog i nekontroliranog rasta ukoliko procesni uvjeti nisu dobro kontrolirani |
| Istodobno granuliranje i sušenje pa nije potreban dodatni sušionik | Veliki operativni troškovi zbog uspostave i održavanja fluidiziranog stanja |
| Visok stupanj izmiješanosti pojedinih faza | Prisutnost velikog habanja među jedinkama |
| Lakoća dobivanja malih poroznih granula (manje od 1mm) iz čvrstog supstrata | Nemogućnost uzgibavanja finih, kohezivnih prašaka |
| Mogu se dobiti čvrste, slojevite granule sa uskom raspodjelom veličina čestica iz tekućeg supstrata | |
| Jako dobar prijenos tvari i topline | |
| Visok stupanj učestalosti nasumičnih sudara među jedinkama (poticanje mehanizama rasta) | |

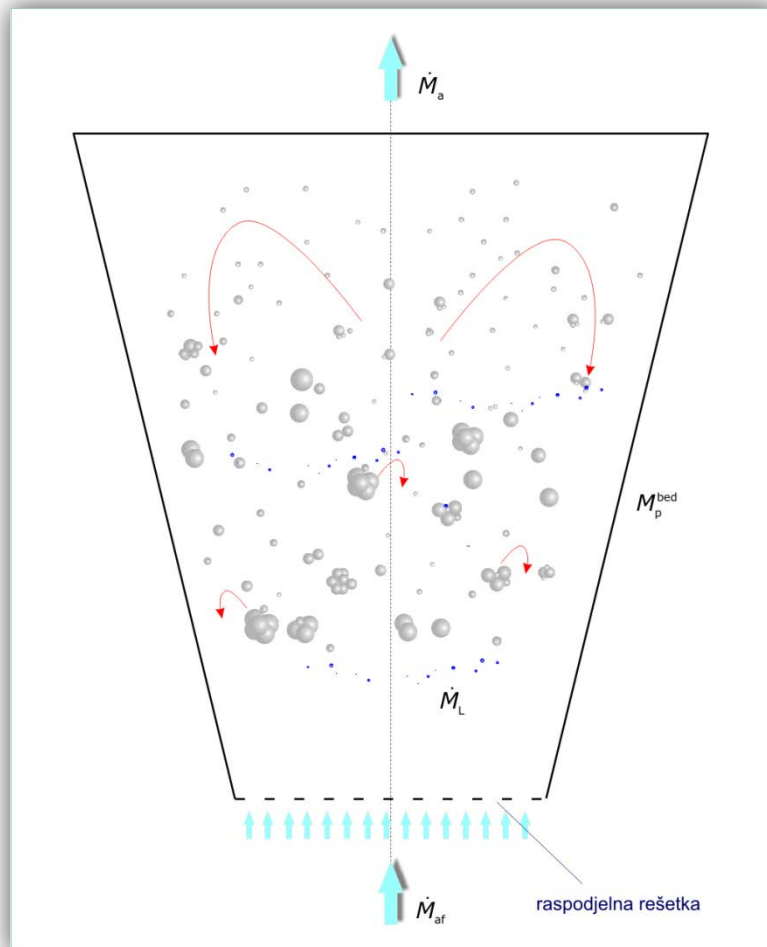
Stohastičko kretanje čestica u procesnom prostoru, neophodno za poticanje mehanizama rasta jedinki, ostvareno je strujom komprimiranog zraka. Granulati dobiveni granuliranjem u fluidiziranom sloju mogu sadržavati porozne granule (iz čvrstog supstrata) ili čvrste slojevite granule (iz tekućeg supstrata). U većini slučajeva prevladavaju čvrste slojevite granule.

Tri su osnovna načina dodavanja vezivne tvari u procesni prostor granulatora s fluidiziranim slojem: direktno ulijevanje veziva u masu čvrstog (rijetko korištena tehnika), raspršivanje vezivne formulacije te dodatak veziva u čvrstom obliku. Raspršivanje veziva se vrši primjenom dvofluidnih raspršivača. Ovisno o lokaciji raspršivača, vezivna tvar se u procesni prostor može raspršivati odozgo ili odozdo. Posljedično, moguća je primjena granuliranja s gornjim, odnosno donjim raspršivanjem. Dodatno postoji i Wursterova konfiguracija granulatora s fluidiziranim slojem.

2.2.1. Granuliranje u fluidiziranom sloju taljenjem

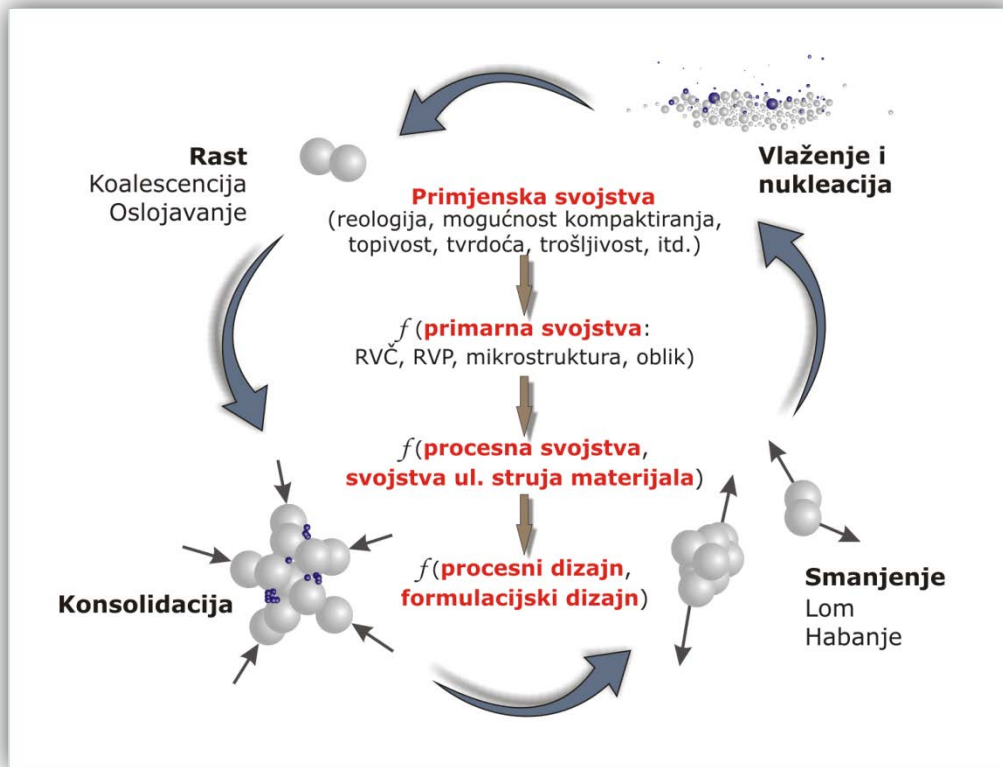
Granuliranje u fluidiziranom sloju taljenjem (engl. *Fluidized Bed Melt Granulation*) je tehnika u kojoj se čvrste čestice aglomeriraju primjenom veziva čije je talište na relativno niskim temperaturama (50-80°C), a provodi se na dva načina.² Prvi način je raspršivanje rastaljenog veziva na fluidizirani sloj čvrstoga, tzv. *spray-on* tehnika. Drugi način izvedbe je onaj kod kojeg se vezivo u čvrstoj formi (kontinuirana faza) i tvar koja se nastoji okrupniti (disperzna faza) dodaju u procesni prostor, zajedno fluidiziraju u struji zraka i zagrijavaju iznad temperature tališta korištenog veziva (tzv. *in-situ* tehnika).² U oba slučaja rastaljena tvar djeluje kao kapljevito vezivo, a granule nastaju očvršćivanjem rastaljenog veziva koje hlađenjem prelazi iz kapljevito u čvrsti oblik. Bolja kontrola procesa se ostvaruje provođenjem *in-situ* tehnike granuliranja. Posljednjih je godina povećan interes za granuliranje s taljenjem zbog brojnih prednosti ove tehnike u odnosu na mokro granuliranje raspršivanjem.²

Granuliranje taljenjem ne zahtijeva primjenu organskih ni vodenih otapala.² Nekorištenje organskih otapala eliminira mogućnost zaostajanja određene količine otapala u konačnom proizvodu, a posljedično i potrebu za njihovim sakupljanjem i recikliranjem što je značajno s aspekta zaštite okoliša.² Također, odsustvo vode u ovom procesu rezultira eliminacijom vlaženja i sušenja što čini proces vremenski kraćim i energetski povoljnijim u odnosu na mokro granuliranje s raspršivanjem. Glavni nedostatak granuliranja taljenjem je nužnost postizanja visokih temperatura unutar procesnog prostora koje mogu uzrokovati degradaciju i/ili oksidativnu nestabilnost čestica, naročito termolabilnih lijekova.² Ovaj tip granuliranja je naročito prikladan za okrupnjavanje lijekova i pomoćnih tvari farmaceutske industrije nestabilnih u otopinama te pripravu granula koje se koriste u formulacijama s kontroliranom brzinom otpuštanja ili pojačanom brzinom otpuštanja djelatne tvari. Primjeri hidrofilnih veziva koja se koriste u pripravi dozirnih oblika s pojačanim otpuštanjem uključuju polietilen glikole i poloksamere dok se hidrofobna veziva kao što su voskovi, masne kiseline, viši (dugolančani) alkoholi i gliceridi mogu koristiti za formulacije s dugoročnim otpuštanjem.



Slika 2.1. Prikaz procesnog prostora u tehnologiji granuliranja u fluidiziranom sloju taljenjem.

2.3. Mehanistički opis procesa granuliranja



Slika 2.2. Fizička slika procesa mokrog granuliranja, mehanizmi (potproces) koji upravljaju i usmjeravaju proces granuliranja.^{5,6}

Fizička slika procesa granuliranja (slika 2.2.) izrazito je kompleksna i sastoji se od sedam mehanizama koji se istovremeno odvijaju i nadopunjuju.^{5,6} Razvoj pojedinog mehanizma, njihova istodobnost i nadopunjenost posljedica je kontinuiranosti, nasumičnosti i mnogobrojnosti sudara jedinki u procesnom prostoru. Svaka faza procesa granuliranja utječe na svojstva dobivenih granula, njihovu poroznost, čvrstoću, raspodjelu veličina čestica itd.^{5,6}

U samom početku procesa granuliranja prevladavaju mehanizmi vlaženja i naknadne nukleacije. Vlaženje jedinki predstavlja kapilarnu penetraciju kapljica vezivne komponente u masu čvrstih čestica ili njihovo nakupljanje na njihovoj površini.⁵ Procesom nukleacije, odnosno vezivanjem praškaste tvari i tekućeg veziva, nastaje primarna jezgra ili nukleus. U slučaju slabog vlaženja jedinki dolazi do vrlo široke raspodjele veličina nukleusa, a posljedično i široke raspodjele veličina čestica (RVC), nepoželjnog svojstva granuliranog materijala. Na nukleaciju utječu karakteristike praškastog materijala i vezivnog sredstva, temperatura, broj nasumičnih sudara itd.⁶

U isto vrijeme moguće je odvijanje mehanizma konsolidacije pri kojem sudar primarnih jedinki može dovesti do istiskivanja kapljevitog jezgra te posljedično smanjenja

poroznosti i rasta gustoće granula. Upravo je poroznost važno svojstvo granule koje određuje njezinu čvrstoću i kontrolira kompresivnost granulata. Čvrste čestice koje nisu ostvarile kontakt s vezivnom tvari neće ni biti okrupnjene, tj. granulirane.

