

Sveučilište u Zagrebu

Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

KRISTINA LUKIN I ANTONIO PELESK

Porozne pelete kao nosači lijeka za reguliranje srčane aritmije

Zagreb, 2016.

Ovaj rad izrađen je u Zavodu za mehaničko i toplinsko procesno inženjerstvo pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Gordane Matijašić i predan je na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2015./2016.

POPIS SKRAĆENICA I SIMBOLA

Skraćenice

DRN - Dronedaron hidroklorid

NaCl - Natrijev klorid

MCC - Mikrokrystalna celuloza

SEM – Pretražni elektronski mikroskop (*Scanning electron microscope*)

Simboli

A – površina, m^2

a - parametar skale koji opisuje vremensku ovisnost

b - oblik krivulje pomaka topljivosti

c_0 - početna koncentracija lijeka, $mg L^{-1}$

c_s - koncentracija lijeka u matričnom mediju, $mg L^{-1}$

D - difuzijski koeficijent molekule lijeka u otapalu, $m^2 s^{-1}$

f_1 - faktor razlike

f_2 - faktor sličnosti

h - debljina difuzijskog sloja, m

K – konstanta brzine otpuštanja, $kg m^{-3} s^{-1}$

K_H - Higuchijeva konstanta otapanja, $kg m^{-3} s^{-1}$

M - količina lijeka otpuštenog u vremenu, kg

M_0 - ukupna količina otpuštenog lijeka, kg

n - eksponent otpuštanja

n - množina adsorbirane tvari, mol

N_A - Avogadrova konstanta, mol⁻¹

P_0 - tlak zasićenja isparavanja, Pa

P - tlak adsorpcije, Pa

S - površina difuzijskog sloja, m²

Q_0 - početna količina lijeka u otopini, kg m⁻³

Q_t - količina lijeka otopljenog u vremenu t , kg m⁻³

t - vrijeme, s

T - zaostalo vrijeme mjereno kao rezultat procesa otapanja, s

T_t - vrijednost otapanje ispitivane serije T u vremenu, s

W_0 - početna količina lijeka u farmaceutskom obliku doziranja, kg m⁻³

W_t - preostala količina djelatne tvari u farmaceutskom obliku doziranja, kg m⁻³

X_{eq} - sadržaj vlage, kg_{vode} / kg_{suhe tvari}

Δm - razlika masa, kg

δ - poroznost matrice

κ - konstanta ugradnje površno-volumnog odnosa

τ - zakrivljenost matrice

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. Antiaritmijaska sredstva.....	2
2.2. Dronedaron hidroklorid.....	2
2.3. Kemijska struktura dronedarona	3
2.4. Apsorpcija dronedarona	6
2.5. Porozne pelete kao sustav dostave lijeka	6
2.5.1. Svojstva peleta.....	6
2.5.2. Oslobođanje lijeka	8
2.5.3. Opis kinetike otpuštanja lijeka	12
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	19
3.1. Materijali.....	19
3.2. Tijek provedbe eksperimentalnog dijela	19
3.3. Priprava peleta.....	21
3.4. Ispiranje poroznih peleta	22
3.5. Određivanje specifične površine peleta	22
3.6. Ravnotežni sadržaj vlage materijala.....	23
3.7. Morfologija peleta.....	24
3.8. Nanošenje dronedaron hidroklorida na pelete.....	25
3.9. Određivanje sadržaja dronedarona u peletama	26
3.9.1. Priprema standardnih otopina dronedarona	26
3.9.2. Određivanje sadržaja dronedarona u peletama.....	27
3.9.3. Ispitivanje brzine otpuštanja dronedarona iz peleta	28
4. REZULTATI.....	30
4.1. Raspodjela veličina pora i specifična površina	30
4.2. Morfologija peleta.....	33
4.3. Djelotvornost nanošenja dronedaron hidroklorida.....	35
4.4. Kinetika otpuštanja dronedaron hidroklorida iz poroznih peleta.....	35
5. RASPRAVA	40
6. ZAKLJUČAK	44
7. ZAHVALA	45
8. LITERATURA.....	46
SAŽETAK.....	50
SUMMARY	51

1. UVOD

U posljednjih nekoliko godina, značajna pažnja usmjerena je na razvoj novih sustava za dostavu lijeka (eng. *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. U takvom obliku molekula lijeka povećava svoju tržišnu vrijednost, konkurentnost proizvoda te vijek patentnog proizvoda. Među različitim sustavima dostave lijeka, oralni sustav za kontrolirano otpuštanje je među najboljima zbog jednostavnosti doziranja te veće udobnosti pacijenata. 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 učestalost uzimanja doze te veća udobnost pacijenata zbog pojednostavljenog režima doziranja. Dostupne su brojne mogućnosti oblikovanja pripravaka s kontroliranim otpuštanjem za izmjenu oralne apsorpcije s matricama peleta.

Pelete su definirane kao sferične, slobodne granule suskom raspodjelom veličina između 500 – 1500 μm koje se koriste u farmaceutskoj industriji. Interes za peletama kao oblicima za doziranje (punjene u tvrde želatinske kapsule ili komprimirane u razgradive tablete) raste kontinuirano jer njihova višečestična priroda pruža važne 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. Zbog sferonizacije, pelete imaju optimalnu prosječnu veličinu, ravnomjernu raspodjelu veličina te sferni oblik u odnosu na granule. Također imaju dobro svojstvo tečnosti koja omogućava precizno punjenje kapsula s minimalnim trenjem čime se izbjegava stvaranje prašine te su smanjena odstupanja doze. Zbog dobrih mehaničkih svojstava peletama se može postići željeno otpuštanje lijeka.

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

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Antiaritmijaska sredstva

Antiaritmijaska sredstva su skupina lijekova koji se koriste za suzbijanje abnormalnog srčanog ritma (srčane aritmije), kao što su atrijska fibrilacija, undulacija atrijska, ventrikularna tahikardija i ventrikularna fibrilacija. Antiaritmijaska sredstva se prema njihovom mehanizmu djelovanja često svrstavaju u pet glavnih skupina, na temelju Vaughan Williams klasifikacije. Mnogi antiaritmici imaju više načina djelovanja što predstavlja problem u njihovoj klasifikaciji. Koriste se za smanjenje ili povećanje brzine provođenja, mijenjaju razdražljivost srčanih stanica promjenom trajanja efektivne neosjetljivosti te suzbijaju nenormalan automatizam.¹

2.2. Dronedaron hidroklorid

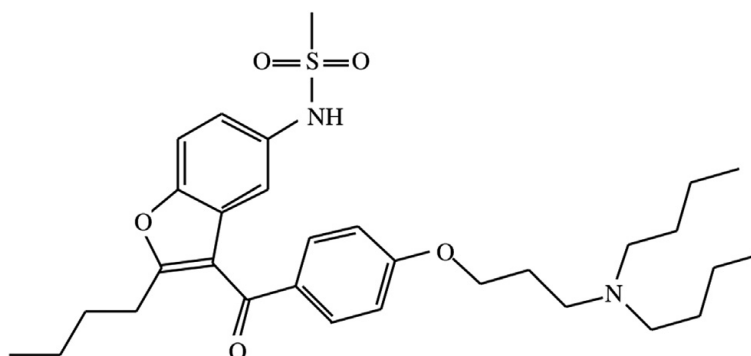
Dronedaron, kemijski spoj koji sadrži benzofuran, je derivat amiodarona koji je klasificiran kao antiaritmik III klase. Amiodaron je popularan antiaritmik, ali potencijalna toksičnost povezana sa ovim lijekom može uzrokovati nekoliko bolesti kao što su bolesti štitnjače, plućna fibroza te bolesti jetre koje bi mogle biti posljedica zbog prisutnosti visokog sadržaja joda u njemu. U kliničkim ispitivanjima, utvrđeno je da je dronedaron bolji od amiodarona u smislu da ima relativno brže i kratko vrijeme poluraspada, smanjenu lipofilnost i zanemarivu kardiovaskularnu toksičnost. Poluvrijeme uklanjanja ($t_{1/2}$) dronedarona je puno kraće (13–19h) za razliku kod amiodarona koji iznosi nekoliko tjedana. Također je dokazano da je sasvim siguran i učinkovit lijek u kontroli sinusnog ritma i smanjenju ventrikularne proaritmije. Smatra se da će biti najbolji izbor za kontrolu ritma kod pacijenata s atrijskom fibrilacijom koji nemaju zapis o bolestima srca, bolesti koronarnih arterija i povišenog krvnog tlaka bez hipertrofije lijeve klijetke. Osim amiodarona postoje i drugi korisni lijekovi koji se koriste za liječenje atrijske fibrilacije ili srčane aritmije poput sotalola, prokainamida, lidokaina, propafenona i flekainida.²

Dronedaron je relativno novi lijek, propisan za kardiovaskularni sustav pacijenata koji imaju paroksizmalne ili trajne atrijske fibrilacije kako bi se smanjile mogućnosti za hospitalizaciju. Odobren je 2. srpnja 2009. godine od strane FDA (*Food and Drug Administration*) za

kliničku upotrebu za atrijsku fibrilaciju. Trgovački naziv oralnih tableta dronedarona je Multaq kojeg prodaje svjetska tvrtka Sanofi Aventis, Paris, Francuska.

2.3. Kemijska struktura dronedarona

Kemijski naziv dronedarona je N-(2-butil-3-(p-(3-(dibutilamino)propoksi)benzoil)-5-benzofuranil) metan sulfonamid (Slika1). Njegova molekulska formula je $C_{31}H_{44}N_2O_5S$ s molekulskom masom od 556,758 g/mol. To je bijeli fini prašak, koji je praktički netopljiv u vodi, dobro je topljiv u metilen kloridu i metanolu, a topljiv u etanolu. Dronedaron je heterociklički spoj koji sadrži benzofuran i strukturno je sličan amiodaronu, ali uz male strukturne promjene gdje je jodna skupina zamijenjena s metan-sulfonilnom skupinom.



Slika 1. Kemijska struktura dronedarona

Svrha zamjene jodne skupine je smanjenje rizika od oštećenja drugih organa koja su uzrokovana zbog terapije s amiodaronom. Zamjenom jodne s metan-sulfonilnom skupinom smanjuje se lipofilnost i tako se smanjuje rizik od neurotoksičnosti. Dronedaron je u prirodi kristalan s temperaturom tališta od 149–153°C. Također se čini da pokazuje aktivnost u svakoj od 4 Vaughan-Williamsove antiaritmičke klase.



Slika 2. Dronedaron kao bijeli prah

Razvoj dronedarona je dugotrajan i složen. Glavni razlozi složenosti nisu izravno povezani sa spojem već s patologijom bolesti. Atrijska fibrilacija je neovisni čimbenik za povećanje mortaliteta i morbiditeta. Ipak životni vijek većine pacijenata, koji pate od atrijske fibrilacije je i dalje visok, te je vrlo teško pokazati učinak lijeka s obzirom na vrstu terapije, farmakološki ili ne. Nadalje aritmije su složene i raznovrsne. Za razliku od nekih drugih područja kardiovaskularnih terapija, liječenje aritmije ne može se provoditi samo s jednim lijekom. U većini slučajeva, jednostavnije je kontrolirati hipertenziju ili koncentraciju lipida nego kontrolirati aritmiju. Atrijska fibrilacija je aritmija čiji su mehanizmi najsloženiji, 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.³

Oko 20 godina, sigurnost antiaritmika koji se koriste u održavanju sinusnog ritma kod bolesnika atrijske fibrilacije bila je upitna. Nakon objave „*Cardiac Arrhythmia Suppression Trial*“⁴ 1989. godine, Copley i suradnici su u novoj analizi objavljenoj 1990. godine, pokazali su da je tretman kinidinom učinkovitiji nego terapija bez antiaritmika u suzbijanju povratka atrijske fibrilacije, no čini se da je povezana sa porastom ukupne smrtnosti. U posljednjih 20 godina, ovaj veliki sigurnosni problem pojavio se i za sve ostale antiaritmičke lijekove, iako je već u tom trenutku bilo jasno da sam kinidin može biti nepovoljan u usporedbi sa drugim antiaritmičkim lijekovima. U ovih proteklih 25 godina, nije uspješno razvijen niti jedan novi oralni antiaritmički lijek za atrijsku fibrilaciju, s iznimkom dronedarona. Atrijska fibrilacija je ozbiljna bolest koja može mijenjati kvalitetu pacijentova života i povećati smrtnost, što je glavni teret(opterećenje) za zdravstveni sustav.⁵ Ipak, stopa smrtnosti od atrijske fibrilacije u svijetu je i dalje niska, oko 3% godišnje.

Trenutno postoji veliki interes za dronedaron što uključuje i članke koji koriste podatke iz DIONYSOS studije⁶. Rezultati DIONYSOS-a uspoređivani s amiodaronom nisu bili u korist za dronedaron.⁷ Dizajn testiranja je bio originalan, uglavnom se odnosi na primarnu kompozitnu krajnu točku miješanjem povratnih atrijskih fibrilacija i studija preranog prekida lijeka. Naravno učinkovitost amiodarona je dobro poznata, ali problem u liječenju pacijenata sa ovim lijekom je u većini slučajeva, u prekidu lijeka zbog nuspojava. Trajanje tretmana u DIONYSOS-u je bilo vrlo kratko, 7 mjeseci. Ova kratka kontrola je izabrana kako bi se omogućilo tvrtki za razvoj dronedarona da uključi studije u registarski dosje. Bilo je nemoguće nadati se da će rezultati ići na ruku dronedaronu, međutim zbog kratkog praćenja, nije dovoljno da se pokaže superiornost nad amiodaronom znajući da se prekid amiodaronom događa u većini slučajeva nakon dužeg korištenja; bila bi potrebna kontrola od najmanje 2 godine. Nuspojave amiodarona su česte i obično se pojavljuju nakon nekoliko godina korištenja.

Nedavno, Andersen i suradnici⁸ objavili su podatke iz velike, neodabrane skupine bolesnika otpuštenih prvi puta sa atrijskom fibrilacijom, koji su tretirani sa flekainidom, propafenonom, sotalolom ili amiodaronom. Sudjelovalo je 141 500 pacijenata. Viša godišnja stopa smrtnosti zabilježena je s amiodaronom, te je moguće pretpostaviti da su ti podaci posljedica zbog slabe sigurnosti amiodarona i ozbiljne bolesti pacijenata koji su odabrani za korištenje amiodarona. Realnost je da je dronedaron pravi novitet, nakon 25 godina izbivanja novih antiaritmika za pacijente sa atrijskom fibrilacijom i ograničenja za dronedaron očito nisu tako važni kao i oni za amiodaron.³

U ATHENA studiji⁹, provedeno je *placebo* kontrolirano, dvostruko slijepo ispitivanje. U istraživanju je sudjelovalo 4628 pacijenata u dobi iznad 75 godina. Ovi pacijenti su nasumične primali ili placebo ili 400 mg dronedarona dva puta dnevno kroz 12 mjeseci.



