

**UNIVERZITET U BEOGRADU
FARMACEUTSKI FAKULTET**

Ehlimana F. Osmanović Omerdić

**Uticaj vrste i udela hidrofilnih polimera na
farmaceutsko-tehnološke i biofarmaceutske
karakteristike čvrstih disperzija sa
klopidogrel-hidrogensulfatom**

Doktorska disertacija

Beograd, 2025.

**UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF PHARMACY**

Ehlimana F. Osmanović Omerdić

**The influence of the type and ratio of hydrophilic
polymers on the pharmaceutical-technological and
biopharmaceutical characteristics of solid
dispersions with clopidogrel hydrogen sulfate**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2025.

Mentor

Dr sc. Dragana Vasiljević, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet

Članovi komisije

Dr sc. Svetlana Ibrić, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet

Dr sc. Đorđe Medarević, viši naučni saradnik
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet

Dr sc. Branka Ivković, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet

Dr sc. Vesna Radojević, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu – Tehnološko-metalurški fakultet

Beograd, _____

Pre mnogobrojnih važnih osoba kojima želim da se zahvalim, moja najveća zahvalnost će uvek biti upućena Dragom Bogu, koji me nadahnuo, usmerio i pomogao na ovom putu traganja za znanjem.

Veliku zahvalnost dugujem svojoj mentorki, prof. dr Dragani Vasiljević, na nesebičnoj podršci, razumevanju, dragocenim savetima i kritikama, te pomoći u prevazilaženju izazova koje sa sobom nosi bavljenje naučnim radom i izrada doktorske disertacije.

Zahvaljujem se članovima komisije, prof. dr Svetlani Ibrić, dr sc. Đorđu Medareviću, prof. dr Branki Ivković i prof. dr Vesni Radojević, na korisnim sugestijama i saradnji prilikom izrade ove disertacije. Zahvaljujem se i prof. dr Sandri Cvijić i prof. dr Jadranki Odović na značajnoj pomoći tokom eksperimentalnog rada i objavljivanja naučnih radova.

Zahvaljujem se koleginicama i kolegama sa Katedre za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju na pruženoj pomoći i savetima tokom eksperimentalnog rada. Takođe se zahvaljujem i svojim radnim kolegama iz kompanije Bosnalijek d.d. na pomoći, podršci i razumevanju.

Želim da izrazim zahvalnost Branimiru Valenčaku, generalnom menadžeru Anton Paar Croatia d.o.o., Hrvatska, kao i kompaniji Anton Paar, Austrija, te Ivanu Dimitrijeviću, stručnom saradniku firme MC Labor d.o.o. Srbija, što su omogućili izvođenje jednog značajnog dela eksperimenata za ovu disertaciju, kao i za njihovu svestranu podršku.

Među brojnim prijateljima koji su bili uz mene na svoj jedinstven način (a oni znaju ko su), posebnu zahvalnost želim da izrazim prof. dr Larisi Alagić-Džambić, čija su motivacija i podrška bile ključne na samom početku mog naučnog puta. Takođe, neizmerno sam zahvalna dr sc. Marku Krstiću, koji je bio mnogo više od kolege, istinski prijatelj, oslonac i neko ko je uvek bio spreman da pruži ohrabrenje, inspiše i otvori nove vidike.

Nemerljivu zahvalnost dugujem svojoj porodici, roditeljima Fikretu i Seniji Osmanović, koji su moja bezrezervna podrška u svemu što radim i bez čije ljubavi ne bih bila ovo što jesam. Hvala mojoj sestri Sumeji i zetu Amiru, kao i sestrićima Farisu i Afanu, što mi ulepšavaju život i uvek su uz mene. Hvala mojima, svekru i sjevci Zijadu i Šuhreti Omerdić, na posebnoj pažnji i poštovanju, te deveri Mirzi, na svesrdnoj informatičkoj podršci, neizostavnoj na ovom putu.

Najveće hvala upućujem svom divnom suprugu Amiru i sinu Emanu za njihovu beskrajnu ljubav, strpljenje, razumevanje, podršku i ohrabrenje. Bez njih, sav ovaj trud ne bi imao smisla i njima posvećujem ovu doktorsku disertaciju.

Uticaj vrste i udela hidrofilnih polimera na farmaceutsko-tehnološke i biofarmaceutske karakteristike čvrstih disperzija sa klopidogrel-hidrogensulfatom

Sažetak

Razvoj formulacija lekova je poslednjih godina postao posebno izazovan zbog novih aktivnih supstanci koje imaju zahtevna fizičko-hemijska svojstva, zbog potrebe farmaceutskih kompanija da se lekovi što pre plasiraju na tržište, kao i zbog sve strožijih zahteva regulatornih tela. Preko 40% aktivnih supstanci, koje se koriste u terapiji i preko 60% onih koji se nalaze u nekoj od faza istraživanja, spada u grupu slabo rastvorljivih aktivnih supstanci. Formulacija čvrstih disperzija je jedan od aktuelnih pristupa za povećanje rastvorljivosti i brzine rastvaranja slabo rastvorljivih aktivnih supstanci. Klopidogrel je inhibitor aktivacije i agregacije trombocita. Najčešće se koristi u obliku soli, klopidogrel-hidrogensulfata, koja ima nisku i pH-zavisnu rastvorljivost, što ograničava njegovu bioraspoloživost i terapijsku efikasnost. Klopidogrel je pro-lek, samo oko 2% primenjene doze klopidogrela se metaboliše u aktivni oblik i dospeva u sistemsku cirkulaciju, a uz to ima i izraženu interindividualnu varijabilnost. Iz navedenih razloga, cilj istraživanja ove doktorske disertacije bila je formulacija, izrada i farmaceutsko-tehnološka i biofarmaceutska karakterizacija čvrstih disperzija sa slabo rastvorljivom model aktivnom supstancom, klopidogrel-hidrogensulfatom, u cilju povećanja brzine rastvaranja navedene aktivne supstance.

U prvoj fazi eksperimentalnog rada formulisano je i izrađeno dvadeset čvrstih disperzija sa različitim hidrofilnim polimerima (kopovidon, makrogol 6000, poloksamer 407 i povidon K30) i različitim odnosima aktivna supstanca/polimer (1:1, 1:2, 1:3, 1:5 i 1:9), u cilju povećanja brzine rastvaranja aktivne supstance. Rezultati *in vitro* ispitivanja brzine rastvaranja su pokazali da vrsta i udeo hidrofilnog polimera imaju bitnu ulogu u povećanju brzine rastvaranja klopidogrel-hidrogensulfata. Najveći procenat klopidogrel-hidrogensulfata (96,38%, nakon 60 minuta) se rastvorio iz čvrste disperzije sa poloksamerom 407, pri udelu aktivna supstanca/polimer 1:9.

U drugoj fazi istraživanja sprovedena je karakterizacija odabranih čvrstih disperzija primenom metoda diferencijalne skenirajuće kalorimetrije (DSC), infracrvene spektrofotometrije sa Furijeovom transformacijom (FT-IR) i difrakcije X-zraka na prašku (PXRD), kao i određivanje sadržaja klopidogrela. U svim ispitivanim uzorcima potvrđeno je prisustvo klopidogrel-hidrogensulfata u amorfnom obliku, a sadržaj klopidogrela je bio u dozvoljenim granicama odstupanja ($\pm 5\%$). Rezultati ponovljenih ispitivanja, nakon 12 meseci skladištenja uzoraka pod kontrolisanim uslovima (25 ± 2 °C i vlažnost vazduha $60 \pm 5\%$), ukazali su na njihovu dobru stabilnost. Međutim, rezultati ispitivanja *in vitro* brzine rastvaranja klopidogrel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija sa makrogolom 6000 su pokazali da je nakon 12 meseci došlo do velikog smanjenja količine rastvorenog klopidogrel-hidrogensulfata. Ovi rezultati su ukazali na neprihvatljivu stabilnost, odnosno na neprihvatljiv kvalitet čvrstih disperzija sa makrogolom 6000, pri odnosima aktivna supstanca/polimer 1:5 i 1:9.

U trećoj fazi istraživanja ispitivane su karakteristike čvrstih disperzija prihvatljive stabilnosti (sa kopovidonom i poloksamerom 407, pri udelima aktivna supstanca/polimer 1:5 i 1:9) značajne za njihovu dalju obradu u finalni farmaceutski oblik (tablete i kapsule). Dobijeni rezultati ispitivanja veličine i raspodele veličina čestica, stvarne, nasipne i tapkane gustine, određivanja protočnosti, kompresibilnosti, poroziteta, sadržaja vlage i reoloških parametara su ukazali da ispitivane čvrste disperzije imaju prihvatljive osobine za obradu u finalni farmaceutski oblik.

U četvrtoj fazi istraživanja, primenom kompjuterskog programa GastroPlus™, uspešno je razvijen i validiran klopidogrel-specifični, fiziološki zasnovan biofarmaceutski (PBBM) model, koji na odgovarajući način opisuje apsorpciju i distribuciju klopidogrela nakon intravenske i peroralne primene. Izgrađeni PBBM model je korišćen za ispitivanje uticaja vrste i udela hidrofilnih polimera na apsorpciju, distribuciju i posledično, bioraspoloživost aktivne supstance. Rezultati *in silico* predviđanja ukazali su da se za sve ispitivane čvrste disperzije može očekivati povećanje apsorpcije,

bioraspoloživosti i $PIK_{0 \rightarrow t}$, u opsegu od 57% do 120%, u poređenju sa tabletama sa trenutnim oslobađanjem aktivne supstance. Dobijeni rezultati su takođe pokazali da bi cekum i kolon mogli biti ciljno mesto za oslobađanje klopidogetrela iz formulacija, što bi moglo uticati na povećanje apsorpcije i bioraspoloživosti klopidogetrela.

Na osnovu sprovedenih istraživanja, može se zaključiti da se sa hidrofilnim polimerima, kopovidonom i poloksamerom 407, pri odnosima aktivna supstanca/polimer 1:5 i 1:9, mogu uspešno izraditi čvrste disperzije sa klopidogetrel-hidrogensulfatom prihvatljive dugotrajne stabilnosti, koje omogućavaju povećanje brzine rastvaranja klopidogetrel-hidrogensulfata. Na osnovu rezultata farmaceutske-tehnološke karakterizacije, odabrane čvrste disperzije se mogu koristiti za dalju obradu u finalne farmaceutske oblike. Rezultati *in silico* modelovanja su pokazali da se može očekivati poboljšanje apsorpcije i bioraspoloživosti klopidogetrela iz čvrstih disperzija za više od 100%, u poređenju sa tabletama sa trenutnim oslobađanjem, što bi moglo dovesti do smanjenja terapijske doze, a sa tim i neželjenih efekata primene klopidogetrela.

Ključne reči: čvrste disperzije; hidrofilni polimeri; klopidogetrel-hidrogensulfat, karakterizacija; *in vitro* brzina rastvaranja; reologija čvrstih disperzija; stabilnost; *in silico* fiziološki zasnovano biofarmaceutsko modelovanje

Naučna oblast: Farmacija

Uža naučna oblast: Farmaceutska tehnologija

The influence of the type and ratio of hydrophilic polymers on the pharmaceutical-technological and biopharmaceutical characteristics of solid dispersions with clopidogrel hydrogen sulfate

Abstract

The development of drug formulations has become a particular challenge in recent years, as the physico-chemical properties of new active pharmaceutical ingredients are becoming increasingly complex, the pharmaceutical industry is demanding a rapid market launch and regulatory requirements are becoming ever stricter. More than 40 % of marketed active pharmaceutical ingredients and over 60 % of drug candidates in development belong to the class of poorly soluble substances. The formulation of solid dispersions is one of the current approaches to increasing the solubility and dissolution rate of poorly soluble active substances. Clopidogrel is an inhibitor of platelet activation and aggregation. It is most commonly used in the form of a salt, clopidogrel hydrogen sulfate, which has a low and pH-dependent solubility, limiting its bioavailability and therapeutic efficacy. Clopidogrel is a pro-drug, only about 2% of the clopidogrel dose administered is converted to an active form and enters the systemic circulation, and there is marked inter-individual variability. For these reasons, the research objective of this dissertation was the formulation, preparation and pharmaceutical-technological and biopharmaceutical characterization of solid dispersions with a poorly soluble model drug, clopidogrel hydrogen sulfate, in order to increase the dissolution rate of the listed active substances.

In the first phase of the experimental work, twenty solid dispersions were formulated and prepared with different hydrophilic polymers (copovidone, macrogol 6000, poloxamer 407 and povidone K30) and different drug/polymer ratios (1:1, 1:2; 1:3; 1:5 and 1:9) to increase the dissolution rate of the drug. The results of the *in vitro* dissolution rate test showed that the type and ratio of hydrophilic polymer play an important role in increasing the dissolution rate of clopidogrel hydrogen sulfate. The highest percentage of clopidogrel hydrogen sulfate (96.38%, after 60 minutes) was dissolved from the solid dispersion with poloxamer 407 at a drug/polymer ratio of 1:9.

In the second phase of the study, the characterization of the selected solid dispersions was carried out using the methods of differential scanning calorimetry (DSC), Fourier transform infrared spectrophotometry (FT-IR) and powder X-ray diffraction (PXRD), as well as the determination of the clopidogrel content. The presence of clopidogrel hydrogen sulfate in amorphous form was confirmed in all samples analysed, and the clopidogrel content was within the acceptable limits ($\pm 5\%$). The results of repeated tests after 12 months of storage of the samples under controlled conditions ($25 \pm 2^\circ\text{C}$ and $60 \pm 5\%$ RH) indicated their good stability. However, the results of testing the *in vitro* dissolution rate of clopidogrel hydrogen sulfate from solid dispersions with macrogol 6000 showed that there was a sharp decrease in the amount of dissolved clopidogrel hydrogen sulfate after 12 months. These results indicate an unacceptable stability, i.e. an unacceptable quality of the solid dispersions with macrogol 6000 at drug/polymer ratios of 1:5 and 1:9.

In the third phase of the research, the characteristics of solid dispersions with acceptable stability (with copovidone and poloxamer 407, at a 1:5 and 1:9 drug/polymer ratio) were studied, which are important for further processing into the final pharmaceutical form (tablets and capsules). The results of testing the particle size and distribution of particle size, true density, bulk and tapped density, determination of flowability, compressibility, porosity, moisture content and rheological parameters showed that the solid dispersions tested had acceptable properties for processing into the final dosage form.

In the fourth phase of the research, a clopidogrel-specific physiologically based biopharmaceutical model (PBBM) was successfully developed and validated using GastroPlus™ software. The model adequately described the absorption and distribution of clopidogrel after both intravenous and oral

administration. The constructed PBBM model was used to investigate the effects of polymer type and ratio on the absorption, distribution and consequently the bioavailability of clopidogrel from solid dispersions. *In silico* predictions showed that all solid dispersions tested could improve absorption, bioavailability and $AUC_{0 \rightarrow t}$ by 57% to 120% compared to immediate-release tablets. The results obtained also showed that the cecum and colon could be the target site for the release of clopidogrel from the formulations, which could have an impact on increasing the absorption and bioavailability of clopidogrel.

On the basis of the studies carried out, it can be concluded that solid dispersions with clopidogrel hydrogen sulfate of acceptable long-term stability can be successfully developed using the hydrophilic polymers copovidone and poloxamer 407 in a drug/polymer ratio of 1:5 and 1:9. These formulations improve the dissolution rate of clopidogrel hydrogen sulfate. Pharmaceutical-technological characterization confirmed that the selected solid dispersions are suitable for further processing into final dosage forms. *In silico* modeling results indicate that the absorption and bioavailability of clopidogrel from solid dispersions can be improved by more than 100% compared to immediate-release tablets, which could allow dose reduction and minimization of adverse effects.

Keywords: solid dispersions; hydrophilic polymers; clopidogrel hydrogen sulfate; characterization; *in vitro* dissolution rate; rheology of solid dispersions; stability; *in silico* physiologically based biopharmaceutics modeling

Scientific field: Pharmacy

Specific scientific field: Pharmaceutical technology

Lista skraćenica

ACAT - *Advanced Compartmental Absorption and Transit model* (srp. Unapređeni model apsorpcije i tranzita aktivne supstance)

BCS - *Biopharmaceutics Classification System* (srp. Biofarmaceutski Sistem Klasifikacije, skr. BSK)

BFE - *Basic flowability energy* (srp. osnovna energija proticanja),

CAT - *Compartmental Absorption and Transit model* (srp. Model apsorpcije i tranzita aktivne supstance)

CHS - klopidogetrel-hidrogensulfat

C_L - klirens

C_{max} - Maksimalna koncentracija aktivne supstance u plazmi

CYP₄₅₀ - Citohrom P₄₅₀

DSC- *Differential Scanning Calorimetry* (srp. Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija)

DVS - *Dynamic vapour sorption* (srp. Dinamička sorpcija pare)

E_a - Energija aktivacije

EC - etil celuloza

EMA - *European Medicines Agency* (srp. Evropska agencija za lekove)

F_a - Procenat apsorbirane lekovite supstance (u enterocitima)

F_b - Biološka raspoloživost lekovite supstance

FDA - *Food and Drug Administration* (srp. Američka uprava za hranu i lekove)

FE - *Fold error* (srp. nivo greške)

ffc - *Flowability ratio* (srp. odnos protočnosti)

FPE - Presistemski metabolizam u jetri

FRI - *Flow rate index* (srp. indeks brzine proticanja)

FT-IR - *Fourier transform infrared spectroscopy* (srp. Infracrvena spektrofotometrija sa Furjeovom transformacijom)

GIT - Gastrointestinalni trakt

GRAS - *Generally Recognized as Safe* (srp. Opšte prepoznato kao bezbedno)

HME - *Hot-melt extrusion method* (srp. Metoda ekstruzija topljenjem)

HPC - hidroksipropilceluloza

HPMC - hipromeloza

HPMCAS - hipromeloza-acetatsukcinat

HPMCP - hipromeloza-ftalat

HSM - *Hot-stage mikroskopija* (srp. Mikroskopija na zagrejanj ploči)

k₁₂, k₂₁, k₁₃, k₃₁ - konstante distribucije između pojedinih prostora

PAA - poliakrilna kiselina

PAM - Površinski aktivna materija

PBBM - *Physiologically-Based Biopharmaceutics Model* (srp. Fiziološki zasnovan biofarmaceutski model)

PBPK - *Physiologically-Based Pharmacokinetic Model* (srp. Fiziološki zasnovan farmakokinetički model)

PEG - makrogol

Ph. Eur. - *The European Pharmacopoeia* (srp. Evropska farmakopeja)

PIK_{0→∞} i PIK_{0→t} - Površine ispod krive

PSA - *Parametar Sensitivity Analysis* (srp. analiza osetljivosti parametara)

PVP - povidon

PVP/VA - povidon-vinilacetat kopolimer (kopovidon)

PXRD - *Powder X-ray Diffraction* (srp. Difrakcija X-zraka na prašku)

RP-HPLC - *Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography* (srp. Reverzno-fazna tečna hromatografija velike moći razdvajanja)

SD - standardna devijacija

SE - *Specific energy* (srp. specifična energija)

SEM - *Scanning Electron Microscopy* (srp. skenirajuća elektronska mikroskopija)

SI - *Stability index* (srp. indeks stabilnosti)

SLS - Natrijum-laurilsulfat

T_g - Temperatura staklastog prelaza

TGA - *Thermogravimetric analysis* (srp. termogravimetrijska analiza)

t_{max} - Vreme potrebno da se postigne maksimalna koncentracija aktivne supstance u plazmi

TPGS - tokoferil polietilenglikol sukcinat

USP - United States Pharmacopeia (srp. Američka farmakopeja)

V_d - Volumen distribucije

SADRŽAJ

1. UVOD	2
1.1 Čvrste disperzije.....	9
1.1.1. Nosači za izradu/proizvodnju čvrstih disperzija	10
1.1.2. Metode izrade/proizvodnje čvrstih disperzija	16
1.1.3. Klasifikacija čvrstih disperzija	22
1.1.4. Mehanizmi oslobađanja aktivnih supstanci iz čvrstih disperzija	25
1.1.5. Karakterizacija čvrstih disperzija	28
1.1.6. Prednosti i nedostaci čvrstih disperzija	36
1.2. <i>In silico</i> modeli za procenu apsorpcije, distribucije i bioraspoloživosti aktivne supstance	38
1.3. Klopido­grel-hidrogensulfat	43
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	47
3. EKSPERIMENTALNI DEO.....	49
3.1. Materijali i metode	49
3.1.1. Materijali.....	49
3.1.2. Metode	51
3.1.2.1. I faza eksperimentalnog rada	51
3.1.2.1.1. Ispitivanje rastvorljivosti klopido­grel-hidrogensulfata	51
3.1.2.1.2. Formulacija i izrada čvrstih disperzija	51
3.1.2.1.3. <i>In vitro</i> ispitivanje brzine rastvaranja klopido­grel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija	52
3.1.2.2. II faza eksperimentalnog rada	53
Karakterizacija čvrstih disperzija.....	53
3.1.2.2.1. Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija	53
3.1.2.2.2. Infracrvena spektrofotometrija sa Furi­jeovom transformacijom	53
3.1.2.2.3. Difrakcija X-zraka na prašku	53
3.1.2.2.4. Određivanje sadržaja klopido­grela.....	54
3.1.2.2.5. <i>In vitro</i> ispitivanje brzine rastvaranja klopido­grel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija nakon studija stabilnosti	54
3.1.2.3. III faza eksperimentalnog rada.....	56
Karakterizacija čvrstih disperzija.....	56
3.1.2.3.1. Određivanje veličine i raspodele veličina čestica	56
3.1.2.3.2. Određivanje stvarne gustine.....	56
3.1.2.3.3. Određivanje nasipne i tapkane gustine.....	57
3.1.2.3.4. Određivanje protočnosti.....	57
3.1.2.3.5. Određivanje poroziteta	58
3.1.2.3.6. Određivanje sadržaja vlage	58
3.1.2.3.7. Određivanje reoloških karakteristika	58
3.1.2.4. IV faza eksperimentalnog rada	67