Koalescencija i oslojavanje su mehanizmi kojima dolazi do rasta jedinki. Ukoliko sudar dviju manjih čestica uzrokuje nastanak nove, veće jedinke i pritom je sva masa čestica integrirana u strukturu nove, takav mehanizam rasta se naziva koalescencija. Oslojavanje je onaj mehanizam rasta kod kojeg čvrsta čestica, uslijed djelovanja privlačnih sila, na svoju površinu vezuje masu vrlo sitnih jedinki. Temeljna razlika dvaju mehanizama rasta je sadržana u preduvjetima nužnim za njihovo odvijanje. Naime, koalescenciji nužno prethode međusobni sudari čestica, dok je za oslojavanje nužna prisutnost vrlo sitnih čestica, a time i izraženih privlačnih sila.

Oblik jedinke, njezina veličina, tvrdoća, poroznost te temperatura uvjetuju način na koji će doći do smanjenja jedinki. Ukoliko sudari jedinki u procesnom prostoru uzrokuju razdvajanje čestice na veće dijelove, prevladava mehanizam loma. Ponekad međučestični sudari uzrokuju otkidanje određene mase sitnih jedinki s površine čestice. Takav mehanizam smanjenja veličine se naziva habanje i vjerojatniji je za jedinke manje sferičnosti. Sudari malih brzina udara teže k smanjenju habanjem, a oni velikih brzina lomu jedinki. S obzirom da habanje rezultira nastajanjem izrazito sitnih jedinki, gotovo svi procesi granuliranja se nastoje voditi u uvjetima održivosti minimalnog habanja.

Tijek granuliranja ovisit će o mehanizmima koji se odvijaju u procesnom prostoru, odnosno o tome koji će prevladati. Izborom makroskopskih svojstava utječe se na mikrorazinu procesa, a time i na stupanj doprinosa pojedinog mehanizma u ukupnom procesu granuliranja. Uvjeti u pojedinim dijelovima procesne jedinice posljedica su odabira makroskopskih svojstava pri kojima se vodi proces granuliranja. Stoga, na fizičku sliku procesa granuliranja u fluidiziranom sloju s taljenjem, a time i na odabrano svojstvo kolektiva jedinki utječu brojni faktori, makroskopska svojstva sustava.⁵

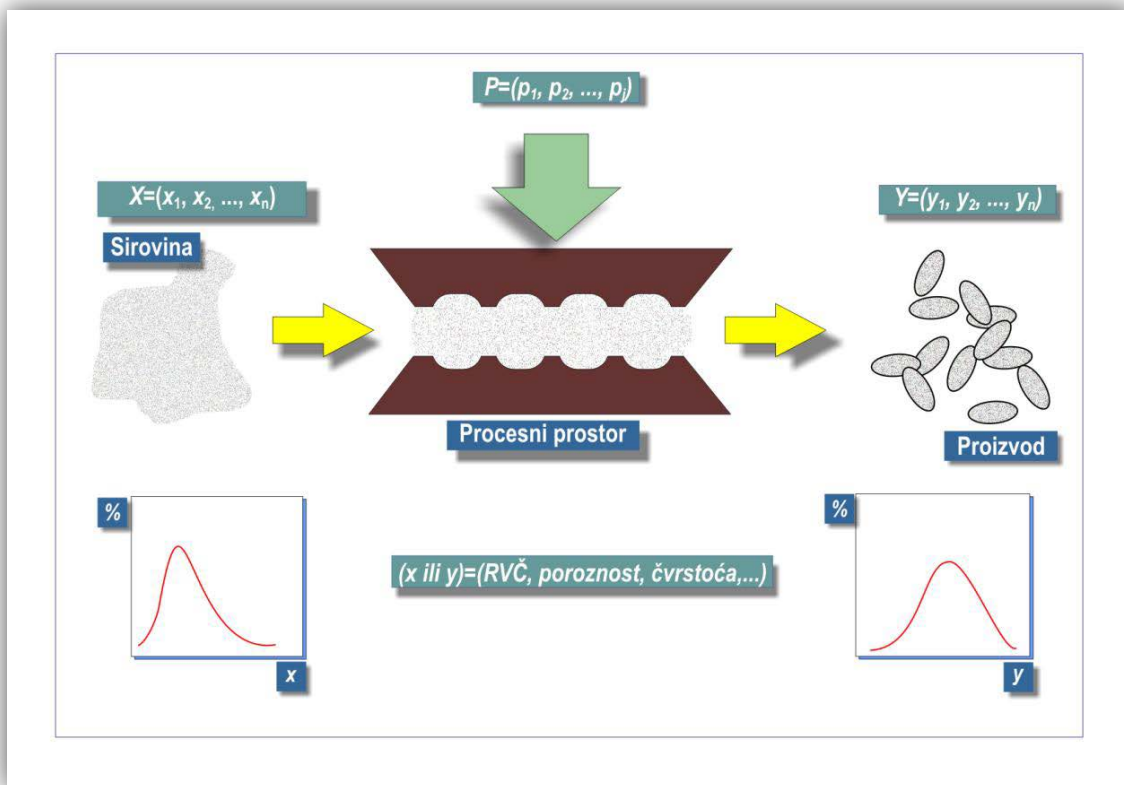
2.4. Granuliranje - neizostavan procesni korak u proizvodnji dobrih tableta

Tabletiranje je, poput granuliranja, proces okrupnjavanja u čijim se okrupnjenim matricama (tabletama) još uvijek razabiru izvorne jedinice. Okrupnjavanje jedinice ostvareno je primjenom vanjske sile u manje ili više zatvorenim kalupima, za razliku od granuliranja gdje je ono rezultat stohastičkog kretanja čestica.

Procesnom tehnologijom tabletiranja nastaju okrupnjene matrice tableta. Matricu tablete sačinjava aktivna (djelatna) tvar i pomoćne tvari. Aktivna farmaceutska tvar (engl. *Active Pharmaceutical Ingredient*, API), najvažniji sastojak svake tablete, nositelj je njene farmakološke aktivnosti i direktno utječe na dijagnozu oboljenja, sprječavanje, liječenje i izlječenje bolesti. Pomoćne tvari, zastupljene u znatno većem omjeru, su prirodne ili sintetske farmakološki neaktivne tvari (engl. *pharmacologically inactive substances*) koje doprinose lakšem tabletiranju i kvaliteti tablete. Postoji više grupacija pomoćnih tvari odnosno njihovih uloga u formulacijama tableta.^{1,7}

Tablica 2.2. Pregled pomoćnih tvari i njihovih uloga u formulacijama tableta.

| GRUPACIJA | ULOGA | POMOĆNA TVAR |
|---|--|--|
| Mazivo sredstvo (<i>lubricant</i>) | Sprječavanje neželjenog lijepljenja mješavine partikulativne tvari za elemente procesne jedinice | Magnezij stearat Natrij stearyl fumarat Talk |
| Punilo (<i>filler/diluent/bulk-up agent</i>) | Osiguravanje dostatne voluminoznosti matrice tablete | Mikrokristalna celuloza Manitol Laktoza monohidrat |
| Sredstvo za poboljšanje tečnosti (<i>glidant</i>) | Poboljšanje tečnosti/reoloških svojstava mješavine za tabletiranje | Koloidalni silicij dioksid |
| Sredstvo za raspadanje (<i>disintegrant</i>) | Doprinose učinkovitom raspadanju matrice tablete | Umreženi polivinilpirolidon Natrij glikolat Gelatinirani škrob |
| Stabilizator (<i>stabiliser</i>) | Doprinose stabilnosti djelatne tvari djelujući na sadržane ravnoteže | Natrij karbonat |
| Vezivo (<i>binder</i>) | Doprinose vezivanju jedinice u matricama tablete | Polivinilpirolidon Gelatinirani škrob Hidroksipropil celuloza Polietilen glikol |



Slika 2.3. Shematski prikaz procesne tehnologije tabletiranja.



Slika 2.4. Fotografija matrica tableta različitih oblika.

Pomoćna tvar u svom inicijalnom, praškastom obliku nije pogodna za tabletiranje budući rezultira tabletama loših primjenskih svojstava (mala tvrdoća, velika rastrošljivost, neujednačenost sadržaja djelatne tvari i dr.). Kompatibilnost sastojaka tablete u veličini, gustoći, tecivosti, sadržaju vlage i kompresivnosti je od izrazitog značaja za tabletiranje jer u protivnom dovodi do neželjenog efekta, segregacije aktivne tvari. Granuliranjem se postiže tražena funkcionalnost mješavine za tabletiranje: dobra reološka svojstva, izvrsna kompresivnost, jednolika raspodjela aktivne tvari u matricama tableta te kontrolirano otpuštanje aktivne tvari.¹ Prema tome, rad na procesnoj jedinici tabletiranja znatno je olakšan, dobivaju se tablete željenih svojstava te je smanjena mogućnost pojave neželjenih defekata tableta, laminacije i tzv. *cappinga*.

Procesni slijed koji osigurava dobivanje mješavine za tabletiranje željenih svojstava uključuje prethodno umješavanje djelatne tvari u masu pomoćnih tvari te naknadno granuliranje pripremljene mješavine primjenom odgovarajuće vezivne tvari. Isto tako, mnogi postupci pripreme mješavine za tabletiranje slijede procesne korake inicijalnog granuliranja pomoćne tvari u najvećem omjeru (punilo) te naknadnog miješanja iste s ostalim sastojcima, djelatnom i pomoćnim tvarima.^{1,7} Ovim istraživanjem nastoji se granulirati pomoćna tvar koja osigurava dostatnu voluminoznost mnogih formulacija tableta, laktoza monohidrat. U matricu čvrstoga nastoji se dodatnim eksperimentima ugraditi djelatna tvar.

2.5. Otpuštanje djelatne tvari

Ispitivanje otpuštanja djelatne tvari prepoznato je kao neophodna tehnika u razvoju lijekova i procjeni kvalitete farmaceutskih proizvoda.⁸ Kao krajnji cilj ističe se povećanje permeabilnosti i topljivosti samog lijeka. Ispitivanje *in vitro* otpuštanja djelatne tvari iz lijeka jedna je od sastavnica Farmakopeje Sjedinjenih Američkih Država (*United States Pharmacopeia*), koja osigurava da lijekovi i farmaceutski proizvodi udovoljavaju određenim standardima (čvrstoća, čistoća, stabilnost). Tijekom razvoja farmaceutskih proizvoda test otpuštanja djelatne tvari se koristi kao alat za prepoznavanje kritičnih čimbenika prilikom njihove formulacije, a koji utječu na samu bioraspoloživost lijeka. Isto tako, test otpuštanja se koristi i za osiguravanje konzistencije svake šarže farmaceutskih proizvoda, ali i za demonstraciju bioekvivalentnosti lijeka. Apsorpcija djelatne tvari i njezino doziranje nakon oralne primjene čvrstih oblika ovise o otpuštanju djelatne tvari iz lijeka, odnosno o njenom otapanju u određenim fiziološkim uvjetima i permeabilnosti kroz probavni trakt. Radi svega navedenog, *in vitro* test otpuštanja djelatne tvari iz lijeka jest mjerodavan za predviđanje *in vivo* djelovanja.⁸

BCS klasifikacija lijekova (engl. *Biopharmaceutical Classification System of drugs*) prema njihovoj topljivosti i permeabilnosti prikazana je tablicom 2.3.. Ukoliko je djelatna tvar klase I, visoke topljivosti i permeabilnosti, razumno je očekivati da neće doći do problema bioraspoloživosti lijeka, dok će s djelatnom tvari klase IV, niske topljivosti i permeabilnosti, doći do problema bioraspoloživosti lijeka. U ovom istraživanju korištena je djelatna tvar azitromicin dihidrat klase II, niske topljivosti i visoke permeabilnosti te su posljedično uloženi veliki napori kako bi se povećala njena topljivost u vodenim medijima u svrhu poboljšanja bioraspoloživosti lijeka. Jedna od mogućnosti je priprava čvrste disperzije koja predstavlja koristan način dispergiranja lijeka na molekularnoj razini pomoću hidrofilnog nosača.