Slika 3.Dronedaron tablete

U ovom istraživanju, primarna završna točka je bila smrt zbog bilo kojeg uzroka ili kardiovaskularne hospitalizacije, dok su sekundarne završne točke bile kardiovaskularna hospitalizacija ili kardiovaskularne smrti. U grupi pacijenata koji su uzimali dronedaron, statistikom je utvrđeno značajno smanjenje kardiovaskularnih smrti, moždanih i srčanih udara te prolaznog ishemijskog napada.

Studije o profiltriranju nečistoća iz ljekovitih tvari i lijekova u farmaceutskoj industriji imaju ključnu ulogu u razvoju lijeka/procesa. Prikupljanje analitičkih podataka o nečistoćama je važno za ranu fazu farmaceutskog razvoja. Tijekom razvoja kemijskog procesa lijeka, manje nečistoće nastale iz prekursora, nusproizvoda koji nastaju u reakciji i nečistoća povezanih s reagensima koji se koriste, mogu biti prisutne. Stroge ICH (*International Council for Harmonisation*) smjernice prisiljavaju na praćenje i kontrolu razine nečistoća do određene granice u ljekovitim tvarima i lijekovima.¹⁰

2.4. Apsorpcija dronedarona

Dronedaron se dobro apsorbira nakon oralnog doziranja gdje apsorpcija iznosi oko 70–94% što se značajno povećava u prisutnosti hrane. Bioraspoloživost u odsutnosti hrane je niska (oko 4%), a to je uglavnom zbog prolaska prvog predsystematskog metabolizma. Prisutnost masnih jela povećava bioraspoloživost dronedarona za gotovo 15%, zbog toga se preporučuje uzimanje s takvom hranom. Kada se dronedaron primjenjuje u dozi od 400 mg dva puta tjedno, pokazuje omjer akumulacije od 2,6 do 4,5. Maksimalna koncentracija u stabilnom stanju iznosi 84 – 167 ng/mL.¹⁰

2.5. Porozne pelete kao sustav dostave lijeka

2.5.1. Svojstva peleta

Pojam pelete odnosi se na sferične aglomerate pripremljene ekstruzijskom sferonizacijom, a kuglica spremnik na one aglomerate koji su obloženi prevlakom da bi se utjecalo na profil otpuštanja lijeka u organizmu, npr. produljeno ili odgođeno otpuštanje lijeka. Pojam peleta kao lijeka koji sadrže ljekovitu tvar koristi se kao model za pelete na bazi ljekovitih tvari. Svojstva peleta znatno ovise o načinu pripreme, procesnim uvjetima, postupku sušenja,

formulaciji čvrste tvari i otopine. Opći opis važnih svojstava peleta dan je Pojedinačna svojstva peleta detaljno su opisana u istraživanjima.¹¹⁻¹³ 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 $0,7 \pm 0,2$ μm , dok se odgovarajuća vrijednost konvencionalnih neporoznih MCC peleta iznosi $15,1 \pm 1,2$ % i $0,02 \pm 0,01$ μm . Iako se 70% NaCl-a odstrani iz poroznih kuglica ekstrakcijom, njihova poroznost je samo 33.2% zbog sakupljanja kuglica tijekom sušenja. Razlike u poroznosti između konvencionalnih neporoznih i poroznih peleta vizualiziraju se pomoću pretražnog elektronskog mikroskopa (SEM-a).¹⁴ U radu Veena i suradnika¹⁵ ispitan je utjecaj odnosa mikrokristalne celuloze i natrijeva klorida na svojstva peleta. Prije same ekstruzije dodana je voda kao vezivno sredstvo, a u dovoljnoj količini da izdrži gubitke tokom sušenja.^{15,16}

Rezultati su pokazali da su najbolja svojstva peleta dobivena kada su MCC i NaCl korišteni u masenim omjerima 70:30. Pelete su bile sferične i čvrste što je neophodno kako bi izdržale test rastrošljivosti. Ovi podaci u suprotnosti su s rezultatima Cosijnsa i suradnika¹⁶ koji su dobra svojstva peleta dobili u omjerima 30:70.

Kako bi se kontroliralo otpuštanje lijeka iz peleta one se često oblažu, a njihova maksimalna obložena dimenzija može biti do 2 mm.¹⁷ Primjena prevlaka na peletama kao lijeku ne mijenja njihovu izdržljivost, neovisno o debljini prevlake.¹⁸⁻²¹ Otkriće da prevlaka ne mijenja izdržljivost peleta ukazuje da će srž pelete oslabiti prije nego što pukne prevlaka. Ovo je karakteristično za farmaceutske tablete prevučene filmom, ali može se također primijeniti i na obložene pelete.

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.²²⁻²⁴

Nepravilna površina poroznih peleta u odnosu na neporozne pelete pridonosi razlici u punjenju lijekom kada se ne koriste veziva. Nepravilna površina poroznih kuglica olakšava lijepljenje čestica lijeka na površinu u usporedbi s glatkom površinom konvencionalno neporoznih peleta.

2.5.2. Oslobađanje lijeka

Oslobađanje lijeka je proces u kojem lijek otpušta ljekovite produkte koji se podvrgavaju apsorpciji, distribuciji, metabolizmu i izlučivanju (ADMI) te na kraju postaje dostupan za farmakološka djelovanja. Otpuštanje lijeka je opisano na više načina. Trenutno otpuštanje ljekovitih produkata omogućuju lijeku da se otopi bez namjere za odlaganjem ili produljenjem otapanja i apsorpcije lijeka. Modificirani, otpuštajući dozirni oblici uključuju i zakašnjelo i produženo otpuštanje ljekovitih produkata. Odgođeno otpuštanje se definira kao kasnije otpuštanje lijeka neposredno nakon primjene. Produženi otpuštajući proizvodi formulirani su da bi lijek bio dostupan tijekom duljeg perioda nakon uzimanja. Konačno, kontrolirano otpuštanje uključuje produžene i pulsirajuće otpuštajuće produkte. Pulsirajuće oslobađanje uključuje oslobađanje konačnih iznosa lijeka u različitim vremenskim intervalima koji su programirani u ljekovitom proizvodu.²⁵

Otapanje je farmaceutski definirano kao brzina prijenosa tvari iz čvrste površine u medij za otapanje ili 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 molekularnoj difuziji otopljenih molekula lijeka od granice faca u masu otopine. Znanstvenici su pregledali faktore koji mogu utjecati na otapanje tableta, a oni uključuju brzinu miješanja, temperaturu, viskoznost, pH vrijednost, sastav medija za otapanje i prisutnost ili odsutnost sredstava za vlaženje. Fizički modeli koji opisuju brzinu otapanja postavljeni su za tablete, ali se primjenjuju i za druge oblike. Prema Higuchiju postoje tri modela koji se, bilo sami ili u kombinaciji, mogu koristiti za opisivanje mehanizma otapanja. To su sljedeći modeli:

1. **Model difuzijskog sloja** – ovaj model pretpostavlja da sloj tekućine, određene debljine, ostaje nepokretan uz čvrstu površinu kako većina tekućine prelazi preko površine određenom brzinom. Pretpostavlja se da reakcijom dolazi do trenutnog stvaranja zasićene

otopine, c_s , krute tvari u mirujućem difuzijskom sloju. Brzina otapanja je tada u cijelosti kontrolirana difuzijom čvrstih molekula iz difuzijskog sloja u masu otopine prema prvom Fickovom zakonu:

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

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 kad čvrste molekule prijeđu u otopinu, pretpostavlja se da je miješanje brzo i da koncentracijski gradijent nestaje.

2. **Model površinske barijere** – u ovom modelu pretpostavlja se da reakcija u na granici faza nije trenutačna 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. Brzina difuzije je relativno veća u usporedbi s prevladavanjem energetske barijere koja ograničava brzinu u procesu otapanja.

3. **Danckwertov model** – pretpostavlja da makroskopski paketi otapala dosegnu granicu faza vrtložnom difuzijom na neki slučajan način. 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.

Iako je model difuznog sloja najčešće korišten, različite alternative su predložene. Trenutni pogled modela difuzijskog sloja temelji se na tzv. učinkovitoj granici difuzijskog sloja, struktura koja je jako ovisna o hidrodinamičkim uvjetima.²⁶⁻²⁸

Svaka od tehnika otpuštanja lijeka mora sama po sebi imati dobru topljivost lijeka u otapalu.

Prilikom nanošenja lijeka na pelete u fluidiziranom sloju, on se uglavnom zadržava na njihovoj površini i unutra pora. Povišene temperature mogu imati za posljednicu odsustvo lijeka u unutrašnjosti peleta zbog ograničene penetracije lijeka unutar pelete i isparavanja većine vode prije nego što kapljica padne na površinu peleta.²⁹ Većina samog lijeka se oslobađa unutar manje od 10 minuta. Korištenjem odgovarajućeg analitičkog rješenja Fickovog drugog zakona difuzije pri eksperimentalno određenoj kinetici otpuštanja lijeka pokazuje dobru povezanost između eksperimenta i teorije. Difuzija je glavni mehanizam

prijenosa tvari u takvim sustavima bez obzira na tip lijeka i koncentraciju. Oslobođanje lijeka iz poroznih kuglica je neposredno, a prije svega pod kontrolom difuzije.³⁰

***In vivo* i *in vitro* metode oslobođanja lijeka**

Ispitivanje oslobođanja *in vitro* ne daje pouzdane prognoze o oslobođanju *in vivo*. No, ako se postigne usporedba između farmaceutske i biološke raspoloživosti, i ti testovi dobivaju važnost. Određivanje oslobođanja ljekovite tvari iz oblika *in vitro* nikako nije zamjena za studije bioraspoloživosti, ali može biti korisno za razvitak oblika, a nakon dobivanja usporedbe s pokusima *in vivo* i za nadzor proizvodnje. Za oslobođanje ljekovitih tvari iz oblika često se rabi i termin otapanje. Otapanje, kojim se označava pretvaranje čvrstih čestica u molekularno disperzno stanje, doduše je glavni proces oslobođanja ljekovite tvari, ali ne uključuje raspadanje ljekovitog oblika. Ipak se ta ispitivanja provode testovima otapanja pri čemu se nastoji postići sličnost s odnosima *in vivo*, što veća raznolikost primjene, dostatna razlikovnost za različite pripravke i dobra ponovljivost: mjera otapanja ima važnu ulogu u mehanizmu apsorpcije lijeka u organizmu, ali postoje i drugi biološki činitelji. Uvjeti ispitivanja oslobođanja ljekovite tvari uključuju prikladnost sastava, volumena i temperature otopine, način miješanja, vremenski interval uzimanja uzorka i metode određivanja sadržaja.³¹

In vitro određivanje oslobođanja 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* eksperimenta. Od parametra to su, s jedne strane, udjel oslobođenog lijeka nekom standardnom *in vitro* metodom nakon određenog vremena te, s druge strane, postignute koncentracije lijeka u plazmi, vrijeme potrebno da se postigne maksimum koncentracije, kumulativna frakcija 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. *In vitro* otapanje je prepoznat kao važan element u razvoju lijekova. Pod određenim uvjetima može se koristiti kao zamjena za procjenu bioekvivalentnosti. Nekoliko teorija/kinetičkih modela opisuju topivost iz neposrednih i modificiranih dozirnih oblika otpuštanja. Kvantitativno tumačenje vrijednosti dobivenih u testu za otapanje olakšano je korištenjem generičkih jednadžbi koje matematički prevode krivulju otapanja u funkciji nekih drugih parametara koje se odnose na farmaceutske

oblike doziranja. U nekim slučajevima, ta jednadžba se može utvrditi iz teorijskih analiza procesa, kao na primjer kod kinetike nultog reda. U većini slučajeva, za tablete, kapsule, obloženog oblika ili oblika s produženim otpuštanjem, teorijska osnova ne postoji i neki put se koristi primjenjenija empirijska jednadžba. Vrsta lijeka, polimorfni oblik, kristalizacija, veličina čestica, topljivost i količina u farmaceutskom obliku doziranja može utjecati na kinetiku otpuštanja.³²

In vitro – in vivo korelacija

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.³³ 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 dugo traju i time smanjiti vrijeme i troškove potrebni za razvoj formulacije, kao i njezinu registraciju i postregistracijske promjene.

Uspostavljanje IVIVK predstavlja vrlo značajan korak u razvoju formulacije. 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 zasniva ne na fizičko-kemijskoj topljivosti date tvari definirane kao maksimalna količina tvari koja se može osloboditi u određenom volumenu otapala, već na nazovimo je tako, farmakološkoj ili fiziološkoj ili gastrointestinalnoj topljivosti koja ovisi od terapijske doze primijenjenog lijeka. Podrazumijevajući da se topljivost, kao i propusnost

ljekovitim tvarima mogu kvalitativno opisati kao "visoka" ili "niska", formirane su u okviru predloženog sustava klasifikacije četiri skupine:

1. **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.
2. **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 ljekovitimih tvari. Kod ove grupe je 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.
3. **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.
4. **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.³⁴

2.5.3. 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 otpuštanjem 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 koje brzo osiguravaju početnu dozu, nakon čega slijedi, nultog ili prvog reda, sporo oslobađanje održive komponente.³⁵

Svrha sustava s kontroliranim otpuštanjem je održavati koncentraciju lijeka u krvi ili u ciljnim tkivima na željenoj vrijednosti što je duže moguće.³⁶ U tu svrhu, u pravilu, sustav

kontroliranog oslobađanja u početku otpusti dio doze kako bi se brzo postigla djelotvornost ljekovite koncentracije lijeka. Zatim, kinetika oslobađanja lijeka slijedi dobro definirano ponašanje u svrhu opskrbe održive doze omogućujući postizanje željene koncentracije lijeka. U vidu široke raznovrsnosti primjena formulacija s kontroliranim otpuštanjem, u području medicinskih znanosti, oni su neizbježan alat za eksploataciju modernog koncepta terapijskog tretmana čiji je cilj povećati učinkovitost lijeka i suradnju pacijenta, kako bi se smanjila učestalost administracije i nuspojave povezane s doziranjem. Zapravo, formulacije s kontroliranim otpuštanjem pridonose da inženjeri i farmaceuti rade zajedno sa zajedničkim ciljem ostvarivanja sve više i više učinkovitijih proizvoda. U tu svrhu, korištenje matematičkog modeliranja je vrlo korisno, jer ovaj pristup omogućuje predviđanje kinetike oslobađanja prije ostvarenja sistema otpuštanja. To omogućuje mjerenje nekih važnih fizičkih parametara, kao što je koeficijent difuzije lijeka te korištenje podesivih modela na eksperimentalnim podacima otpuštanja. Matematičko modeliranje, čiji razvoj zahtjeva razumijevanje svih pojava koje utječu na kinetiku otpuštanja lijeka³⁷ ima vrlo važnu vrijednost u procesu optimiranja takvog pripravka. Matematičko modeliranje se široko primjenjuje u različitim disciplinama kao što su genetika, medicina, psihologija, biologija, ekonomija i inženjerstvo i tehnologija.