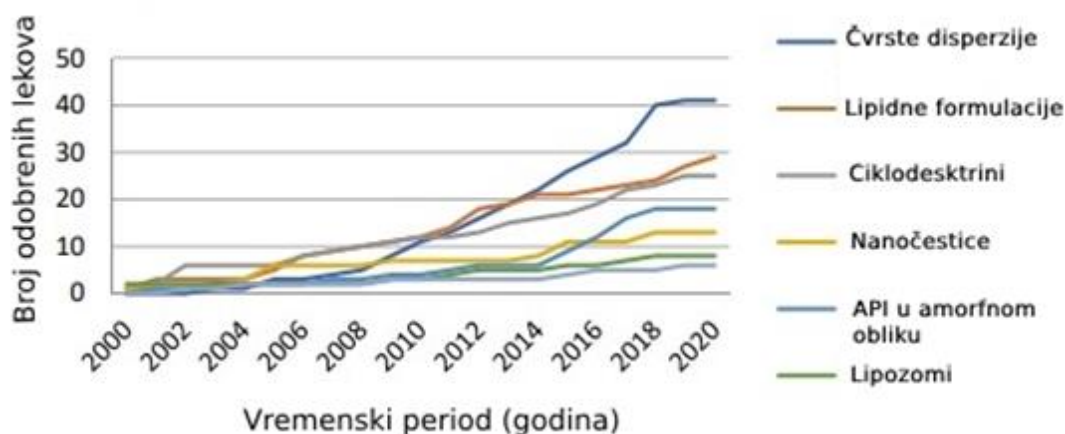
3.1.2.4.1. <i>In silico</i> modelovanje	67
3.1.2.4.1.1. <i>In vitro</i> ispitivanje brzine rastvaranja klopido­grel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija pomoću aparature sa cilindrom sa povratnim kretanjem.....	67
3.1.2.4.1.2. Razvoj i validacija PBBM klopido­grel-specifičnog modela.....	68
3.1.2.4.1.3. Primena PBBM klopido­grel-specifičnog modela	68
4. REZULTATI I DISKUSIJA	71
4.1. I faza eksperimentalnog rada	71
4.1.1. Ispitivanje rastvorljivosti klopido­grel-hidrogensulfata	71
4.1.2. Formulacija i izrada čvrstih disperzija	72
4.1.3. <i>In vitro</i> ispitivanje brzine rastvaranja klopido­grel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija.....	73
4.2. II faza eksperimentalnog rada	78
Karakterizacija čvrstih disperzija.....	78
4.2.1. Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija	78
4.2.2. Infracrvena spektrofotometrija sa Furijeovom transformacijom	81
4.2.3. Difrakcija X-zraka na prašku	84
4.2.4. Određivanje sadržaja klopido­grela.....	87
4.2.5. <i>In vitro</i> ispitivanje brzine rastvaranja klopido­grel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija nakon studija stabilnosti.....	87
4.3. III faza eksperimentalnog rada.....	91
Karakterizacija čvrstih disperzija	91
4.3.1. Određivanje veličine i raspodele veličina čestica	91
4.3.2. Određivanje stvarne gustine.....	95
4.3.3. Određivanje nasipne i tapkane gustine.....	95
4.3.4. Određivanje protočnosti.....	96
4.3.5. Određivanje poroziteta.....	98
4.3.6. Određivanje sadržaja vlage	98
4.3.7. Određivanje reoloških karakteristika	98
4.4. IV faza eksperimentalnog rada	115
4.4.1. <i>In silico</i> modelovanje	115
4.4.1.1. <i>In vitro</i> ispitivanje brzine rastvaranja klopido­grel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija pomoću aparature sa cilindrom sa povratnim kretanjem	115
4.4.1.2. Razvoj i validacija PBBM klopido­grel-specifičnog modela	117
4.4.1.3. Primena PBBM klopido­grel-specifičnog modela	120
5. ZAKLJUČAK	124
6. LITERATURA.....	129

UVOD

1. UVOD

Razvoj formulacija lekova je postao posebno izazovan zbog novih aktivnih supstanci koje imaju zahtevna fizičko-hemijska svojstva, potrebe farmaceutskih kompanija da se lekovi što pre plasiraju na tržište, kao i sve strožijih zahteva regulatornih tela. Najveći broj lekova na tržištu, više od 85% od ukupnog broja su lekovi za peroralnu primenu (Iyer i sar., 2021). Na apsorpciju aktivnih supstanci iz peroralno primenjenih preparata mogu uticati fizičko-hemijska svojstva aktivne supstance, karakteristike farmaceutskog oblika i fiziološki faktori na mestu apsorpcije. Razmatranje svih navedenih svojstava je neophodno tokom izbora formulacije i karakterizacije leka, u cilju postizanja najbolje biološke raspoloživosti aktivne supstance. Tokom razvoja novih formulacija lekova, jedan od najvećih izazova je slaba rastvorljivost aktivne supstance, što utiče na njenu brzinu rastvaranja i posledično bioraspoloživost nakon peroralne primene (Coty i sar., 2020). Preko 40% aktivnih supstanci, koje se koriste u terapiji i preko 60% onih koji se nalaze u nekoj od faza istraživanja, spada u grupu slabo rastvorljivih aktivnih supstanci (De Mohac i sar., 2020). Da bi peroralno primenjena aktivna supstanca ispoljila svoje delovanje, ona se prvo mora osloboditi iz farmaceutskog oblika i rastvoriti u gastrointestinalnom traktu (GIT), apsorbovati kroz crevni epitel i doći u sistemsku cirkulaciju. Ukoliko se radi o slabo rastvorljivoj aktivnoj supstanci, prvi korak će biti ograničavajući, a koncentracija aktivne supstance u krvi, a samim tim i terapijski efekat će biti smanjen, ili će potpuno izostati. Rastvorljivost aktivnih supstanci koje se ponašaju kao slabe baze ili slabe kiseline zavisi od pH vrednosti medijuma, pa je potrebno poznavati rastvorljivost u fiziološkom rasponu pH vrednosti jer to može biti važan faktor koji utiče na apsorpciju iz GIT.

Postoje različiti pristupi za povećanje rastvorljivosti aktivnih supstanci, kao što su građenje soli, formiranje konjugata, ko-kristala i pro-lekova, građenje kompleksa sa ciklodesktrinima, formulacija nanokristala, nanosuspenzija, lipidnih formulacija, formulacija čvrstih disperzija (Bennet-Lenane i sar., 2020; Malkawi i sar., 2022; Nyamba i sar., 2024). Izbor metode za povećanje rastvorljivosti zavisi od fizičko-hemijskih karakteristika aktivne supstance, odabranih pomoćnih supstanci i dostupne opreme za izradu/proizvodnju, a svaka od metoda ima svoje prednosti i nedostatke. U poređenju sa ostalim pristupima, formulacija čvrstih disperzija je posebno aktuelna poslednjih godina, što se može videti iz značajnijeg porasta broja odobrenih lekova od strane regulatornih tela koji sadrže čvrste disperzije (slika 1.1).



Slika 1.1. Metode poboljšanja rastvorljivosti aktivnih supstanci u lekovima sa dozvolom, za period 2000-2020. godina (preuzeto i prilagođeno iz Iyer i sar., 2021)

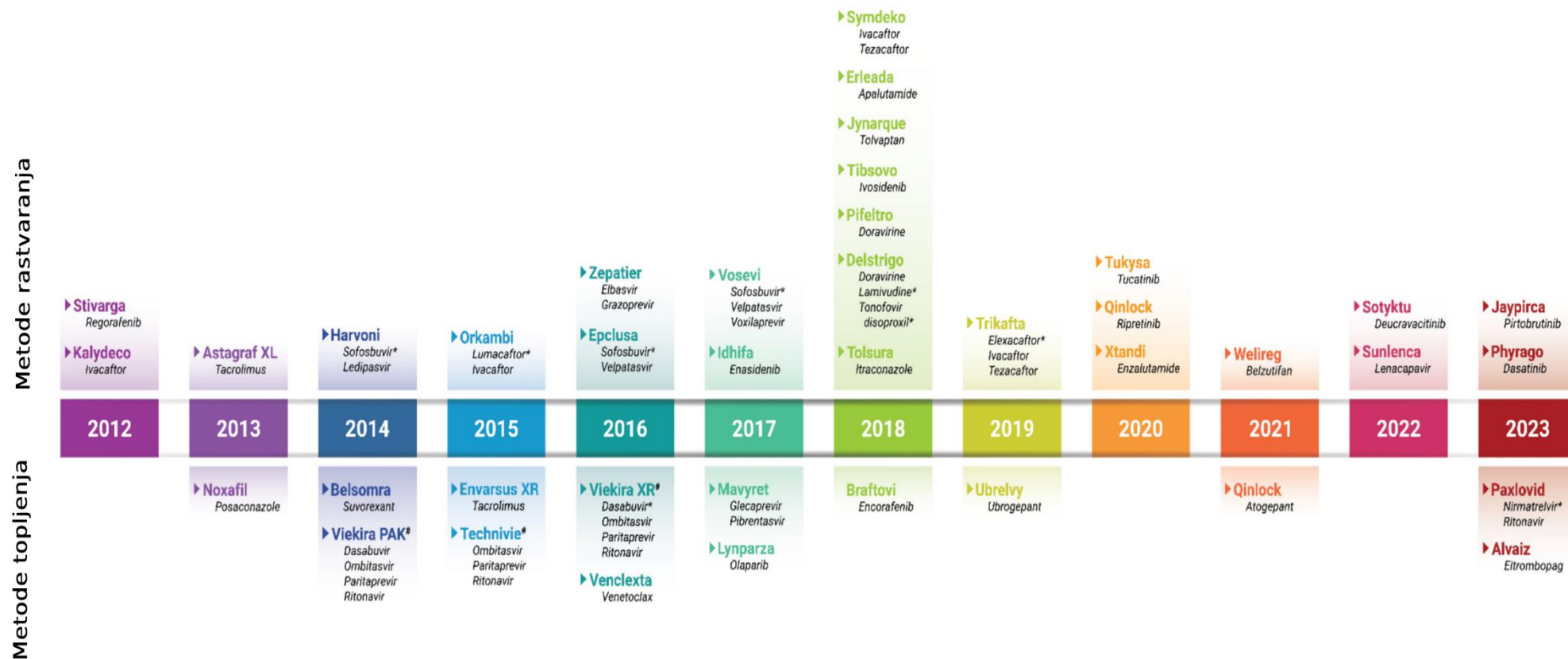
Na globalnom nivou, u periodu od 2012-2023. godine 48 lekova, koji sadrže čvrste disperzije, dobilo je dozvolu za lek (slika 1.2 i tabela 1.1). Prosečno su 4 leka godišnje dobijala dozvolu za lek, a 2018. godine je čak 8 lekova plasirano na tržište. Od navedenih lekova, najviše su zastupljene tablete (oko 75%), zatim kapsule, pelete, granule, praškovi za oralnu suspenziju i granule za oralnu suspenziju. Oko 80% registrovanih lekova sa čvrstim disperzijama sadrže slabo rastvorljive aktivne supstance, koje pripadaju grupama II ili IV Biofarmaceutskog sistema klasifikacije (engl. *Biopharmaceutics Classification System*, skr. BCS, skr. srp. BSK) (Moseson i sar., 2024). Ostalih 20% registrovanih lekova sa čvrstim disperzijama sadrže aktivne supstance koje pripadaju BSK grupama I i III, što ukazuje da loša rastvorljivost aktivnih supstanci nije jedini razlog za izbor čvrstih disperzija kao formulacionog pristupa. Dodatni razlozi su smanjenje terapijske doze aktivne supstance, bolja bioraspoloživost, kao i mogućnost inkorporiranja velikih doza aktivne supstance u farmaceutski oblik. Inkorporiranje visokih doza ima i svoje nedostatke jer su potrebni visoki udeli ekscipijenasa za povećanje brzine rastvaranja i bioraspoloživosti, što dovodi do problema prilikom odabira finalnog farmaceutskog oblika. Za određene aktivne supstance, koje su u čvrstim disperzijama u amorfnom stanju, potrebne su manje doze za postizanje terapijskog efekta u poređenju sa kristalnim oblikom. Smanjenje doze doprinosi smanjenju troškova proizvodnje, smanjuju se neželjeni efekti i povećava komplijansa pacijenta zbog jednostavnije primene (Bennett-Lenane i sar., 2020). Takođe, primenom čvrstih disperzija se mogu eliminisati problemi rastvorljivosti i stabilnosti određenih kristalnih supstanci zbog polimornog prelaza iz jednog oblika u drugi (Chiang i sar., 2023). Čvrste disperzije mogu eliminisati uticaj hrane, pH vrednosti ili lek-lek interakcija na apsorpciju aktivne supstance (Larfors i sar., 2023; Wu i sar., 2024). Jedan od takvih primera su tablete Phyrago® (Nanocopoeia), koje sadrže čvrstu disperziju sa dasatinibom, čijom formulacijom se sprečavaju lek-lek interakcije (sa inhibitorima protonske pumpe) i uticaj promene pH vrednosti u želucu na efikasnost terapije. Lek je dobio dozvolu 2023. godine, a predstavlja reformulaciju leka Sprycel® (Bristol-Myers Squibb) koji je sadržavao dasatinib u kristalnom obliku. Ova reformulacija je urađena kako bi se sprečilo smanjenje efikasnosti koje se dešavalo kada se Sprycel® primenjivao zajedno sa inhibitorima protonske pumpe, koji smanjuju pH vrednost u želucu i na taj način smanjuju rastvorljivost, apsorpciju i bioraspoloživost dasatiniba, zbog njegove pH-zavisne rastvorljivosti (Larfors i sar., 2023; Wertz i sar., 2022).

Sotyktu® (Bristol Myers Squibb) je prvi lek, koji je dobio dozvolu za stavljanje na tržište 2022. godine, sa čvrstom disperzijom koja sadrži aktivnu supstancu deukravakitinib sa deuterijumom tzv. deuterisani lek (engl. *deuterated drug*). Zamena vodonika sa deuterijumom je prvi put upotrebljena zbog bolje stabilnosti aktivne supstance, a zatim su primećena poboljšanja farmakokinetičkih parametara koja bi mogla imati pozitivan uticaj na bezbednost i efikasnost leka. Značaj deuterisanih lekova je u porastu i najmanje petnaest aktivnih supstanci se nalazi u fazi kliničkih ispitivanja (Di Martino i sar., 2023).

Među registrovanim lekovima sa čvrstim disperzijama se nalaze i oni koji sadrže više aktivnih supstanci. Primeri takvih lekova su Technivie® (AbbVie) koji sadrži tri aktivne supstance u amorfnom obliku (ombitasvir, paritaprevir i ritonavir), dok Viekira® PAK (AbbVie) i Viekira® XR (AbbVie) pored navedene tri aktivne supstance u amorfnom obliku sadrže i aktivnu supstancu dasabuvir u kristalnom obliku. Epclusa® (Gilead Sciences) sadrži aktivne supstance u kristalnom (sofosbuvir) i amorfnom obliku (velpatasfir), dok je kod leka Vosevi® (Gilead Sciences) uključena i dodatna aktivna supstanca u amorfnom obliku (voksilaprevir).

Određeni gotovi lekovi sa čvrstim disperzijama u zajedničkom pakovanju imaju tablete sa različitim aktivnim supstancama. Ovakva primena omogućava prilagođavanje terapijske doze pacijentu, bolju efikasnost zahvaljujući sinergističkom delovanju aktivnih supstanci i jednostavniju primenu za pacijenta. Trikafta® (Vertex) u jednoj tableti sadrži tri aktivne supstance (eleksakaftor, ivakaftor i tezakaftor), dok u drugoj tableti sadrži aktivnu supstancu (ivakaftor). Trikafta® (Vertex) je registrovan u obliku granula za oralnu primenu, spakovanih u kesice, za primenu kod dece.

Doze aktivnih supstanci u registrovanim lekovima su u rasponu od < 5 mg do 300 mg, s tim da najveći broj lekova ima doze aktivne supstance ≤ 100 mg (Mosseson i sar., 2023). Zbog visokih terapijskih doza, određeni lekovi koji sadrže čvrste disperzije moraju biti primenjeni u više doza ili više tableta u jednoj dozi. Ovo se dešava jer su tablete i kapsule ograničene masom i dimenzijama i usled visoke doze aktivne supstance i udela nosača dolazi do povećanja mase tablete i/ili povećavanja broja tableta za obezbeđivanje terapijske doze (Frank i sar., 2023). Lekovi kao što su, na primer, Braftovi[®] (Array), Norvir[®] (AbbVie) i Noxafil[®] (Merck) imaju terapijske doze koje zahtevaju primenu od 6-12 tableta dnevno, što utiče na komplijansu pacijenta. Veća fleksibilnost doza se postiže primenom peleta, granula, praškova i granula za oralnu suspenziju, jer nisu ograničene masom farmaceutskog oblika, kao što je to slučaj sa tabletama i kapsulama.



Slika 1.2. Lekovi sa čvrstim disperzijama koji su dobili dozvolu za lek, u periodu 2012-2023. godina (preuzeto i prilagođeno iz Moseson i sar., 2024)

Tabela 1.1. Lekovi registrovani na svetskom tržištu od 2018-2023. godine, koji sadrže čvrste disperzije (Moseson i sar., 2024)

Zaštićeni naziv (Proizvođač)	Aktivna supstanca	Polimer	Farmaceutski oblik	Doza (mg)	Metoda izrade	Godina	Terapijsko delovanje
Alvaiz [®] (Teva)	eltrombopag	PVP/VA	tablete	9; 18; 36; 54	ekstruzija topljenjem	2023	Agonist trombopoetinskih receptora
Braftovi [®] (Array)	enkorafenib	PVP/VA	kapsule	50; 75	ekstruzija topljenjem	2018	Inhibitor proteinske kinaze
Delstrigo [®] (Merck)	doravirin/lamivudin/ tenofovir disoproksil- fumarat	HPMCAS	tablete	100/300/300	sušenje raspršivanjem	2018	Antivirotik
Epclusa [®] (Gilead Sciences)	sofosbuvir/ velpatasvir	PVP/VA	pelete	150/37,5; 200/50	sušenje raspršivanjem	2019	Antivirotik
Erleada [®] (Janssen)	apalutamid	HPMCAS	tablete	60; 240	sušenje raspršivanjem	2018	Inhibitor androgenog receptora
Harvoni [®] (Gilead Sciences)	ledipasvir/sofosbuvir	PVP/VA	pelete	33,75/1500; 45/200	sušenje raspršivanjem	2019	Antivirotik
Jaypirca [®] (Loxo Oncology)	pirtobrutinib	HPMACS	tablete	50;100	sušenje raspršivanjem	2023	Inhibitor tirozin kinaze
Jynarque [®] (Otsuka)	tolvaptan	HPC	tablete	15; 30; 45; 60; 90	sušenje raspršivanjem	2018	Antagonist vazopresinskih V2 receptora
Mavyret [®] (AbbVie)	glekaprevir/ pibrentasvir	PVP/VA	pelete	50/20	ekstruzija topljenjem	2021	Antivirotik
Noxafil [®] (Merck)	posakonazol	HPMCAS	prašak za oralnu suspenciju granule	300	ekstruzija topljenjem	2021	Antimikotik
Orkambi [®] (Vertex)	lumakaftor/ivakaftor	HPMCAS		75/94; 100/125; 150/188	sušenje raspršivanjem	2018	Antagonist endotelinskih receptora/ Stimulator transmembranskog regulatora provodljivosti kod cistične fibroze
Paxlovid [®] (Pfizer)	nilmatrelvir/ritonavir	PVP/VA	tablete	150/100	ekstruzija topljenjem	2023	Antivirotik

Tabela 1.1. Lekovi registrovani na svetskom tržištu od 2018-2023. godine, koji sadrže čvrste disperzije (Moseson i sar., 2024) (*nastavak*)

Zaštićeni naziv (Proizvođač)	Aktivna supstanca	Polimer	Farmaceuts ki oblik	Doza (mg)	Metoda izrade	Godina	Terapijsko delovanje
Phyrago® (Nanocopoeia)	dasatinib	metakrilna kiselina- etilaakrilat kopolimer	tablete	20; 50; 70; 80; 100; 140	elektroasprši- vanje	2023	Inhibitor kinaze
Prograf® (Astellas)	takrolimus	HPMC	granule za oralnu suspenciju	0,2; 1	granulacija uz korišćenje rastvarača	2018	Imunosupresivni inhibitor kalcineurina
Pifeltro® (Merck)	doravirin	HPMCAS	tablete	100	sušenje raspršivanjem	2018	Antivirotik
Qinlock® (Deciphera)	ripretinib	HPMCAS	tablete	50	sušenje raspršivanjem	2020	Inhibitor tirozin kinaze
Qulipta® (AbbVie)	atogepant	PVP/VA	tablete	10; 30; 60	ekstruzija topljenjem	2021	Inhibitori peptida povezanog s genom za kalcitonin (CGRP)
Sotyktu® (Bristol Myers Squibb)	deukravakitinib	HPMCAS	tablete	6	sušenje raspršivanjem	2022	Inhibitor tirozin kinaze 2
Sunlenca® (Gilead Sciences)	lenakapavir	PVP/VA	tablete	300	sušenje raspršivanjem	2022	Antivirotik
Symdeco® (Vertex)	ivakaftor/tezakaftor + ivakaftor	ivakaftor- HPMACS; tezakaftor- HPMC	tablete	1 tableta 75/50 + 1 tableta 75; 1 tableta 150/100 + 1 tableta 150	sušenje raspršivanjem	2018	Stimulatori transmembranskog regulatora provodljivosti kod cistične fibroze
Tibsovo® (Servier)	ivosidenib	HPMCAS	tablete	250	sušenje raspršivanjem	2018	Inhibitor izocitrat dehidrogenaze
Tolsura® (Mayne)	itrakonazol	HPMCP	kapsule	65	sušenje raspršivanjem	2018	Antimikotik
Trikafta® (Vertex)	eleksakaftor/ivakaftor /tezakaftor + ivakaftor	ivakaftor- HPMACS; tezakaftor- HPMC	tablete	1 tableta 50/37,5/25 + 1 tableta 75; 1 tableta 100/75/50 + 1 tableta 150	sušenje raspršivanjem	2019	Antagonist endotelinskih receptora/ Stimulatori transmembranskog regulatora provodljivosti kod cistične fibroze
Trikafta® (Vertex)	eleksakaftor/ivakaftor /tezakaftor + ivakaftor	ivakaftor- HPMACS; tezakaftor- HPMC	granule	1 tableta 80/60/40 + 1 tableta 59,5; 1 tableta 100/75/50 + 1 tableta 75	sušenje raspršivanjem	2023	Antagonist endotelinskih receptora/ Stimulatori transmembranskog regulatora provodljivosti kod cistične fibroze