Tablica 2.3. BCS klasifikacija lijekova.

| KLASA | TOPLJIVOST | PERMEABILNOST |
|-------|------------|---------------|
| I | visoka | visoka |
| II | niska | visoka |
| III | visoka | niska |
| IV | niska | niska |

3. METODIKA

3.1. Ispitivani sustav – ulazni i izlazni procesni tokovi pri granuliranju taljenjem

Ulazni procesni tokovi u tehnologiji granuliranja u fluidiziranom sloju taljenjem su zrak, sredstvo za fluidizaciju i medij za grijanje ili hlađenje, te razmatrani disperzni sustav kojeg čine dvije disperzne faze (praškasti sustav koji se nastoji okrupniti i djelatna tvar koja se nastoji ugraditi u granule), te kontinuirana faza, odnosno vezivo.

Izlazni procesni tok u primijenjenoj tehnologiji granuliranja jest kolektiv jedinica u čijoj populaciji su prisutne neokrupnjene jedinice, inicijalni trokomponentni praškasti sustav i svojom najvećom zastupljenošću granule. Nastalu granulu čine kompleksna matrica čvrste faze (djelatne i pomoćne tvari), kapljevite faze (veziva) te plinske faze (zrak zaostao u međuprostorima granule).

3.1.1. Pomoćna tvar – laktoza monohidrat

Kao disperzna faza u ovom radu korištena je pomoćna tvar farmaceutske industrije, laktoza monohidrat u praškastom obliku (Lachner s.r.o., Neratovice, Republika Češka). Laktoza monohidrat kemijski je inertna tvar koja se u farmaceutskoj industriji koristi u mnogim ljekovitim formulacijama s ulogom osiguravanja voluminoznosti matrica tableta. Uklapa se u farmaceutski oblik kako bi se omogućilo njegovo oblikovanje, da bi zaštitila djelatnu tvar i povećala njezinu postojanost, te osigurala željenu bioraspoloživost lijeka. Laktoza monohidrat je nekohezivan prašak te pripada skupini B prema Geldartovoj klasifikaciji prašaka. Ovakav disperzni praškasti sustav nastoji se okrupniti granuliranjem u fluidiziranom sloju primjenom *in-situ* tehnike taljenja.

3.1.2. Vezivo – polietilen glikol

Korišteno vezivo je polietilen glikol srednje molekulske mase 12 000 Da (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Savezna Republika Njemačka). Polietilen glikol je kruti polimerni materijal topiv u hidrofilnim otapalima, a primjenjuje se u farmaceutskoj, tekstilnoj, metaloprerađivačkoj, drvnoj, keramičkoj te brojnim drugim industrijama. Kao vezivno sredstvo inicijalno je zaprimljen u čvrstom obliku pločica te je naknadno usitnjen na željeni raspon veličina čestica.

3.1.3. Djelatna tvar – azitromicin dihidrat

Kao dodatna disperzna faza u ovom istraživanju korištena je djelatna tvar farmaceutske industrije, praškasti azitromicin dihidrat (Pliva Hrvatska d.o.o., Zagreb, Republika Hrvatska). Ova djelatna tvar nastoji se ugraditi u matrice granula laktoze monohidrata s jednakim ciljanim sadržajem neovisno o njihovoj veličini.

Azitromicin je antibiotik širokog spektra djelovanja kojeg je razvio tim hrvatskih farmaceutskih stručnjaka iz tvornice lijekova PLIVA i sastavni je dio Plivinog antibiotika Sumameda. Spada u skupinu makrolidnih antibiotika, odnosno antibiotika koji sadrže laktonski prsten s 11 - 19 ugljikovih atoma i glikozidno vezane posebne šećere. Azitromicin je polusintetski makrolidni antibiotik izveden iz svog prethodnika, eritromicina, slijedom – oksimiranje, Beckmannova pregradnja, redukcija i N-metiliranje. Kemijska transformacija makrolidnog prstena podrazumijeva uvođenje dušika u 14 - eročlani laktonski prsten na koji je potom vezana metilna skupina pa je tako formiran 15 - eročlani prsten, te spada u podskupinu nazvanu azalidi. U usporedbi s eritromicinom, azitromicin dihidrat posjeduje bolja svojstva, kao što su veća stabilnost i oralna bioraspoloživost, viša međustanična koncentracija i šire antibakterijsko djelovanje. Mehanizam djelovanja makrolida je usporavanje sinteze proteina u bakterijama te uklanjanje sposobnosti bakterije da se razmnožava i raste. Primjer je lijeka niske topljivosti u vodi, a klasificiran je kao lijek klase II prema BCS klasifikaciji (dostupno poglavljem 2.5., Tablica 2.3.) zbog visoke permeabilnosti kroz probavni trakt i niske topljivosti u određenim fiziološkim uvjetima. Azitromicin se prenosi bijelim krvnim stanicama i ciljano djeluje na mjestu infekcije.⁹

3.2. Procesna jedinica – granulator s fluidiziranim slojem

Granuliranje, kao prvi korak eksperimentalne studije, provedeno je na procesnoj jedinici laboratorijskog mjerila, granulatoru s fluidiziranim slojem, smještenim u laboratoriju Zavoda za mehaničko i toplinsko procesno inženjerstvo. Procesni prostor čelične konstrukcije konusnog je oblika s prozorom izrađenim od pleksiglasa preko kojeg je omogućeno vizualno praćenje fluidizacije i samog procesa okrupnjavanja tvari. Filtar koji onemogućava odlazak sitnih čestica van procesnog prostora nalazi se u gornjem dijelu konusa, dok se u donjem dijelu konusa nalazi raspodjelna rešetka koja zadržava sloj čvrstog i omogućuje ulaz zraka doziranog kompresorom.



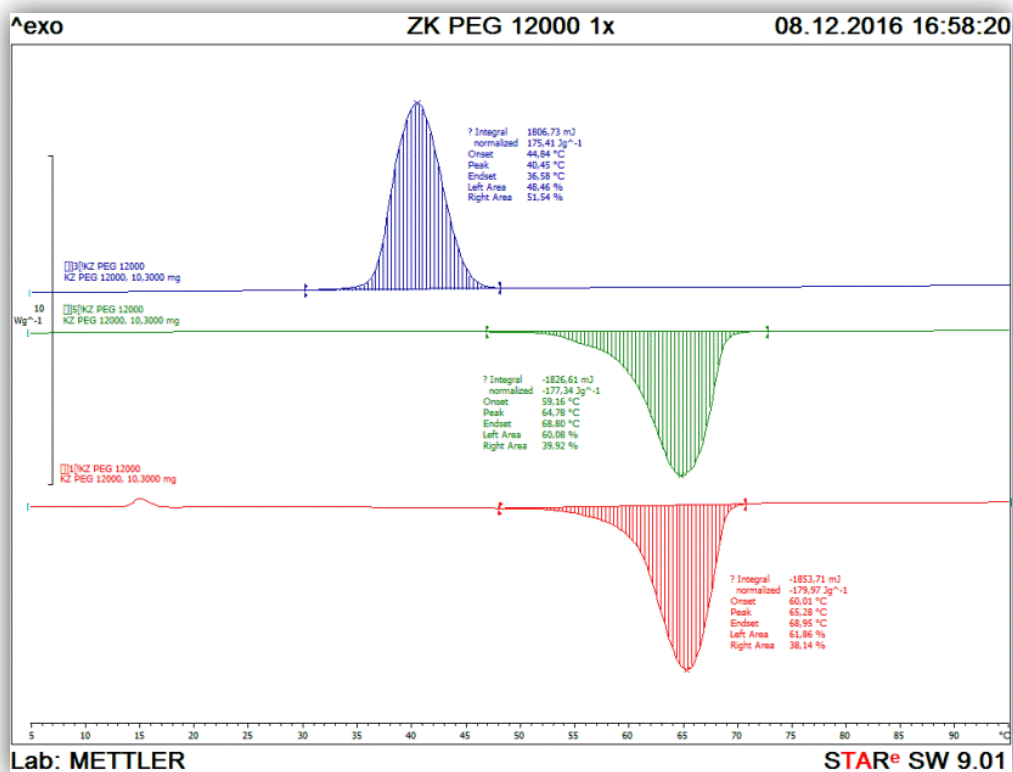
Slika 3.1. Fotografija granulatora s fluidiziranim slojem Uni-Glatt (Glatt GmbH, Binzen, Njemačka).

U okviru ovog istraživanja primijenjena je procesna tehnologija granuliranja *in-situ* tehnikom taljenja koja podrazumijeva istovremeno dodavanje vezivnog sredstva i tvari koju se nastoji okrupniti u procesni prostor. Temperaturna osjetila postavljena su na vrhu i na dnu konusa kako bi se mogao pratiti porast i pad temperature unutar procesnog prostora.

3.3. Metode ispitivanja

3.3.1. Diferencijalna pretražna kalorimetrija

Diferencijalna pretražna kalorimetrija (*Differential Scanning Calorimetry, DSC*) je najčešće korištena toplinska metoda određivanja temperatura i toplinskih tokova vezanih uz fazne prijelaze u materijalima. Mjerenja daju kvalitativne i kvantitativne podatke o fizikalnim i kemijskim procesima koji uključuju endotermne ili egzotermne efekte ili promjenu toplinskog kapaciteta. Provođenjem kalorimetrijskih mjerenja određuje se količina topline oslobođena reakcijom. Izvagani i referentni uzorak podvrgavaju se kontroliranom programu temperature te se mjeri diferencijalna toplina potrebna za održavanje uzorka i referentnog uzorka pri istoj temperaturi. Signal koji je proporcionalan razlici između dovoda topline ispitivanom i referentnom uzorku se registrira i stavlja u odnos prema temperaturi i vremenu. Metoda se primjenjuje za određivanje karakterističnih temperatura (taljenja, kristalizacije, staklastog prijelaza), entalpije, oksidacijske stabilnosti, specifičnih toplinskih kapaciteta itd. Koristi se za tekućine, praškaste tvari, plastike, gume, staklo, keramiku, kompozite i brojne druge materijale.⁹ Ovom se metodom odredio temperaturni profil polietilen glikola, odnosno dobivena je temperatura njegovog faznog prijelaza čvrsto - kapljevito i kapljevito - čvrsto.



Slika 3.2. Temperaturni profili polietilen glikola srednje molekulske mase 12000 Da.

3.3.2. Podjela kolektiva okrupnjenih jedinki po veličinskim razredima

Za podjelu kolektiva jedinki po odabranim veličinskim razredima korištena je analiza sitima u suhim uvjetima. Prosijavanje je provedeno pomoću žičanih i perforiranih sita uređajem za potresivanje (slika 3.3.). Masa ostatka na situ vagana je nakon prosijavanja. Čestice koje su ostale na situ definirane su kao masa ostatka na situ odnosno čestice u promatranom veličinskom razredu dok su čestice manje od očice sita propale kroz isto sito te će biti prisutne u veličinskom razredu u području manjih veličina.



Slika 3.3. Fotografija uređaja za potresivanje sita AS 200 (Retsch GmbH, Haan, SR Njemačka).

3.3.3. Određivanje tecivosti čvrste tvari metodom nasipnog kuta

Određivanje tecivosti inicijalne praškaste tvari (laktose monohidrata) i odabranog dobivenog kolektiva jedinki u svrhu karakterizacije ulaznog i izlaznog procesnog toka provodi se metodom nasipnog kuta, odnosno određivanjem kuta mirovanja. Tecivost prašaka izražava se sipkošću materijala kojeg karakterizira kut mirovanja. Prašci pokazuju svoja reološka svojstva prilikom istjecanja kroz otvore ili kanale. Brzina tečenja prašaka ovisi o svojstvu tvari, njezinoj gustoći, obliku i veličini čestica, veličini i dužini otvora kroz koji praškasti sustav istječe. Ukoliko su svi navedeni parametri konstantni, brzina ovisi o veličini čestica materijala. Procedura određivanja tecivosti je sljedeća: u lijevku se stavlja praškasti materijal tako da zauzme $2/3$ volumena lijevka te istjecanjem praška kroz otvor lijevka na bazi aparature dolazi do formiranja stošca. Nastali stožac se fotografira i obradom fotografije u softverskom paketu *Klonk Image Measurement* određuje se vrijednost nasipnog kuta, odnosno kuta mirovanja.