Temeljni princip za procjenu kinetike otpuštanja lijeka pružili su Noyes i Whitney, 1897. godine kao jednadžbu:

$$\frac{dM}{dt} = KS(c_s - c_t) \quad (1)$$

gdje M predstavlja masu prenesenu s obzirom na vrijeme, t , otapanjem iz krute čestice iz površine, S , pod utjecajem prevladavajućih koncentracija pokretačke sile ($c_s - c_t$), pri čemu je c_t koncentracija u vremenu t , a c_s ravnotežna koncentracija otopljene tvari pri određenoj temperaturi. Brzina otapanja dM/dt predstavlja količinu otopljenog po jedinici površine u jedinici vremena, a za većinu materijala se može izraziti u jedinicama $\text{g cm}^{-2} \text{s}^{-1}$. Kada je c_t manja za 15% od ravnotežne, ima zanemariv utjecaj na brzinu otapanja krutine. Površina S nije konstantna, osim kada količina materijala premašuje topljivost zasićenja, ili u početku, kada su samo male količine lijeka otopljene.

Brunner i Nernst^{38,39} koristeći Fickov zakon difuzije uspostavili su odnos između konstanti jednadžbe i koeficijenta difuzije:

$$K = \frac{DS}{h\gamma} \quad (2)$$

gdje D predstavlja koeficijent difuzije, S područje otapanja površine ili površinu difuzijskog sloja, γ volumen otopine te h debljinu difuzijskog sloja. U formuliranju svoje teorije, Nernst i Brunner su pretpostavili da se proces na površini odvija mnogo brže nego transportni proces te da je linearni koncentracijski gradijent ograničen na sloj otopine vezane za čvrstu površinu. Idealno stanje se nikad ne može postići jer se površina stalno mijenja s napretkom procesa otapanja tijekom uobičajenog određivanja otpuštanja lijeka. U Noyes-Whitneyjevoj jednadžbi proces otapanja odgovara reakciji 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.⁴⁰⁻⁴²

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

1. Statističke metode

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

2. **Metode ovisne o modelima** – temelji se na različitim matematičkim funkcijama koje opisuju profil otapanja. Jednom kada je odabrana prikladna funkcija, profil otapanja se ocjenjuje ovisno o izvedenim parametrima modela.

Dijele se na:

- i) **Model nultog reda** – oslobađanje lijeka iz dozirnog oblika koji se ne razdvaja i sporo otpušta lijek, može se prikazati jednadžbom:

$$Q_0 - Q_t = K_0 t \quad (3)$$

Sređivanjem slijedi jednačba:

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

gdje Q_t predstavlja količinu lijeka otopljenog u vremenu t , Q_0 početnu količinu lijeka u otopini, a K_0 konstantu otpuštanja nultog reda izraženu u jedinicama koncentracija/vrijeme. Dobiveni podaci iz *in vitro* studije oslobađanja lijeka prikazuju se 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.

- ii) **Model prvog reda** – koristi se za opisivanje apsorpcije i/ili eliminacije nekih lijekova. Oslobađanje lijeka, koji slijedi kinetiku prvog reda može se izraziti jednačbom:

$$\frac{dc}{dt} = -Kc \quad (5)$$

gdje K predstavlja konstantu otpuštanja prvog reda izraženu u jedinici vremena. Gornja jednačba može se izraziti kao:

$$\log c = \log c_0 - \frac{Kt}{2,303} \quad (6)$$

gdje je c_0 početna koncentracija lijeka, K je konstanta brzine otpuštanja prvog reda, a t vrijeme. Dobiveni podaci prikazani su kao logaritam ukupnog postotka preostalog lijeka u odnosu na vrijeme. Ovaj odnos se može koristiti za opisivanje topljivosti lijeka u farmaceutskim oblicima doziranja kao što su oni koji sadrže vodotopljive lijekove u poroznim matricama.

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

- (1) početna koncentracija lijeka u matrici mnogo veća od topljivosti lijeka,
- (2) difuzija lijeka odvija se samo u jednoj dimenziji,
- (3) čestice lijeka su puno manje od debljine dozirnog oblika,

(4) oticanje i topljenje matrice je zanemarivo,

(5) difuzivnost lijeka je konstantna,

prema tome, izraz modela dan je jednažbom:

$$f_t = Q = A\sqrt{D(2c - c_s)c_s t} \quad (7)$$

gdje Q predstavlja količinu lijeka koja je oslobođena u vremenu t po jedinici površine A , c je početna koncentracija lijeka, c_s je topljivost lijeka u matičnom mediju, a D je difuzivnost molekule lijeka (koeficijent difuzije) u matičnom sadržaju. Ovaj odnos vrijedi cijelo vrijeme, osim kada je postignuto ukupno iscrpljivanje lijeka u terapijskom sustavu. Proučavanje otapanja od planarnog heterogenog sistema matrice, pri čemu je koncentracije lijeka u matrici niža od topljivosti i oslobađanje se događa kroz pore u matrici, daje jednažbu:

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

gdje je D difuzijski koeficijent molekule lijeka u otapalu, δ poroznost matrice, τ zakrivljenost matrice, a Q , A , c_s i t imaju gornje značenje. Općenito, moguće je pojednostaviti Higuchijev model kao:

$$f_t = Q = K_H \cdot t^{1/2} \quad (9)$$

gdje K_H predstavlja Higuchijevu konstantu otapanja. Ovaj odnos može se koristiti za opisivanje topljivosti nekoliko vrsta modificiranih farmaceutskih oblika otpuštanja, kao što su tablete s vodotopljivim lijekovima i neki transdermalni sustavi.

iv) **Hixson-Crowellov model** – Hixson i Crowell su uočili da je redovno područje čestica poporcionalno korijenu volumena kocke. Izveli su jednažbu:

$$W_0^{1/3} - W_t^{1/3} = \kappa \cdot t \quad (10)$$

gdje W_0 predstavlja početnu količinu lijeka u farmaceutskom obliku doziranja, W_t preostalu količinu djelatne tvari u farmaceutskom obliku doziranja u vremenu t i κ

konstantu ugradnje površno-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.

- v) **Korsmeyer-Peppasov model** – Korsmeyer i suradnici izveli su jednostavnu jednadžbu koja opisuje otpuštanje lijeka iz polimernog sustava:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = Kt^n \quad (11)$$

gdje je M_t/M_∞ dio otpuštenog lijeka u vremenu t , K konstanta brzine otpuštanja, a n eksponent otpuštanja. Vrijednost n se koristi za karakterizaciju različitih otpuštanja za cilindrične oblike matrica.

- vi) **Baker-Lonsdaleov model** – ovaj model razvijen je od strane Bakera i Lonsdalea iz Higuchijevog modela i opisuje oslobađanje lijeka iz sferne matrice prema jednadžbi:

$$f_1 = \frac{3}{2} \left[1 - \left(1 - \frac{M_t}{M_\infty} \right)^{2/3} \right] \frac{M_t}{M_\infty} = k_t \quad (12)$$

gdje konstanta brzine oslobađanja k , odgovara nagibu. Ova jednadžba se koristi za linearizaciju podataka otpuštanja iz nekoliko formulacija mikrokapsula ili mikrosfera.

- vii) **Weibullov model**^{43,44} – ovaj model vrijedi za različite procese otapanja, a izražen je jednadžbom:

$$M = M_0 \left[1 - e^{-\frac{(t-T)^b}{a}} \right] \quad (13)$$

U ovoj jednadžbi, M je količina lijeka otpuštenog u vremenu t , a M_0 je ukupna količina otpuštenog lijeka. T je zaostalo vrijeme mjereno kao rezultat procesa otapanja.

Parametar a označava parametar skale koji opisuje vremensku ovisnost, a b opisuje oblik krivulje pomaka topljivosti. Za $b=1$, oblik krivulje odgovara eksponencijalnom obliku s konstantom $k=1/a$.

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

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

3. **Metode neovisne o modelima** – ove metode koriste se za usporedbu profila otapanja 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 otapanja. Faktor razlike izračunava razliku u postotku između dviju krivulja u svakoj vremenskoj točki i mjera je relativne greške između dviju krivulja. Izražava se kao:

$$f_1 = \left\{ \frac{\left[\sum_{t=1}^n (R_t - T_t) \right]}{\sum_{t=1}^n R_t} \right\} \cdot 100 \quad (15)$$

gdje je n broj vremenskih točaka, R je vrijednost otapanja referentne serije u vremenu t , a T_t je vrijednost otapanje ispitivane serije T u vremenu t . Faktor sličnost 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 otapanja kada su na raspolaganju tri do četiri ili više točaka vremena otapanja.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

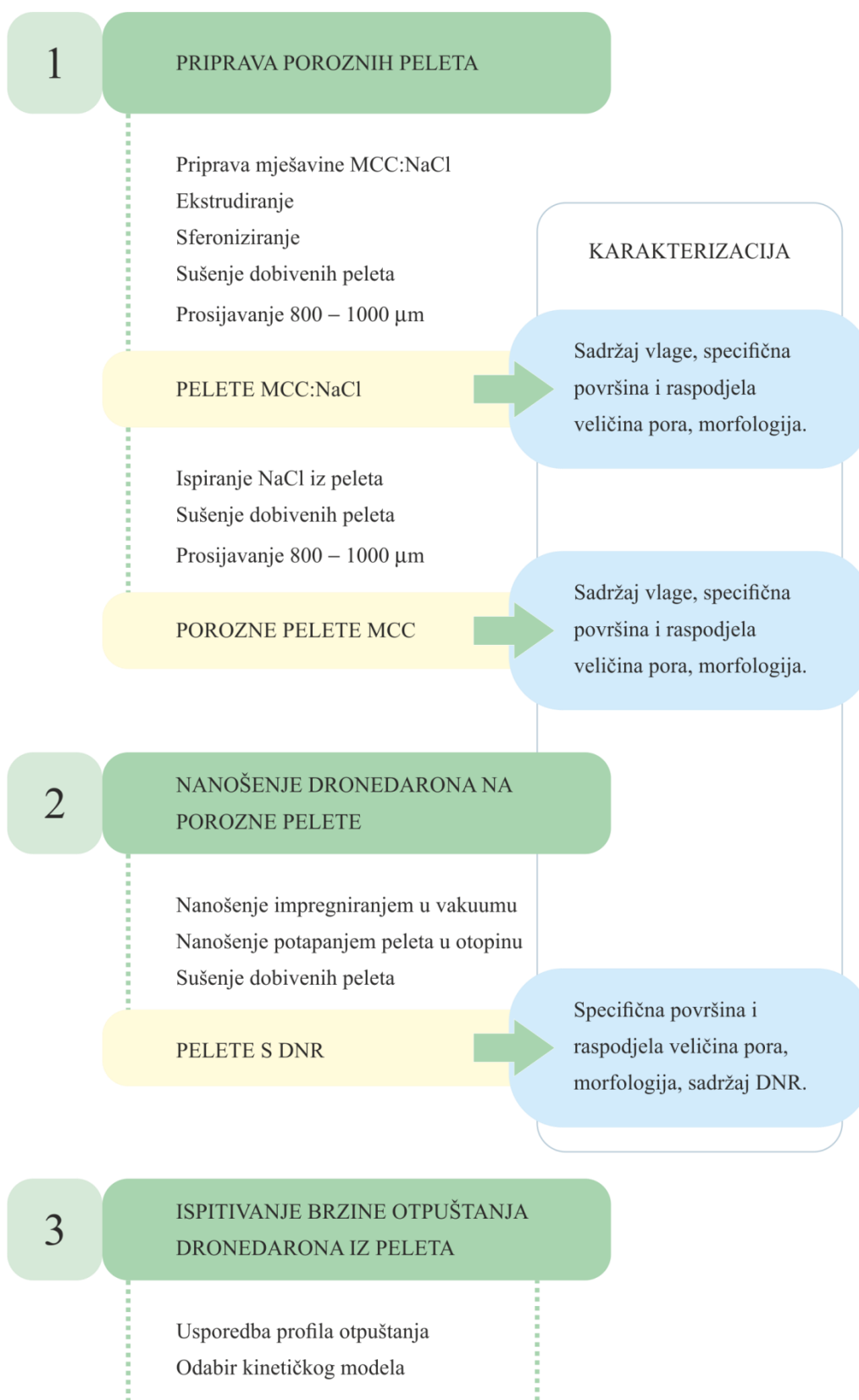
3.1. Materijali

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 modelni lijek koji je nanošen na pelete impregnacijom u vakuumu i običnim uranjanjem peleta. 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 djelatne tvari, određivanja udjela nanese djelatne tvari. Slika 4. prikazuje tijek eksperimentalnog dijela ovog rada.



Slika 4. Shematski prikaz tijeka provedbe eksperimenata

3.3. Priprava peleta

Masa za ekstrudiranje pripravljena je od Avicela PH 101 i NaCl u masenim omjerima 70:30 i 30:70. Mješavini je dodano 62 mL deionizirane vode kako bi se dobila masa pogodna za ekstrudiranje. 150 grama mase ekstrudirano je u aksijalnom ekstruderu MG-55 (Fuji Paundal, Japan) (Slika 5) pri brzini od 50 o/min te protisnuto kroz otvor 1mm. Dobiven ekstrudat sferoniziran je 5 minuta u sferonizatoru QJ-230T-1 (Fuji Paundal, Japan) (Slika 6) pri 1000 o/min kako bi se dobile sferične pelete. Vlažne pelete su nakon sferonizacije sušene 24 sata pri temperaturi od 40°C, a potom odvojene sitima na veličinu 800 – 1000 µm.



Slika 5. Ekstruder



Slika 6. Sferonizator

3.4. Ispiranje poroznih peleta

Pelete su ispirane kako bi se uklonio NaCl koji služi samo za formiranje pora u peleti. 30 grama peleta postavljeno je na sinterirani lijevak iznad vakuum boce volumena jedne litre. Pelete su ispirane s 2 litre destilirane vode, po osam puta u obrocima od 250 mL da bi se što bolje uklonio NaCl. Tako ispirane pelete stavljene se na sušenje, 24 sata pri temperaturi 40°C.

3.5. Određivanje specifične površine peleta

Specifična površina peleta određena je snimanjem adsorpcijsko-desorpcijskih izoterma dušika pomoću uređaja ASAP 2000 (*Micromeritics, SAD*) prikazanog na slici 7. 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:

$$\frac{P}{n(P_0 - P)} = \frac{1}{cn_m} + \frac{c-1}{cn_m} \cdot \frac{P}{P_0} \quad (16)$$

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:

$$S = N_A \cdot n_m \cdot \sigma \quad (17)$$

gdje je N_A Avogadrova konstanta.