Tabela 1.1. Lekovi registrovani na svetskom tržištu od 2018-2023. godine, koji sadrže čvrste disperzije (Moseson i sar., 2024) (*nastavak*)

Zaštićeni naziv (Proizvodač)	Aktivna supstanca	Polimer	Farmaceuts ki oblik	Doza (mg)	Metoda izrade	Godina	Terapijsko delovanje
Tukysa® (Seagen)	tukatinib	PVP/VA	tablete	50; 150	sušenje raspršivanjem	2020	Inhibitor tirozin kinaze
Ubrelyvy® (AbbVie)	ubrogepant	PVP/VA	tablete	50; 100	ekstruzija topljenjem	2019	Oralni antagonist peptida povezanog s genom za kalcitonin (CGRP)
Welireg® (Merck)	belzutifan	HPMCAS	tablete	40	sušenje raspršivanjem	2021	Inhibitor HIF-2 α faktora
Xtandi® (Astellas)	enzalutamid	HPMCAS	tablete	40; 80	sušenje raspršivanjem	2020	Inhibitor androgenog receptora

Skraćenice u Tabeli 1.1:

PVP/VA - povidon-vinilacetat kopolimer (kopovidon)

HPMC - hipromeloza

HPMCAS - hipromeloza-acetatsukcinat

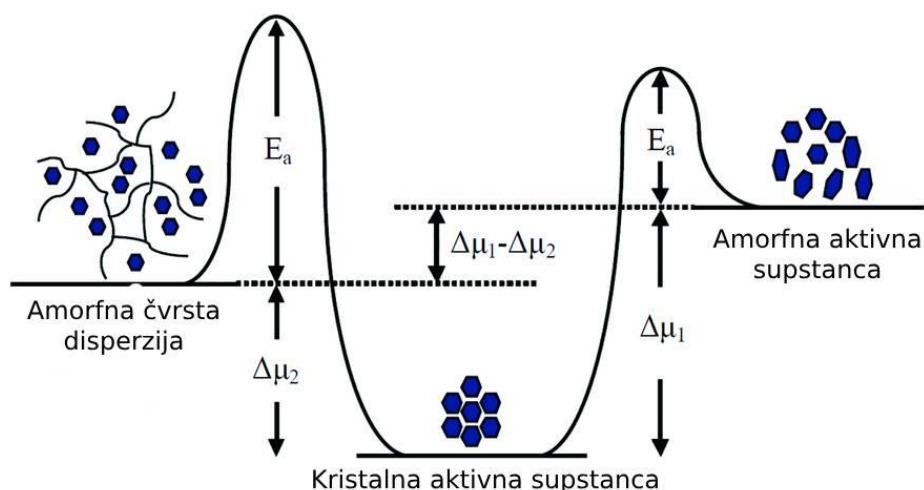
PEG - makrogol

HPC – hidroksipropilceluloza

PVP - povidon

1.1. Čvrste disperzije

Formulacija čvrstih disperzija je jedan od aktuelnih pristupa za povećanje rastvorljivosti i brzine rastvaranja slabo rastvorljivih aktivnih supstanci, koji se danas široko koristi u farmaceutskoj industriji, zbog jednostavnosti formulacija i postupaka proizvodnje (Baumgartner i sar., 2024; Pisay i sar., 2024; Qiu i sar., 2024; Yun i sar., 2024). Čvrste disperzije se mogu definisati kao disperzije jedne ili više aktivnih supstanci u odgovarajućem nosaču, koji je u čvrstom stanju, dobijene metodom topljenja, metodom rastvaranja ili kombinacijom ove dve metode (Chiou i Riegelman, 1971). Mehanizmi kojima se može objasniti poboljšanje rastvorljivosti slabo rastvorljive aktivne supstance u čvrstim disperzijama su njen prelazak iz kristalnog u amorfni oblik, smanjenje veličine čestica, smanjenje aglomeracije čestica, poboljšano kvašenje i solubilizacija aktivne supstance, formiranje međumolekulskih veza između molekula aktivne supstance i nosača i povećana poroznost čvrstih disperzija (Almeida i sar., 2024; Malkawi i sar., 2022; Patel i sar., 2022; Sokač i sar., 2024). Cilj izrade čvrstih disperzija je da se obezbedi prelazak aktivne supstance iz kristalnog oblika u amorfni ili dobijanjem uniformne disperzije kristalne aktivne supstance unutar nosača (Iyer i sar., 2021). Unutar čvrste disperzije može doći do razdvajanja faza, što podrazumeva da se formiraju zone u kojima se nalazi veća koncentracija aktivne supstance (zone bogate aktivnom supstancom) i zone u kojima se nalazi veća koncentracija nosača (zone bogate nosačem). Zone bogate aktivnom supstancom su podložnije rekristalizaciji, jer zbog manjeg udela nosača ne dolazi do izražaja njegov inhibitorski efekat na rekristalizaciju i stabilizaciju aktivne supstance (Malkawi i sar., 2022). Povećana izloženost vlažnosti tokom skladištenja čvrstih disperzija može povećati rizik od razdvajanja faza. Kristalni oblik aktivne supstance poseduje bolju fizičko-hemijsku stabilnost u poređenju sa amorfnim oblikom. Nasuprot tome, amorfni oblik poseduje veću molekularnu mobilnost i drugačija termodinamička svojstva, kao što su veća entalpija i slobodna energija sistema, što poboljšava rastvorljivost i bioraspoloživost, ali su uzrok fizičke nestabilnosti i njegove težnje da pređe u stabilniji kristalni oblik. Energija aktivacije (E_a) je energija koja je potrebna da bi došlo do rekristalizacije aktivne supstance, i zbog toga što je ona mnogo veća kod čvrstih disperzija u poređenju sa amorfnom aktivnom supstancom, čvrste disperzije imaju veću stabilnost (slika 1.3). Ova energija zavisi od razlike slobodne energije između amornog i kristalnog oblika aktivne supstance i nastalih međumolekulskih interakcija. U čvrstim disperzijama se smanjuje hemijski potencijal aktivne supstance i približava se hemijskom potencijalu kristalnog oblika, što doprinosi stabilnosti čvrstih disperzija (slika 1.3).



$\Delta\mu$ - hemijski potencijal

E_a - energija aktivacije (barijera za kristalizaciju)

Slika 1.3. Shematski prikaz energije amornog oblika aktivne supstance, kristalnog oblika aktivne supstance i amorfne čvrste disperzije (preuzeto i prilagođeno iz Luo i sar., 2021)

1.1.1. Nosači za izradu/proizvodnju čvrstih disperzija

Nosači za izradu/proizvodnju čvrstih disperzija se biraju na osnovu fizičko-hemijskih osobina aktivne supstance, planiranog postupka izrade/proizvodnje, kao i ciljnih osobina čvrstih disperzija. Nosači, osim što omogućavaju nastanak čvrstih disperzija, mogu imati različite funkcije, kao što su poboljšanje kvašenja aktivne supstance, smanjenje veličine čestica, sprečavanje rekristalizacije aktivne supstance, poboljšanje brzine rastvaranja i poboljšanje fizičke stabilnosti omogućavanjem mešanja aktivne supstance i nosača na molekulskom nivou i formiranjem međumolekulskih interakcija (Chavan i sar., 2019; Pandi i sar., 2020; Zhang i sar., 2023). Odabrani nosač mora biti i bezbedan za upotrebu (engl. *Generally Regarded As Safe*, skr. GRAS), ali i primenjen u formulaciji u okviru dozvoljenih koncentracija (McKelvey i Kesisoglou, 2019). Izbor odgovarajućeg nosača ključan je za osiguravanje željenih osobina čvrstih disperzija.

Postoje različite vrste nosača, koji se mogu koristiti za dobijanje čvrstih disperzija (Alshehri i sar., 2020; Bhujbal i sar., 2021):

- Kiseline: limunska, vinska, sukcinna, mlečna kiselina
- Šećeri i šećerni alkoholi: glukoza, laktoza, maltoza, galaktoza, manoha, dekstroza, sorbitol, manitol, ksilitol
- Polimeri: makrogoli (polietilenglikoli; PEG), povidon (polivinilpirolidon; PVP), unakrsno vezani povidon (krospovidon), polivinilpirolidon-vinilacetat kopolimer (PVP/VA); polietilenglikol-polivinilkarbamat-polivinilacetat kalemljeni (graft) kopolimer (Soluplus[®], BASF, Nemačka), derivati celuloze (hidroksipropilceluloza (HPC), hipromeloza hidroksipropilmetilceluloza; HPMC), hipromeloza-ftalat (HPMCP), hipromeloza-acetatsukcinat (HPMCAS)), derivati poliakrilne i polimetakrilne kiseline (Eudragit[®]-i, Evonic Health Care, Nemačka)
- Površinski aktivne materije: poloksameri, polioksietilen sukcinat, sorbitanski estri (Span[®]-ovi, Croda International Plc, Velika Britanija), polisorbati (Tween[®]-ovi, Croda International Plc, Velika Britanija), lauroil makrogol-32 gliceridi (Gelucire[®] 44/14, Gattefossé, Francuska), natrijum-laurilsulfat (SLS)

- Ostalo: urea, gume (tragakanta, arapska guma, guar guma), hidroksialkil-ksanteni, dikalcijum-fosfat, silicijum-dioksid

Polimeri su danas najčešće korišćeni nosači u čvrstim disperzijama. Izabrani polimer bi trebao da obezbedi homogeno dispergovanje i stabilizaciju amorfne aktivne supstance u čvrstoj disperziji, da poboljša rastvorljivost i brzinu rastvaranja i bioraspoloživost aktivne supstance. Takođe, polimer treba da spreči rekristalizaciju aktivne supstance tokom izrade/proizvodnje i roka upotrebe (Pandi i sar., 2020; Zhang i sar., 2023).

Prilikom izrade čvrstih disperzija dolazi do uklapanja aktivne supstance unutar komplikovane trodimenzionalne mreže proteinskih lanaca, njenog vezivanja različitim međumolekulskih vezama i smanjenja molekulske mobilnosti (Budiman i sar., 2023). Kao rezultat toga, kristalni oblik aktivne supstance prelazi u amorfni, a polimerni lanci deluju kao inhibitori kristalizacije, omogućavajući očuvanje amornog oblika aktivne supstance unutar čvrste disperzije. Amorfni oblik je zbog svojih termodinamičkih osobina manje stabilan, ima veću slobodnu energiju i teži da pređe u stabilniji kristalni oblik (slika 1.3). Rekristalizacija amornog oblika aktivne supstance je proces koji se sastoji iz dve faze, faze nukleacije i faze rasta kristala (Baghel i sar., 2016). Da bi došlo do nukleacije, mora se postići određena energija aktivacije (E_a) koja mora nadvladati međupovršinski napon između čestica. Polimeri u čvrstim disperzijama smanjuju međupovršinski napon tako što formiraju međumolekulske interakcije što inhibira nukleaciju i rast kristala. Polimeri treba da spreče rekristalizaciju aktivne supstance kako u čvrstom stanju, tako i prilikom rastvaranja, kada nastaju zone sa prezasićenim rastvorom aktivne supstance, koji teži rekristalizaciji (Baghel i sar., 2016). Polimeri u čvrstim disperzijama povećavaju i viskozitet sistema prilikom rastvaranja što smanjuje kretanje molekula aktivne supstance i na taj način sprečava rast kristala. Mosquera-Giraldo i sar. (2018) su istraživali uticaj pet različitih polimera derivata celuloze (sa kratkim bočnim lancima, dužim bočnim lancima, razgranatim i nerazgranatim bočnim lancima, karboksilnom ili alkoholnom grupom na kraju lanca) na inhibiciju rekristalizacije devet aktivnih supstanci (ritonavir, nifedipin, celekoksib, atazanavir, nevirapin, ezetimib, telaprevir, grizeofulvin i danazol) u čvrstim disperzijama. Najefikasniji u sprečavanju rekristalizacije aktivne supstance bili su derivati celuloze sa kratkim bočnim lancem i jednom karboksilnom grupom na kraju lanca, dok su polimeri sa dužim bočnim lancem i dve karboksilne grupe na kraju lanca bili manje efikasni. Baghel i sar. (2018) su pokazali da hidrofobne interakcije između aktivne supstance i polimera mogu inhibirati kristalizaciju nimodina. U ovoj studiji su kao polimeri u čvrstim disperzijama korišćeni poliakrilna kiselina i povidon. Mnogo jače interakcije i inhibicija kristalizacije nimodina su detektovane kod čvrstih disperzija koje su sadržavale poliakrilnu kiselinu.

Može se zaključiti da je mehanizam kojim se postiže inhibicija rekristalizacije aktivne supstance nastanak međumolekulskih interakcija između aktivne supstance i polimera, kao što su van der Valsove interakcije, jonske veze, vodonične veze, elektrostatičke interakcije i hidrofobne interakcije. Ove interakcije sprečavaju mobilnost molekula aktivne supstance i na taj način stabilizuju amorfni oblik aktivne supstance unutar čvrste disperzije sprečavajući njegovu rekristalizaciju (Bookwala i sar., 2022; Budiman i sar., 2023; Lalge i sar., 2023; Shi i sar., 2022).

Smatra se da su povoljne fizičko-hemijske osobine polimera za inhibiranje kristalizacije srednji stepen hidrofobnosti/hidrofilnosti i velika amfifilnost, uz prisustvo dovoljnog broja jonizovanih grupa (Iyer i sar., 2021). Stepenn hidrofobnosti/hidrofilnosti polimera utiče i na brzinu rastvaranja aktivne supstance iz čvrstih disperzija. Li i sar. (2013) su istraživali uticaj polimera (HPMCAS i PVP) na brzinu rastvaranja kvercetina. Pokazano je da HPMCAS, kao polimer sa niskom hidrofilnošću, dovodi do sporijeg i nekompletnog rastvaranja kvercetina iz čvrste disperzije, u poređenju sa čvrstom disperzijom sa PVP, kao hidrofilnijim polimerom.

Velika molekulska masa polimera može uzrokovati sporo oslobađanje aktivne supstance iz čvrste disperzije, zbog velikog viskoziteta difuzionog sloja, koji nastaje u kontaktu polimera sa

medijumom (Browne i sar., 2020). Sporije oslobađanje može biti pozitivno sa aspekta stabilnosti čvrstih disperzija i sprečavanja rekristalizacije aktivne supstance jer ne dolazi do nastanka prezasićenog rastvora aktivnom supstancom koje može biti inicijator nukleacije i rasta kristala (Sun i Lee, 2015). U isto vreme, stvaranje i održavanje stanja prezasićena je važan mehanizam kojim se objašnjava povećanje biološke raspoloživosti lekovitih supstanci primenom čvrstih disperzija. Termodinamički i kinetički pristupi za održavanje prezasićenja se često označavaju u literaturi kao fenomen opruge i padobrana („spring and parachute“).

Anti-plastifikacija se, sa termodinamičke tačke gledišta, može objasniti kao povećanje temperature staklastog prelaza (T_g) čvrstih disperzija, čime se povećava energija aktivacije čvrste disperzije, što sprečava rekristalizaciju aktivne supstance i dolazi do njenog stabiliziranja. Mešanjem aktivne supstance i polimera različitih T_g na molekulskom nivou (na primer, aktivna supstanca sa niskom vrednošću T_g i polimer sa visokom vrednošću T_g) će dovesti do nastanka čvrste disperzije sa vrednošću T_g koja je između vrednosti T_g pojedinačnih supstanci (Iyer i sar., 2021). Zbog toga je odabir polimera koji ima visoku T_g važan za stabilnost čvrstih disperzija jer će osigurati višu T_g čvrstih disperzija, smanjiti mobilnost molekula i sprečiti rekristalizaciju aktivne supstance (Baghel i sar., 2016).

Kako je ranije navedeno, najčešći polimeri za izradu/proizvodnju čvrstih disperzija su: makrogoli, povidon, unakrsno vezani povidon (krospovidon), polivinilpirolidon-vinilacetat kopolimer; polietilenglikol-polivinilkarbamat-polivinilacetat kalemljeni (graft) kopolimer (Soluplus[®], BASF, Nemačka), derivati celuloze (hidroksipropilceluloza, hipromeloza, hipromeloza-ftalat, hipromeloza-acetatsukcinat), (derivati poliakrilne i polimetakrilne kiseline (Eudragit[®]-i, Evonic Health Care, Nemačka).

Makrogoli su semi-kristalni polimeri sa kristalnim i amornim segmentima. Mogu biti različitih molekulskih masa (200-300000 g/mol), što utiče na njihove fizičko-hemijske osobine. Imaju nisku tačku topljenja (oko 55-68 °C) i niske T_g , koje zavise od molekulske mase. Dobro se rastvaraju u većini organskih rastvarača. Iako se koriste za izradu čvrstih disperzija, najveći problem je fizička nestabilnost čvrstih disperzija izrađenih sa ovim polimerima, što ograničava njihovu veću primenu. Jedan od mogućih razloga manje stabilnosti čvrstih disperzija sa makrogolima je niska T_g polimera. Makrogoli ponašaju kao plastifikatori, pa dobijene čvrste disperzije mogu imati strukturu sličnu vosku, što može stvarati poteškoće tokom izrade čvrstih disperzija (Nair i sar., 2020).

Povidon (PVP) je sintetski, hidrofilni, amorfni polimer sa prosečnom molekulskom masom od 10000 do 120000. Karakteriše ga K-broj, koji je uobičajeno deo zaštićenog imena polimera, a zavisi od molekulske mase, stepena polimerizacije i viskoziteta vodenog rastvora (Nair i sar., 2020). Povidon je veoma higroskopan prašak. Lako je rastvorljiv u kiselinama, hloroformu, etanolu 95% (v/v), ketonima, metanolu i vodi. Zbog visoke T_g ne preporučuje se izrada čvrstih disperzija metodom topljenja. Zbog dobre rastvorljivosti u većini organskih rastvarača, pogodan je za izradu čvrstih disperzija metodom rastvaranja. Povidon u čvrstim disperzijama poboljšava rastvorljivost i brzinu rastvaranja slabo rastvorljive aktivne supstance (Zhang i sar., 2023). Ispitivanja čvrstih disperzija silimarina sa PVP K-17 su pokazala da dolazi do značajnog povećanja brzine rastvaranja i bioraspoloživosti navedene aktivne supstance (Yang i sar., 2015). Smatra se da su međumolekulske interakcije, najčešće vodonične veze, odgovorne za stabilnost čvrstih disperzija sa PVP, a da visoka T_g dodatno stabilizuje čvrstu disperziju. Kothari i sar. (2015) su pokazali da vodonične veze između nifedipina i PVP stabilišu čvrstu disperziju smanjenjem molekulske mobilnosti i sprečavanjem rekristalizacije aktivne supstance. Mohapatra i sar. (2017) su pokazali da se s povećanjem molekulske mase PVP smanjuje molekulska mobilnost indometacina i povećava inhibitorni efekat na rekristalizaciju aktivne supstance. Međutim, Pacult i sar. (2018) navode da sa povećanjem molekulske mase PVP (korišćeni su K-10, K-30 i K-90) dolazi do smanjenja inhibicije rekristalizacije bikalutamida. Na osnovu navedenih podataka se može zaključiti da na stabilizaciju

čvrstih disperzija sa PVP utiče više faktora, a na osnovu molekulske mase polimera ne može se predvideti kakva će biti stabilnost čvrstih disperzija. Takođe, velika molekulska masa PVP može da smanji brzinu rastvaranja aktivne supstance iz čvrstih disperzija, jer se povećava viskozitet i stepen bubrenje polimera, što sprečava difuziju molekula aktivne supstance u rastvor (Nair i sar., 2020).

Polivinilpirolidon-vinilacetat kopolimer (kopovidon) (PVP/VA) je sintetski kopolimer nastao polimerizacijom vinil-pirolidona i vinil-acetata (Sheskey, 2017). Ima značajne prednosti u odnosu na PVP, jer je manje higroskopan, ima T_g oko 100 °C i stabilan je na temperaturama do 230°C. Rastvorljiv je u većini organskih rastvarača, pa je pogodan za izradu čvrstih disperzija metodama topljenja i rastvaranja (Zhang i sar., 2023). Smatra se da je glavni mehanizam za poboljšanje brzine rastvaranja aktivnih supstanci iz čvrstih disperzija sa PVP/VA postizanje molekulskog dispergovanja amorfnе aktivne supstance. Za stabilnost čvrstih disperzija odgovorne su međumolekulske interakcije između funkcionalnih grupa polimera i aktivne supstance. Visoka T_g kopovidona utiče na to da je i T_g nastale čvrste disperzije dovoljno velika da osigura dobru stabilnost čvrstih disperzija. Primeri aktivnih supstanci sa niskom T_g , kao što su klotrimazol (T_g 30 °C) i nifedipin (T_g 45 °C), su u čvrstim disperzijama sa kopovidonom pokazale prihvatljivu stabilnost (Lamm i sar., 2012; Yang i sar., 2016).