Slika 3.4. Fotografija lijevka za određivanje kuta mirovanja (Zavod za mehaničko i toplinsko procesno inženjerstvo, FKIT).

3.3.4. Spektrofotometrijska analiza

Sadržaj djelatne tvari po veličinskim razredima određen je primjenom spektrofotometra. Azitromicin dihidrat je antibiotik čija struktura onemogućava direktno spektrofotometrijsko određivanje pa ga je nužno prevesti u kompleks pogodan za spektroskopsku detekciju, eritronolid. To je postignuto analitičkom metodom degradacije strukture azitromicina jakim klorovodičnom kiselinom, pri čemu nastali produkt degradacije, žuto obojeni kompleks eritronolid, daje maksimum apsorpcije na 484,4 nm. Za provedbu metode potrebno je pripremiti standardne otopine s čistim azitromicinom dihidratom i otopine s realnim uzorkom. Iz standardnih otopina s čistim azitromicinom dihidratom, kojima je dodana klorovodična kiselina, dobiva se baždarni dijagram ovisnosti koncentracije o apsorbanciji pomoću kojega se naknadno određuje sadržaj azitromicina u realnim uzorcima.



Slika 3.5. Fotografija spektrofotometra UV-1280 (Shimadzu, Kyoto, Japan).

3.3.5. Ispitivanje otpuštanja djelatne tvari

Otpuštanje djelatne tvari, azitromicina, iz odabranog kolektiva jedinki prati se uređajem RC – 6D Dissolution Tester. Za provedbu analize prethodno je potrebno pripremiti standardnu otopinu s čistim azitromicinom kojoj se potom dodaje fosfatni pufer pH vrijednosti 6,0 s ulogom imitacije uvjeta u ljudskom organizmu, te naposljetku sumporna kiselina potrebna za degradaciju azitromicin dihidrata do žuto obojenog kompleksa eritronolida, pogodnog za spektrofotometrijsku detekciju. Ovakva otopina služi za izradu baždarnog dijagrama ovisnosti koncentracije o apsorbanciji, pomoću kojega je onda moguće odrediti udio otpuštene djelatne tvari iz realnih uzoraka uzorkovanih u pojedinim vremenskim intervalima.



Slika 3.6. Fotografija uređaja za određivanje profila otpuštanja djelatne tvari RC-6D (Zhengzhou Nanbei Instruments, Zhengzhou, NR Kina).

3.4. Tijek provedbe istraživanja

3.4.1. Provedba testova šaržnog granuliranja

Testovi šaržnog granuliranja provedeni su u procesnoj jedinici granulatoru s fluidiziranim slojem. Cilj ove eksperimentalne studije u njenoj početnoj fazi jest pronalazak optimalnih procesnih uvjeta za granuliranje praškastog sustava azitromicin - laktoza monohidrat uz primjenu vezivnog sredstva, polietilen glikola.

U prvoj fazi eksperimentalne studije provedeni su testovi šaržnog granuliranja inicijalnog praška laktoze monohidrat u fluidiziranom sloju tehnikom *in-situ* taljenja polietilen glikola. Provedeno je više eksperimenata s različitim masenim udjelom i rasponom veličina čestica polietilen glikola, uz stalnu masu laktoze monohidrat od 250 g. Polietilen glikol je inicijalno zaprimljen u obliku pločica te je za potrebe provedbe eksperimenta usitnjen na željenu veličinu čestica.



Slika 3.7. Usporedni prikaz inicijalnog (lijevo) i usitnjenog (desno) polietilen glikola.

Nakon potrebnih odvaga, laktoza monohidrat i polietilen glikol stavljeni su istovremeno u procesni prostor te je neophodno stohastičko okruženje potaknuto fluidizacijom omogućenom strujom komprimiranog zraka. Komprimirani zrak ima ulogu medija za grijanje i medija za hlađenje kako bi se omogućili potrebni fazni prijelaz polietilen glikola čvrsto-kapljevito i kapljevito - čvrsto. Ulazna temperatura zraka bila je 95°C kako bi unutar procesnog prostora bila osigurana temperatura od 69°C potrebna za fazni prijelaz čvrsto-kapljevito čitavog polietilen glikola. Nakon 10 minuta započeto je snižavanje temperature do 36°C kako bi se osigurao fazni prijelaz polietilen glikola kapljevito - čvrsto, odnosno kako bi nastala kapljevita premoštenja polietilen glikola očvrsnula. Uz sve navedeno, od velike je važnosti bilo često protresati filter na vrhu konusa kako bi gubitak materijala bio

što manji. Kroz prva 3 provedena eksperimenta utvrđen je maseni udio polietilen glikola u odnosu na masu laktoze monohidrat potreban za uspješno granuliranje. Korišteno je 250 g laktoze monohidrat te redom mase polietilen glikola veličina čestica u rasponu 90-200 µm, od 12,5 g, 18,75 g i 25 g, odnosno 5%, 7,5% i 10% mase laktoze monohidrat. Svi ostali, ranije navedeni, uvjeti ostali su nepromijenjeni. Preostala 3 eksperimenta razlikuju se od prvotnih po korištenom rasponu veličina čestica polietilen glikola. Primijenjen je polietilen glikol raspona veličina čestica kako slijedi: < 90 µm, 200–400 µm, 400-600 µm, masenog udjela 10% u odnosu na masu laktoze monohidrat. Preostali uvjeti su nepromijenjeni.

Dobiveni su kolektivi jedinki različitih karakteristika, a onaj najboljih odabran je za provedbu druge faze istraživanja, odnosno ugradnju djelatne tvari azitromicin dihidrata u granule. Ugradnja azitromicin dihidrata u matrice granula provedena je granuliranjem pri istim procesnim uvjetima kao i proces kojim je dobiven odabrani kolektiv jedinki najboljih karakteristika.

3.4.2. Podjela kolektiva okrupljenih jedinki na četiri veličinska razreda

Dobiveni kolektiv jedinki je sitima različitih veličina očica podijeljen na frakcije u 4 veličinska razreda definiranih raspona veličina čestica: 63-90 µm, 180-250 µm, 355-500 µm, > 710 µm. Sita se slažu od najmanje veličine očica prema najvećoj, krenuvši odozdo. Tako posložena sita stavljaju se na tresilicu (slika 3.3.). Na sito koje se nalazi na vrhu isipa se odabrani kolektiv jedinki i postupak tresenja se odvija 10 minuta uz prethodno namještenu amplitudu tresenja (6). Dobivene frakcije definiranog veličinskog razreda potom se izvažu, a najviše ih se očekuje u rasponu veličina čestica 200-500 µm jer su iste najpogodnije za nadolazeći proces tabletiranja.

3.4.3. Određivanje tecivosti čvrste tvari metodom nasipnog kuta

Određivanje tecivosti inicijalne praškaste tvari (laktoza monohidrat) i odabranih kolektiva jedinki u svrhu karakterizacije ulaznog i izlaznog procesnog toka materijala provodi se metodom nasipnog kuta, odnosno određivanjem kuta mirovanja. Metoda se provodi na način da se čvrsta tvar stavi u lijevak do 2/3 volumena čije smo dno zatvorili prstom. Pomicanjem prsta s dna lijevka dolazi to tečenja tvari kroz lijevak i formiranja stošca na bazi aparature. Formirani stožac se fotografira, a vrijednosti kutova mirovanja naknadno su određene obradom fotografija u softverskom paketu *Klonk Image Measurement*, stavljanjem u omjer visine stošca i polumjera njegove baze.

3.4.4. Određivanje sadržaja djelatne tvari

Kao što je već rečeno, azitromicin je antibiotik čija struktura nije pogodna za direktno spektrofotometrijsko određivanje pa ga je nužno prevesti u žuto obojeni kompleks pogodan za spektrofotometrijsku detekciju, eritronolid. Postupak se provodi primjenom analitičke metode degradacije strukture azitromicina jakim klorovodičnom kiselinom, pri čemu nastali produkt degradacije, eritronolid, daje maksimum apsorpcije na 484,4 nm.¹⁰

Otopina azitromicina i metanola priprema se točnim vaganjem 10 mg azitromicina na analitičkoj vagi te otapanjem odvage u metanolu. Otopina je potom podvrgnuta homogeniziranju primjenom ultrazvučne kupelji kojom je pospješeno otapanje azitromicina u metanolu. Usporedno, pripravljena je 11 N otopina klorovodične kiseline miješanjem točno određenih volumena klorovodične kiseline (177,34 ml) i destilirane vode (22,66 ml). Standardna otopina dobivena je miješanjem alikvota od 25 ml 11 N klorovodične kiseline te alikvota od 25 ml otopine azitromicina u metanolu. Alikvoti tako pripremljene standardne otopine uzimani su za pripremu radnih standardnih otopina uz nužnu pripremu slijepa probe za detekciju i kompenzaciju sustavnih pogrešaka u analizi. Slijepa proba dobiva se miješanjem 25 ml čistog metanola i 25 ml pripravljene 11 N klorovodične kiseline. Potom je pripravljeno 8 uzoraka različitih koncentracija, uzimajući određene alikvote standardne otopine i 11 N klorovodične kiseline. Tako pripremljeni uzorci termostatiraju se u vodenoj kupelji na 60°C u trajanju od 70 minuta. Temperatura od 60°C pogoduje degradaciji azitromicina te nastajanju žuto obojenog kompleksa eritronolida. Spektrofotometrijskim određivanjem ovisnosti koncentracije djelatne tvari, azitromicina, o apsorpciji omogućena je izrada baždarnog dijagrama pomoću kojeg se potom određuje sadržaj azitromicina u realnim uzorcima. Za određivanje udjela azitromicina u realnim uzorcima uzete su po tri frakcije dobivene sitima veličinskih razreda 63-90 mikrona, 180-250 mikrona, 355-500 mikrona, uz obaveznu slijepu probu sa dobivenim kolektivom jedinki pomoćne tvari i vezivnog sredstva (čestice polietilen glikola < 90 mikrona), bez ugrađenog azitromicina. Otopine za spektrofotometrijsko određivanje sadržaja djelatne tvari azitromicina u navedenim veličinskim razredima realnih uzoraka pripremljene su na način da je uzorkovanje provedeno metodom četvrtanja u svrhu dobivanja reprezentativnog uzorka, a potom su uzete odvage od po 150 mg navedenih frakcija i otopljene u metanolu. Dobivena otopina stavljena je u ultrazvučnu kupelj na 30 minuta kako bi se uzorak homogenizirao i azitromicin što djelotvornije oslobodio iz granula. Uzorak je zatim filtriran, a po 1,25 ml filtrata dodana je 11 N klorovodična kiselina. Tako pripravljene otopine termostatirane su na 60°C u trajanju od 70 minuta, a zatim podvrgnute spektrofotometrijskoj analizi. Sadržaj djelatne tvari, azitromicina

u realnom uzorku određen je iz jednadžbe pravca na temelju prethodno dobivenog baždarnog dijagrama.