Slika 7. Uređaj za određivanje veličina pora, ASAP 2000 (Micromeritics, SAD)

3.6. Ravnotežni sadržaj vlage materijala

Ravnotežni sadržaj vlage peleta određen je pomoću sušionika MLS 50-3C u kojem se toplina uzorku dovodi infracrvenim zračenjem, slika 8. Uzorak je sušen pri 50 °C dok nije uklonjena sva nevezana vlaga (potpuno suh materijal). Iz razlika masa peleta prije sušenja i po završetku sušenja izračunat je ravnotežni sadržaj vlage materijala u danim uvjetima sušenja.

$$X_{\text{eq}} = \frac{\Delta m}{m_{\text{sm}}} \quad (18)$$



Slika 8. Uređaj za mjerenje vlage MLS 50-3C (<http://www.kern-sohn.com>)

3.7. Morfologija peleta

Morfologija peleta istražena je pretražnom elektronskom mikroskopijom (SEM) pomoću uređaja Tescan Vega 3 SEM (Slika 9.). Prije analize morfologije uzorka, potrebno je izvršiti njegovu pripremu. Uzorak se nanosi na vodljivu vrpču 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.



Slika 9. Pretražni elektronski mikroskop

3.8. Nanošenje dronedaron hidroklorida na pelete

Dronedaron hidroklorid nanesen je na dva način porozne pelete:

1. Vakuuskom impregnacijom
2. Potapanjem peleta u otopinu DNR

Vakuumska impregnacija. Porozne pelete impregnirane su u uređaju za vakuusku impregnaciju (CitovacStruers). Priređene su otopine dronedaron hidroklorida i etanola koncentracije 40 kg m^{-3} . Eksperiment je proveden tri puta za svaku vrstu peleta (P30:70 i P70:30) kako bi se eliminirao utjecaj mogućih razlika poroznosti peleta u odvagama.

Svrha impregnacije pod vakuumom je uklanjanje zraka iz uzorka kako bi se omogućilo potpuno prodiranje otopine dronedarona u pore peleta. Uzorci peleta stavljeni su u staklenu posudu, postavljeni u uređaj (Slika 9) 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. Pelete su tako ostavljene 20 minuta u otopini. Višak otopine iznad peleta je dekantiran, a same pelete stavljene su u staklene posude te sušene 24 sata pri 40 °C nakon čega su karakterizirane.



Slika 9. Uređaj za vakuusku impregnaciju (CitovacStruers)

Potapanje u otopini. Dronedaron hidroklorid nanesen je na pelete jednostavnim potapanjem peleta u otopinama DNR i etanola koncentracije 40 kg m^{-3} . Pelete su ostavljene u otopinama 20 minuta kao i kod vakuumske impregnacije.

3.9. Određivanje sadržaja dronedarona u peletama

Određivanje sadržaja dronedarona provedeno je pomoću UV/VIS spektrofotometra Perkin Elmer, Lambda 35 koji je prikazan na slici 10. Spektrofotometar je dvoznačni s kvarcnim zrcalima i holografskom mrežicom. Može se koristiti za mjerenja tekućih, čvrstih i praškastih uzoraka, kao i različitih pasti. Radno područje spektrofotometra je od 190 do 1100 nm, a širina vrpce se kreće od 0,5 do 4 nm. Ima dva izvora zračenja: deuterijevu i volframovu lampu. Karakterizira ga velika brzina snimanja spektara, visoka točnost i rezolucija.

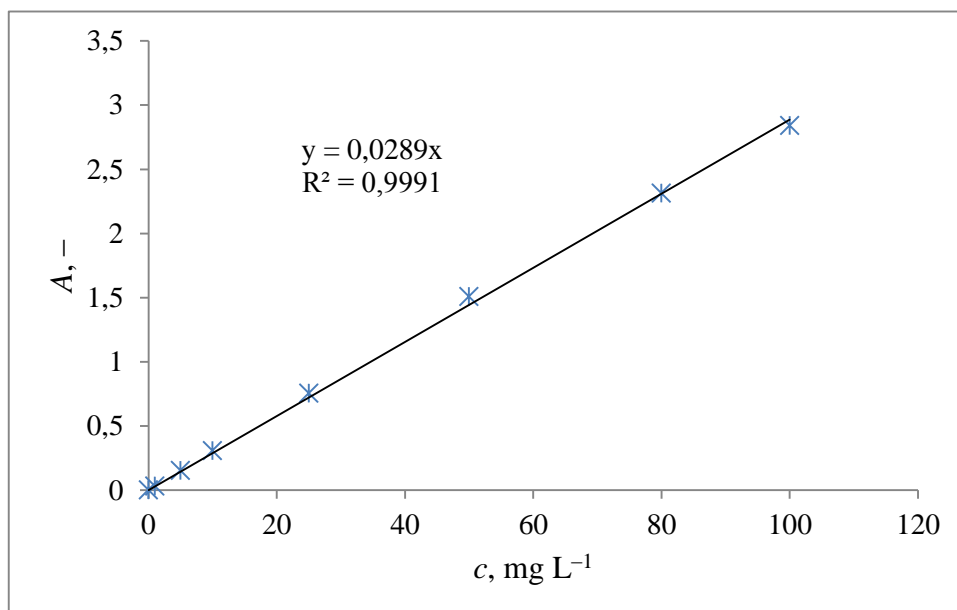


Slika 10. UV/VIS spektrofotometar Lambda 35 (PerkinElmer, Waltham, SAD)

3.9.1. Priprema standardnih otopina dronedarona

Temeljna standardna otopina dronedarona priprema se točnim vaganjem određene mase na analitičkoj vagi te otapanjem odvaga u određenom volumenu etanola. Daljnjim razrjeđivanjem pripremaju se ostale radne standardne otopine koncentracija 1, 5, 10, 25, 50, 80 i 100 mg/L. Spomenute standardne otopine su se koristile radi određivanja umjernog

pravca (Slika 11) na osnovu kojeg je u uzorcima peleta određena masa deponiranog dronedarona.



Slika 11. Umjerni pravac (dronedarona u etanolu)

3.9.2. Određivanje sadržaja dronedarona u peletama

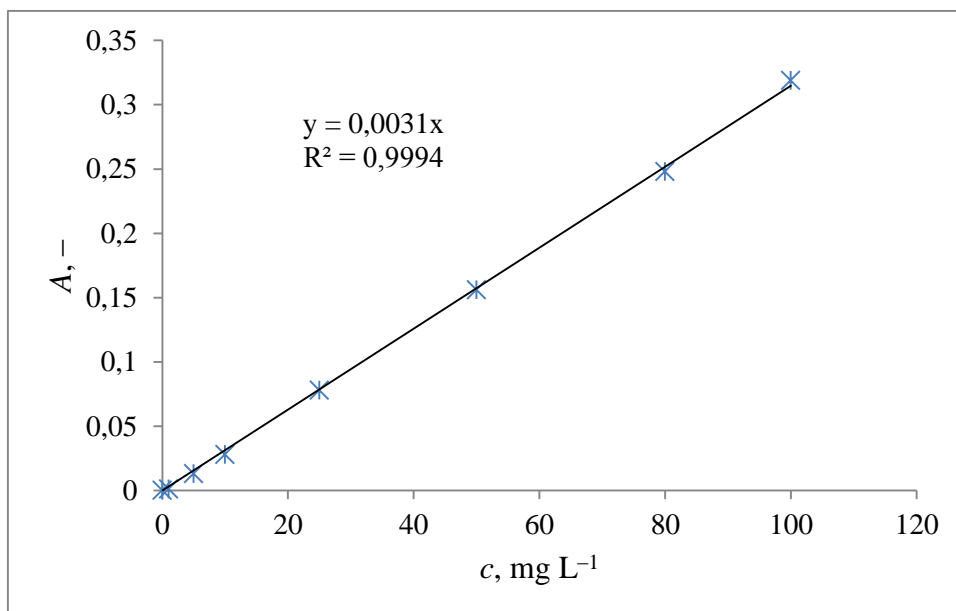
Prije početka mjerenja potrebno je podesiti valnu duljinu uređaja na 284,7 nm što odgovara maksimumu apsorpcije dronedarona. Zatim se u obje kivete ulije deionizirana voda i u programu se pokrene automatsko podešavanje nule. Kada je uređaj podešen u jednoj kiveti ostaje deionizirana voda, a u drugu se ulije uzorak. Mjerenje se započinje sa standardnim otopinama dronedarona koje se izmjenjuju redom od najmanje prema najvećoj nakon čega se u kivetu stavljaju redom uzorci dobiveni ispiranjem peleta. Kako bi se odredila masa deponiranog dronedarona, odvagan je 0,1 g peleta te su one ostavljene 24 h u etanolu kako bi se dronedaron ponovo otopio. Prije ispitivanja, otopine su filtrirane pomoću filtra Chromafil Xtra PET-120/25 1,2 μm . Količina dronedarona u svakom pojedinom uzorku peleta određena je iz prethodno konstruiranog umjernog pravca.

3.9.3. Ispitivanje brzine otpuštanja dronedarona iz peleta

Ispitivanje je provedeno na uređaju za ispitivanje otpuštanja djelatnih tvari (Dissolution tester RC-6D, Zhengzhou Nanbei Instrument) (Slika 12). Kao medij je korišten fosfatni pufer volumena 1000 ml, pH 4,5, a za miješanje su korištene lopatice. Temperatura pufera podešena je na $37,5 \pm 0,5$ °C, a broj okretaja lopatica na 75 o/min. Uzorkovanje je provedeno u vremenima 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90 i 120 minuta u skladu sa FDA metodom za ispitivanje otpuštanja dronedarona iz tableta.⁴⁵ Prilikom uzorkovanja uzorci su filtrirani filtra Chromafil Xtra Pet-120/25 veličine pora od 1,20 μm nakon čega su analizirani na UV/Vis spektrofotometru Perkin Elmer, Lambda 35 pri valnoj duljini 288,65 nm što odgovara maksimumu apsorbcije dronedarona u fosfatnom puferu. Na temelju dobivenih vrijednosti apsorbcija i umjernog pravca (Slika 13) izračunate su vrijednosti koncentracija dronedarona u navedenim vremenima te je prikazan njegov profil otpuštanja.



Slika 12. Uređaj za ispitivanje otpuštanja djelatnih tvari



Slika 13.Umjerni pravac (dronedaron u fosfatnom puferu)

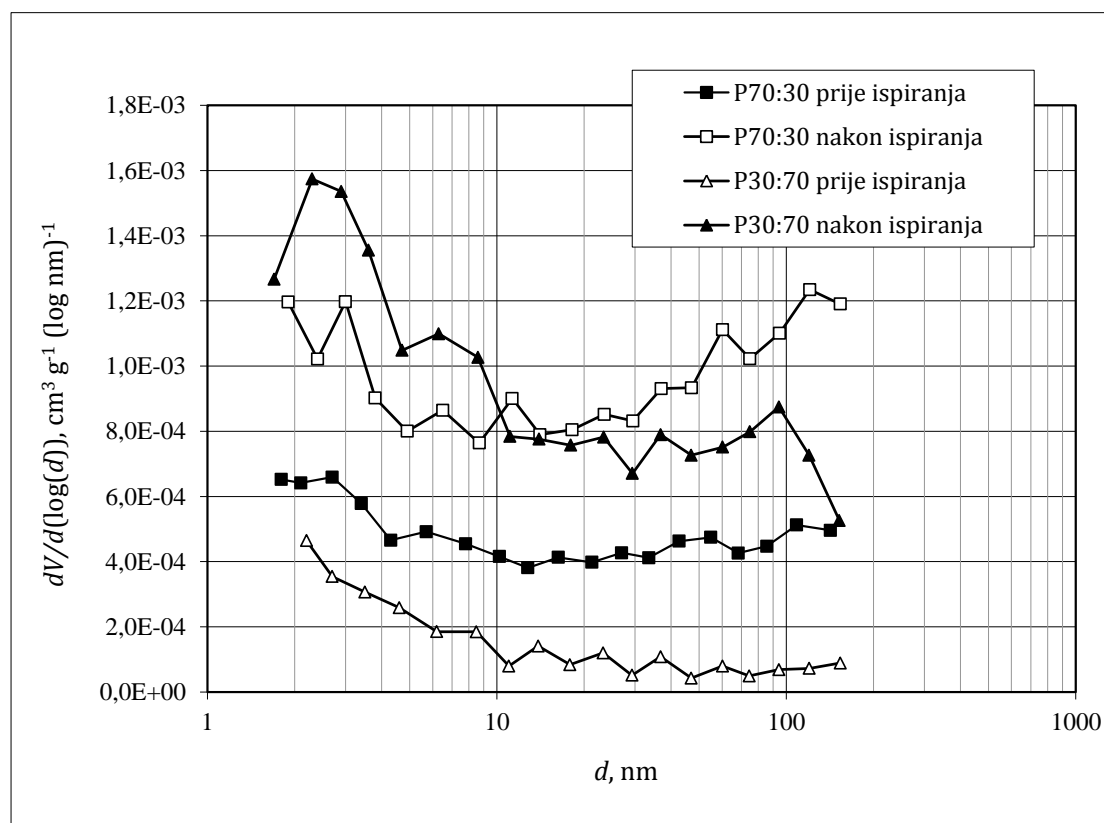
4. REZULTATI

U ovom poglavlju dan je pregled dobivenih rezultata.