Polietilenglikol-polivinilkaprolaktam-polivinilacetat kalemljeni (graft) kopolimer (Soluplus[®], BASF, Nemačka) je polimer velike molekulske mase (90000-140000 g/mol), relativno niske T_g (72 °C), stabilan na visokim temperaturama (do 250 °C). Manje je higroskopan od PVP i PVP/VA, što pozitivno utiče na stabilnost čvrstih disperzija, posebno u uslovima visoke vlažnosti vazduha. S obzirom da je amfifilna supstanca, ima sposobnost solubilizacije slabo rastvorljivih supstanci (Alopaeus i sar., 2019; Tian i sar., 2018; Zhang i sar., 2017).

Derivati celuloze koji se koriste u izradi čvrstih disperzija su etri i estri celuloze, koji su lako ili umereno rastvorljivi u vodi, kao što su hidroksipropilceluloza (HPC), hipromeloza (HPMC), hipromeloza-ftalat (HPMCP), hipromeloza-acetatsukcinat (HPMCAS).

Hidroksipropilceluloza (HPC) je nejonski polusintetski etar celuloze, različite dužine lanaca, sa dobrim termoplastičnim osobinama, niskog viskoziteta kada je u otopljenom stanju (Bachmeier i sar., 2021). Zbog svojih osobina pogodan je za izradu čvrstih disperzija metodom ekstruzije topljenjem. Garcia-Rodriguez i sar. (2011) su pokazali da su čvrste disperzije mebendazola sa HPC dovele do povećanja brzine rastvaranja aktivne supstance, u poređenju sa kristalnom aktivnom supstancom. Takođe, farmakodinamičke studije su pokazale poboljšanje antiparazitnog delovanja kada je mebendazol primenjen u obliku čvrste disperzije, u poređenju sa aktivnom supstancom.

Hipromeloza (HPMC) je nejonski hidrofilni derivat celuloze koji se često koristi za izradu čvrstih disperzija. Kako ne postoji razlika između T_g i temperature degradacije ovog polimera, kao i zbog visokog viskoziteta kada se nalazi u otopljenom stanju, HPMC nije pogodan polimer za izradu čvrstih disperzija metodom ekstruzije topljenjem i uglavnom se koristi za izradu čvrstih disperzija metodom rastvaranja i metodom sušenja raspršivanjem (Nair i sar., 2020). Osnovni mehanizam povećanja brzine rastvaranja aktivnih supstanci iz čvrstih disperzija sa HPMC je formiranje amorfnog oblika aktivne supstance, uz stabilizaciju čvrstih disperzija inhibiranjem rekristalizacije aktivne supstance. Xie i sar. (2016) su pokazali da je u čvrstim disperzijama celekoksiba HPMC imao inhibitorski efekat na precipitaciju i rast kristala. Zahvaljujući visokoj T_g čvrste disperzije sa HPMC su uglavnom stabilne na sobnoj temperaturi. Zbog toga što HPMC sadrži i hidrofilne i lipofilne grupe u molekuli, ima dobru sposobnost mešanja sa velikim brojem aktivnih supstanci (Chavan i sar., 2019).

Hipromeloza-acetatsukcinat (HPMCAS) predstavlja amorfnі polimer koji je nastao esterifikacijom HPMC. U zavisnosti od broja slobodnih grupa postoje tri tipa HPMCAS (L, M i H). HPMCAS ima T_g od 120 °C i stabilan je na visokim temperaturama (do 270 °C), pa je polimer pogodan za izradu

metodom ekstruzije topljenjem. Zbog rastvorljivosti u većini organskih rastvarača može se koristiti u izradi čvrstih disperzija metodom rastvaranja (Nair i sar., 2020). HPMCAS ima tendenciju za građenje jakih međumolekulskih interakcija, koje stabiliziraju čvrste disperzije i deluju inhibitory na rekristalizaciju aktivne supstance (Butreddy, 2022). HPMCAS pokazuje pH-zavisnu rastvorljivost. Konno i Taylor (2008) su poredili uticaj vrste polimera (HPMC, HPMCAS i PVP) u čvrstim disperzijama na kristalizaciju i stabilnost felodipina. Kada su čvrste disperzije bile izložene prisustvu vlage, inhibiciju rekristalizacije felodibina i prihvatljivu stabilnost su pokazale čvrste disperzije sa HPMC i HPMCAS. Bolja stabilnost je postignuta korišćenjem manje higroskopskih polimera (HPMC, HPMCAS), u poređenju sa čvrstom disperzijom sa PVP.

Hipromeloza-ftalat (HPMCP) je polimer nastao modifikacijom HPMC i predstavlja ester ftalne kiseline. Postoje dva tipa HPMCP (HP-55 i HP-50), koja imaju različitu rastvorljivost (Navnit i sar., 2014). Nie i sar. (2015) su pokazali da čvrsta disperzija sa klofaziminom i HPMCP ima dobru fizičku stabilnost, iako je udeo aktivne supstance veći od 60%, zahvaljujući vezivanju jonskih parova između protona klofazimina i karboksilne grupe HPMCP. HPMCP takođe pokazuje pH-zavisnu rastvorljivost.

Poloksameri su polioksietilen-polioksipropilen triblok kopolimeri, koji imaju hidrofilne polioksietilenske i hidrofobne polioksipropilenske segmenae. Lako su rastvorljivi u etanolu 95% (v/v) i vodi. Imaju nisku tačku topljenja (oko 60 °C) i mogu imati osobine surfaktanata. Zbog svojih osobina koriste se za izradu čvrstih disperzija metodom topljenja i rastvaranja. Niska tačka topljenja može predstavljati ograničavajući faktor u proizvodnji. Kolašinac i sar. (2012) su pokazali da udeo poloksamera u čvrstoj disperziji ima uticaj na rastvorljivost aktivne supstance. S povećanjem udela poloksamera (188 i 407) dolazi do povećanja rastvorljivosti i brzine rastvaranja loratadina iz čvrstih disperzija. Polaksamer 407, koncentraciji od 15%, značajno povećava bioraspoloživost resveratrola iz čvrstih disperzija izrađenih sa nosačem Soluplus[®], u poređenju sa čvrstim disperzijama bez navedenog poloksamera (Vasconcelos i sar., 2021).

Poliakrilna kiselina (PAA) je polimer akrilne kiseline. Ima veći broj karboksilnih grupa, koje mogu formirati soli sa baznim aktivnim supstancama. Gui i sar. (2021) su izradili čvrste disperzije klofizamina sa PAA. Čvrsta disperzija sa udelom aktivne supstance od 75% je imala dobru stabilnost u uslovima povišene temperature i vlage. Za razliku od čvrste disperzije sa PAA, aktivna supstanca u čvrstoj disperziji sa PVP je pod istim uslovima rekristalisala za sedam dana. Čvrsta disperzija sa PAA je pokazala i poboljšanje brzine rastvaranja klofizamina u poređenju sa kristalnom aktivnom supstancom (Gui i sar., 2021).

Eudragit[®]-i su metakrilni kopolimeri, sa različitim osobinama, u zavisnosti od supstituenta. Na tržištu se nalazi veći broj ovih polimera, različiti naziva (na primer: Eudragit[®] E PO, Eudragit[®] L100, Eudragit[®] S100, Eudragit[®] L100-55) i različitih osobina. Široko su korišćeni ekscipijensi u farmaceutskoj industriji kao acidorezistentne obloge, za maskiranje neprijatnog ukusa i mirisa, za kontrolisano oslobađanje aktivne supstance i zaštitu od vlage. Eudragit[®] E PO (aminometakrilat kopolimer) je katjonski kopolimer koji je rastvorljiv pri pH vrednosti ispod 5,5 dok na višim pH vrednostima bubri (Navnit i sar., 2014). Kisele aktivne supstance mogu da formiraju snažne interakcije sa Eudragit[®] E PO. Lubach i Hau (2018) su pokazali da je u čvrstoj disperziji došlo do nastanka jonskog kompleksa između indometacina i Eudragit[®] E PO. Frank i sar. (2022) su istraživali uticaj različitih polimera (Eudragit[®] E PO, HPMCAS i PVP/VA) na mehanizam oslobađanja aktivne supstance posakonazol iz čvrste disperzije. Rezultati su pokazali da je Eudragit[®] E PO obezbedio brzo oslobađanje pri niskim pH vrednostima, zahvaljujući dobroj rastvorljivosti polimera u uslovima kiselog pH. Ovo je omogućilo novi pristup poboljšanja bioraspoloživosti kiselih aktivnih supstanci, uz korišćene baznih polimera kao stabilizatora u čvrstim disperzijama. *In vivo* rezultati primene čvrste disperzije kukurmina sa Eudragit[®] E PO su potvrdili povećanje bioraspoloživosti 20 puta u poređenju sa čistim kukurminom (Kumar i sar., 2016). Eudragit[®] L100 je anionski kopolimer koji se sastoji od metakrilne kiseline i metil-

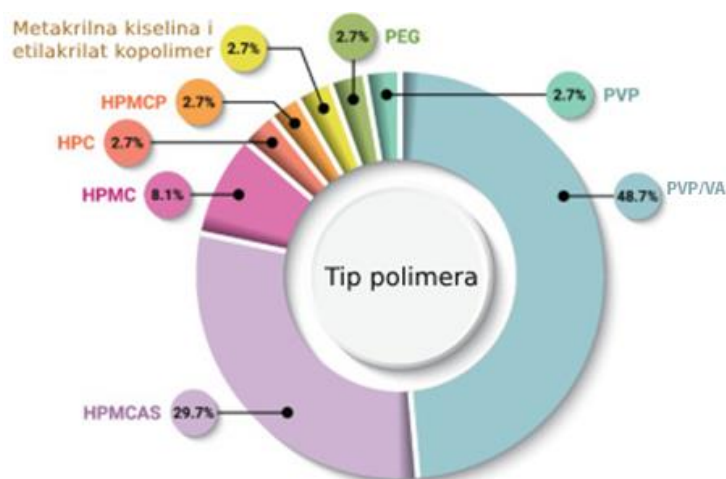
metakrilata. Nalazi se u joniziranom stanju pri pH iznad 6 i koristi se kao acidorezistentna obloga. Wendelboe i sar. (2017) su pokazali da je čvrsta disperzija celekoksiba i Eudragit® L100 (metakrilna kiselina – metilmetakrilat kopolimer (1:1)) omogućila bolje oslobađanje aktivne supstance pri pH 7,4 u poređenju sa amorfnim i kristalnim oblikom celekoksiba. Maniruzzaman i sar. (2013) su prikazali rezultate svog rada u kojem su čvrste disperzije propranolol-hidrohlorida i difenilhidramin-hidrohlorida sa Eudragit® L100-55 (metakrilna kiselina – etilmetakrilat kopolimer (1:1)) pokazale dobru stabilnost zahvaljujući jonskim interakcijama između aktivnih supstanci i polimera.

Šećeri (monosaharidi - glukoza, fruktoza, galaktoza; disaharidi - saharoza, maltoza, laktoza) i šećerni alkoholi (manitol, ksilitol, eritritol, maltitol) imaju kristalnu strukturu i mogu se koristiti kao nosači u čvrstim disperzijama. Čvrste disperzije izrađene sa ovim nosačima pripadaju prvoj generaciji čvrstih disperzija i uglavnom predstavljaju disperzije kristalne aktivne supstance u kristalnom nosaču (Poka i sar., 2023). Imaju dobru rastvorljivost u vodi i spadaju u bezbedne i netoksične nosače. Šećeri imaju lošu rastvorljivost u većini organskih rastvarača i zbog toga se češće koriste metode topljenja za izradu čvrstih disperzija sa ovim nosačima. Mehanizam poboljšanja brzine rastvaranja se zasniva na smanjenju veličine čestica aktivne supstance u povećanju kvašenja aktivne supstance zahvaljujući polarnim grupama šećera i šećernih alkohola (Saharan i sar., 2009). Upotrebom šećera mogu nastati čvrste disperzije veće poroznosti, što takođe olakšava kvašenje aktivne supstance u kontaktu s medijumom (Allahham i sar., 2007). Nedostaci šećera kao nosača su njihovo nedovoljno mešanje sa aktivnom supstancom na povišenim temperaturama, kao i njihova higroskopnost, što može biti uzrok nestabilnosti čvrste disperzije. Kod termolabilnih supstanci moguće je izraditi čvrste disperzije i metodom rastvaranja. U čvrstim disperzijama izrađenim metodom rastvaranja, za razliku od metode topljenja, češće su detektovane međumolekulske interakcije koje se smatraju odgovornim za stabilizaciju ovih čvrstih disperzija (Budiman i sar., 2022). Polihidroksilni alkoholi su stabilni na povišenoj temperaturi, na enzimsku i hemijsku razgradnju i mogli bi biti bolji izbor za nosače od šećera (Poka i sar., 2023).

Gume, kao što su ksanatan guma i guar guma, mogu poboljšati rastvorljivost aktivnih supstanci kada se koriste kao nosači u čvrstim disperzijama (Aleti i sar., 2011). Gume su interesantne kao nosači zbog prirodnog porekla, netoksičnosti, lake dostupnosti i ekonomičnosti. Zbog efekta bubrenja i nastanka viskoznog sloja oko čestica aktivne supstance, brzina rastvaranja kod ovih čvrstih disperzija može biti i smanjena ili usporena. Modifikacijom gume zagrevanjem na određenu temperaturu se može smanjiti njen viskozitet, bez smanjenja sposobnosti bubrenja. Na ovaj način se sprečava uticaj gume na brzinu rastvaranja (Patel i sar., 2008). Čvrsta disperzija sa modifikovanom guar gumom je pokazala zadovoljavajuće poboljšanje rastvorljivosti, brzine rastvaranja i bioraspoloživosti likofenola (Shah i sar., 2010).

Urea je jedan od prvih nosača koji su korišćeni u čvrstim disperzijama. To je kristalni hidrofilni nosač sa tačkom topljenja od 132 – 135°C i dobrom rastvorljivošću u vodi, ali ograničenom rastvorljivošću u većini organskih rastvarača, što ograničava njenu upotrebu metodom rastvaranja. Nedostak uree je higroskopnost, što može uzrokovati nestabilnost čvrstih disperzija. Razgrađuje se na visokoj temperaturi, pa nije pogodan nosač za metodu ekstruzije topljenjem. Ima gorak ukus, pa postoji potreba za maskiranjem ukusa kod čvrstih disperzija izrađenih sa ovim nosačem (Mennella i sar., 2014).

Kako je ranije navedeno, polimeri su danas najčešći nosači u čvrstim disperzijama. Prema podacima iz 2024. godine, najčešće korišćen polimer kao nosač u čvrstim disperzijama koje se nalaze u lekovima sa dozvolom za lek je kopovidon (PVP/VA), koji se nalazi u 18 lekova (47,8%), a nakon toga sledi HPMCAS, koji se nalazi u 11 lekova (29,7%). Na trećem mestu je HPMC (8,1%) (Moseson i sar., 2024). Ostali nosači su značajno manje zastupljeni (slika 1.4.).



Slika 1.4. Najčešće korišćeni polimeri u čvrstih disperzijama koje se nalaze u lekovima sa dozvolom za lek (preuzeto i prilagođeno od Moseson i sar., 2024)

1.1.2. Metode izrade/proizvodnje čvrstih disperzija

Konvencionalne metode za izradu čvrstih disperzija su metode rastvaranja, metode topljenja i kombinacija ovih metoda (Alshehri i sar., 2020; Bhujbal i sar., 2021; Krstić i sar., 2020; Moseson i sar., 2024). Danas postoje i savremenije metode za dobijanje čvrstih disperzija, o čemu će biti više reči u nastavku.

U osnovi, svaka metoda izrade čvrstih disperzija ima sledeća tri koraka:

- prevođenje aktivne supstance i polimera iz čvrstog u tečno stanje, topljenjem ili rastvaranjem;
- mešanje tečne/otopljenje smeše aktivne supstance i nosača;
- prevođenje tečne/otopljene smeše u čvrsto stanje, procesima hlađenja ili uklanjanja rastvarača.

Izbor metode izrade/proizvodnje značajno utiče na fizičko-hemijske i farmaceutsko-tehnološke osobine čvrstih disperzija (Wilke i sar., 2024; Yun i sar., 2024). Zajednički izazov kod svih metoda jeste postizanje homogene smeše nosača i aktivne supstance i sprečavanje razdvajanja faza nakon izrade čvrste disperzije (Haser i Zhang, 2018). Bez obzira na metodu izrade, kod disperzija se može javiti delimično ili potpuno razdvajanje faza. Razdvajanje faza se može smanjiti obezbeđivanjem niske molekularne mobilnosti aktivne supstance i nosača u toku izrade, npr. brzim hlađenjem ili zadržavanjem smeše na povišenoj temperaturi, čime se obezbeđuje homogenost što je duže moguće.

Metoda topljenja je prva korišćena metoda za izradu čvrstih disperzija. Kod metode topljenja aktivna supstanca se topi zajedno sa nosačem, a zatim se otopljena smeša hladi da očvrstne, usitnjava i prosejava (Bhujbal i sar., 2021). Budući da se smeša aktivne supstance i polimera zagreva može doći do degradacije aktivne supstance i/ili nosača, te ova metoda nije pogodna za termolabilne aktivne supstance sa visokom tačkom topljenja (Moseson i Taylor, 2018). Kako bi se ovaj problem prevazišao, sve češće se za supstance sa visokom tačkom topljenja koristi metoda dispergovanja aktivne supstance u otopljenom nosaču. Takođe, ograničen je i broj polimera koji se mogu koristiti u metodi topljenja, a najčešće se koriste polimeri sa niskim tačkama topljenja (makrogoli, kopovidon, poloksameri, estri celuloze, derivati polimetakrilata i dr.) (Bhujbal i sar., 2021). Navedeni polimeri se mogu koristiti samostalno ili u kombinaciji sa drugim polimerima.

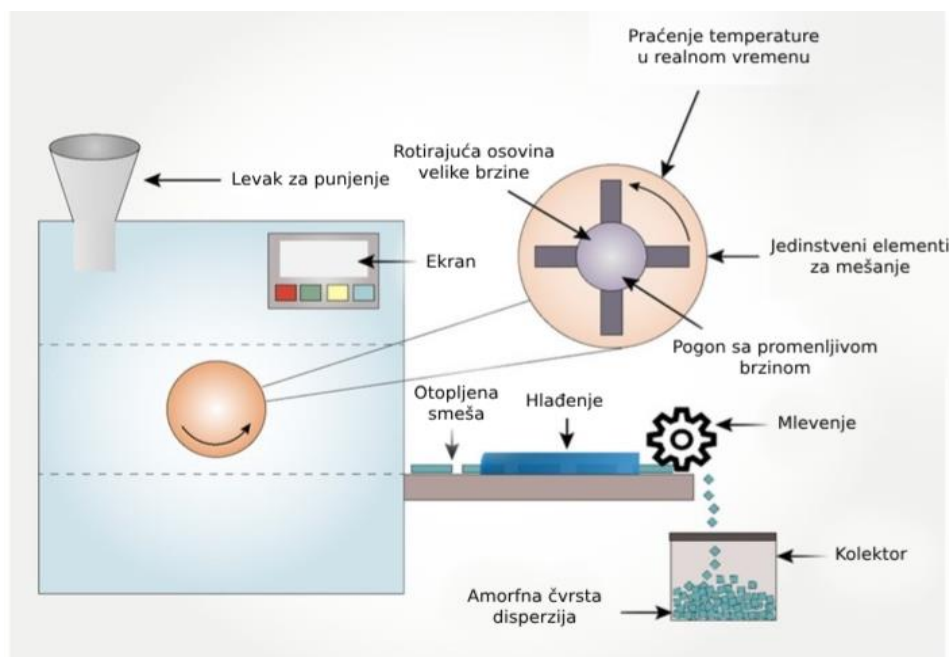
Ograničavajući faktor ove metode je mogućnost razdvajanja faza zbog ograničenog mešanja aktivne supstance i polimera u otopljenom stanju. Ovo razdvajanje faza može dovesti do nastanka nehomogenih čvrstih disperzija smanjene stabilnosti usled rekristalizacije aktivne supstance. Kako bi se poboljšalo mešanje, smanjila temperature topljenja i viskozitet nastale otopljene smeše mogu se koristiti plastifikatori (Patil i sar., 2016), najčešće triacetin, estri limunske kiseline i polietilenglikoli niske molekulske mase. Brzina i način hlađenja otopljene smeše utiče na osobine nastale čvrste disperzije (Pandi i sar., 2020).

Prednost ove metode je što se ne koriste organski rastvarači. Izbegavanje korišćenja organskih rastvarača je neophodno, jer su mnogi od njih toksični za ljude, povećavaju rizik od zagađenja životne sredine, zahtevaju složenu i skupu opremu za skladištenje, korišćenje i uklanjanje, a prisustvo rezidua organskih rastvarača u finalnom proizvodu može ugroziti kvalitet leka i uticati na zdravlje pacijenata, što zahteva dodatna ispitivanja i poštovanje strogih regulatornih zahteva (Zhang i sar., 2023).