3.4.5. Ispitivanje otpuštanja djelatne tvari

Na samom početku potrebno je pripremiti standardnu otopinu čistog azitromicin dihidrata. Točnim vaganjem 12 mg azitromicina na analitičkoj vagi te otapanjem odvage u 5 ml metanola i fosfatnom puferu dobivena je potrebna standardna otopina. Usporedno, pripravljena je 75%-tna sumporna kiseline razrjeđenjem 96%-tne sumporne kiseline s destiliranom vodom. Alikvoti pripremljene standardne otopine uzimani su za pripremu radnih standardnih otopina uz nužnu pripremu slijepa probe. Slijepa proba dobiva se miješanjem 12,5 ml fosfatnog pufera i 12,5 ml pripravljene 75%-tne sumporne kiseline. Potom je pripravljeno 7 uzoraka različitih koncentracija, uzimajući određene alikvote standardne otopine, 75%-tne sumporne kiseline i fosfatnog pufera. Uzorci se hlade 45 minuta, a zatim termostatiraju u vodenoj kupelji na 40°C u trajanju od 60 minuta. Povišenje temperature pospješuje degradaciju azitromicin dihidrata i nastajanje žuto obojenog kompleksa eritronolida.¹⁰ Spektrofotometrijskim određivanjem ovisnosti apsorbancije o koncentraciji djelatne tvari omogućena je izrada baždarnog dijagrama pomoću kojeg se potom određuje njegov udio otpušten iz realnih uzoraka uzorkovanih u točno određenim vremenskim intervalima propisanih američkom farmakopejom.

Za samu analizu otpuštanja djelatne tvari pripravljeno je 5 odvaga: 0,1 g čistog azitromicina, dvije odvage od 0,997 g prvog granulata (ekvivalent 100 mg) s ugrađenim azitromicinom (veličinski razred 180-250 µm), te dvije odvage od 0,914 g ponovljenog granulata s ugrađenim azitromicinom (veličinski razred 180-250 µm). Navedene odvage stavljene su u 5 posuda na uređaju koje su prethodno napunjene fosfatnim puferom pH vrijednosti 6,0 kako bi se otopile, odnosno kako bi se djelatna tvar otpustila iz dobivenih granula. Potrebna brzina vrtnje miješala i temperatura od 37°C namješteni su na samom početku rada uređaja. Uzorkovanje se provodi nakon 10, 20, 30, 45 i 60 minuta u svakoj od 5 posuda, na način da se putem kapilare korištenjem "šprica" uzima 5 ml uzorka koji se potom filtrira, a 2 ml se naposljetku miješaju s 3 ml fosfatnog pufera i 5 ml 75%-tne sumporne kiseline kako bi došlo do degradacije azitromicina u žuto obojeni kompleks eritronolid, pogodan za naknadnu spektrofotometrijsku analizu. Temeljem baždarnog dijagrama dobivenog iz standardnih otopina, sada je spektrofotometrijskom analizom moguće odrediti apsorbancije i koncentracije otpuštene djelatne tvari u navedenim vremenskim intervalima.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Ovim istraživanjem pripravljena je mješavina za tabletiranje granuliranjem u fluidiziranom sloju *in-situ* tehnikom taljenja. Rezultati i rasprava podijeljeni su u tri kategorije:

1. Utvrđivanje optimalnih uvjeta provedbe procesa granuliranja primjenom veziva različitih masenih udjela i veličina čestica,
2. Ugradnja djelatne tvari u matrice granula,
3. Karakterizacija izlaznog procesnog toka primjenom različitih metoda,
4. Ispitivanje otpuštanja djelatne tvari.

Prije same provedbe prvog dijela eksperimentalne studije, vezivno sredstvo polietilen glikol podvrgnuto je toplinskoj analizi, diferencijalnoj pretražnoj kalorimetriji kako bismo dobili temperaturne profile i uvid u temperature karakterističnih faznih prijelaza čvrsto - kapljevito i kapljevito - čvrsto. Navedeni fazni prijelazi vezivnog sredstva neophodni su za odabir pogodnih procesnih uvjeta, odnosno optimalne temperature unutar procesnog prostora kako bi se ostvarilo uspješno granuliranje. Temeljem temperaturnog profila za vezivno sredstvo polietilen glikol 12 000 dobivena je točna vrijednost temperature faznog prijelaza čvrsto-kapljevito u iznosu od 68,95 °C što implicira da se unutar procesnog prostora mora osigurati temperatura viša od navedene kako bi čitavo vezivno sredstvo prešlo u formu kapljevine koja će osigurati nastajanje kapljeviti premoštenja među jedinkama. Temperatura faznog prijelaza kapljevito - čvrsto kojom očvršćuju kapljevita premoštenja za vezivno sredstvo polietilen glikol srednje molekulske mase 12 000 Da iznosi 36,58 °C te se ista morala osigurati hlađenjem unutar procesnog prostora.

U sklopu prve faze ove eksperimentalne studije jedinice praška laktoze monohidrat nastoje se okrupniti primjenom procesne tehnologije granuliranja u fluidiziranom sloju tehnikom *in-situ* taljenja, uz pronalazak optimalnih procesnih uvjeta potrebnih za naknadnu ugradnju djelatne tvari, azitromicina u dobivene kolektive jedinki. Motrena te mijenjana makroskopska svojstva svojim će sinergijskim djelovanjem upravljati kompleksnim događajima na mikrorazini procesa na željeni način te time potaknuti željeni razvoj pojedinih mehanizama u samom procesu granuliranja. Takav slijed događaja na mikro- i mezorazini fenomena dovodi do željenog odziva na makrorazini procesa, odnosno do uspješnog granuliranja.

4.1. Utvrđivanje optimalnih uvjeta provedbe procesa granuliranja taljenjem

Niz testova šaržnog granuliranja proveden je u procesnoj jedinici pogodnoj za granuliranje praškastog sustava azitromicin dihidrat – laktoza monohidrat, granulatoru s fluidiziranim slojem, primjenom tehnike *in-situ* taljenja. Slijedom testova šaržnog granuliranja te vizualnim praćenjem dobivenih kolektiva jedinki doneseni su zaključci o eventualnim promjenama procesnih uvjeta uslijed pojave problema prevelike disperznosti sustava, lijepljenja praškaste tvari te začepljenja pora filtra.

Prvotno je bilo potrebno pronaći optimalni maseni udio vezivnog sredstva u odnosu na masu pomoćne tvari te odrediti odgovarajući raspon veličina čestica vezivnog sredstva. Vezivno sredstvo inicijalnog čvrstog oblika pločica bilo je potrebno prethodno usitniti na željen raspon veličina čestica kako bi se pospješilo njegovo taljenje unutar procesne jedinice.

Kroz prva 3 provedena eksperimenta utvrđivan je potreban maseni udio polietilen glikola (dostupno u poglavlju 3.4.1.) u odnosu na masu laktoze monohidrat. Eksperimenti u kojima je korišten polietilen glikol raspona veličina čestica 90-200 μm rezultirali su kolektivom jedinki koji je sadržavao više inicijalnog, neokrupnjenog nego okrupnjenog materijala. Isto tako, tecivost dobivenog kolektiva jedinki nije bila zadovoljavajuća. No, ono što se pokazalo zadovoljavajućim jest udio polietilen glikola koji iznosi 10% mase laktoze monohidrat. Stoga se s tim podatkom krenulo u daljnje eksperimente uz nužnu promjenu nekih drugih uvjeta na makrorazini.

U preostala 3 eksperimenta korišten je polietilen glikol različitih veličinskih intervala (dostupno u poglavlju 3.4.1). Najbolji granulati dobiveni su s polietilen glikolom veličine čestica $< 90 \mu\text{m}$. Dobiveni kolektiv jedinki pokazuje odličnu tecivost, izrazito malo inicijalnog, neokrupnjenog materijala te sadrži sitnije granule uske raspodjele veličina čestica. Razlog tomu leži u maloj veličini čestica polietilen glikola koje taljenjem daju sitnije kapljice veziva koje pogoduju boljoj mehanističkoj slici fenomena te stvaranju kvalitetnijih kapljevitih premoštenja. Preostala dva raspona veličina čestica, očekivano, rezultirali su širokom raspodjelom veličina čestica, kolektiv jedinki je sadržavao granule većih veličina, kao i puno manjih veličina. Također, prilikom provedbe eksperimenata uočeni su problemi lijepljenja praškastog sustava za stijenke procesnog prostora ali i začepljenja pora filtra. Lijepljenje praškastog sustava i začepljenje pora filtra je iznimno izraženo u testovima gdje su korištene velike veličine čestica vezivnog sredstva i velike brzine protoka zraka koje su bile potrebne za podizanje takvih velikih čestica s dna konusa. Uzevši u obzir sve navedeno dalo se zaključiti da je najbolji rezultat granuliranja praškastog sustava laktoza monohidrat postignut

primjenom polietilen glikola veličina čestica < 90 mikrona masenog udjela 10% mase laktoze monohidrat. Slijedom testova šaržnog granuliranja te vizualnim praćenjem dobivenih kolektiva jedinki doneseni su zaključci o eventualnim promjenama procesnih uvjeta uslijed pojave problema prevelike disperznosti sustava, lijepljenja praškaste tvari te začepjenja pora filtra.

Motrenje promjene promatranog svojstva dobivenog kolektiva jedinki ukazuje na dinamiku partikulativnog sustava u procesu fizikalne pretvorbe tvari. Temeljem dobivenih kolektiva jedinki nizom testova granuliranja definirani su pogodni uvjeti provedbe procesa te su odabrani oni koji pokazuju najpogodnije karakteristike za ugradnju same djelatne tvari.

4.2. Ugradnja djelatne tvari u matrice granula

Usljedila je druga faza eksperimentalnog istraživanja, ugrađivanje djelatne tvari azitromicina u odabrani najbolji kolektiv jedinki procesom granuliranja pri istim procesnim uvjetima kao i za odabrani najbolji kolektiv jedinki. U masu laktoze monohidrat nastojalo se granuliranjem ugraditi 10% djelatne tvari azitromicina neovisno o veličini granula. Dobiveni kolektiv okrupnjenih jedinki imao je izvrsnu tecivost i usku raspodjelu veličina čestica. Eksperiment je proveden dva puta radi provjere ponovljivosti metode.

4.3. Karakterizacija izlaznog procesnog toka

4.3.1. Sagledavanje pomaka raspodjele u područje većih veličina

Iz Tablice 4.1. vidljivo je kako je granuliranjem sustava laktoza monohidrat – azitromicin dihidrat, uz primijenjeno pogodno vezivno sredstvo polietilen glikol, ostvaren željeni pomak u područje većih veličina čvrstih čestica. Inicijalna, praškasta laktoza monohidrat sadrži sve čestice manje od 180 μm kako je dokazano analizom sitima u mokrim uvjetima uz prisutnost etanola kao kontinuirane faze. Mase čvrstih čestica pripadajućih veličinskih razreda (Tablica 4.1.) u kolektivima prvog i ponovljenog granulata jasno ukazuje na pomak raspodjele u područje većih veličina čestica odnosno na uspješno proveden postupak okrupnjavanja čvrstoga granuliranjem u fluidiziranom sloju tehnikom *in-situ* taljenja.