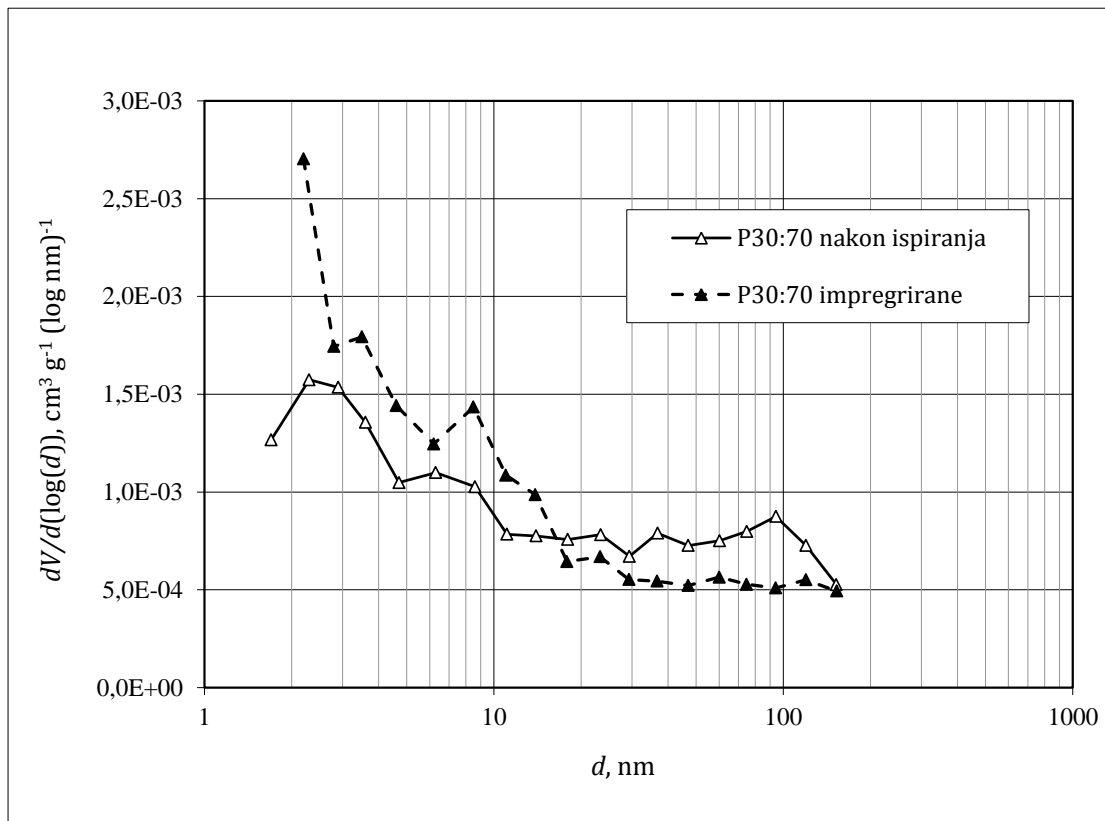
4.1. Raspodjela veličina pora i specifična površina

Tablica 1. Vrijednosti specifične površine, volumena pora i srednjeg promjera pora peleta

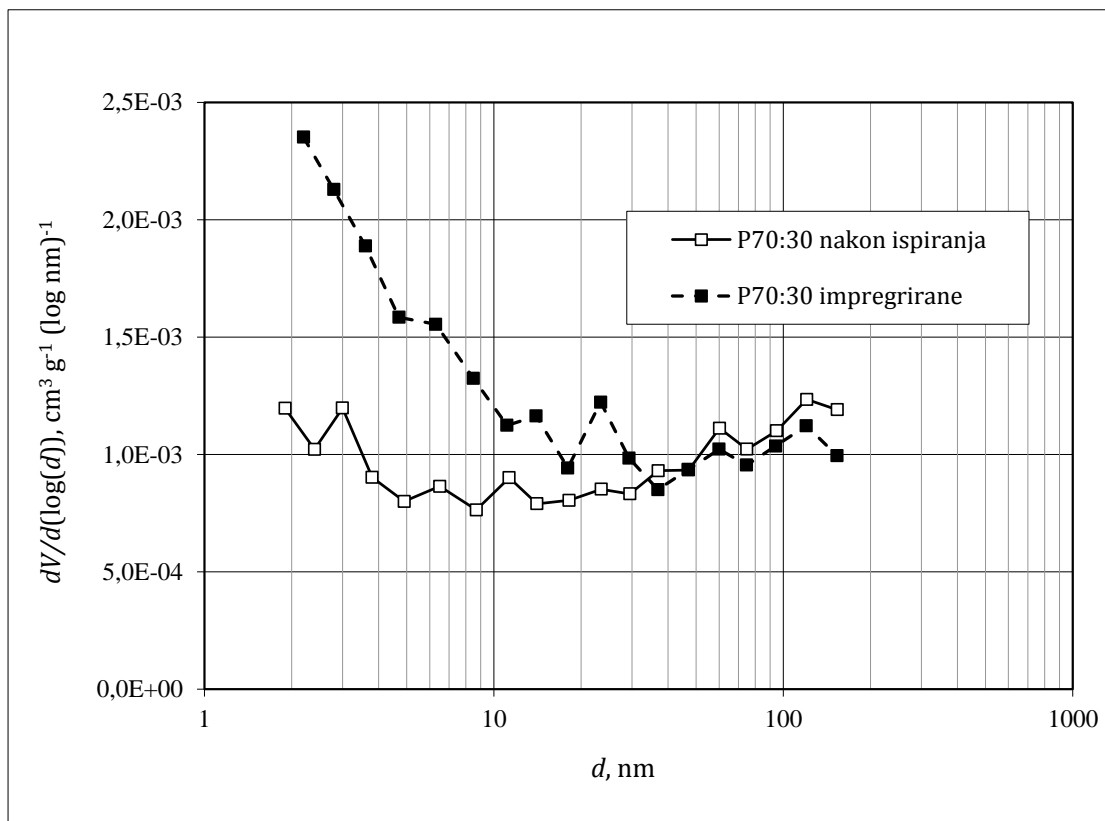
<i>uzorak</i>	$S_{\text{BET}}, \text{m}^2 \text{g}^{-1}$	$V_{\text{pora}}, \text{cm}^3 \text{g}^{-1}$	$d_{\text{srednji}}, \text{nm}$
P30:70 prije ispiranja	0,446	0,00030	3,26
P30:70 nakon ispiranja	1,180	0,00154	6,17
P30:70 impregnirane	1,994	0,00175	4,18
P30:70 potapane	4,105	0,00323	3,60
P70:30 prije ispiranja	0,512	0,00088	7,05
P70:30 nakon ispiranja	0,879	0,00193	7,85
P70:30 impregnirane	3,393	0,00305	4,31
P70:30 potapane	3,649	0,00634	4,34



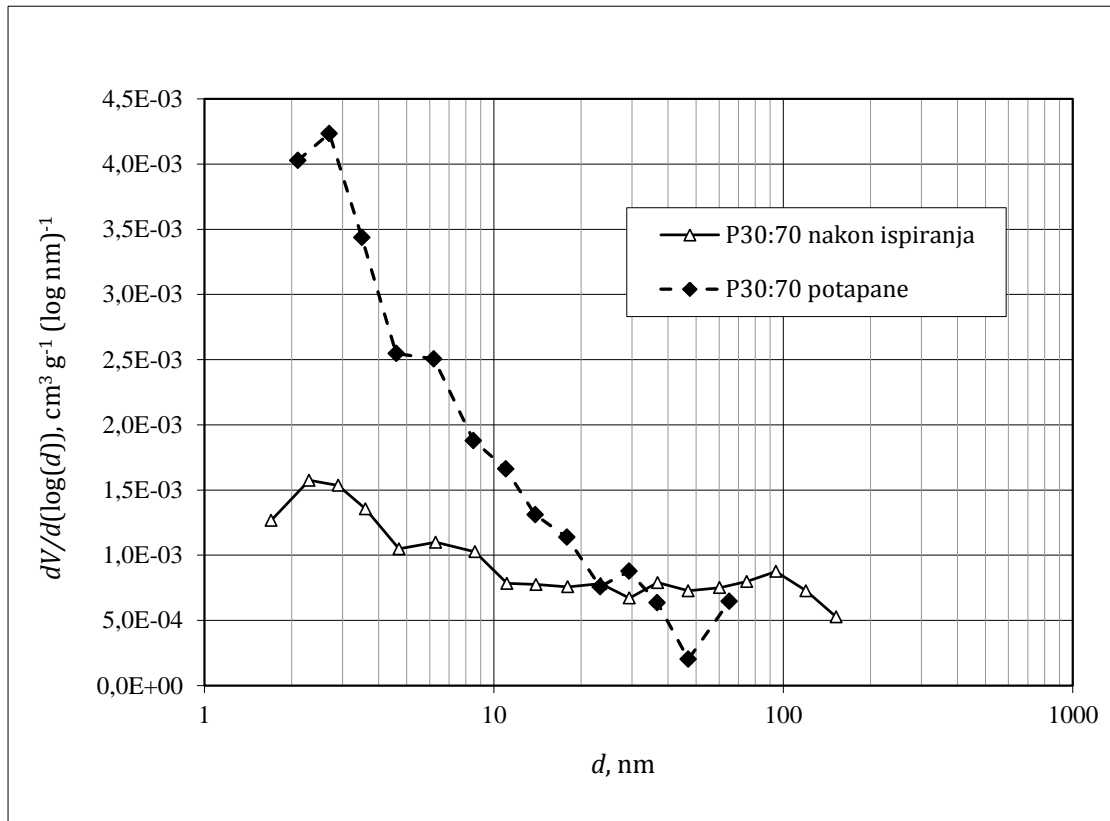
Slika 14. Usporedba raspodjele veličine pora peleta prije i nakon ispiranja



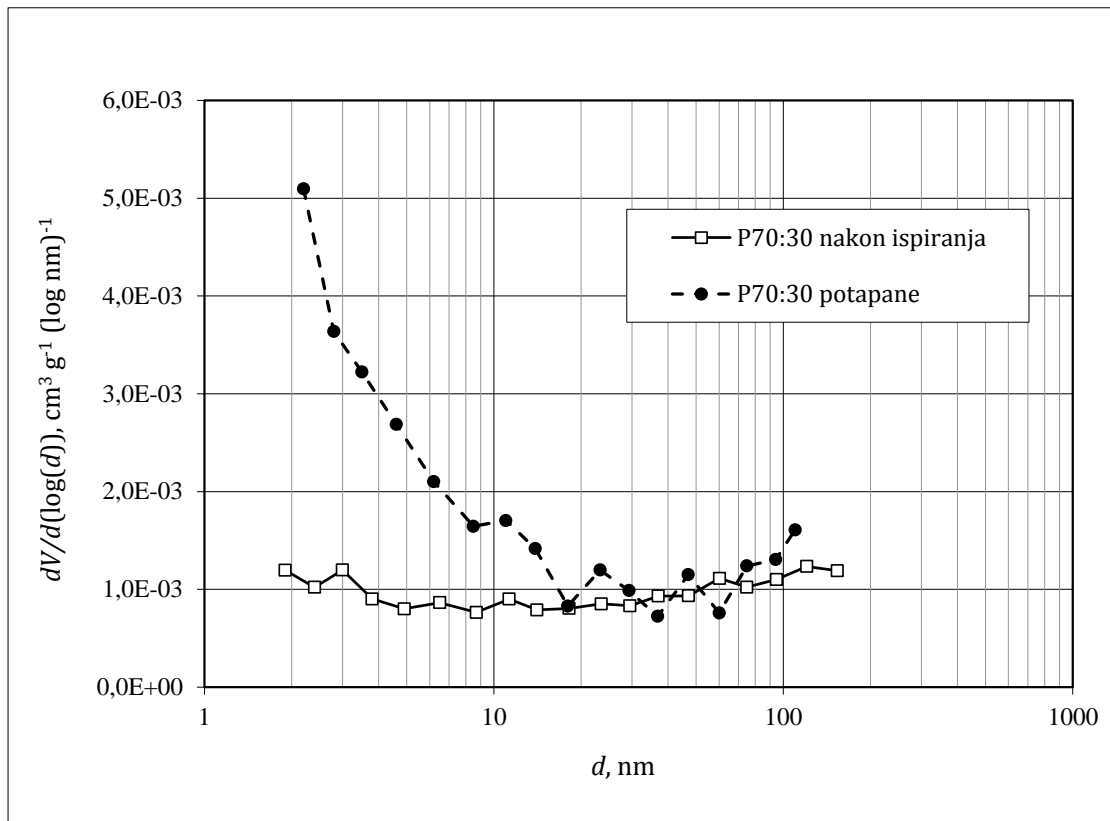
Slika 15. Usporedba raspodjele veličine pora peleta P30:70 prije i nakon impregnacije



Slika 16. Usporedba raspodjele veličine pora peleta P70:30 prije i nakon impregnacije

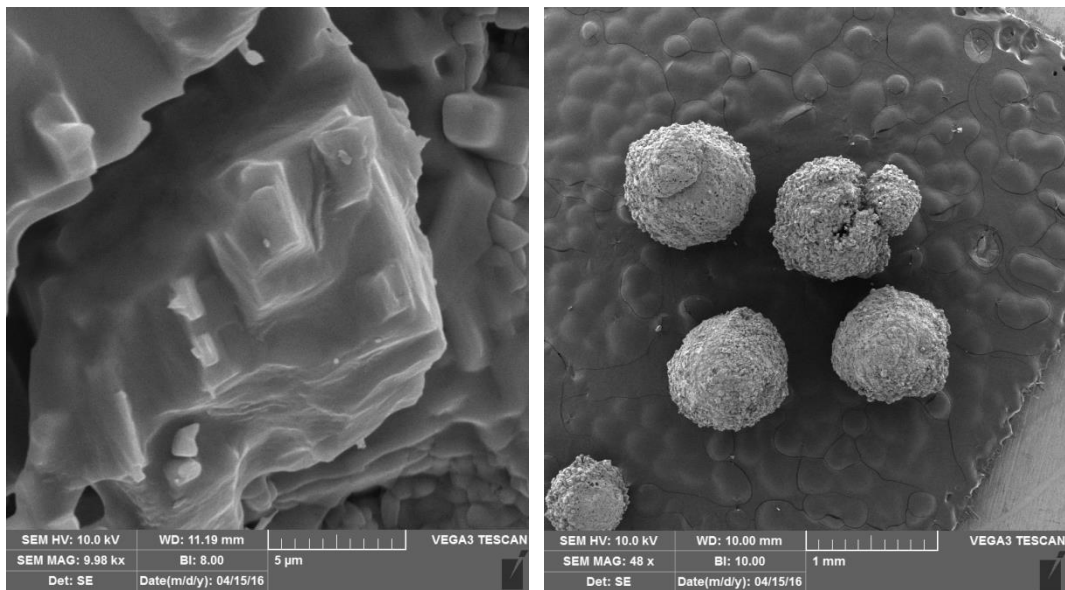


Slika 17. Usporedba raspodjele veličine pora peleta P30:70 prije i nakon potapanja