Metoda ekstruzija topljenjem (engl. *hot-melt extrusion method*, skr. HME) je savremenija verzija metode topljenja, koja sve više dobija na značaju zbog niza prednosti. Jednostavna je za primenu i u industrijskim uslovima, jer se sastoji od manjeg broja faza i nema potrebe za sušenjem čvrstih disperzija. U toku procesa ekstruzije topljenjem, smeša aktivne supstance i nosača se topi ili razmekšava pod uticajem povišene temperature i pritiska u ekstruderu. Otopljena aktivna supstanca i polimer se homogeno mešaju, a zatim ekstrudiraju u granule, pelete, eskrudat ili prašak, koji se kasnije mogu nakon odgovarajuće obrade komprimovati u tablete (Patil i sar., 2016). Ova metoda zahteva potpuno mešanje aktivne supstance i polimera u otopljenom stanju. Aktivna supstanca i polimer se izlažu povišenoj temperaturi kratak vremenski period, što je pogodno za termolabilne supstance. Takođe, prednost ove metode je smanjena mogućnost rekristalizacije aktivne supstance, zbog velikog viskoziteta otopljenog polimera, zbog čega je smanjena mobilnost molekula (Iyer i sar., 2021). Ukoliko je potrebno izraditi čvrstu disperziju na temperaturi ispod tačke topljenja aktivne supstance, potrebno je da se aktivna supstanca rastvara u otopljenom polimeru. Ako polimer ima visoku T_g , dodatkom plastifikatora omogućava se odvijanje procesa pri nižim temperaturama. Iako olakšavaju proces ekstruzije, plastifikatori mogu biti i uzrok nestabilnosti čvrstih disperzija, jer se povećava mobilnost molekula unutar kristalne rešetke, što može dovesti do rekristalizacije aktivne supstance. Ova metoda omogućava i kontinuiranu proizvodnju, što je pogodno za proizvodnju velikih proizvodnih serija. Prvi lek sa dozvolom, koji sadrži čvrstu disperziju izrađenu ovom metodom su tablete Kaletra® (AbbVie). Čvrsta disperzija sadrži kombinaciju aktivnih supstanci lopinavir i ritonavir i kopovidon (PVP/VA) kao nosač. Danas je to jedna od najčešće korišćenih metoda u farmaceutskoj industriji za proizvodnju čvrstih disperzija.

KinetiSol® (DisperSol Technologies LLC, SAD) je novija metoda koja omogućava dobijanje čvrstih disperzija sa aktivnim supstancama koje imaju visoke tačke topljenja (iznad 200 °C), a ne mogu se rastvarati u organskim rastvaračima i nisu pogodne sa izradu čvrstih disperzija metodom ekstruzije topljenjem (Budiman i sar., 2023). Kod ove metode se toplota ne uvodi u sistem spolja, nego se zahvaljujući velikoj brzini rotiranja elemenata (> 1000 rpm) unutar KinetiSol® cilindrične komore, uz pomoć sila trenja i smicanja, omogućava nastanak toplote koja dovodi do topljenja aktivne supstance i nosača (Bhujbal i sar., 2021). Kada se dostigne željena temperatura, nastala otopljena smeša se brzo prazni iz komore u zonu hlađenja. Zagrejana masa se hladi i formira se ravni disk, koji se u nastavku procesa melje do željene veličine čestica (slika 1.5). Prednost ove tehnike je znatno kraće vreme izlaganja supstanci povišenoj temperaturi, u odnosu na tradicionalnu metodu topljenja i ekstruziju topljenjem, što sprečava degradaciju aktivne supstance (Budiman i sar., 2023). Ceo proces traje manje od 20 s, a supstance su izložene povišenim temperaturama manje od 5 s (LaFountaine i sar., 2016). KinetiSol® metoda omogućava dobijanje čvrstih disperzija bez dodatka plastifikatora. Čak i viskozni polimeri, kao što su povidon K30, povidon K90 i HPMC K15M se mogu koristiti bez dodatka plastifikatora. Još jedna prednost ove metode je, za razliku

od drugih metoda topljenja, što se mogu dobiti čvrste disperzije sa visokim udelom aktivne supstance (Ellenberger i sar, 2018). Čvrste disperzije dobijene na ovaj način su pokazale visok stepen homogenosti i stabilnosti (Tan i sar., 2020). Za razliku od čvrstih disperzija izrađenih konvencionalnom metodom topljenja na 180 °C, kod hidrokortizon-HPMC i hidrokortizon-PVP/VA čvrstih disperzija izrađenih metodom Kinetisol® na temperaturi od 160 °C u trajanju manjem od 30 s ne dolazi do smanjenja sadržaja aktivne supstance, jer ne dolazi do njene degradacije (Dinunzio i sar., 2010). Čvrsta disperzija grizeofulvina izrađena ovom metodom nije pokazala znakove rekristalizacije aktivne supstance tokom 6 meseci skladištenja u uslovima temperature od 40°C i relativne vlažnosti od 43% RH (Hughey i sar., 2012).



Slika 1.5. Shematski prikaz Kinetisol® metode izrade čvrstih disperzija (preuzeto i prilagođeno iz Tambe i sar., 2022)

Kod **metode rastvaranja** aktivna supstanca i polimer se rastvaraju u pogodnom, najčešće organskom rastvaraču, koji se zatim uklanja primenom odgovarajuće tehnike. Najčešće korišćeni rastvarači za izradu čvrstih disperzija metodom rastvaranja su voda, etanol, metanol, aceton, izopropanol, dihlormetan (Bhujbal i sar., 2021). Za kvalitet dobijene čvrste disperzije su važni izbor rastvarača, brzina i temperatura uklanjanja rastvarača. Kod izbora rastvarača neophodno je da se i nosač i aktivna supstanca rastvaraju u odabranom rastvaraču, jer je često aktivna supstanca hidrofobna, dok su nosači najčešće hidrofilni. Uklanjanje rastvarača može biti izazovno, jer sušenje na povišenoj temperaturi može povećati mobilnost molekula, što može dovesti do razdvajanja faza (Budiman i sar, 2023). Ova metoda se često koristi za dobijanje malih serija čvrstih disperzija, u slučaju termolabilnih aktivnih supstanci i supstanci koje imaju visoke tačke topljenja. Problemi koji se mogu javiti kod metode rastvaranja su nemogućnost rastvaranja aktivne supstance i nosača u istom rastvaraču, rekristalizacija aktivne supstance i rizik od narušavanja homogenosti nastalih čvrstih disperzija zbog nepotpunog uklanjanja rastvarača (Iyer i sar., 2021). Nedostatak metode rastvaranja je i korišćenje velikih količina organskih rastvarača, za čije uklanjanje je potrebna posebna oprema, što zajedno poskupljuje proces izrade (Malkawi i sar., 2022). Takođe, kako je već navedeno, postoji rizik od prisustva reziduata organskih rastvarača u finalnom proizvodu, što može predstavljati zdravstveni problem za pacijente i potencijalno zagađenje životne okoline. U zavisnosti od osobina aktivne supstance ponekad je moguće smanjiti udeo organskog rastvarača ili smeše rastvarača tako što se jedan deo organskog rastvarača zameni vodom. Mešanje rastvarača sa delom vode je dobar pristup i kada se želi poboljšati rastvorljivost polimera u rastvaraču (Bhujbal i

sar, 2021). Zbog svega navedenog, potrebno je prilikom izbora rastvarača poštovati zahteve ICH smernice Q3C (R6) (2019), koja navodi dozvoljene vrednosti ostataka rastvarača u finalnom proizvodu. Vrlo često se mora koristiti i dodatno (sekundarno) sušenje, da bi izrađena čvrsta disperzija imala što manje ostataka rastvarača (Shepard i sar., 2020). Danas se, iz bezbedonosnih razloga, sve više kao rastvarači koriste superkritični fluidi. Pažnja se mora posvetiti i uslovima uklanjanja rastvarača, jer male razlike u uslovima uklanjanja rastvarača mogu dovesti do velikih promena u fizičko-hemijskim osobinama čvrstih disperzija (Maniruzzaman i sar., 2012). Visok viskozitet rastvora aktivne supstance i polimera može dovesti do lepljenja čvrstih disperzija na delove opreme na kojoj se vrši uklanjanje rastvarača, čime će se smanjiti prinos. Postoje različite tehnike za uklanjanje rastvarača, od kojih su mnoge ujedno i metode za dobijanje čvrstih disperzija, kao što su izlaganje povišenoj temperaturi, korišćenje rotavapora, sušenje raspršivanjem, korišćenje superkritičnih fluida, liofilizacija, koprecipitacija (Bhjubal i sar., 2021).

Uklanjanje rastvarača pomoću rotirajućeg evaporatora se najčešće koristi u laboratoriji, za male serije. Uklanjanje organskog rastvarača se vrši u vakuumu, na blago povišenoj temperaturi i pogodno je za aktivne supstance i nosače koji ne treba da se izlažu visokim temperaturama. Nakon što se ukloni rastvarač, čvrste disperzije se melju i prosejavaju, a zatim čuvaju u vakuum desikatoru da se eliminišu ostaci rastvarača. Nedostatak ove metode je što uklanjanje rastvarača dugo traje i što može dovesti do rekristalizacije aktivne supstance i razdvajanja faza (Borde i sar., 2021).

Sušenje raspršivanjem je jedna od najčešće korišćenih metoda u industrijskoj proizvodnji čvrstih disperzija. Kod ove metode se u jednom koraku rastvor ili suspenzija aktivne supstance i nosača prevode u čvrsti oblik. Metoda omogućava precizniju kontrolu procesa, što dovodi do nastanka čvrstih disperzija odgovarajuće veličine čestica, protočnosti i poroznosti. Zbog brzog sušenja, nastaju sitne čestice, ujednačene veličine, što dovodi do poboljšanja brzine rastvaranja aktivne supstance (Iyer i sar., 2021). Podešavanjem procesa sušenja moguće je dobiti čestice nanometarskih i mikrometarskih veličina. Nedostatak ove metode može biti adhezija sitnih čestica na delove opreme ili gubitak sitnih čestica iz komore, a samim tim i manji prinos. Sušenjem raspršivanjem se često dobijaju čvrste disperzije male gustine, što može ograničiti dalju formulaciju proizvoda u obliku tableta ili kapsula. Ovaj problem se može smanjiti dodatkom silicijum-dioksida, koji povećava nasipnu gustinu i smanjuje adheziju čestica (Tran i sar., 2019). Metoda sušenja raspršivanjem omogućava inkorporiranje većih udela aktivne supstance u čvrste disperzije (i do 80%), u poređenju sa drugim metodama izrade (Lim i sar., 2017).

Tehnologija superkritičnih fluida je metoda za dobijanje čvrstih disperzija, u kojoj se najčešće se koristi superkritični ugljen-dioksid, koji se može koristiti kao rastvarač aktivne supstance i polimera, ali i kao antirastvarač. Superkritični ugljen-dioksid je netoksičan, inertan i jeftin rastvarač. Kada se superkritični ugljen-dioksid upotrebljava kao rastvarač, nosač i aktivna supstanca se u njemu rastvaraju, a zatim raspršuju u komoru pod niskim pritiskom, pri čemu se ugljen-dioksid brzo uklanja i formiraju se čestice čvrste disperzije. Postupak omogućava dobijanje sitnih čestica čvrstih disperzija (5-2000 nm) (Malkawi i sar., 2022). Kada se ugljen-dioksid koristi kao antirastvarač, aktivna supstanca i polimer se rastvore u organskom rastvaraču, a zatim se vrši simultano raspršivanje rastvora i superkritičnog ugljen-dioksida u komoru uređaja. Raspršivanje dovodi do ekstrakovanja rastvarača superkritičnim fluidom, pri čemu dolazi do precipitacije čestica čvrste disperzije. Prednost ove metode je što je ekološki prihvatljiva jer u većini slučajeva (izuzev kada se superkritični ugljen-dioksid koristi kao antirastvarač) ne zahteva upotrebu organskih rastvarača, a male količine CO₂ koje zaostaju u čvrstim disperzijama ne predstavljaju rizik za zdravlje. Nedostatak ove metode je ograničena rastvorljivost aktivnih supstanci i nosača u superkritičnom ugljen-dioksidu.

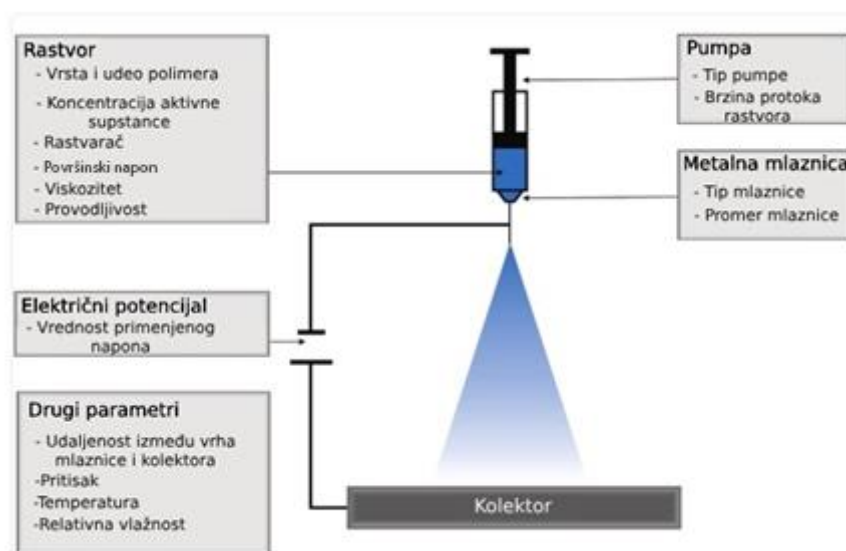
Tehnika liofilizacije podrazumeva rastvaranje aktivne supstance i nosača u rastvaraču, a zatim zamrzavanje (korišćenjem tečnog azota ili električnih zamrzivača, do - 80 °C). Nakon toga se rastvarač uklanja sublimacijom, pri čemu nastaje čvrsta disperzija. Prednost ove metode je što

obično nastaju veoma porozne amorfne čvrste disperzije, koje imaju veliku specifičnu površinu i posledično veliku brzinu rastvaranja (Bhujbal i sar., 2021). Metodu je moguće koristiti za dobijanje čvrstih disperzija sa aktivnim supstancama koje su termolabilne i higroskopne (Budiman i sar., 2023). Korišćenjem metode liofilizacije moguće je kontrolisati veličinu čestica, kraće je izlaganje aktivne supstance velikim temperaturnim oscilacijama, veći je prinos, a moguće je koristiti različite polimere. Međutim, treba voditi računa da su dobijene čestice čvrstih disperzija male gustine, velike poroznosti, krte i lako lomljive, što može biti problem za njihovu dalju obradu (Fitriani i sar., 2018).

Oblaganje neutralnih granula ili peleta rastvorom aktivnih supstanci i hidrofилnih polimera (engl. *fluid bed coating technology*) predstavlja metodu sličnu metodi sušenja raspršivanjem. Ova metoda podrazumijeva raspršivanje rastvora aktivne supstance i polimera na neutralne granule ili pelete, pri čemu se nanošenje rastvora i sušenje sprovodi istovremeno. Nakon isparavanja rastvarača, dobivaju se obložene granule ili pelete odgovarajuće protočnosti i kompresibilnosti pogodne za tabletiranje, oblaganje ili punjenje u kapsule (Iyer i sar., 2021). Ova metoda je jednostavna, skraćuje vreme izrade i poboljšava stabilnost čvrstih disperzija (Dereymaker i sar., 2017). Moguće je dobiti čvrste disperzije sa trenutnim ili kontrolisanim oslobađanjem aktivne supstance. Kontrolisano oslobađanje i bolja stabilnost se može postići i dodatnim oblaganjem granula ili peleta čvrstih disperzija sa još jednim slojem polimera. Dereymaker i sar. (2017) su izradili čvrste disperzije nanošenjem rastvora aktivne supstance (indometacin) i polimera (PVP) na šećerne granule, a zatim su izvršili dodatno oblaganje rastvorom polimera Eudragit® RL kako bi se postiglo kontrolisano oslobađanje.

Metoda koprecipitacije predstavlja metodu u kojoj se u rastvor aktivne supstance i nosača u organskom rastvaraču dodaje rastvarač koji se ne meša sa rastvorom. Nastaju koprecipitati koji se odvajaju filtriranjem, suše i usitnjavaju do željene veličine čestica. Prelazak aktivne supstance u amorfni oblik se dešava usled brze precipitacije, prilikom dodatka drugog rastvarača. Na ovaj način nastaju čvrste disperzije krupnijih čestica, sa udelom aktivne supstance i do 70% (Sandhu i sar., 2014).

Elektroraspršivanje (engl. *electrospraying*) je inovativna metoda izrade čvrstih disperzija, koja je dodatno dobila na značaju pojavom leka Phyrago® tablete (Nanocopoeia), a koji je dobio dozvolu 2023. godine. Navedeni lek sadrži čvrstu disperziju dasatiniba izrađenu ovom metodom. Elektroraspršivanje je metoda koja koristi električno polje za formiranje finih čestica ili vlakana čvrstih disperzija. Aktivna supstanca i polimer se rastvaraju ili suspenduju u odgovarajućem rastvaraču. Nakon toga se rastvor propušta kroz mlaznicu, na koju se primenjuje visoki napon. Pod dejstvom električnog polja, rastvor se izbacuje u obliku finih kapljica (aerosola), koje se brzo suše dok se kreću ka kolektoru. Isparavanjem rastvarača, na kolektorskoj površini se talože čvrste čestice ili vlakna, u kojima je aktivna supstanca ravnomerno dispergovana unutar nosača (slika 1.6). Prednost ove metode je dobijanje sitnih čestica i uske distribucije. Brzo isparavanje rastvarača sprečava aglomeraciju čestica, a moguće je podešavanjem parametara procesa dobiti čestice željenog izgleda, veličine i oblika (Bhujbal i sar., 2021). Metoda se može koristiti i za aktivne supstance koje su slabo rastvorljive u većini organskih rastvarača i koje imaju jako visoke tačke topljenja. Jedna od takvih aktivnih supstanci je kvercetin, koji ima tačku topljenja na 326 °C, a nerastvorljiv je u većini rastvarača. Li i sar. (2014) su izradili čvrstu disperziju kvercetina sa povidonom K25 metodom elektroraspršivanja koristeći kombinaciju rastvarača dimetilacetamida i etanola. Oslobađanje aktivne supstance iz ove čvrste disperzije je bilo brzo (manje od 10 s), a ispitivanje na sublingvalnoj sluznici svinja je pokazalo povećanje permeabilnosti od 10 puta, u poređenju sa kristalnim kvercetinom.

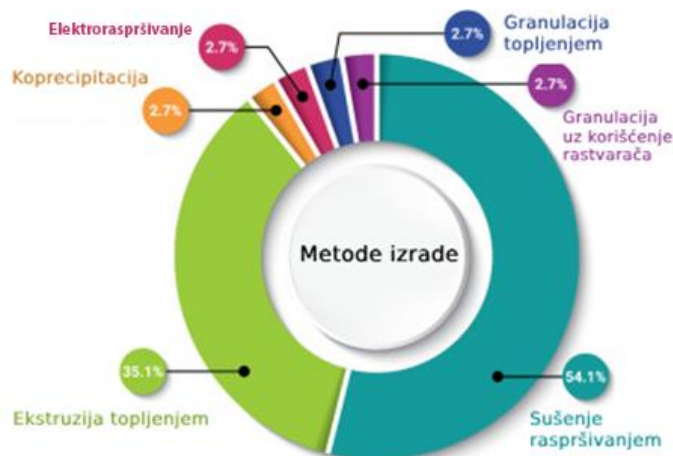


Slika 1.6. Shematski prikaz principa metode elektroraspršivanja i važnih procesnih parametara (preuzeto i prilagođeno iz Bhujbal i sar., 2021)

Kombinovana metoda topljenja i rastvaranja podrazumeva dobijanje čvrstih disperzija kombinacijom rastvaranja aktivne supstance u odgovarajućem rastvaraču, a zatim direktnog mešanja rastvora sa otopljenim nosačem. Nakon mešanja vrši se uklanjanje rastvarača, pri čemu nastaju čvrste disperzije koje se dalje usitnjavaju na željenu veličinu čestica. Problem koji može nastati kod ove metode izrade čvrstih disperzija je nemogućnost mešanja rastvarača sa otopljenim nosačem (Attia i sar., 2021).

Trodimenzionalno (3D) štampanje je relativno nova metoda izrade čvrstih disperzija, koja prevodi 3D kompjuterski pripremljen model u fizički objekt (Awad i sar., 2018; Trenfield i sar., 2018). Ova metoda ima prednost zbog mogućnosti proizvodnje čvrstih disperzija kontrolisanih fizičko-hemijskih osobina. 3D štampanje omogućava brži razvoj leka uz smanjene troškove, ali i izradu lekova prilagođenih individualnim potrebama pacijenta (Awad i sar., 2019; Zema i sar., 2017). Za izradu čvrstih disperzija, 3D štampa se često kombinuje sa metodom ekstruzije topljenjem. Ova kombinacija metoda se zasniva na zagrevavanju smeše aktivne supstance i polimera i ekstruzije na osnovu 3D modela, nakon čega dolazi do hlađenja i očvršćavanja mase u željeni oblik (Vithani i sar., 2019). Neki od najčešće korišćenih polimera za ovu metodologiju izrade čvrstih disperzija su HPC, kopovidon, Eudragit® EPO (Tambe i sar., 2022). Nedostaci ove tehnologije su slični onima koje ima metoda ekstruzije topljenjem, a to je nemogućnost korišćenja aktivnih supstanci koje su osetljive na visoke temperature. Drugi problem je i udeo aktivne supstance, jer ova metoda zahteva značajne količine polimera sa odgovarajućim termoplastičnim osobinama (Infanger i sar., 2019). Ispitivanja su pokazala da je u čvrstim disperzijama ritonavira, sa PVP/VA kao nosačem, koje su izrađene jednom od metodologija 3D štampe (selektivno lasersko sinterovanje), došlo do potpunog prelaska aktivne supstance iz kristalnog oblika u amorfni. Osim toga, brzina rastvaranja ritonavira je bila 20 puta veća, u odnosu na kristalni oblik aktivne supstance (Davis i sar., 2021). Metode 3D štampe bi mogle biti od značaja za izradu čvrstih disperzija za preklinične studije, kada je dostupna mala količina, obično jako skupih aktivnih supstanci (Bhujbal i sar., 2021).