Tablica 4.1. Zastupljenost jedinki u odabranim veličinskim razredima.

| VELIČINSKI RAZRED (µm) | MASA ČVRSTIH ČESTICA U VELIČINSKOM RAZREDU (g) | | |
|------------------------|--|----------------------|----------------------|
| | INICIJALNI PRAŠAK LM | GRANULAT LM + AZT, 1 | GRANULAT LM + AZT, P |
| 63 - 90 | / | 52,8 | 46,0 |
| 180 – 250 | 0,0 | 126,9 | 130,0 |
| 355 – 500 | 0,0 | 0,6 | 1,2 |
| > 710 | 0,0 | 0,1 | 0,2 |

4.3.2. Određivanje tecivosti ulaznog i izlaznog procesnog toka

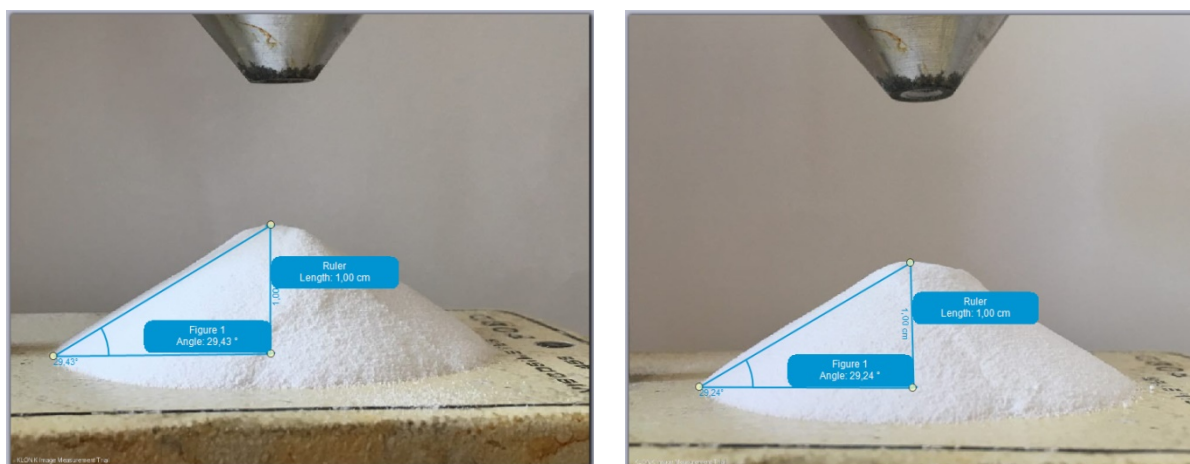
Karakterizacija ulaznog i izlaznog procesnog toka dodatno je podrazumijevala određivanje tecivosti čvrste tvari metodom nasipnog kuta, odnosno mjerenja kuta mirovanja. Određena je tecivost oba kolektiva jedinki s ugrađenim azitromicinom te inicijalnog praška laktoze monohidrat. Metoda se provodi na način da se praškasta tvar ili granulat pusti kroz lijevak za određivanje kuta mirovanja pri čemu dolazi do formiranja stošca na bazi aparature. Prašak laktoze monohidrat teško je prošao kroz lijevak i iz njega je padao u intervalima što ukazuje na izrazito lošu tecivost ovog praška. Kolektiv jedinki s ugrađenim azitromicinom lako je prošao kroz lijevak i ukazao na dobru dobivenu tecivost. Formirani stošci su fotografirani i kut mirovanja je određen obradom fotografije u softverskom paketu *Klonk Image Measurement*. Fotografije su obrađene povlačenjem triju linija koje čine trokut, odnosno u omjer su stavljeni visina stošca i polumjer baze stošca, što rezultira vrijednostima kutova mirovanja. Pripadajuća tecivost tvari prema dobivenim vrijednostima kutova mirovanja određena je temeljem tabličnih vrijednosti prikazanih Tablicom 4.2.

Tablica 4.2. Kutovi mirovanja i pripadajuće tecivosti.*

| TECIVOST ČVRSTE TVARI | KUT MIROVANJA (°) |
|-----------------------|-------------------|
| <i>Izvrсна</i> | 25-30 |
| Dobra | 31-35 |
| Prosječna | 36-40 |
| Osrednja | 41-45 |
| <i>Loša</i> | 46-55 |
| Vrlo loša | 56-65 |
| Izrazito loša | > 66 |

*The United States Pharmacopeia (USP)

Za prvi eksperiment ugradnje azitromicin dihidrata dobivena je vrijednost kuta mirovanja $29,43^\circ$, a za ponovljeni eksperiment $29,24^\circ$. Dobivene vrijednosti kutova mirovanja su vrlo slične što upućuje na dobru ponovljivost procesa sa stajališta tecivosti čvrstoga. Dodatno, kutovi mirovanja jasno ukazuju na izvrsnu tecivost oba kolektiva (tablica 4.2.). Uzevši u obzir činjenicu da je inicijalna laktoza monohidrat praškasti sustav loše tecivosti (prijašnjim istraživanjima detektiran kut mirovanja u iznosu od $46,87^\circ$), očito je da su granuliranjem taljenjem učinjeni pozitivni pomaci od loše tecivosti partikulskog sustava do izvrsne što iznimno pogoduje lakšem, uspješnijem i kvalitetnijem radu na procesnoj jedinici tabletiranja.

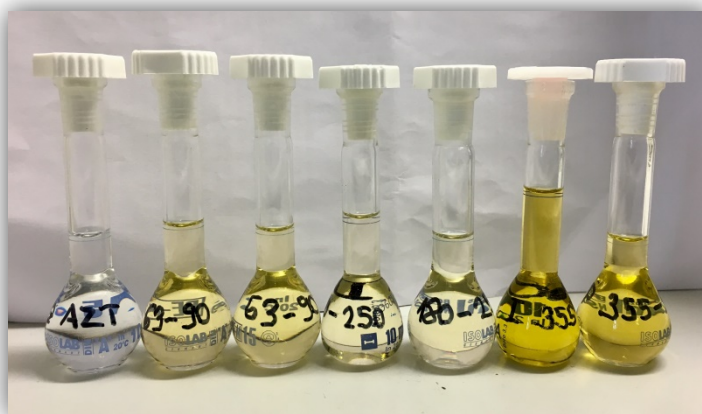


Slike 4.1. i 4.2. Fotografije formiranih stožaca za kolektive okrupnjenih jedinki G_LM+AZT_1 i G_LM+AZT_P; primjena *KLONK Image Measurement* softverskog paketa u određivanju kuta mirovanja.

4.3.3. Određivanje sadržaja djelatne tvari

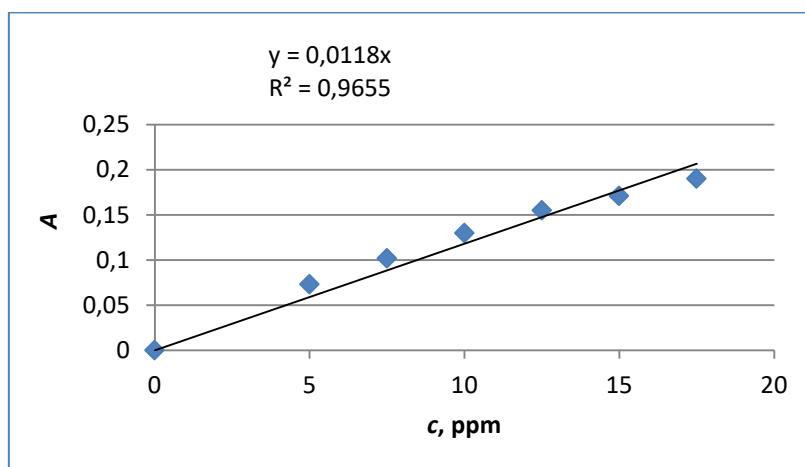
U oba testa šaržnog granuliranja s ugrađenom djelatnom tvari, početni maseni udio djelatne tvari u smjesi je 10%, uz preostali postotak pomoćne tvari i vezivnog sredstva. Stoga, ciljani udio djelatne tvari u svim granulama, neovisno o njihovim veličinama, je 10%. Navedeno je važno sa stajališta tabletiranja jer ako je ciljani udio djelatne tvari u tableti 10%, potrebno je osigurati da udio djelatne tvari u svakoj jedinici neovisno o njenoj veličini bude što bliži 10% kako bi tablete imala zadovoljavajuću kvalitetu odnosno ujednačen sadržaj djelatne tvari u svakoj matrici tablete. Za određivanje sadržaja djelatne tvari spektrofotometrijskom metodom u granulama točno određenih veličina (u određenim veličinskim razredima) bilo je potrebno pronaći pogodnu analitičku metodu za detekciju

azitromicin dihidrata, točnije kompleksa eritronolida žute boje koji nastaje degradacijom istog. Primijenjena je analitička metoda degradacije azitromicin dihidrata jakim klorovodičnom kiselinom (tijek metode dostupan je u poglavlju 3.4.4.). Dobiveni produkt degradacije, žuto obojeni kompleks eritronolid, daje maksimum apsorpcije pri 484,4 nm, a o uspješno provedenoj metodi svjedoče izrazito žuto obojene otopine dobivene u tikvicama nakon provedenog 70-minutnog termostiranja.



Slika 4.3. Fotografija dobivenog žuto obojenog kompleksa eritronolida.

Dakle, spektrofotometrijski je određena apsorbancija za standardne otopine točno definiranih koncentracija azitromicin dihidrata temeljem kojih je omogućena izrada baždarnog dijagrama (slika 4.4.) ovisnosti apsorbancije o koncentraciji (vrijednosti dane u tablici 4.3.), a isti je korišten za određivanje sadržaja azitromicin dihidrata u realnim uzorcima. Dobiveni udjeli azitromicin dihidrata u realnom uzorku granula (po pojedinim veličinskim razredima) prikazani su tablicom 4.4. i grafički slikama 4.5. i 4.6.



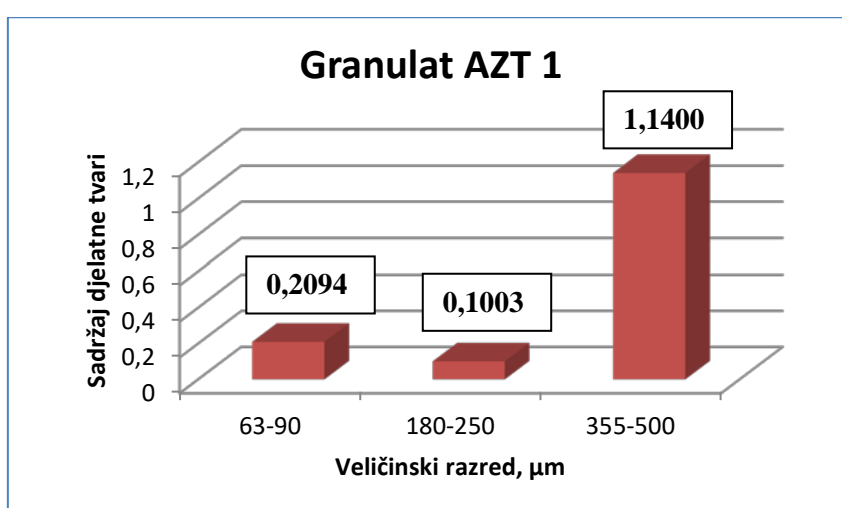
Slika 4.4. Baždarni dijagram ovisnosti apsorbancije o koncentraciji pri određivanju sadržaja djelatne tvari.

Tablica 4.3. Ovisnost apsorbancije o koncentraciji djelatne tvari.