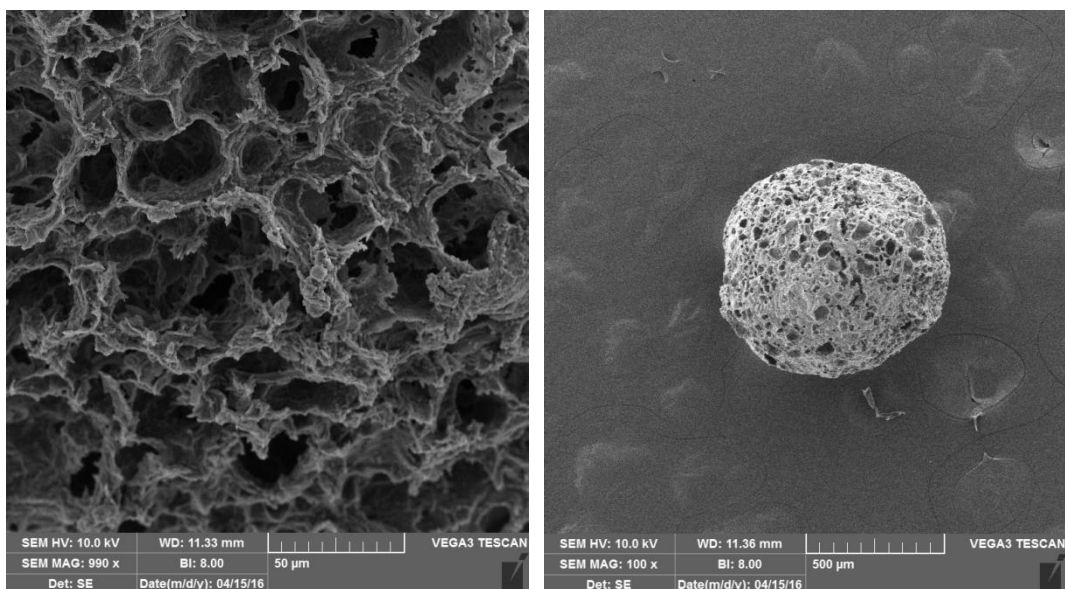


Slika 18. Usporedba raspodjele veličine pora peleta P70:30 prije i nakon potapanja

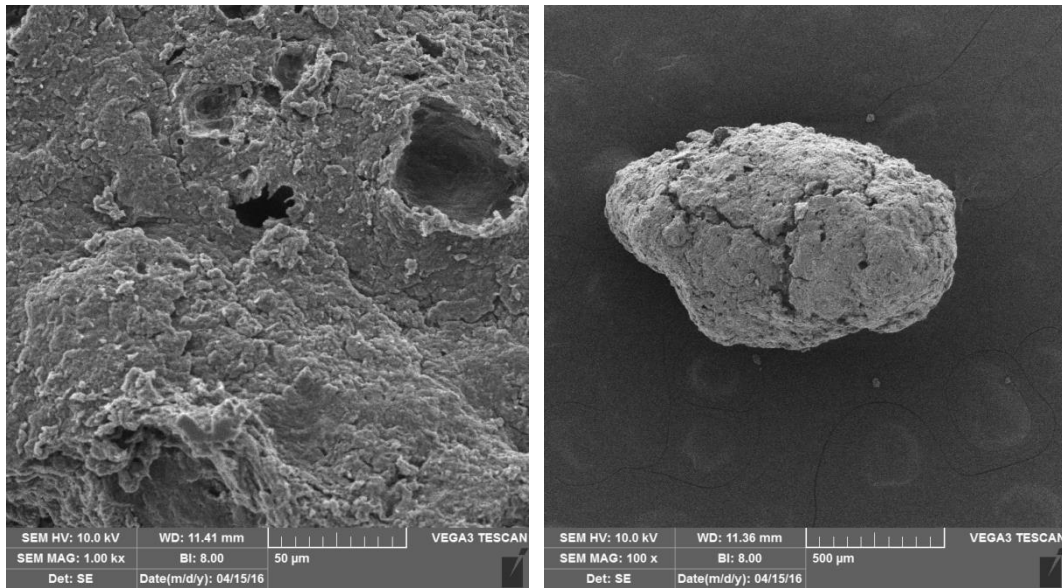
4.2. Morfologija peleta



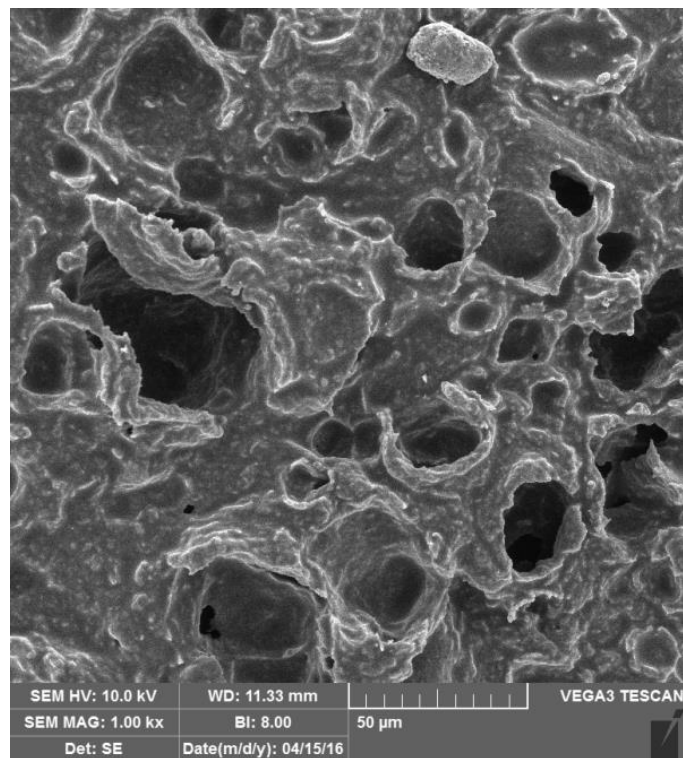
Slika 19. Mikrografije peleta P30:70 prije ispiranja; uvećanje a) 10000X i b) 48X



Slika 20. Mikrografije peleta P30:70 nakon ispiranja; uvećanje a) 1000X i b) 100X



Slika 21. Mikrografije peleta P70:30 nakon ispiranja; uvećanje a) 1000X i b) 100X



Slika 22. Mikrografija peleta P30:70 nakon impregniranja u vakuumu; uvećanje 1000X

4.3. Djelotvornost nanošenja dronedaron hidroklorida

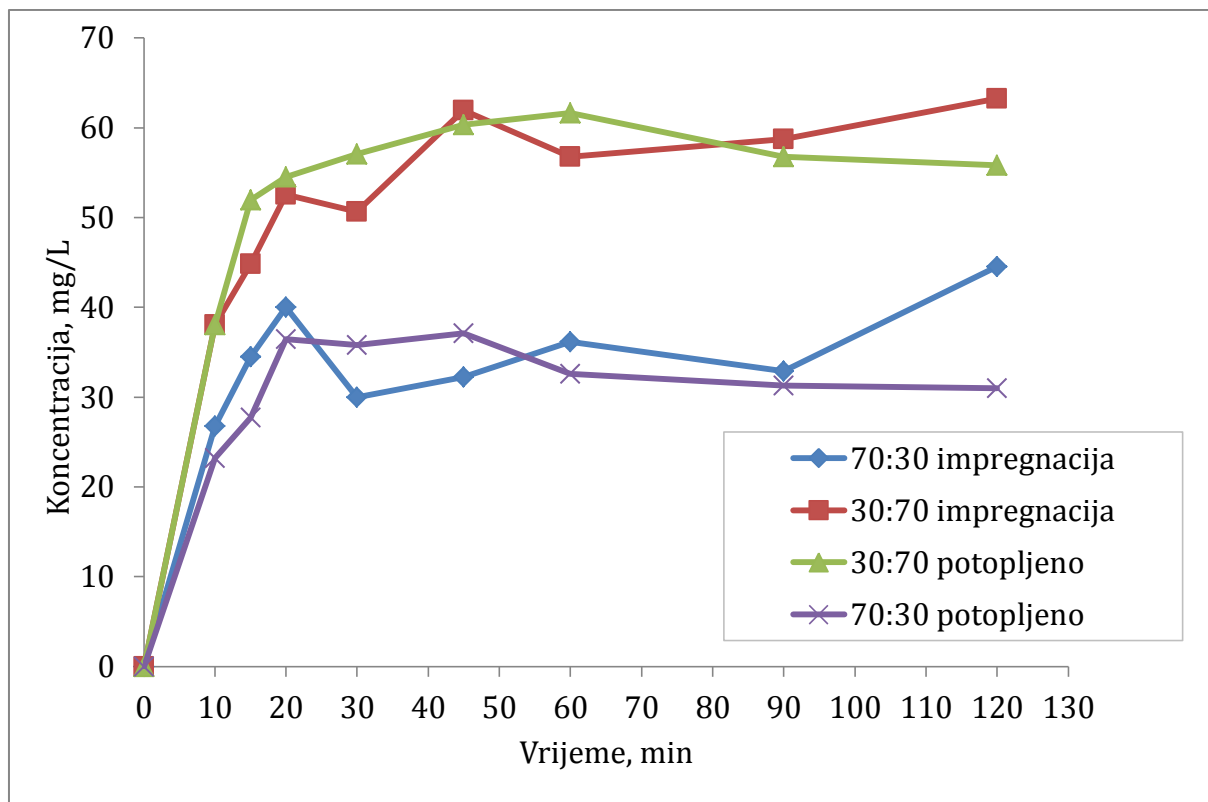
Tablica 2. Količina dronedarona nanosena na pelete različitim metodama

<i>uzorak</i>	mg DNR / g peleta
P30:70 impregnirane	12,90
P30:70 potapane	10,12
P70:30 impregnirane	13,29
P70:30 potapane	7,27

4.4. Kinetika otpuštanja dronedaron hidroklorida iz poroznih peleta

Tablica 3. Količina dronedarona otpuštena u vremenu

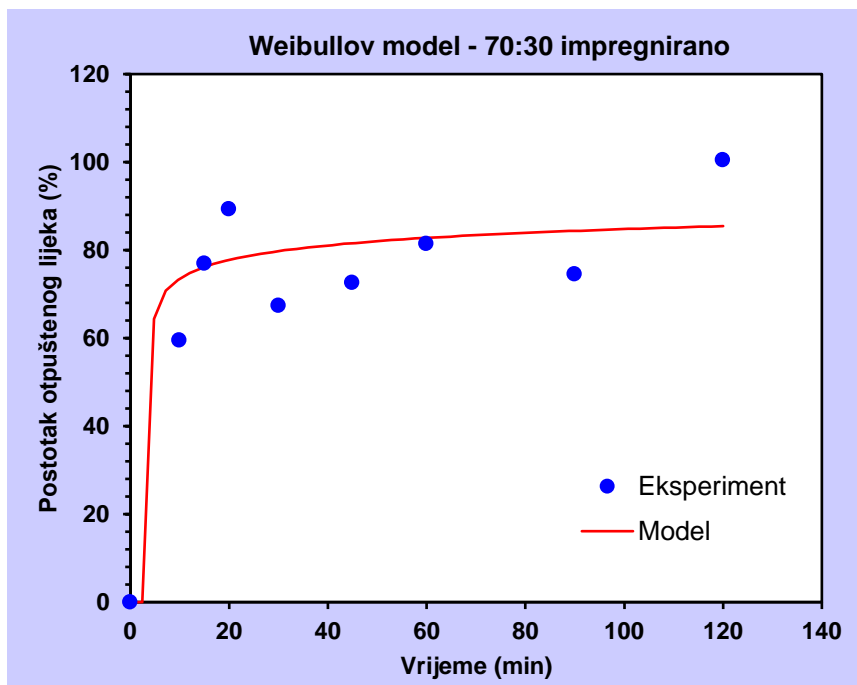
Vrijeme, t	Koncentracija, mg/L			
	P70:30 impregnirane	P30:70 impregnirane	P30:70 potopljene	P70:30 potopljene
0	0	0	0	0
10	26,77	38,07	38,07	23,23
15	34,52	44,84	51,94	27,74
20	40,00	52,58	54,52	36,45
30	30,00	50,65	57,10	35,81
45	32,26	61,94	60,32	37,10
60	36,13	56,77	61,61	32,58
90	32,90	58,71	56,77	31,29
120	44,52	63,23	55,81	30,97



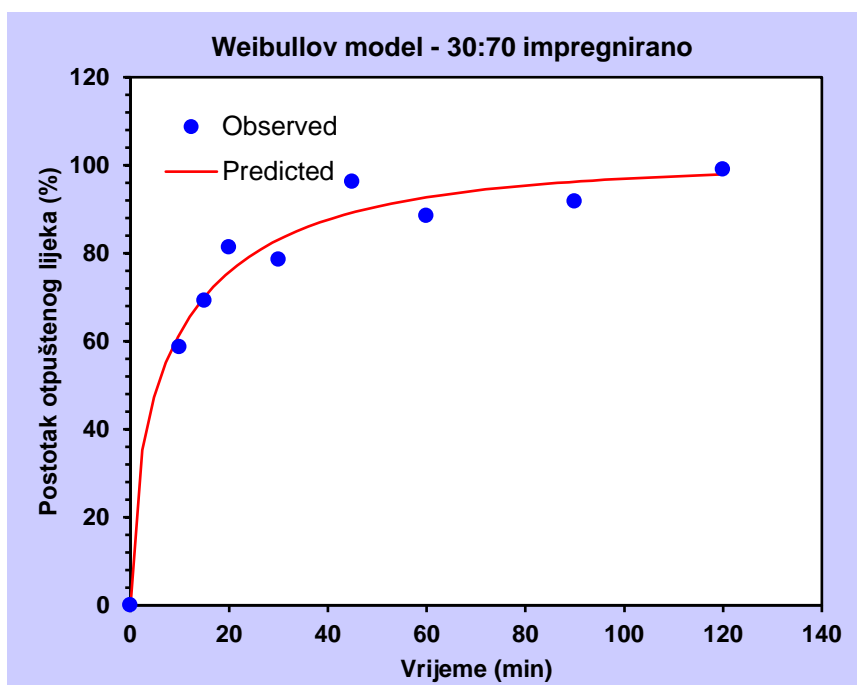
Slika 23. Ovisnost koncentracije dronedarona u vremenu

Tablica 4. Suma kvadratnih odstupanja pojedinih modela

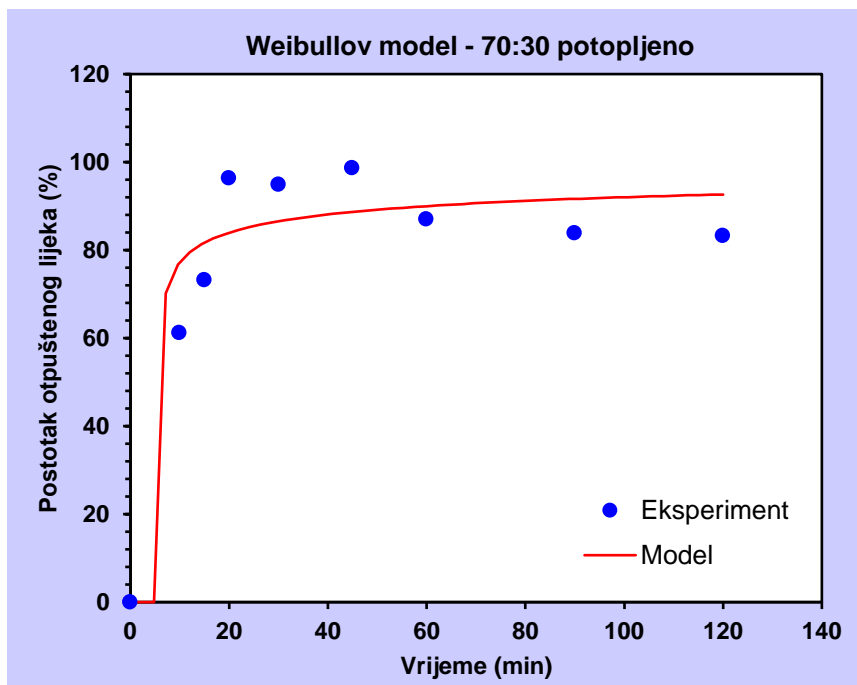
	Suma kvadratnih odstupanja			
	Model prvog reda	Hixson-Crowellov model	Korsmeyer-Peppasov model	Weibullov model
P70:30 impregnirane	3,826	5,057	0,943	0,891
P30:70 impregnirane	2,433	4,922	0,552	0,135
P70:30 potopljene	3,777	6,278	0,960	0,811
P30:70 potopljene	2,433	0,943	6,278	0,283