Prema podacima iz 2024. godine, najčešće korišćena metoda za dobijanje čvrstih disperzija koje se nalaze u lekovima sa dozvolom je metoda sušenja raspršivanjem (54,1%), a nakon nje sledi metoda ekstruzije topljenjem (35,1%) (slika 1.7.) (Moseson i sar., 2024). Sigurno je da će u budućnosti sve više dobijati na značaju metode za izradu čvrstih disperzija u kojima se ne koriste organski rastvarači.

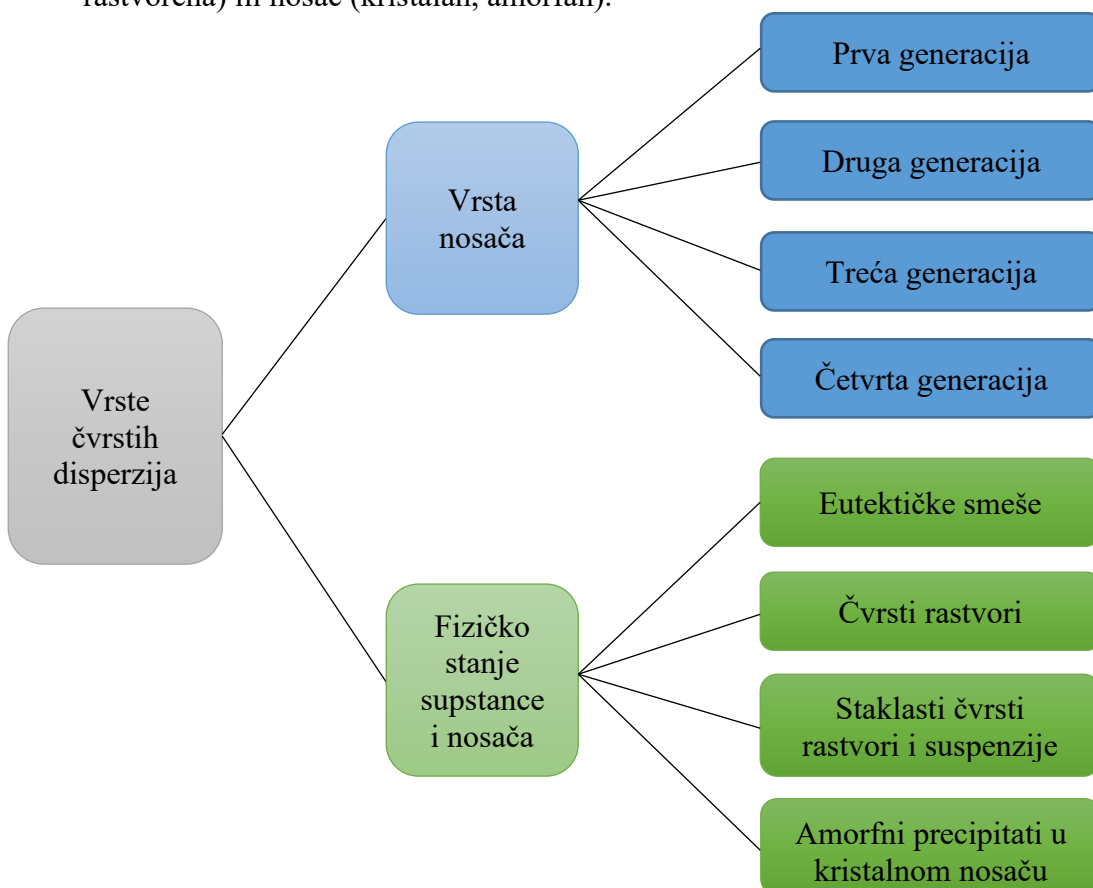


Slika 1.7. Najčešće korišćene metode za dobijanje čvrstih disperzija, koje se nalaze u farmaceutskim oblicima lekova koji su dobili dozvolu za lek (preuzeto i prilagođeno iz Moseson i sar., 2024)

1.1.3. Klasifikacija čvrstih disperzija

U najširem smislu, čvrste disperzije se mogu klasifikovati na dva načina (Malkawi i sar., 2022) (slika 1.8):

- na osnovu vrste nosača;
- u zavisnosti od fizičkog stanja u kome se nalazi aktivna supstanca (kristalna, amorfna, rastvorena) ili nosač (kristalan, amorfan).



Slika 1.8. Klasifikacija čvrstih disperzija (preuzeto i prilagođeno iz Malkawi i sar., 2022)

Na osnovu vrste nosača, čvrste disperzije se dele na četiri generacije (Malkawi i sar., 2022):

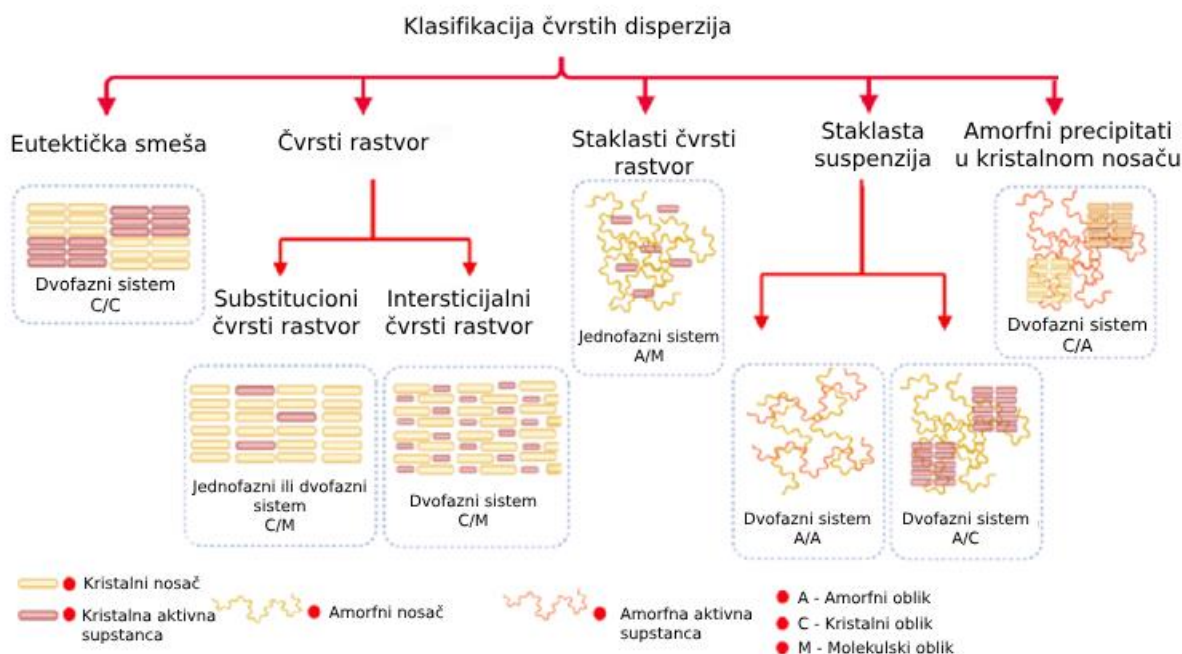
Prva generacija čvrstih disperzija sadrži nosače koji su u kristalnom obliku, u koje spadaju urea, šećeri (glukoza, laktoza, maltoza, galaktoza, manoha, dekstroza) i polihidroksilni alkoholi (sorbitol, ksilitol, manitol). Ovi nosači uglavnom imaju visoke tačke topljenja, što nije povoljno za izradu čvrstih disperzija metodom topljenja. Urea ima dobru rastvorljivost u vodi i organskim rastvaračima, dok manitol i sorbitol imaju slabu rastvorljivost u većini organskih rastvarača, zbog čega se manje koriste. Mehanizmi kojima se može objasniti povećanje rastvorljivosti i brzine rastvaranja aktivnih supstanci iz čvrstih disperzija prve generacije su smanjenje veličine čestica, poboljšanje kvašenja i promena polimorfnog oblika aktivne supstance. U čvrstim disperzijama prve generacije, aktivna supstanca se najčešće nalazi u kristalnom obliku, koji je termodinamički stabilniji, pa je potrebno više vremena i utrošene energije da se ona oslobodi (Malkawi i sar., 2022).

Druga generacija čvrstih disperzija sadrži amorfne nosače, koji su najčešće hidrofilni polimeri (Bindhani i Mohapatra, 2018). Polimeri mogu biti prirodnog ili sintetskog porekla. Prirodni polimeri su, na primer, derivati celuloze (etil celuloza (EC), hipromeloza (HPMC), hidroksipropilceluloza (HPC)), skrob, ciklodeskrini. Sintetički polimeri su makrogoli, povidoni (PVP), kopovidon (PVP/VA), hipromeloza-ftalat (HPMCP), hipromeloza-acetatsukcinat (HPMCAS) i polimetakrilati (Malkawi i sar., 2022). U čvrstim disperzijama druge generacije aktivna supstanca se najčešće nalazi u amorfnom stanju. Amorfni nosači poboljšavaju kvašenje i rastvaranje aktivne supstance i inhibiraju precipitaciju aktivne supstance (Alshehri i sar., 2020; Nair i sar., 2020).

Treća generacija čvrstih disperzija sadrži površinski aktivne materije (PAM) kao nosače. PAM u čvrstim disperzijama osim poboljšanja rastvorljivosti i brzine rastvaranja utiču na povećanje fizičke i hemijske stabilnosti čvrstih disperzija. Zahvaljujući svojoj amfifilnoj strukturi, PAM mogu da poboljšaju mešanje aktivne supstance i nosača i time smanje rekristalizaciju aktivne supstance. PAM koje se koriste kao nosači za čvrste disperzije su: poloksameri, lauril makrogol-32 glicerid (Gelucir® 44/14, Gattefossé, Francuska), gliceril behenat (Compritol® 888, Gattefossé, Francuska), inulin-lauril-karbamat (Inutec® SP-1, Beneo, Nemačka) i polietilenglikol-polivinilkaprolaktam-polivinilacetat kalemljeni (graft) kopolimer (Soluplus®, BASF, Nemačka) (Alshehri i sar., 2020). Ostale PAM, kao što su natrijumlauril-sulfat (SLS), polisorbit 80, d-alfa tokoferil polietilenglikol 1000 sukcinat (TPGS 1000), polioksietilen hidrogenizovano ricinusovo ulje i saharoza-laurat se ne koriste kao samostalni nosači, već kao dodatne supstance za modifikaciju oslobađanja aktivnih supstanci iz čvrstih disperzija (Saha i sar., 2023).

Četvrta generacija čvrstih disperzija su čvrste disperzije sa kontrolisanim oslobađanjem aktivne supstance. Cilj formulacije ovih čvrstih disperzija je da se postigne poboljšanje rastvaranja uz kontrolisano (produženo) oslobađanje aktivne supstance. Mehanizam oslobađanja aktivne supstance iz ovih čvrstih disperzija je difuzija i erozija polimera. Kao nosači u čvrstim disperzijama četvrte generacije se najčešće koriste polimeri koji su nerastvorljivi ili se sporo rastvaraju u vodi, kao što su: etil celuloza (EC), hidroksipropil-celuloza (HPC), amonijum-metakrilat kopolimer tip B (Eudragit® RS, Evonik Industries AG, Nemačka), poli(etilen-oksidi) (PEO) i karbomeri (Schittny i sar., 2020).

U zavisnosti od fizičkog stanja u kome se nalazi aktivna supstanca u čvrstoj disperziji (amorfna ili kristalna) ili nosač (amorfan ili kristalan) čvrste disperzije se mogu klasifikovati u pet grupa: eutektičke smeše, čvrsti rastvori, staklasti rastvori, staklaste suspenzije i amorfni precipitati u kristalnom nosaču (slika 1.9) (Attia i sar., 2021; Malkawi i sar., 2022).



Slika 1.9. Klasifikacija čvrstih disperzija na osnovu fizičkog stanja aktivne supstance i nosača (preuzeto i prilagođeno iz Attia i sar., 2021)

Eutektička smeša predstavlja smešu dve komponente (aktivna supstanca i nosač), koje se potpuno mešaju kada se nalaze u tečnom stanju, ali se vrlo ograničeno mešaju kada su u čvrstom stanju. U eutektičnoj smeši, tačka topljenja smeše je niža od tački topljenja i aktivne supstance i nosača. Izrađuju se brzim hlađenjem otopljene smeše aktivne supstance i nosača. Aktivna supstanca i nosač kristališu istovremeno u toku hlađenja, što dovodi do homogenog dispergovanja aktivne supstance i utiče na poboljšanje brzine rastvaranja (Ma i Williams, 2019). Prilikom kontakta eutektičke smeše sa vodenim medijumom, hidrofilni nosač se rastvara, a aktivna supstanca oslobađa u obliku disperzije finih kristala. Zahvaljujući povećanju slobodne površine aktivne supstance koja je izložena medijumu, aktivna supstanca iz eutektičke smeše ima veću brzinu rastvaranja, u poređenju sa samom aktivnom supstancom. U ovakvom sistemu dolazi i do slabljenja privlačnih sila unutar kristalne rešetke aktivne supstance, te je manje energije potrebno za rastvaranje aktivne supstance (Alshehri i sar., 2020).

Kod *čvrstih rastvora* obe komponente, i aktivna supstanca i nosač, kristališu zajedno i nastaje homogen sistem u kojem je aktivna supstanca dispergovana do molekulskog nivoa. U ovom slučaju dolazi do smanjenja veličine čestica aktivne supstance, što poboljšava brzinu rastvaranja.

U zavisnosti od stepena mešanja aktivne supstance sa nosačem čvrsti rastvori mogu biti (Ma i Williams, 2019):

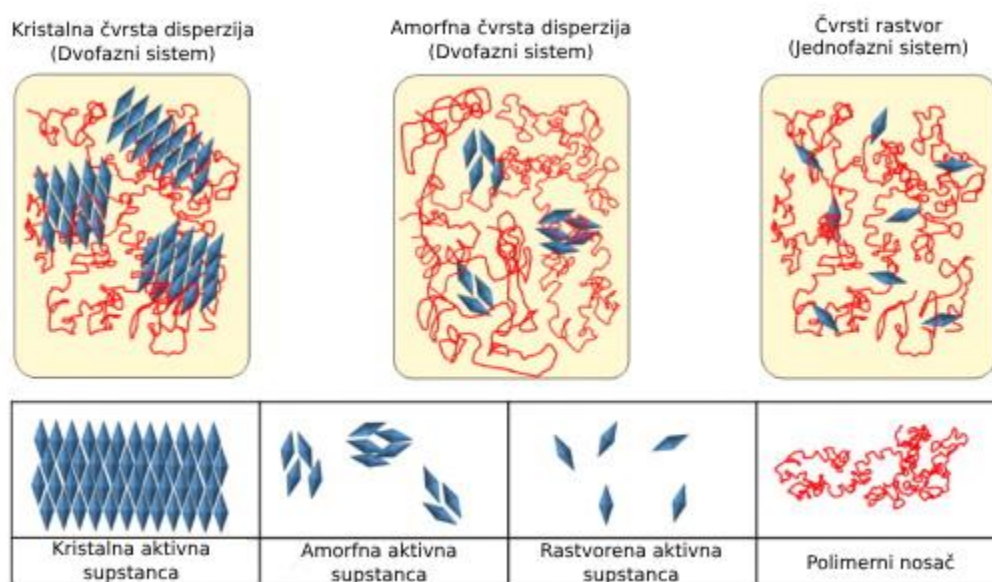
- kontinuirani, gde se komponente čvrstog rastvora mešaju u svim odnosima. Ovo znači da su veze između dve komponente snažnije, u poređenju sa jačinom veza pojedinačnih komponenti.
- diskontinuirani, gde je rastvorljivost jedne komponente u drugoj ograničena. Prema načinu na koji je aktivna supstanca distribuirana u nosaču, čvrsti rastvori mogu biti (Ma i Williams, 2019; Pandi i sar., 2020):

- supstitucionini, kod kojih su u kristalnoj rešetki molekule aktivne supstance zamenjene molekulama nosača;
- intersticijalni, kod kojih molekule aktivne supstance zauzimaju mesta između molekula nosača.

Staklasti čvrsti rastvori su homogeni sistemi kod kojih su molekule aktivne supstance rastvorene unutar nosača, dok su kod *staklastih suspenzija* čestice aktivne supstance suspendovane u nosaču. Kod ovakvih sistema energija kristalne rešetke je niska, a tačka topljenja nema oštar pik. Nosači koji se koriste za izradu staklastih rastvora i suspenzija su urea, limunska kiselina, PEG, povidon, i šećeri kao što su saharoza, dekstroza i galaktoza (Ma i Williams, 2019).

Kod *amornih precipitata u kristalnom nosaču* aktivna supstanca može da precipitira, odnosno bude dispergovana u kristalnom nosaču, umesto da se dešava istovremena kristalizacija aktivne supstance i nosača, kao što je slučaj kod eutektičkih smeša. Brzina rastvaranja aktivne supstance je poboljšana najverovatnije zahvaljujući amornom obliku aktivne supstance (Pandi i sar., 2020).

Tačno određivanje vrste čvrste disperzije je veoma složen i težak zadatak, za koji se moraju primeniti složene analitičke metode. Zbog toga se čvrste disperzije često klasifikuju na tri kategorije: kristalne čvrste disperzije, amorfne čvrste disperzije i čvrsti rastvori (slika 1.10). Kod čvrstih rastvora aktivna supstanca je rastvorena/dispergovana na molekulskom nivou (jednofazni sistem), dok kod amornih čvrstih disperzija i kristalnih čvrstih disperzija vidljive faze koje sadrže kristalnu/amornu aktivnu supstancu unutar nosača (dvofazni sistem) (Sun i Lee, 2014).



Slika 1.10. Shematski prikaz kristalnih i amornih čvrstih disperzija i čvrstih rastvora (preuzeto i prilagođeno iz Sun i Lee, 2014)

1.1.4. Mehanizmi oslobađanja aktivnih supstanci iz čvrstih disperzija

Na oslobađanje/rastvaranje aktivne supstance iz čvrstih disperzija utiču različiti faktori, kao što su: fizičko stanje i udeo aktivne supstance/nosača, stepen homogenosti čvrste disperzije, međumolekulske interakcije, prisustvo surfaktanta, i spoljašnji faktori (zapremina, pH vrednost i sastav medijuma).

Postoje dva osnovna mehanizma oslobađanja/rastvaranja aktivne supstance iz čvrstih disperzija: oslobađanje/rastvaranje kontrolisano aktivnom supstancom i oslobađanje/rastvaranje kontrolisano nosačem/polimerom (Schittny i sar., 2020) (slika 1.11). Kada se čvrste disperzije disperguju u vodenom medijumu, a nosač se ne rastvara, nego formira viskozni sloj, čestice aktivne supstance se sporo oslobađaju difuzijom kroz pore. U ovom slučaju, nosač ograničava oslobađanje aktivne supstance, što predstavlja mehanizam oslobađanja kontrolisan nosačem (slika 1.11). Oslobađanje je bazirano na kontinuiranoj difuziji aktivne supstance iz matriksa nosača u medijum, u zavisnosti od koncentracionog gradijenta. Koncentracija aktivne supstance u medijumu neće biti veća od koncentracije unutar matriksa nosača i doći će do oslobađanja aktivne supstance u medijum kada se koncentracija aktivne supstance u medijumu smanji (usled apsorpcije, na primer). Na ovaj način se nosač ponaša kao depo, kontrolišući maksimalnu koncentraciju aktivne supstance u medijumu (Schittny i sar., 2019). Ukoliko je koncentracija aktivne supstance u medijumu veća od njene rastvorljivosti, dolazi do formiranja faza bogatih aktivnom supstancom.

Ako se polimer rastvara u medijumu bez bubrenja i nastanka viskoznog sloja (gela), tada su čestice aktivne supstance izložene medijumu i rastvaranje će zavisiti od osobina aktivne supstance. Takođe, u slučaju bržeg rastvaranja ili erozije nosača u odnosu na aktivnu supstancu, može doći do rekristalizacije aktivne supstance i smanjenja rastvorljivosti, jer nosač više ne stabilizuje aktivnu supstancu. Teorijski, i kod ovakvog oslobađanja aktivne supstance iz čvrste disperzije može doći do nastanka faza bogatih aktivnom supstancom, ali nema eksperimentalnih rezultata koji to potvrđuju (Schittny i sar., 2020).

Ova dva mehanizma oslobađanja (oslobađanje kontrolisano nosačem i oslobađanje kontrolisano aktivnom supstancom) se mogu dešavati istovremeno, jer aktivna supstanca može biti delimično rastvorena u medijumu, a delimično „zarobljena” u koncentrovanom sloju nosača.

Rastvaranje može biti kontrolisano i medijumom, kao trećim mehanizmom oslobađanja aktivne supstance iz čvrstih disperzija. Tada se aktivna supstanca i nosač rastvaraju istovremeno i dolazi do nastanka prezasićenog rastvora, u kojem se nosač ponaša kao stabilizator aktivne supstance i sprečava njenu rekristalizaciju. Ovakvo rastvaranje zavisi od količine aktivne supstance i zapremine medijuma (Schittny i sar., 2020). Han i Lee (2017) navode da se rekristalizacija aktivne supstance neće desiti ako je koncentracija aktivne supstance u medijumu ispod kritične koncentracije potrebne za kristalizaciju. Saboo i sar. (2019) sugerišu da je istovremeno rastvaranje aktivne supstance i nosača (oslobađanje kontrolisano medijumom) neophodno za nastanak faza bogatih aktivnom supstancom koje su stabilizirane nosačem.