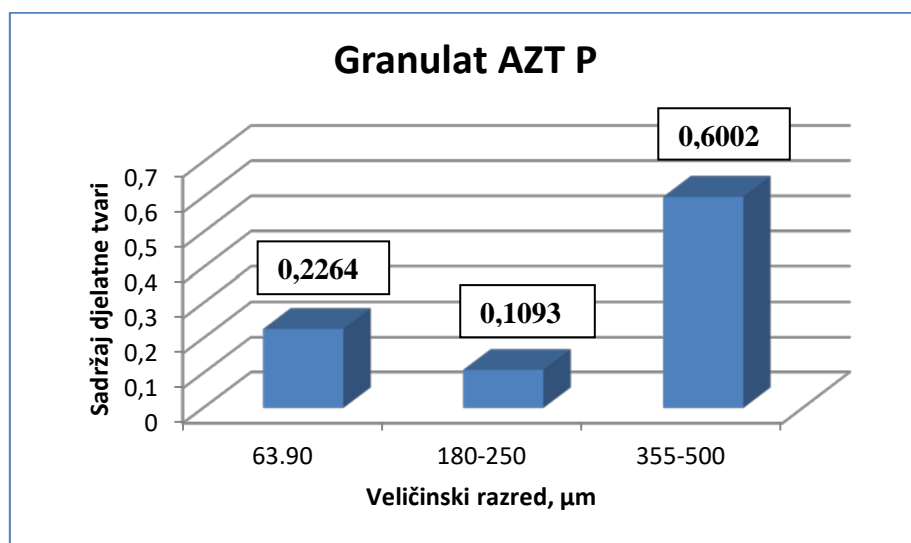
| KONCENTRACIJA DJELATNE TVARI (ppm) | APSORBANIJA |
|--|-------------|
| 0,0 | 0,000 |
| 5,0 | 0,073 |
| 7,5 | 0,102 |
| 10,0 | 0,130 |
| 12,5 | 0,155 |
| 15,0 | 0,171 |
| 17,5 | 0,190 |

Tablica 4.4. Udio azitromicin dihidrata u granulama određenih veličinskih razreda za prvi i ponovljeni eksperiment.

| VELIČINSKI RAZRED (μm) | APSORBANIJA | KORIGIRANA APSORBANIJA | KONCENTRACIJA (ppm) | UDIO AZITROMICINA (%) |
|--|-------------|---------------------------|------------------------|-----------------------------|
| 63-90_1 | 0,435 | 0,434 | 39,28 | 20,94 |
| 180-250_1 | 0,216 | 0,215 | 18,81 | 10,03 |
| 355-500_1 | 2,302 | 2,301 | 213,76 | 114,00 |
| 63-90_P | 0,469 | 0,468 | 42,45 | 22,64 |
| 180-250_P | 0,234 | 0,233 | 20,49 | 10,93 |
| 355-500_P | 1,219 | 1,218 | 112,55 | 60,02 |



Slika 4.5. Grafički prikaz raspodjele sadržaja djelatne tvari po veličinskim razredima za uzorak G_LM+AZT_1.



Slika 4.6. Grafički prikaz raspodjele sadržaja djelatne tvari po veličinskim razredima za uzorak G_LM+AZT_P.

Za veličinski razred 180-250 µm dobiveni su najbolji rezultati, odnosno udio azitromicina u dobivenim granulama iznosio je 10%. Primjećuje se također da je u veličinskom razredu 355-500 µm dobiven jako velik udio azitromicina. Moguć razlog tomu je izrazito mala količina dobivene frakcije tog veličinskog razreda koja nije bila pogodna za dobivanje reprezentativnog uzorka metodom četvrtanja. Isto tako, pretpostavlja se, azitromicin dihidrat je u toj frakciji ostao potpuno neokrupnjen. Gotovo jednake vrijednosti tih dviju frakcija dobivene su i za ponovljeni eksperiment što potvrđuje ponovljivost metode.

Dobiveni rezultati dodatno su interpretirani pogodnim statističkim parametrima: standardnom devijacijom s centrom tendencije na ciljanoj vrijednosti (σ) prema izrazu (1) i standardnom devijacijom s centrom tendencije na srednjoj vrijednosti (s) prema izrazu (2).

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \mu)^2} \quad (1)$$

$$s = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2} \quad (2)$$

Izračunati statistički parametri za raspodjelu djelatne tvari azitromicin dihidrata po veličinskim razredima za oba eksperimenta prikazani su tablicom 4.5.

Tablica 4.5. Izračunati statistički parametri za raspodjelu djelatne tvari po veličinskim razredima za eksperimente *TS-API* i *BS-API*.

| DOBIVENI KOLEKTIV | σ | <i>s</i> |
|--------------------------|----------|----------|
| G_LM+AZT_1 | 1,0416 | 0,7845 |
| G_LM+AZT_P | 0,4956 | 0,3576 |

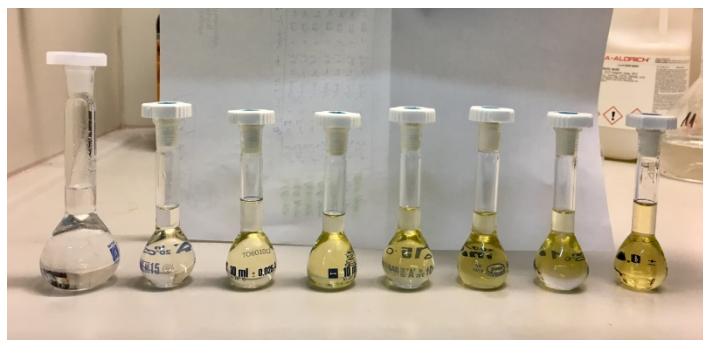
Varijabilnost u sadržaju djelatne tvari, odnosno ujednačenost sadržaja djelatne tvari po pojedinim veličinskim razredima, pa posljedično i raspodjela sadržaja djelatne tvari iskazana je kvantitativno za oba kolektiva granula pogodnim parametrima; standardnom devijacijom u kojoj je mjera centralne tendencije očekivani (ciljani) sadržaj vrijednosti 0,10 (10%) te aritmetički srednji sadržaj. Mjera centralne tendencije ili srednja vrijednost je brojčana vrijednost koja reprezentira skupinu rezultata u slučajevima kada rezultati imaju tendenciju grupiranja oko neke vrijednosti, u ovome slučaju radi se o željenoj vrijednosti 0,10 (10%).

Obzirom da standardna devijacija u oba slučaja opisuje rasipanje podataka, cilj je dobiti što manju vrijednost, tj. što manje rasipanje podataka koje je blisko ciljanom sadržaju, što bi ovdje značilo što ujednačeniju raspodjelu. Vidljivo je da kolektiv okrupnjenih jedinki dobiven eksperimentom G_LM+AZT_P ima manje vrijednosti kod oba parametra. Zaključno, navedeni kolektiv ima ujednačeniju raspodjelu sadržaja djelatne tvari, što je bitno svojstvo mješavine za tabletiranje.

4.3.4. Ispitivanje otpuštanja djelatne tvari

Primijenjenom analitičkom metodom degradacije azitromicina u prisutnosti jake sumporne kiseline (tijek metode dostupan u poglavlju 3.4.6.) dobiven je žuto obojeni kompleks eritronolid pogodan za detekciju spektrofotometrom. O uspješno provedenoj metodi svjedoče žuto obojene otopine dobivene u tikvicama nakon provedenog 60-minutnog termostiranja.

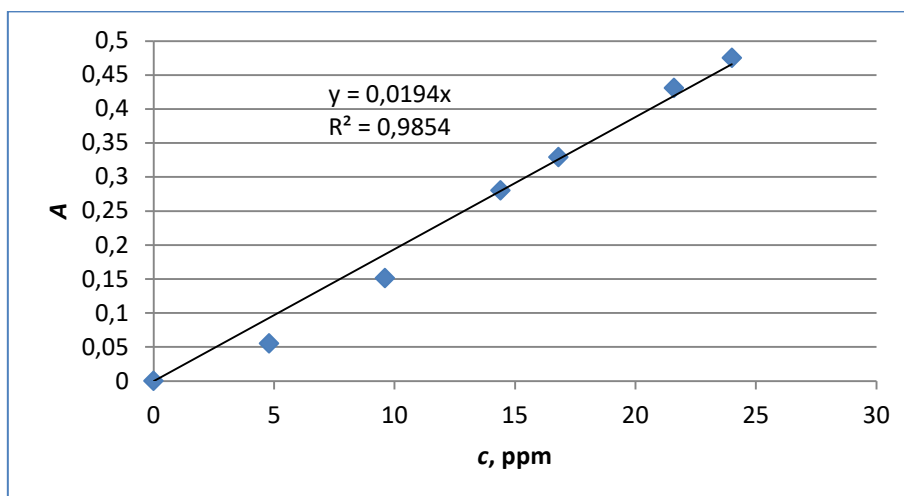
Spektrofotometrijski je određena ovisnost apsorbancije o koncentraciji djelatne tvari azitromicin dihidrata u standardnim otopinama temeljem koje je omogućena izrada baždarnog dijagrama (tablica 4.5., slika 4.9.), a isti je korišten za određivanje udjela otpuštenog azitromicina u pojedinim vremenskim intervalima iz realnog uzorka.



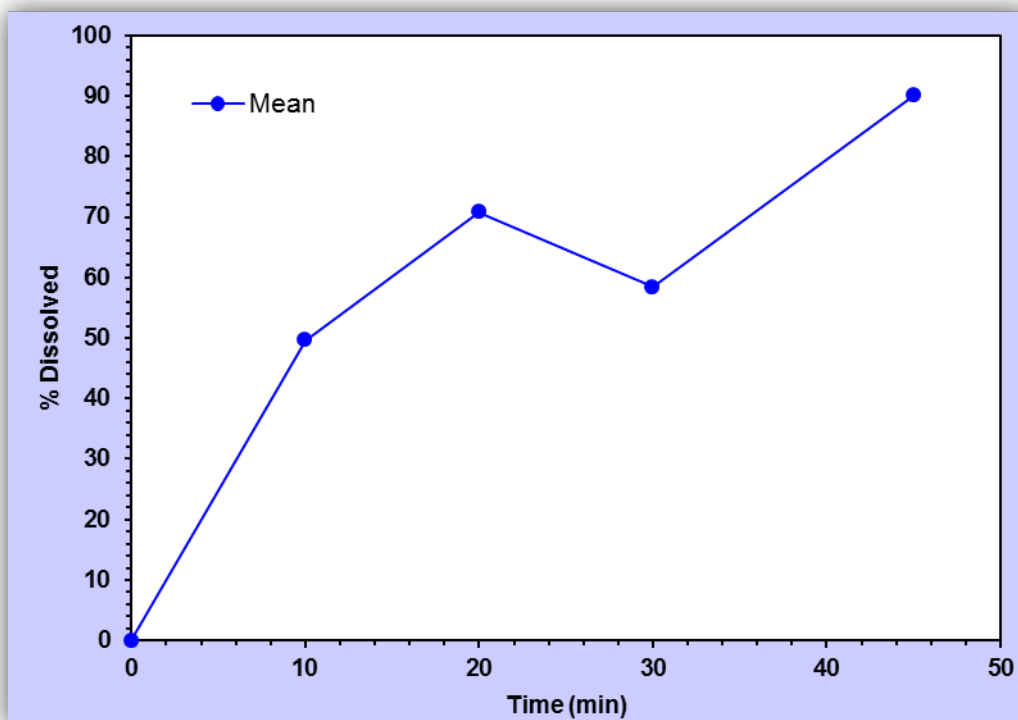
Slika 4.7. Fotografija dobivenog žuto obojenog kompleksa eritronolida pri ispitivanju otpuštanja djelatne tvari.

Tablica 4.5. Ovisnost apsorbancije o koncentracije azitromicin dihidrata pri ispitivanju otpuštanja djelatne tvari.