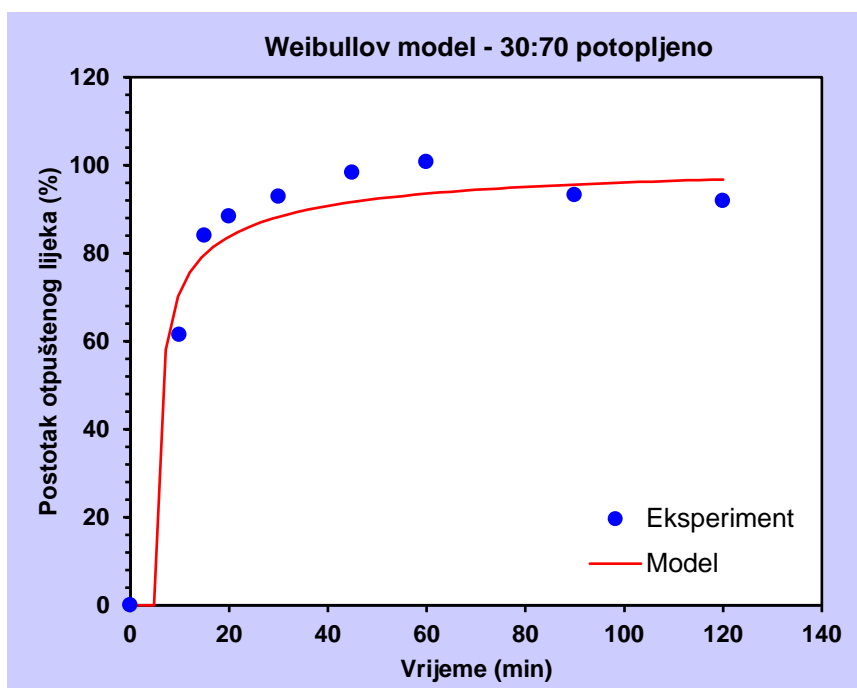
Slika 24. Weibullov model P70:30 impregnirano



Slika 25. Weibullov model P30:70 impregnirano



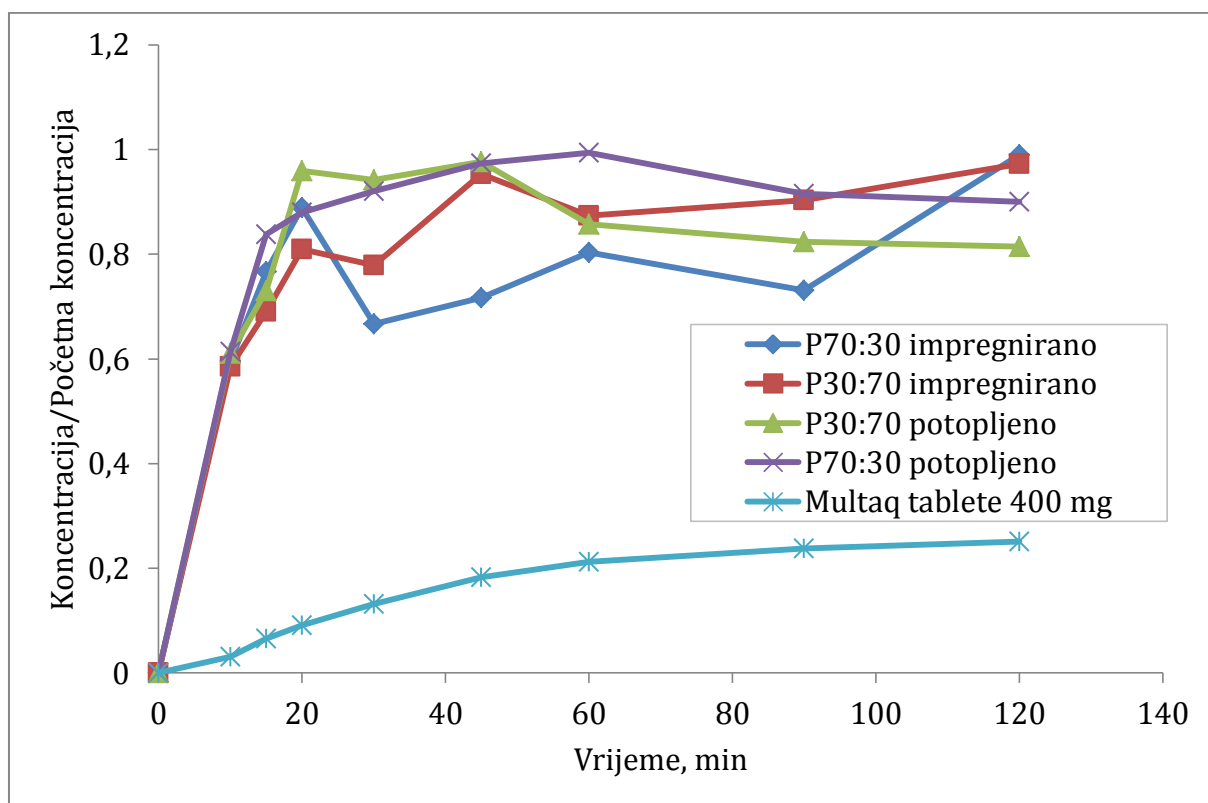
Slika 26. Weibullov model P70:30 potopljeno



Slika 27. Weibullov model P30:70 potopljeno

Tablica 5. Parametri Weibullovog modela (jedn. 13)

	a, min^b	b	T, min
P70:30 impregnirane	0,943	0,125	4
P30:70 impregnirane	2,582	0,477	4
P70:30 potopljene	0,854	0,169	6
P30:70 potopljene	1,218	0,301	6



Slika 28. Usporedba profila otpuštanja dronedarona iz peleta i Multaq tableta

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 u različitim omjerima mikrokrystalne celuloze i natrijeva klorida (P30:70 i P70:30), njihove karakterizacije, nanošenja i određivanja udjela nanosene djelatne tvari. Ispitana je brzina otpuštanja lijeka s peleta, profili su opisani kinetičkim modelima te uspoređeni s profilom otpuštanja komercijalnog lijeka Multaq 400 mg.

U radu Veena i suradnika¹⁵ istražena su svojstva peleta priređena od MCC-a i NaCl-a u različitim omjerima. Iz rezultata je uočeno da su pelete s omjerom MCC-a i NaCl-a 70:30 pokazale najbolja svojstva, sferičnost i tvrdoću. Veena i suradnici pokazali su da su pelete s omjerom MCC-a i NaCl-a 30:70 izuzetno krhke. Međutim, Cosijns i suradnici¹⁶ u svojem su istraživanju pripremili pelete s omjerima MCC-a i NaCl-a 30:70. U oba rada potvrđeno je da povećanje udjela NaCl-a doprinosi poroznosti peleta te da je njegov maksimalan udio 70 %, što će još uvijek dati pelete zadovoljavajuće tvrdoće. Cosijns i suradnici su pokazali da i pelete s omjerom MCC-a i NaCl-a 30:70 pokazuju dobru tvrdoću. Na temelju ovih literaturnih spoznaja odlučeno je da će za istraživanje biti pripremljene pelete s navedena dva omjera MCC-a i NaCl-a (30:70 i 70:30).

Pelete su pripremljene 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, a potom sušene. NaCl dodan je kako bi stvorio pore u peletama te ga je stoga bilo potrebno isprati vodom. U tablici 1. prikazane su vrijednosti specifične površine i veličine pora samih peleta prije i nakon ispiranja. Specifične površine peleta prije ispiranja ne razlikuju se značajno. Nakon ispiranja NaCl-a specifična površina peleta 30:70 znatno se povećala (2,66 puta) zbog većeg udjela NaCl-a, za razliku od peleta 70:30 gdje je to povećanje znatno manje (1,72 puta) što je i očekivano zbog manjeg udjela NaCl-a. Specifična površina peleta 30:70 nakon ispiranja iznosila 1,180 m²/g, dok je kod peleta 70:30 iznosila 0,879 m²/g, gdje se vidi velika razlika prije i nakon ispiranja, a što je potvrda da je NaCl ispran iz peleta. Ta potvrda je vidljiva i iz raspodjele veličina pora (Slika 14) Usporedbom peleta 70:30 i 30:70, vidljiv je veći udio sitnih pora manjih od 10 nm, što je dokaz nastajanja porozne pelete.

Kada govorimo o morfologiji peleta, na slici 19. prikazane su pelete 30:70 prije ispiranja NaCl-a, pri uvećanju od 1000 puta gdje je vidljivo da struktura peleta sadrži kristale NaCl-a. Nakon ispiranja (Slika 20) vidljiva je poroznija struktura kod 30:70 nego kod peleta 70:30 (Slika 21).

Prije nanošenja dronedarona, pelete su sušene. Nanošenje djelatne tvari provedeno je na dva načina, impregnacijom u vakuumu i potapanjem peleta u otopini dronedaron hidroklorida. Cilj je bio nanijeti što veću količinu dronedarona na jedan gram peleta. Koncentracija dronedarona u etanolu iznosila je 40 kg/m^3 , priređene su tri otopine i za svaku vrstu peleta se tri puta impregniralo odnosno potapalo. Iako su koncentracije otopina bile iste, korišten je veći udio dronedarona u odnosu na pelete. Međutim, zbog ograničene topljivosti dronedarona u etanolu, veća količina dronedarona otapana je u većem volumenu. Očekivano je da će pelete uspjeti upiti veću količinu otopine, što se nažalost nije desilo. Zbog toga su kao rezultat tri mjerenja uzete srednje vrijednosti sadržaja dronedarona, a za daljnja ispitivanja korištene su one pelete koje su pokazale najveći sadržaj dronedarona.

Analizom morfologije peleta 30:70 nakon nanošenja dronedarona vidljivo je (Slika 22) da je došlo do popunjavanja i zaglađivanja površine. Iako se ne može sa sigurnošću tvrditi da je to dronedaron, ipak je vidljivo da je došlo do strukturnih promjena površine. Ovo je potvrđeno analizom specifične površine i raspodjele veličina pora nakon impregnacije peleta. Na slikama 15 i 16 vidljivo je da je došlo do smanjenja udjela velikih pora. Kod peleta 30:70 smanjio se udio pora većih od 15 nm, dok je kod peleta 70:30 došlo do smanjenja pora većih od 35 nm. Očekivano, smanjenjem volumena velikih pora raste udio manjih pora, a što posljedično dovodi do povećanja specifične površine i smanjenja srednjeg promjera pora (Tablica 1), a što ne znači da je peleta poroznija.

Pelete su usporedno potapane u otopini dronedarona i etanola. Kako bi rezultati bili usporedivi, potapanje je trajalo 20 minuta jednako kao i impregnacija. Analizira li se raspodjela veličina pora (Slike 17 i 18) peleta nakon potapanja vidljivo je da postoji znatno manja promjena u udjelu velikih pora te da su popunjene pore veće od 40 nm. Najizraženija promjena u udjelu pora vidljiva je kod peleta 30:70 na koje je dronedaron nanošen impregnacijom u vakuumu. Impregnacija u vakuumu pokazala se znatno boljom od potapanja jer vakuumiranje peleta, a potom uvođenje otopine, dovodi do deponiranja lijeka u porama pelete. Potapanje peleta rezultiralo je deponiranjem dronedarona na površini peleta.

U sljedećem koraku bilo je potrebno utvrditi djelotvornost nanošenja dronedarona na pelete. Pelete su potopljene u etanolu kako bi se dronedaron otopio. UV/Vis spektrofotometrom utvrđen je sadržaj dronedarona u jednom gramu peleta. Rezultati su prikazani u tablici 2., a potvrdili su da je impregnacija u vakuumu djelotvorniji način nanošenja dronedarona.

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.⁴⁵ U tablici 3 prikazana je promjena koncentracije dronedarona u fosfatnom puferu tijekom vremena. Budući da je u ispitivanju korišten jedan gram peleta, očekivane su maksimalne koncentracije prikazane u tablici 2. Međutim, sadržaj otpuštenog dronedarona je znatno veći od onog utvrđenog UV/Vis spektrofotometrom. Pretpostavlja se da je vrijeme potapanja dronedarona u etanolu bilo prekratko te se nije otopio lijek iz pora, a što je dalo manje koncentracije spektrofotometrijski. Također, pelete u otopini miruju, nema hidrodinamičkog gibanja, pa se dronedaron slabije otapa u odnosu na uvjete koji su definirane za utvrđivanje profila otpuštanja.

Profili otpuštanja dronedarona s peleta uspoređeni su i prikazani na slici 23. Rezultati pokazuju da je kod peleta P30:70 impregnirano i P30:70 potopljeno sadržaj dronedarona znatno veći (65 mg/L) nego kod peleta P70:30 (40 mg/L) što je očekivano zbog veće poroznosti peleta i hrapavije površine. Analizom oblika krivulje vidljivo je da kod potapanih peleta P30:70 i P70:30 došlo do smanjenja koncentracije dronedarona nakon 60, odnosno 40 minuta što je posljedica raspada dronedarona. Nakon toga koncentracija se ustaljuje iz čega se može zaključiti da je došlo do površinskog otpuštanja lijeka te da dronedaron nije u porama peleta, što je potvrđeno i analizom raspodjele veličina pora. Kod impregniranih peleta može se uočiti znatno skokovitija promjena koncentracije što se tumači otpuštanjem dronedarona s površine, njegovim raspadom, a potom ponovnom difuzijskom dopremom lijeka iz pora do površine što rezultira ponovnim porastom koncentracije.