Indulkar i sar. (2017) su dokazali nastanak faza bogatih aktivnom supstancom i kod čvrstih disperzija kod kojih je oslobađanje aktivne supstance kontrolisano nosačem, ispitujući čvrste disperzije nifedipina sa HPMC i PVP/VA. Autori navode dve mogućnosti nastanka faza bogatih aktivnom supstancom u medijumu. Prva mogućnost je da je oslobađanje aktivne supstance kontrolisano nosačem, te da do razdvajanja faza i nastanka faza bogatih aktivnom supstancom dolazi ukoliko je koncentracija aktivne supstance veća od njene rastvorljivosti u medijumu. Druga mogućnost je da su unutar čvrste disperzije i pre kontakta sa medijumom postojale faze bogate aktivnom supstancom, koje su se oslobodile prilikom rastvaranja polimera. Primenom nuklearne magnetne rezonance, autori su dokazali da je za ispitivane čvrste disperzije nastanak faza bogatih aktivnom supstancom odgovorna prva mogućnost, odnosno da ove faze nastaju prilikom rastvaranja koje je kontrolisano nosačem.



Slika 1.11. Shematski prikaz mehanizama oslobađanja aktivne supstance iz čvrstih disperzija (preuzeto i prilagođeno iz Schittny i sar., 2020)

Brojna istraživanja su pokazala povećanje brzine rastvaranja aktivne supstance s povećanjem udela nosača zbog boljeg dispegovanja i smanjene kristalizacije aktivne supstance (Chen i sar., 2016; Shi i sar., 2022; Tres i sar., 2014; Tres i sar., 2018; Yao i sar., 2019). Tres i sar. (2018) su pokazali da se ritonavir brže rastvara iz čvrste disperzije sa kopovidonom kada je prisutan u manjem udelu (10%), nego u većem (50%). Isti autori su pokazali da je stepen rekristalizacije aktivne supstance manji kod čvrstih disperzija sa manjim udelom aktivne supstance. Kod ovakvih čvrstih disperzija glavni mehanizam oslobađanja aktivne supstance je oslobađanje kontrolisano aktivnom supstancom. Nasuprot tome, drugo istraživanje je pokazalo da s povećanjem udela nosača (poloksamera) u čvrstoj disperziji sa desloratadinom, i povećanjem sile kompresije prilikom tabletiranja, dolazi do smanjenja brzine rastvaranja desloratadina (Kolašinac i sar., 2012). To se može objasniti mehanizmom oslobađanja kontrolisanog nosačem, kod koga se formira koncentrovani ili gel sloj polimera, koji deluje kao barijera za difuziju i utiče na sporije oslobađanje aktivne supstance iz čvrstih disperzija.

Oslobađanje aktivne supstance iz homogene amorfne čvrste disperzije će biti drugačije u poređenju sa oslobađanjem aktivne supstance iz čvrstih disperzija koje nemaju homogeno dispergovanu aktivnu supstancu u polimeru (Zhao i sar., 2019). Wang i sar. (2018) su pokazali da homogenost čvrste disperzije može da utiče na brzinu rastvaranja aktivne supstance iz čvrste disperzije posakonazola sa HPMCAS. Kod homogene čvrste disperzije dolazi do istovremenog rastvaranja aktivne supstance i polimera, što znači da je rastvaranje posakonazola kontrolisano medijumom. Za razliku od toga, kod nehomogene čvrste disperzije posakonazola dolazi do bržeg rastvaranja polimera u odnosu na aktivnu supstancu i oslobađanje je kontrolisano aktivnom supstancom (Wang i sar., 2018).

Poboljšano kvašenje aktivne supstance u čvrstim disperzijama ima direktan uticaj na brzinu rastvaranja. Što je bolje kvašenje, to je veća brzina rastvaranja. Površina čvrstih disperzija je uvek hidrofilnija u poređenju sa aktivnom supstancom (Schittny i sar., 2020). Međumolekulske interakcije između aktivne supstance i polimera dovode do reorganizacije polimera, tako da se hidrofilne grupe okreću ka površini čvrste disperzije, što dovodi do boljeg kvašenja i rastvaranja aktivne supstance. Sličan je efekat upotrebe PAM, koji takođe poboljšavaju kvašenje aktivne supstance, ali oni pored toga utiču na formiranje finih čestica bogatih aktivnom supstancom (nano-agregati), i na solubilizaciju molekulom pomoću micela PAM (Malkawi i sar., 2022). Meng i sar. (2019) su pokazali uticaj surfaktanta tokoferil polietilenglikol sukcinata (TPGS) na rastvaranje celekoksiba iz čvrste disperzije sa PVP. TPGS u koncentraciji od 20% u čvrstoj disperziji je poboljšao kvašenje aktivne supstance, uticao na nastanak faze bogate aktivnom supstancom u medijumu, kao i solubilizaciju aktivne supstance pomoću micela TPGS.

Međumolekulske interakcije takođe mogu da imaju uticaj na oslobađanje aktivne supstance iz čvrstih disperzija. Chen i sar. (2016) su istraživali uticaj međumolekulskih interakcija na oslobađanje ketokonazola iz čvrstih disperzija izrađenih sa različitim polimerima (PVP, PVP/VA, HPMC, ili HPMCAS). Kada su postojale značajne međumolekulske interakcije između aktivne supstance i polimera, što je bio slučaj kod čvrstih disperzija ketokonazola sa PVP, PVP/VA, HPMCAS, supstanca i polimer su se rastvarali istovremeno tj. radilo se o oslobađanju koje je kontrolisano medijumom. Kod čvrste disperzija sa slabim međumolekulskim interakcijama, koja je kao nosač imala HPMC, rastvaranje aktivne supstance je bilo sporo, nezavisno od brzine rastvaranja polimera tj. oslobađanje je bilo kontrolisano aktivnom supstancom. Nasuprot tome, određeni podaci (Kaushal i sar., 2004) ukazuju da jake međumolekulske interakcije smanjuju brzinu rastvaranja aktivne supstance iz čvrstih disperzija, verovatno sprečavajući difuziju aktivne supstance kroz pore polimera, pa je i u ovom slučaju oslobađanje aktivne supstance kontrolisano polimerom.

1.1.5. Karakterizacija čvrstih disperzija

Karakterizacija čvrstih disperzija obuhvata ispitivanje fizičkog stanja aktivne supstance u čvrstim disperzijama, ispitivanje međumolekulskih interakcija između aktivne supstance i nosača, stepen mešanja aktivne supstance i nosača, kao i ispitivanje brzine rastvaranja aktivne supstance iz čvrstih disperzija. Postoje brojne instrumentalne i analitičke metode za karakterizaciju čvrstih disperzija. Metode koje se često koriste za karakterizaciju amorfnih čvrstih disperzija su tehnike termalne analize, difrakcija X-zraka na prašku, spektrofotometrijske tehnike (infracrvena spektroskopija, fluorescentna spektroskopija, atomska apsorpciona spektrometrija) i mikroskopske metode (Malawi i sar., 2022). Cilj primene ovih tehnika je objašnjenje mehanizma kojim se povećava rastvorljivost aktivne supstance, kao i potvrda da nastali amorfnu oblik aktivne supstance tokom izrade čvrstih disperzija ostaje nepromenjen tokom predviđenog roka upotrebe (Ma i Williams, 2019). Ispitivanje brzine rastvaranja aktivne supstance je metoda koja se koristi za procenu uspešnosti uticaja formulacije čvrstih disperzija na brzinu rastvaranja slabo rastvorljivih aktivnih supstanci. Budući da je osnovni nedostatak čvrstih disperzija njihova nestabilnost, očekuje se i ispitivanje stabilnosti. Čvrste disperzije nisu finalni farmaceutski oblici lekova, već predstavljaju međuproizvode u proizvodnji čvrstih farmaceutskih oblika, najčešće tableta i kapsula. Za ispitivanje mogućnosti dalje obrade čvrstih disperzija u tablete ili kapsule, često se koriste sledeće metode: određivanje veličine i raspodele veličina čestica, određivanje stvarne, nasipne i tapkane gustine, određivanje poroznosti, protočnosti i kompresibilnosti, određivanje sadržaja vlage (Parekh i sar., 2023; Shah i sar., 2023).

Klasične metode ispitivanja farmaceutsko-tehnoloških osobina čvrstih disperzija su korisne i lako dostupne, ali one često ne pružaju dovoljno informacija o ponašanju čvrstih disperzija u dinamičkim uslovima, koji se javljaju tokom proizvodnje (Almansour i sar., 2022; Janssen i sar., 2021; Mariano, 2024). Za procenu osobina praškastih materijala (praškovi, granule, čvrste disperzije) u dinamičkim uslovima od izuzetnog su značaja reološka ispitivanja. Ispitivanje reoloških karakteristika praškastih materijala postaje sve interesantnija oblast istraživanja, jer daje jasniju sliku o ponašanju ovih materijala prilikom obrade u finalni farmaceutski oblik. Savremeni reometri za praškove omogućavaju merenje velikog broja parametara kao što su na primer: zapreminski protok koji dovodi do fluidizacije čestica (engl. *pressure drop*), vreme za koje se čestice slegnu nakon fluidizacije (engl. *deaeration*), jačina kohezije (eng. *cohesion strength*), ugao trenja (engl. *wall friction angle*), koeficijent trenja (engl. *wall friction coefficient*), prividni viskozitet (engl. *apparent viscosity*; *powder shear rate sweep*), zatezna čvrstoća (eng. *tensile strength*), permeabilnost (eng. *permeability*) i kompresibilnost (eng. *compressibility*). Poznavanje reoloških karakteristika praškastih materijala, uključujući i čvrste disperzije, doprinosi uštedi troškova proizvodnje i smanjuje mogućnost proizvodnje serija leka neodgovarajućeg kvaliteta (Parekh i sar., 2023; Macho i sar., 2021). Kako je ranije navedeno, tehnike

termalne analize, kao što su diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (engl. *Differential Scanning Calorimetry*, skr. DSC) i termogravimetrijska analiza (engl. *Thermogravimetric analysis*, skr. TGA) su neizostavne za proučavanje fizičko-hemijskih osobina čvrstih disperzija. Ove tehnike omogućavaju detekciju energetskih procesa, pružaju uvid u oblik aktivne supstance i međumolekulske interakcije (Bhujbal i sar., 2021).

Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija se koristi za ispitivanje T_g , temperature topljenja (T_m) aktivne supstance i polimera, procenu fizičkog stanja aktivne supstance u čvrstih disperzijama, međumolekulske interakcije, stepena mešanja aktivne supstance i polimera pri različitim temperaturama (Tambe i sar., 2022). Kod DSC analize uzorci se zagrevaju i detektuje se količina energije potrebna da se kristalna struktura otopi. Ukoliko na DSC termogramu nedostaje pik koji predstavlja tačku topljenja aktivne supstance, može se reći da se aktivna supstanca nalazi u amorfnom obliku. Takođe, pomeranja pika T_g polimera ukazuje na prisustvo međumolekulskih interakcija između aktivne supstance i polimera. (Medarević i sar., 2019). Prednosti ove metode su što su potrebne male količine uzorka, što je brza i jednostavna. Ograničenja metode su nemogućnost detektovanja supstance u udelu manjem od 2%, što je destruktivna za uzorak i što postoji mogućnost rastvaranja kristalne supstance u otopljenom polimeru na temperaturi nižoj od tačke topljenja supstance, što može dovesti do pogrešnih zaključaka o amorfnom obliku aktivne supstance u čvrstoj disperziji (Iyer i sar., 2021).

Termogravimetrijska analiza (engl. *Thermogravimetric Analysis* skr. TGA) je metoda termalne analize koja meri promenu mase uzorka u funkciji vremena i temperature, kada je uzorak izložen kontrolisanom zagrevanju u određenoj atmosferi (npr. azot, vazduh, argon). Merenje mase se obavlja u realnom vremenu, kada dolazi do termičkih promena, kao što su isparavanje, oksidacija ili dekompozicija uzorka. Na ovaj način se mogu dobiti podaci o kompatibilnosti i stabilnosti komponenti čvrstih disperzija pod uticajem temperature (Norizan i sar., 2021). Ova metoda može odrediti i sadržaj rastvarača, detektovati temperature isparavanja i sublimacije. Nedostatak metode je što se ne može primeniti kod supstanci kod kojih ne dolazi do promene u masi ispitivanog uzorka pri zagrevanju (Malkawi i sar., 2022). Metoda je jednostavna, ali je destruktivna za uzorak i ne može da se određuje hemijski sastav uzorka (Tambe i sar., 2022).

Difrakcija X-zraka na prašku (engl. *Powder X-ray Diffraction*, skr. PXRD) je tehnika kojom se može utvrditi fizički oblik aktivne supstance u čvrstoj disperziji (kristalni ili amorfni), kao i polimorfni oblik aktivne supstance (Pandi i sar., 2020). Kristalne supstance na difraktogramu pokazuju karakteristične uske i oštre pikove, koji su specifični za kristalni oblik supstance. Pikovi za amorfni oblik su razvučeni, često imaju tzv. „oreol“ bez izraženih karakterističnih pikova za kristalni oblik supstance (De Araujo i sar., 2017). Za razliku od termalnih tehnika, ova metoda nije destruktivna za uzorak, jer se merenje ne vrši na povišenoj temperaturi, pa se na taj način može izbeći loša interpretacija rezultata, kao što je slučaj sa DSC analizom, kada može doći do rastvaranja aktivne supstance u polimeru i pogrešnog zaključka da se radi o amorfnom obliku supstance. Potrebne su male količine uzorka za analizu, a mogu da se detektuju udeli kristalne aktivne supstance u čvrstoj disperziji već u koncentraciji od 1% (Ma i Williams, 2019; Tambe i sar., 2022).

Infracrvena spektrofotometrija sa Furjeovom transformacijom (engl. *Fourier transform infrared spectroscopy*, skr. FT-IR) se koristi za proučavanje međumolekulskih interakcija između aktivne supstance i polimera. Pomeranje traka karakterističnih za funkcionalne grupe ispitivanih supstanci ukazuje na prisustvo međumolekulskih interakcija između aktivne supstance i polimera. Kod ove metode dolazi do apsorpcije infracrvenih zraka različitih frekvencija i moguće je odrediti da li postoje fizičke ili hemijske interakcije između aktivne supstance i polimera (Ma i Williams, 2019). Najčešće detektovane međumolekulske interakcije u čvrstih disperzijama su jonske, vodonične i van der

Walshove (Cools i Van den Mooter, 2025; Lalge i sar., 2023). FT-IR metoda može detektovati i razlike u kristalnoj strukturi aktivne supstance i može se koristiti za kvalitativnu analizu različitih polimorfnih oblika aktivne supstance ukoliko postoje dovoljno jasne razlike u pozicijama karakterističnih traka. Ovo nije primarna metoda za analizu polimorfnih oblika, i može se koristiti uz druge metode (Tambe i sar., 2022).

Termomikroskopija (mikroskopija na zagrejanj ploči, eng. *Hot-stage microscopy*, skr. HSM) predstavlja kombinaciju tehnika mikroskopije i termalne analize. Metoda omogućava vizuelno praćenje fizičkih karakteristika materijala, u funkciji temperature i vremena. Zahvaljujući polarizacionom mikroskopu, primenom metode mikroskopije na zagrejanj ploči moguće je odrediti da li je supstanca u kristalnom ili amorfnom obliku. Odsustvo dvojnog prelamanja svetlosti ukazuje da se radi o amorfnoj supstanci. Ovom metodom moguće je odrediti i polimorfizam aktivnih supstanci, na osnovu tačke topljenja ili u nekim slučajevima izražene razlike u obliku kristala. Metoda je pogodna i za određivanje stepena mešanja polimera i aktivne supstance, kao i za detekciju stepena rekristalizacije (Ma i Williams, 2019).

Dinamička sorpcija pare (engl. *Dynamic vapour sorption*, skr. DVS) se koristi za proučavanje higroskopnosti materijala, tj. sposobnosti uzorka da apsorbuje i desorbuje vlagu pod kontrolisanim uslovima temperature i relativne vlažnosti. Polimeri u čvrstim disperzijama su često higroskopniji, u poređenju sa aktivnim supstancama, a apsorbirana vlaga u čvrstim disperzijama može smanjiti T_g i biti uzrok nestabilnosti. Dobijeni podaci mogu ukazivati na potrebne uslove prilikom proizvodnje, pakovanja i čuvanja čvrstih disperzija (Chen i sar., 2019).

Ispitivanje brzine rastvaranja aktivne supstance je značajna metoda jer daje uvid u podatke o brzini rastvaranja aktivne supstance iz čvrstih disperzija. Uobičajeno se ispitivanje uporedo sprovodi sa uzorcima čvrstih disperzija, fizičkih smeša aktivne supstance i polimera i čiste aktivne supstance (Bertoni i sar., 2020; Kushwah i sar., 2024). Ukoliko postoji značajno povećanje brzine rastvaranja aktivne supstance iz čvrstih disperzija, u poređenju sa fizičkim smešama i samom aktivnom supstancom, može se zaključiti da je formiranje čvrstih disperzija uspešno. Ispitivanje se koristi i za objašnjavanje procesa oslobađanja aktivne supstance iz formulacije, za potvrdu robusnosti i reproducibilnosti proizvodnog procesa, kao i za potvrdu kvaliteta gotovog leka. Kada se ispitivanje brzine rastvaranja aktivne supstance ponovi u funkciji vremena, može se koristiti i za procenu stabilnosti čvrstih disperzija tokom skladištenja, tj. u predviđenom roku upotrebe. Izbor odgovarajućih uslova izvođenja testa, kao što su, na primer, izbor medijuma (zapremina medijuma, pH vrednost, jonska jačina, dodatak surfaktanta), brzine okretanja korpice/lopatice, temperature medijuma i intervali uzorkovanja su veoma važni (Kokott i sar., 2024).

Ispitivanje se može sprovesti tako da se oponašaju promene uslova u GIT (sastav i zapremina GIT tečnosti, promena pH vrednosti, uticaj prisustva enzima i žučnih soli, prisustvo i odsustvo hrane, vreme pražnjenja želuca, vreme prolaska kroz creva, motilitet creva (Iyer i sar., 2021). U okviru FDA (engl. *Food and Drug Administration*, skr. FDA) baze podataka se takođe mogu naći preporučeni uslovi za ispitivanje brzine rastvaranja različitih aktivnih supstanci iz farmaceutskih oblika sa trenutnim ili produženim oslobađanjem (FDA, 2022; https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_getallData.cfm).

Ispitivanje stabilnosti se sprovodi prema ICH (engl. *International Conference on Harmonization*, skr. ICH) smernicama. Svrha testiranja stabilnosti je da pokaže kako se kvalitet aktivne supstance i leka menja sa vremenom pod uticajem različitih faktora sredine kao što su temperatura, vlažnost i svetlost, kao i da se odredi rok upotrebe leka i preporučeni uslovi skladištenja (ICH Q1A R2, 2003). Studije stabilnosti treba da obuhvate testiranje onih parametara farmaceutskog oblika koji su podložni

promenama tokom skladištenja i koji bi mogli uticati na kvalitet, bezbednost i efikasnost leka. Tokom ispitivanja stabilnosti, u određenim vremenskim intervalima ispituje se da li je došlo do promene parametara ispitivanog uzorka kao što su: izgleda uzorka, sadržaj aktivne supstance, *in vitro* ispitivanje brzine rastvaranja aktivne supstance, sadržaj nečistoća, mikrobiološka čistoća (Huynh-Ba i Dong, 2020). Prema smernici za ispitivanje stabilnosti (ICH Q1A R2) dugotrajno ispitivanje stabilnosti bi trebalo da traje najmanje 12 meseci pri uslovima $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/60\% \text{ RH} \pm 5\% \text{ RH}$ ili $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/65\% \text{ RH} \pm 5\% \text{ RH}$ (EMA, 2003).

Veličina i raspodela veličina čestica su značajne karakteristike koja utiče na procese koji se dešavaju tokom dalje obrade čvrstih disperzija u finalni farmaceutski oblik. Određivanje ovog parametra utiče na nasipnu gustinu, protočnost i kompresibilnost praškova koji se podvrgava daljoj obradi u kapsule i tablete. Osim toga, veličina čestica utiče i na brzinu rastvaranja aktivne supstance, što posledično može da utiče na terapijsku efikasnost leka (Mariano, 2024). Metode koje se najčešće koriste za određivanje veličine čestica su: sitana analiza, metoda laserske difrakcije, optička mikroskopija i skenirajuća elektronska mikroskopija (skr. SEM) (Madarász i sar., 2018). Metoda sitane analize predstavlja jednostavnu i lako dostupnu metodu određivanja raspodele veličina čestica. Nedostatak je što ne daje precizan podatak za prosečnu veličinu čestica, već samo opsege, unutar kojih se prečnici čestica nalaze.

Laserska difrakcija uobičajena je metoda za određivanje veličine i raspodele veličina čestica. Zasniva se na preusmeravanju laserskog snopa svetlosti, usled interakcije sa česticama koje su raspršene u tečnoj suspenziji ili u struji vazduha. Uobičajeno, ovom metodom se može meriti veličina čestica u rasponu od $0,02 \mu\text{m}$ do $2000 \mu\text{m}$. Nije pogodna za merenje veličina čestica koje imaju izdužen oblik (Brümmer, 2008). Kratko vreme analize, robusnost, preciznost i ponovljivost doprineli su da je metoda laserske difrakcije postala standardna metoda za određivanje veličine čestica u farmaceutskoj industriji (Shekunov i sar., 2007).