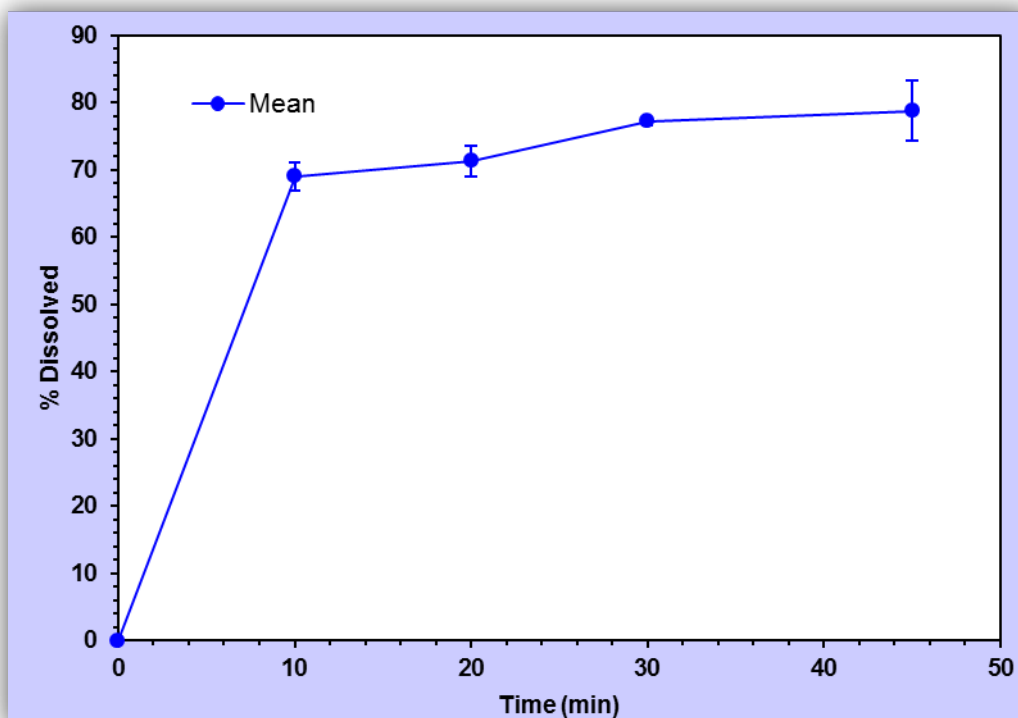
| KONCENTRACIJA DJELATNE TVARI (ppm) | APSORBANCIJA |
|------------------------------------|--------------|
| 0,0 | 0,000 |
| 4,8 | 0,055 |
| 9,6 | 0,151 |
| 14,4 | 0,280 |
| 16,8 | 0,329 |
| 19,2 | 0,399 |
| 21,6 | 0,431 |
| 24,0 | 0,475 |



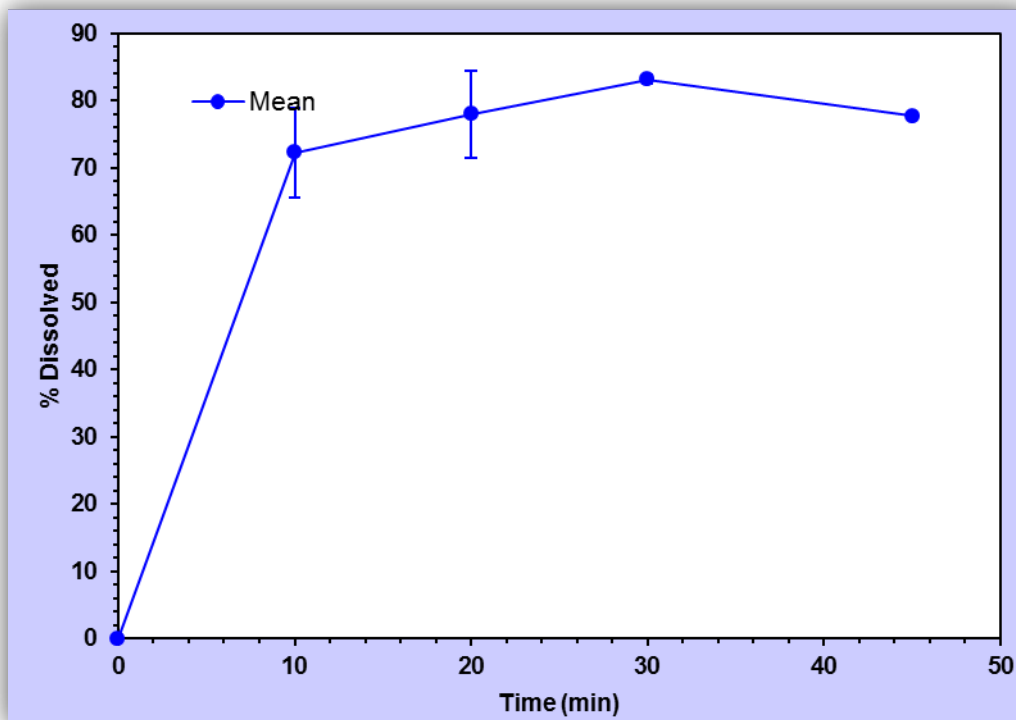
Slika 4.8. Baždarni dijagram pri ispitivanju otpuštanja djelatne tvari.



Slika 4.9. Profil otpuštanja čistog azitromicin dihidrata.



Slika 4.10. Profil otpuštanja azitromicin dihidrata iz granula veličinskog razreda 180-250 μm ; kolektiv G_LM+AZT_1.



Slika 4.11. Profil otpuštanja azitromicin dihidrata iz granula veličinskog razreda 180-250 μm ; kolektiv G_LM+AZT_P.

Posljednja faza istraživanja uključuje analizu dobivenih profila otpuštanja čistog azitromicin dihidrata (Slika 4.9.) te realnih uzoraka, granula veličinskog razreda 180-250 μm (Slika 4.10. i Slika 4.11.). Analizom dobivenih rezultata uočeno je značajno odstupanje udjela otpuštenog čistog azitromicin dihidrata u vremenu $t = 30$ min (Slika 4.9.). Ono može biti posljedica pogreške pri uzorkovanju u datom vremenu ili posljedica nejednolike raspodjele djelatne tvari u ispitivanom volumenu. Udjeli otpuštene djelatne tvari iz granula veličinskog razreda 180-250 μm u vremenima $t = 10$ min (69,00 % za inicijalni, odnosno 72,26 % za ponovljeni eksperiment) i $t = 20$ min (71,36 % za inicijalni, odnosno 77,99 % za ponovljeni eksperiment) ukazuju na ubrzano otpuštanje djelatne tvari u odnosu na čisti azitromicin dihidrat (49,64 % u vremenu $t = 10$ min te 70,79 % u vremenu $t = 20$ min), odnosno na povećanje topljivosti lijeka iz dobivene formulacije, granulata azitromicin dihidrata. Udjeli otpuštene djelatne tvari u vremenu $t = 45$ min (90,06 % za čisti azitromicin, 78,79 % za inicijalni te 77,72 % za ponovljeni eksperiment) ukazuju na nepotpuno otapanje lijeka u svim provedenim ispitivanjima. Manje vrijednosti otpuštene djelatne tvari iz realnih uzoraka (Slika 4.10. i Slika 4.11) u posljednjem vremenu uzorkovanja mogu biti posljedica produljenog otpuštanja lijeka ili pogreške pri određivanju sadržaja djelatne tvari te nemogućnosti

preciznog uzorkovanja prašaka takvog tipa. Naime, ispitivana odvaga realnih uzoraka je ekvivalentna masi od 100 mg azitromicin dihidrata. Eventualna pogreške pri određivanju sadržaja djelatne tvari te uzorkovanju mogu rezultirati smanjenom početnom masom azitromicin dihidrata, a samim time i razlikama u profilima otpuštanja lijeka.

5. ZAKLJUČAK

Ovim istraživanjem sagledano je okrupnjavanje sustava laktoza monohidrata – azitromicin dihidrat granuliranjem u fluidiziranom sloju primjenom *in-situ* tehnike taljenja. Fizičkom pretvorbom dvokomponentnog praškastog sustava, azitromicin dihidrat – laktoza monohidrat u kolektiv okrupnjenih jedinki pripravljena je formulacija pogodnije tecivosti i znatno veće kompresivnosti. Posljedično, time se očekuje da će i matrice tablete biti boljih primjenskih svojstava (veće tvrdoće, manje varijabilnosti sadržaja djelatne tvari te kontroliranog profila otpuštanja djelatne tvari). U sadržanoj pretvorbi tvari korišten je polietilen glikol (PEG) 12000 Da kao vezivo.

Pronađeni su optimalni uvjeti provedbe procesa koji rezultiraju nastajanjem postojećih, okrupnjenih granula laktoze monohidrata za *in-situ* tehniku taljenja. Pri odabranim procesnim uvjetima provedeni su eksperimenti kojima je ugrađena djelatna tvar (azitromicin dihidrat) u masu granula, čiji je udjel u ukupnoj masi iznosio 10% (G_LM+AZT_1 G_LM+AZT_P).

Okrupnjavanjem sustava laktoza monohidrat – azitromicin dihidrat pripremljeni su kolektivi većih veličina čestica, što je rezultiralo poboljšanjem tecivosti za oba granulata.

UV/VIS spektrofotometrijskom metodom određeni su sadržaji djelatne tvari u granulama različitih veličinskih razreda. Dobiveni rezultati ukazuju na uspješnu ugradnju ciljanog sadržaja djelatne tvari u granule veličinskog razreda 180-250 μm . Temeljem statističkih pokazatelja zaključuje se da granulat G_LM+AZT_P ima znatno ujednačeniiji sadržaj djelatne tvari odnosno bolju raspodjelu sadržaja djelatne tvari.

Dodatno, za granule veličinskog razreda 180-250 μm u kojima je za oba kolektiva postignut ciljani sadržaj djelatne tvari ispitano je otpuštanje djelatne tvari. Profili otpuštanja djelatne tvari iz matrica granula laktoze monohidrata i polietilen glikola uspoređeni su s profilom otpuštanja čistog azitromicin dihidrata.

6. LITERATURA

1. M.D. Tousey, The granulation process 101, Basic technologies for tablet making, Pharm. Techn. (2002) 8-13
2. I. Aleksić, J. Đuriš, S. Cvijić, S. Ibrić, J. Parojčić, Granulacija topljenjem – alternativni postupak u izradi čvrstih farmaceutskih oblika, Arh. farm. (2015) 159 – 177
3. D.M. Newitt, J.M. Conway-Jones, A contribution to the theory and practice of granulation, Trans. I. Chem. Eng. 36 (1958) 422-441
4. C.E. Capes, P.V. Danckwerts, Granule formation by the agglomeration of damp powders: Part I. The mechanism of granule growth, Trans. I. Chem. Eng. 43 (1965) 116-124
5. K. Žižek, 2010. Komparativna istraživanja granulacijskog procesa, Doktorska disertacija, Zagreb, Hrvatska.
6. S.M. Iveson, J.D. Litster, K. Hapgood, B.J. Ennis, Nucleation, growth and breakage phenomena in agitated wet granulation process: a review, Powder Technol. 117 (2001) 3-39
7. Web str.: <http://www.dfepharma.com/en/knowledge-base/oral-solid-dose/wet-granulation.aspx> (pristup 17. srpnja 2017.) – preuzimanje tehničkog dokumenta str. 1 – 5
8. R. Swami, G. Singh, P. Bhasin, H. Dureja, In vitro dissolution profile comparison: a tool for biowaivers based on BCS, J. Pharm. Sci. 10 (2011) 73-76
9. I. Gavran, N. Malekinušić, A. Milićević, 2017. Završno izvješće Kemijsko inženjerske vježbe ak. god. 2016./2017., Zagreb, Hrvatska
10. N. Sultana, F. Hussain, M. Saeed Arayne, A. Fatima, Degradation studies of azithromycin and its spectrophotometric determination in pharmaceutical dosage forms, Pak. J. Pharm. Sci. 19 (2) (2006) 94-98

7. SIMBOLI

A – apsorbancija (-)

c – koncentracija djelatne tvari (ppm)

N – broj uzoraka (no.)

s – standardna devijacija s centrom tendencije na aritmetičkoj srednjoj vrijednosti sadržaja (-)

\bar{x} – aritmetička srednja vrijednost sadržaja djelatne tvari (-)

x_i – pojedini sadržaj djelatne tvari (-)

μ – očekivana/ciljana vrijednost sadržaja djelatne tvari (-)

σ – standardna devijacija s centrom tendencije na ciljanoj vrijednosti sadržaja (-)

ŽIVOTOPIS

| | |
|---|---|
| Ime i prezime | Dora Kolman |
|  |  |
|  |  |
| Obrazovanje | 2000. - 2008. Osnovna škola Samobor, Samobor 2008. - 2012. Gimnazija Antuna Gustava Matoša, Samobor 2012. - 2017. Sveučilišni preddiplomski studij Ekoinženjerstvo Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu |
| Jezici | Engleski |
| Osobne vještine | Odgovornost, pouzdanost, timski rad, komunikacijske vještine |