Kinetika otpuštanja dronedarona s peleta opisana je matematičkim modelima i konačno uspoređena s profilom otpuštanja komercijalnih tableta Multaq 400 mg. Ispitana je pogodnost četiri kinetička modela, model prvog reda (jedn. 5), Hixson-Crowellov model (jedn. 10), Korsmeyer-Peppasov model (jedn. 11) i Weibullovo model (jedn. 13). Budući da je za analizu potrebna ukupna koncentracija dronedarona, a koja nije utvrđena spektrofotometrijski, uzete su maksimalne otpuštene vrijednosti u pojedinim eksperimentima.

U tablici 4. prikazane su vrijednosti suma kvadratnih odstupanja eksperimentalnih podataka i modela što je bio ključ pri odabiru kinetičkog modela. Od četiri testirana kinetička modela, najmanja suma kvadratnih odstupanja dobivena je za Weibullov model, za sve ispitane pelete. Slike 24 do 27 pokazuju usporedbu procijenjenih vrijednosti količine otpuštene tvari prema Weibullovom modelu i one dobivene eksperimentalno, a u tablici 5 prikazane su vrijednosti parametara modela. Poznato je da Weibullov model najbolje opisuje različite procese otapanja te je koristan za uspoređivanje profila otpuštanja lijeka iz matrica koje mogu biti homogene ili porozne. Ispitivane pelete najbliže su matričnom sustavu dostave lijeka. Parametar b u Weibullovom modelu ukazuje na oblik krivulje otpuštanja. Vrijednosti manje od jedan ukazuju na strmi oblik krivulje i brzo otpuštanje lijeka što je i vidljivo iz profila otpuštanja (slike 24-27).

Na slici 28. prikazana je usporedba profila otpuštanja dronedarona iz pripremljenih peleta i komercijalnih tableta Multaq 400 mg⁴⁶. Vidljivo je da je brzina otpuštanja dronedarona iz tableta znatno manja od one iz priređenih peleta. Objašnjenje se može pronaći u tome što su Multaq tablete obložene filmom što doprinosi sporijem otpuštanju lijeka i pogodnijem odgođenom djelovanju. Treba uzeti u obzir i da postoji mogućnost da uzeta količina dronedarona u peletama nije ona konačna, a što svakako treba potvrditi daljnjim istraživanjem. Međutim, skokovito otpuštanje lijeka iz impregniranih poroznih peleta ukazuje na mogućnost njihovog korištenja kao nosača lijeka s produljenim otpuštanjem.

6. ZAKLJUČAK

Pelete P30:70 pokazale su porozniju strukturu od peleta P70:30, a samim time su pogodnije za nanošenje dronedaron hidroklorida.

Impregnacijom u vakuumu nanese su veće količine dronedaron hidroklorida u pore same pelete, dok se potapanjem lijek deponira samo na površini.

Profili otpuštanja djelatne tvari impregniranih peleta pokazali su skokovitu promjenu što ukazuje na izmjenično otpuštanje s površine i difuziju lijeka iz pora.

Weibullov model pokazao se najboljim za opis kinetike otpuštanja dronedaron hidroklorida što ukazuje na činjenicu da su ispitivane pelete najbliže matričnom sustavu dostave lijeka.

Na temelju rezultata zaključuje se da pripremljene porozne pelete pokazuju potencijal kao nosači lijeka za reguliranje srčane aritmije.

7. ZAHVALA

Najiskrenije zahvaljujemo našoj mentorici izv. prof. dr. sc. Gordani Matijašić na prenesenom znanju, stručnim savjetima, ustupljenim materijalima i pomoći pri izradi ovog rada. Također zahvaljujemo Matiji Gretiću, mag. ing. cheming, na strpljenju i vodstvu prilikom izvođenja ovog rada.

8. LITERATURA

1. <http://www.cvpharmacology.com/antiarrhy/antiarrhythmic> (pristup 6. 4. 2016.)
2. 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
3. J.Y. Le Heuzey, Dronedarone: From buzz to reality, *Arch Card Dis* **103** (2010) 427-429
4. Andrew E. Epstein, J. Thomas Bigger, Jr., D. George Wyse, Facc, Donald W. Romhilt, Robin A. Reynolds-Haertle, Alfred P. Hallstrom, Andthecast investigators: The Cardiac Arrhythmia Suppression Trial (CAST) Investigators, Preliminary report: effect of encainide and flecainide on mortality in a randomized trial of arrhythmia suppression after myocardial infarction, *N Engl J Med*, **321** (1989) 406-12
5. Coplen SE, Antman EM, Berlin JA, Hewitt P, Chalmers TC. Efficacy and safety of quinidine therapy for maintenance of sinus rhythm after cardioversion. A meta-analysis of randomized control trials. *Circulation*; **82** (1990) 1106-1116.
6. Piccini JP, Hasselblad V, Peterson ED, et al. Comparative efficacy of dronedarone and amiodarone for the maintenance of sinus rhythm in patients with atrial fibrillation, *J Am Coll Cardiol* **54** (2009) 1089-1095
7. Le Heuzey JY, De Ferrari GM, Radzik D, et al. A short-term, randomized, double-blind, parallel-group study to evaluate the efficacy and safety of dronedarone versus amiodarone in patients with persistent atrial fibrillation: the DIONYSOS study, *J Cardiovasc Electrophysiol* **21** (2010) 597-605
8. Andersen SS, Hansen ML, Gislason GH, et al. Antiarrhythmic therapy and risk of death in patients with atrial fibrillation: a nationwide study. *Europace* **11** (2009) 886-891.
9. Connolly SJ, Camm AJ, Halperin JL, Joyner C, Alings M, Amerena J, et al. Dronedarone in high-risk permanent atrial fibrillation, *N Engl J Med* **365** (2011) 2268-2276
10. K. Kishore, J. Dharmeshwar, Development and validation of a spectrophotometric method for determination of dronedarone in bulk drug and pharmaceutical formulation, *UPBS*, **4** (2014) 186-191
11. Johansson, B., Wikberg, M., Ek, R., Alderborn, G.: Compression behaviour and compactability of microcrystalline cellulose pellets in relationship to their pore structure and mechanical properties. *Int J Pharm*, **117** (1995) 57-73.

12. Sousa, J.J., Sousa, A., Podczek, F., Newton J.M.: Factors influencing the physical characteristics of pellets obtained by extrusion-spheronisation. *Int J Pharm* **23** (2002) 91-106.
13. Vervaet, C., Baert, L., Remon, J.P.: Extrusion-spheronisation. A literature review, *Int J Pharm*, **116** (1995) 131-146.
14. Ghebre-Sellassie I.: Pellets: A general overview. In: Ghebre-Sellassie, ed. *Pharmaceutical pelletization technology*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1989.
15. Veena, M.C., Senthil Kumar, S. K., Parthiban, S., Preparation and evaluation of porous pellets loaded with anti-arrhythmic drug for controlled release, *Ind J Pharm Sci Res*, **3** (2013) 20-31.
16. Cosijns A, Nizet D, Nikolokakis I. Porous pellets as drug delivery system. *Drug Dev Ind Pharm*, **35** (2009), 655-62
17. Sirisha, et al. *Int J Pharm*, **2** (2012) 419-425
18. Beckert, T.E., Lehmann, K., Schmidt, P.C.: Compression of enteric-coated pellets to disintegrating tablets. *Int J Pharm*, **143** (1996) 13-23.
19. Mount, D.L. and Schwartz, J.B.: Formulation and compaction of nonfracturing deformable coated beads. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **22** (1996) 609-621.
20. Aulton, M.E., Dyer, A.M. and Khan, K.A.: The strength and compaction of millispheres. The design of a controlled-release drug delivery system for ibuprofen in the form of a tablet comprising compacted polymer-coated millispheres. *Drug Dev Ind Pharm*, **20** (1994) 3069-3104.
21. Wang, C., Zhang, G., Shah, N.H., Infeld, M.H., Malick, A.W., McGinity, J.W.: Compaction properties of spheronized binary granular mixtures. *Drug Dev Ind Pharm*, **21** (1995) 753-779
22. Kazarian, S.G., Martirosyan, G.G.: 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.
23. Hicks, C.R., Turner, K.V.: *Fundamental concepts in the design of experiments*: University Press;Oxford, England; 1999.
24. Duarte, A., Simplicio, A, Vega-Gonzalez, A., Coimbra, P., de Sousa H.C., Duarte, C.M.M.: Supercritical fluid impregnation of a biocompatible polymer for ophthalmic drug delivery. *J Supercrit Fluids*, **41** (2007) 231–42
25. Singhvi, G., Singh, M., In vitro drug release characterization models, *Int J Pharm Stud Res*, **2** (2011) 77-84

26. Higuchi, W. I., Diffusional models useful in biopharmaceutics drug release rate processes. *J Pharm Sci.* **56** (1967) 315-324.
27. Costa P.et.al, Modelling and comparison of dissolution profiles, *Eur J Pharm Sci*, **13** (2001) 123-133
28. Korsmeyer, R.W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P. and Peppas, N.A. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *Int J Pharm* **15** (1983) 25-35.
29. Podczeczek F, Newton JM.: A shape factor to characterize the quality of spheroids. *J Pharm Pharmacol*, **46** (1994) 82–5.
30. Crank J.: *The mathematics of diffusion*: Clarendon press; Oxford, England,1975.
31. Senjković Romana: *Osnove oblikovanja lijekova*, ŠK, Zagreb, 2003.
32. Jalšenjak I., Jalšenjak V., Filipović- Grčić J.: *Farmaceutika*, ŠK, Zagreb, 1998.
33. USP31–NF26 United States Pharmacopeial Convention, Inc.; Second edition, Rockville, 2009.
34. Emami, J., *In vitro - In vivo correlation: From Theory to Applications*, *J Pharm Pharm Sci*, **9** (2006) 169-189.
35. Maurya, R., Pathak, K., Saxena, P., Tiwari, J., A review on novel drug delivery system - niosomes, **1** (2014) 51-59.
36. Langer, R.S., Wise D.L. Eds.: *Medical applications of controlled release, applications and evaluation*, Vol. I and II, CRC Press, Boca Raton 1984.
37. Cartensen J.T. Ed.: *Modeling and data treatment in the pharmaceutical sciences*, Technomic Publishing Co. Inc., New York, Basel 1996.
38. Nernst, W., *Physik, Z., Theorie der Reaktionsgeschwindigkeit in heterogenen Systemen*; *Chem.* **47** (1904) 52-55
39. Brunner, E., *Physik, Z., A century of dissolution research: From Noyes and Whitney to the Biopharmaceutics Classification System*; *Chem*, **47** (1904) 56
40. Ozturk, S.S., Palsson, B.O., Donohoe, B., Dressman, J.B., *Pharm Res* **5** (1988) 55
41. Dressman, J.B., Fleisher, D., *J Pharm Sci* **75** (1986) 109
42. Dressman, J.B., Fleisher, D., Amidon, G.L., *J Pharm Sci* **73** (1984) 1274
43. Costa, P., Lobo, J.M.S., *Eur J Pharm Sci*, **13** (2001) 123
44. Shah, V.P., Lesko, L.J., Fan, J., Fleischer, N. Handerson, J., *Dissolution Technol* **4** (1997) 15
45. http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_getallData.cfm (pristup 11. 4. 2016.)

46. Ramesh, K., Chandra Shekar, B., Khadgapathi, P., Optimization and evaluation of formulation for pH dependant soluble dronedarone hydrochloride, Eur J Biom Pharm Sci, **2** (2015) 407-425.

SAŽETAK

Odluka za istraživanjem peleta kao nosača lijeka za reguliranje srčane aritmije inspirirana je ubrzanim razvojem novih sustava za dostavu lijeka koji imaju svoje prednosti kao što su jednostavnost doziranja, kontrolirano otpuštanje lijeka, učinkovitost u liječenju kroničnih stanja, smanjenje nuspojava i učestalosti uzimanja doza. Interes za peletama kao oblicima za doziranje raste kontinuirano jer njihova višestruka priroda pruža važne farmakološke i tehnološke prednosti u odnosu na konvencionalne oblike doziranja, a zbog dobrih mehaničkih svojstava, peletama se može postići kontrolirano otpuštanje lijeka.

U ovom radu, istraživanje je provedeno u nekoliko koraka koji su se sastojali od pripreme peleta u različitim omjerima mikrokristalne celuloze i natrijeva klorida (P30:70 i P70:30), njihove karakterizacije, nanošenja i određivanja udjela nanosene djelatne tvari. Ispitana je brzina otpuštanja lijeka s peleta, profili su opisani kinetičkim modelima te uspoređeni s profilom otpuštanja komercijalnog lijeka Multaq 400 mg. Dronedaron hidroklorid nanosen je na pelete vakuumsom impregnacijom i potapanjem.

Rezultati su pokazali da kod peleta P30:70 postoji veća poroznost, nego kod peleta P70:30, te su takve pelete sadržavale veću količinu dronedaron u porama. Impregnacijom u vakuumu nanosene su veće količine dronedaron hidroklorida u pore same pelete, dok se potapanjem lijek deponira samo na površini. Profili otpuštanja djelatne tvari impregniranih peleta ukazuju na izmjenično otpuštanje s površine i difuziju lijeka iz pora. Weibullov model pokazao se najboljim za opis kinetike otpuštanja dronedaron hidroklorida što ukazuje na činjenicu da su ispitivane pelete najbliže matičnom sustavu dostave lijeka te pokazuju potencijal kao nosači lijeka za reguliranje srčane aritmije.

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

SUMMARY

The decision to study the pellets as drug carriers was inspired by the rapid development of the new drug delivery systems that have their own advantages, such as simplified dosing, controlled drug release, the effectiveness in the treatment of chronic conditions, reduction of side effects and the frequency of dosing. Growing interest for pellets as dosage forms is because of their multiparticulate nature that provides important technological and pharmacological advantages over conventional dosage forms, and due to good mechanical properties, the pellets can be used for controlled drug release.

In this paper, the research was carried out in several steps, which consisted of the preparation of pellets in different ratios of microcrystalline cellulose and sodium chloride (P30: 70 and P70: 30), their characterization, application and determination of the applied active substance. Drug release from the pellets was investigated. Dissolution profiles were described using kinetic models and compared with the dissolution profile of commercial drug Multaq 400 mg. Dronedarone hydrochloride was applied to the pellets by vacuum impregnation and immersion.

The results showed that the pellets P30:70 have a higher porosity than pellets P70:30 and higher content of the drug in the pores. Vacuum impregnation caused deposition of dronedarone hydrochloride in the pellet pores, while the drug deposited by immersing adhered only on the pellet surface. Dissolution profiles of the impregnated pellets indicate intermittent drug release from the surface and the diffusion of the drug from the pores. Weibull model has proven to be the best to describe the kinetics of dronedarone hydrochloride release which points to the fact that the prepared pellets are nearest to the matrix system of drug delivery. They show potential as drug carriers for the regulation of cardiac arrhythmias.

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