Metoda mikroskopske analize je jedna od preciznijih metoda za merenje veličine čestica praškova, jer podrazumeva da se čestice u vidnom polju mere pojedinačno (Almoazen i Felton, 2013). Danas se dominatno koriste softveri za automatsku obradu slike, koji omogućavaju automatsko merenje veličine velikog broja čestica (Liang i sar., 2023). Optička mikroskopija se može koristiti za osnovnu analizu veličine i oblika čestica, ali nije idealna za precizne kvantitativne analize posebno kod vrlo malih čestica. SEM je metoda za precizniju analizu veličine i oblika čestica. SEM metodom se može određivati i veličina čestica koje su manje od $1 \mu\text{m}$. Osim toga, SEM može dati uvid u trodimenzionalnu sliku čestica, pa se na ovaj način može analizirati oblik i izgled površine čestica (Almoazen i Felton, 2013).

Sadržaj vlage je važan parametar koji je potrebno poznavati i kontrolisati kako bi se obezbedila odgovarajuća dalja obrada i stabilnost čvrstih disperzija. Predstavlja gubitak mase uzorka nakon sušenja izražen u procentima (m/m). Sadržaj vlage se meri termogravimetrijski, prema metodi opisanoj u Ph. Eur. ili pomoću metode dinamičke sorpcije pare (Crouter i sar., 2014). Kod termogravimetrijske metode, koja se najčešće koristi, uzorak se izlaže uslovima povišene temperature do postizanja konstantne mase, ili u propisanom vremenskom roku. Kod praškastih materijala (uključujući i čvrste disperzije) se vrlo često određuju i stvarna, nasipna i tapkana gustina.

Stvarna gustina predstavlja gustinu uzorka bez međučestičnih pora. Najčešće se meri pomoću gasnog piknometra, prema metodi opisanoj u Ph. Eur. Određivanje stvarne gustine korišćenjem gasnog piknometra je brza, precizna i neinvazivna metoda. Za merenje se koriste inertni gasovi, najčešće helijum, azot i argon. Od svih navedenih gasova, helijum se najviše preporučuje jer može da prođe u pore veličine i do $0,1 \text{ nm}$ i ponaša se kao idealni gas. Pre merenja praškasti uzorak se prvo kondicionira, kako bi se uklonila onečišćenja, koja mogu ispuniti ili blokirati pore i na taj način uticati

na rezultate merenja. Ovaj proces se sprovodi zagrevanjem uzorka, nakon čega se u sistem uvodi inertni gas. Na ovaj način se uklanja i eventualno prisutna vlaga u uzorku, jer ona može da utiče na preciznost rezultata. Gasni piknometar određuje zapreminu čvrstog uzorka na osnovu promena pritiska referetne i komore sa uzorkom. Iako se piknometri smatraju uređajima za merenje gustine, oni zapravo mere samo zapreminu, dok se gustina izračunava kao odnos mase i zapremine, pri čemu se masa određuje posebno, merenjem uzorka. U gasnom piknometru, merena zapremina predstavlja prostor nepristupačan gasu. Zatvorene pore, tj. one koje nemaju kontakt sa površinom čvrstog uzorka, uključene su u merenu zapreminu (Tamari, 2004).

Nasipna gustina predstavlja odnos između mase uzorka i zapremine koju taj uzorak zauzima, uključujući i prostor između čestica (pore i međučestične praznine). Zavisi od stvarne gustine i organizacije čestica u uzorku (eng. *powder bed*). Merenje nasipne gustine je teško izvodljivo sa dobrom reproduktivnošću. I mala pomeranja mernog suda mogu dovesti do promene organizacije čestica u uzorku, što može dovesti do promene nasipne gustine. Nasipna gustina se određuje prema metodi opisanoj u Ph. Eur., merenjem zapremine (V_0) poznate mase uzorka (m) u graduisanom sudu i izračunavanjem odnosa mase i zapremine (m/V_0).

Tapkana gustina predstavlja gustinu dobijenu mehaničkim tapkanjem uzorka u graduisanom sudu, do konstantne zapremine, na uređaju za određivanje tapkane zapremine. Ispitivani uzorci se tapkaju 10, 500 i 1250 puta, frekvencijom od 250 udar/min. Na osnovu poznate mase uzorka (m) i tapkane zapremine (V_t) uzorka, tapkana gustina se izračunava iz odnosa m/V_t . Poređenje nasipne i tapkane gustine omogućava procenu međučestičnih interakcija unutar uzorka koje utiču na protočnost i kompresibilnost, a izražavaju se preko *Hausner*-ovog odnosa i *Carr*-ovog indeksa (indeksa kompresibilnosti) (Ph. Eur. 11.0).

Protočnost je važna karakteristika praškastih materijala. Loša protočnost dovodi do problema tokom faza proizvodnje kao što su mešanje, granulacija, sušenje, ekstruzija, tabletiranje, a to može da dovede do varijacija u sadržaju aktivne supstance i kvalitetu finalnog leka (Mariano, 2024). Čvrste disperzije obično imaju lošu protočnost, koja prouzrokuje probleme tokom svake faze proizvodnje u finalni farmaceutski oblik, što se nepovoljno može odraziti na kvalitet leka (Szabó i sar., 2019). Na protočnost utiču brojni faktori, kao što su: veličina i oblik čestica, sadržaj vlage, stvarna, nasipna i tapkana gustina i porozitet.

Protočnost se može odrediti eksperimentalnim metodama, kao što su određivanje nasipnog ugla, merenje brzine proticanja kroz levak, metoda uz korišćenje ćelije za smicanje ili izračunavanjem *Hausner*-ovog odnosa i *Carr*-ovog indeksa (indeksa kompresibilnosti) iz nasipne i tapkane gustine (Janssen i sar., 2021; Ph. Eur. 11.0). Svaka od metoda ima svoje prednosti i nedostatke. Izazov predstavlja odabir metode, jer rezultati protočnosti dobijeni različitim metodama merenja praškova često se mogu razlikovati (Shah i sar., 2023). Merenje nasipnog ugla je najčešće korišćena metoda za procenu protočnosti praškova. Prema Ph. Eur., nasipni ugao je ugao koji formira kupa praškastog uzorka, u odnosu na horizontalnu osnovu. Iako je ova metoda široko korišćena, može biti nepouzdana za praškove sklone segregaciji, konsolidaciji ili zadržavanju vazduha unutar uzorka tokom formiranja kupe. Nedostatak ove metode je što jako zavisi od uređaja kojim se merenje vrši (Shah i sar., 2023).

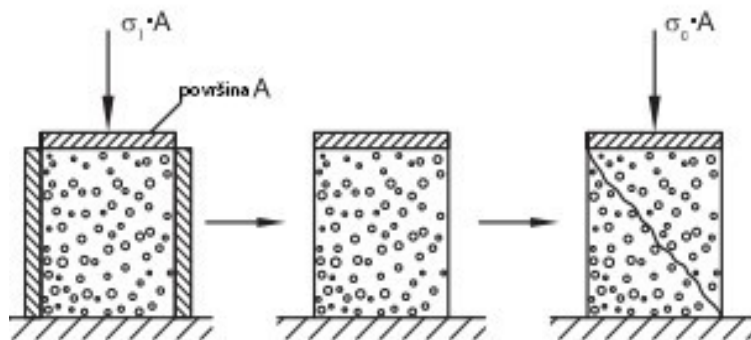
Iako je procena protočnosti na osnovu *Hausner*-ovog indeksa i *Carr*-ovog odnosa jednostavna metoda za određivanje protočnosti, koju propisuje Ph. Eur., veoma zavisi od korišćenih uređaja za merenje nasipne i tapkane gustine.

Brzina proticanja materijala kroz levak je pogodnija metoda, koju takođe propisuje Ph. Eur., a koja predstavlja dinamičko određivanje protočnosti. Brzina protoka kroz levak se obično izražava kao masa

uzorka, koja ističe iz posude u jedinici vremena. Zависи od vrste posude u kojoj se nalazi prašak, veličine i oblika otvora levka (Capece i sar., 2016). Važno je kontinuirano proticanje uzorka, s obzirom da je zaustavljanje proticanja primećeno i kod praškova sa dobrom protočnošću. Osim toga, mogu se primetiti promene u brzini proticanja kako se levak prazni.

Korišćenjem ćelije za smicanje, prema Ph. Eur. 11.0, mogu se meriti različiti parametri koji opisuju proticanje praškova pod uticajem različitih sila koje deluju na uzorak, kao što su: otpor kretanju praška pod delovanjem sile (engl. *yield locus*), ugao unutrašnjeg trenja (engl. *the angle of internal friction*), sila kompresije (eng. *the compressive strength*), zatezna čvrstoća (eng. *tensile strength*), odnos protočnosti (eng. *flowability ratio*). Postoje različite ćelije za smicanje za merenje protočnosti praškova. Jedan tip ćelije je translaciona ćelija (engl. *translational shear cell*), koja može biti cilindrična ili pravougaonog oblika, i formira ravan smicanja između donje nepokretne baze i gornjeg pokretnog dela, prstena za smicanje. Nakon konsolidacije uzorka, određuje se sila neophodna da pomeri uzorak pomoću gornjeg prstena. Drugi tip je rotaciona ćelija (engl. *rotational shear cell*) koja može biti cilindrična ili u obliku prstena. Za ovu ćeliju je potrebno manje uzorka, ali dizajn ćelije ne omogućava ujednačenu raspodelu smicanja u svim delovima ćelije (Ph. Eur. 11.0).

Za ispitivanje protočnosti ćelijom za smicanje Ph. Eur. 11.0 propisuje princip izvođenja jednoosovinskog testa kompresije (engl. *uniaxial compression test*), koji podrazumeva primenu sile, obično vertikalne, na uzorak. Kao što je prikazano na slici 1.12, šuplji cilindar se napuni uzorkom. Na uzorak se primenjuje vertikalna sila konsolidacije (σ_1). Što je veće smanjenje zapremine uzorka, to je uzorak kompresibilniji. Prilikom primene sile konsolidacije, sa povećanjem naspine gustine dolazi do povećanja otpora uzorka. Na ovaj način je uzorak konsolidovan i komprimovan. Nakon toga, prestaje se sa delovanjem sile konsolidacije i šuplji cilindar se uklanja. Na konsolidovani cilindrični uzorak se primenjuje rastuća vertikalna sila kompresije i pri određenoj sili uzorak ne može da se odupre (dolazi do pucanja) i počinje da se kreće (protiče). Sila kompresije (σ_c) je sila koja je dovoljna da izazove kretanje uzorka i predstavlja specifičnu granicu protočnosti uzorka (eng. *yield limit*). Što je veća sila konsolidacije (σ_1), veće su nasipna gustina (ρ_b) i sila kompresije (σ_c).



Slika 1.12. Jednoosovinski test kompresije (preuzeto iz Ph. Eur. 11.0)

Ukoliko se test izvodi tako da se na uzorak primenjuje više različitih sila konsolidacije (σ_1) i da grafički prikaz (σ_1 , σ_c) i (σ_1 , ρ_b) zavisnosti sile kompresije (σ_c) i nasipne gustine (ρ_b) od sile konsolidacije, uočava se da se sa porastom sile konsolidacije povećavaju sila kompresije i nasipna gustina uzorka (slika 1.13 a., kriva uzorka A). Kriva zavisnosti sile kompresije od sile konsolidacije se naziva funkcija protočnosti (eng. *flow function*). Kriva B (slika 1.13 a) predstavlja ređi slučaj krive funkcije protočnosti, gde se u levom delu krive vidi pad sile kompresije sa porastom sile konsolidacije. Funkcija

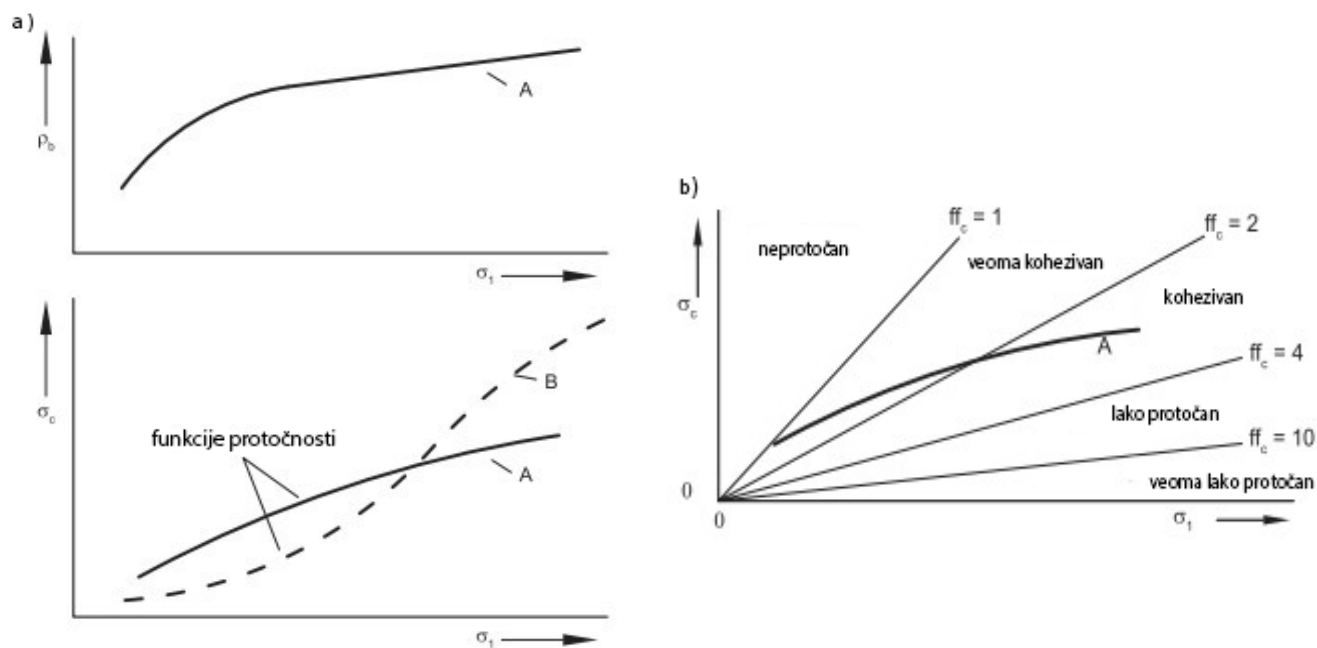
protočnosti se može iskoristiti za objašnjenje protočnosti praškova, tako što se izračuna odnos protočnosti (ff_c) (eng. *flowability ratio*) prema jednačini (1):

$$ff_c = \frac{\sigma_1}{\sigma_c} \quad (1)$$

Što je veća vrednost ff_c , bolja je protočnost. Klasifikacija protočnosti na osnovu ff_c vrednosti je prikazana u tabeli 1.2 i slici 1.13(b).

Tabela 1.2. Klasifikacija protočnosti na osnovu vrednosti odnosa protočnosti ff_c

Odnos protočnosti (ff_c)	Klasifikacija protočnosti
$ff_c < 1$	Neprotočan
$1 < ff_c < 2$	Veoma kohezivan
$2 < ff_c < 4$	Kohezivan
$4 < ff_c < 10$	Lako protočan
$10 < ff_c$	Veoma lako protočan



Slika 1.13. Prikaz zavisnosti nasipne gustina (gore) i sile kompresije (dole) u zavisnosti od sile konsolidacije (a) i klasifikacija protočnosti na osnovu vrednosti ff_c (b) (preuzeto iz Ph. Eur. 11.0)

Prednost određivanja protočnosti ćelijom za smicanje je bolja kontrola izvođenja eksperimenta, ali je metoda vremenski zahtevna, potrebne su velike količine uzorka i dobro obučan analitičar (Shah i sar., 2023).

Uprkos jednostavnosti nabrojanih metoda za određivanje protočnosti u pogledu izvođenja i interpretacije rezultata, česti su problemi kao što su ponovljivost, predvidljivost i osetljivost. Takođe, izazovno je uspostaviti korelaciju između dobijenih rezultata i stvarnog ponašanja praškova tokom granulacije ili tabletiranja.

U novom poglavlju Američke farmakopeje (engl. *United States Pharmacopeia*, skr. USP) (USP 47/NF42, 2024), metodologija ispitivanja protočnosti na ćeliji za smicanje (engl. *Shear cell methodology for powder flow testing*), se navodi da je ova metoda ispitivanja protočnosti praškova jedna od najvažnijih, jer može da se predvidi ponašanje praškova tokom proizvodnje. Ovo poglavlje daje opis najčešće korišćenih ćelija za smicanje, način pripreme uzorka i instrumenta, izbor uslova merenja i interpretaciju rezultata.

Za merenje protočnosti koriste se i različite vrste reometara (Dangre i sar., 2022; Moravkar i sar., 2022; Wilkinson i sar., 2023). Reometar omogućava ponovljivo i jednostavno određivanje protočnosti, kao i simulaciju ponašanja praškova pod uticajem različitih uslova, kao što su fluidizacija, trenje, konsolidacije praškova pod uticajem sile kompresije (Davis i sar., 2018; Shimada i sar., 2018).

Kompresibilnost praškova predstavlja njihovu sposobnost da smanje zapreminu nakon primene sile kompresije, što je ključno tokom procesa tabletiranja. Niska kompresibilnost može dovesti do nastanka tableta (i kapsula) neodgovarajućeg kvaliteta (Brubaker i Moghtadernejad, 2024). Na kompresibilnost utiču veličina čestica, nasipna i tapkana gustina, sadržaj vlage i porozitet praškova. Procena kompresibilnosti se može vršiti na osnovu vrednosti *Hausner*-ovog odnosa i *Carr*-ovog indeksa, testova merenja sile tokom sabijanja pomoću prese koristeći *Heckel*-ovu i *Kawakita*-ovu jednačinu, ćelije za smicanje (jednosovinski test kompresije) i pomoću reometra (Özalp i sar., 2020; Wünsch i sar., 2019).

Poznavanjem reoloških karakteristika praškastih materijala olakšavaju se procesi u farmaceutskoj industriji, smanjenjuje mogućnost proizvodnje serija leka neodgovarajućeg kvaliteta i povećava efikasnost proizvodnje (Parekh i sar., 2023; Macho i sar., 2021; Mariano, 2024). Upotreba reometara koji simuliraju ponašanje praškova pod uticajem različitih uslova (izloženost pritisku, struji vazduha, trenju) predstavlja veoma koristan alat za optimizaciju formulacije i procesa proizvodnje. Savremeni reometri sa specijalizovanim ćelijama (kao što su ćelije za merenje proticanja praškova i ćelije za smicanje praškova) i naprednim softverom nude više metoda za karakterizaciju i predviđanje različitih osobina praškova tokom proizvodnje, rukovanja i skladištenja. Razlika između ove dve vrste ćelija se ogleda u tome što se na ćeliji za proticanje praškova lakše ispituju praškovi koji imaju bolju protočnost, dok je ćelija za smicanje pogodnija za ispitivanje kohezivnijih praškova. Na ćeliji za proticanje praškova mogu se ispitivati sledeći parametri: zapreminski protok vazduha potreban za fluidizaciju čestica (engl. *pressure drop*), vreme potrebno da se čestice slegnu nakon fluidizacije (engl. *deaeration*), sila kohezije (engl. *cohesion strength*), koeficijent trenja (engl. *wall friction coefficient*), ugao trenja (engl. *wall friction angle*), kompresibilnost (engl. *compressibility*), prividni viskozitet (engl. *apparent viscosity*; *powder shear rate sweep*), segregacija (razdvajanje) čestica (engl. *segregation*), zatezna čvrstoća (engl. *tensile strength*), permeabilnost (engl. *permeability*), dinamičko proticanje (engl. *dynamic flow*). Na ćeliji za smicanje praškova se mogu ispitivati: otpor kretanju praškova pri delovanju sile (engl. *yield locus analysis*), funkcija protočnosti (engl. *flow function*), vreme konsolidacije (sabijanja) uzorka (engl. *time consolidation*), koeficijent trenja (engl. *wall friction*

coefficient), ugao trenja (engl. *wall friction angle*) i kompresibilnost (engl. *compressibility*) (Introduction in Powder Rheology, Anton Paar).

Od navedenih parametara, za procenu reoloških karakteristika praškova najčešće se koriste: zapreminski protok vazduha potreban za fluidizaciju čestica, vreme potrebno da se čestice slegnu nakon fluidizacije, sila kohezije, trenje koje nastaje između čestica praška i zida opreme (uređaja) sa kojim su kontaktu, kompresibilnost, prividni viskozitet, dinamičko proticanju, otpor proticanju praška pod delovanjem sile, segregacija i sl.

1.1.6. Prednosti i nedostaci čvrstih disperzija

Osnovni razlog za formulaciju čvrstih disperzija je poboljšanje rastvorljivosti slabo rastvorljivih aktivnih supstanci. Zbog poboljšanja rastvorljivosti dolazi do povećanja i bioraspoloživosti aktivne supstance, što može voditi ka smanjenju terapijske doze i neželjenih efekata leka (Rauseo i sar., 2021). Zahvaljujući disperziji aktivne supstance u amorfnom obliku unutar nosača, brzina rastvaranja aktivne supstance je veća, jer dolazi do narušavanja kristalne rešetke aktivne supstance i nije potrebna dodatna energija prilikom rastvaranja. U amorfnim čvrstim disperzijama može doći do smanjenja veličine čestica do molekulskog nivoa. Nakon rastvaranja nosača, supstanca je izložena medijumu u vidu finih čestica veće specifične površine, što rezultira boljom rastvorljivošću i, očekivano, većom apsorpcijom i bioraspoloživošću (Greeshmika i sar., 2021; Malkawi i sar., 2022). U ovakvom sistemu, nosač može sprečiti naknadnu agregaciju čestica, koja bi mogla negativno uticati na rastvorljivost aktivne supstance. U zavisnosti od korišćenog nosača, mogu nastati poroznije čvrste disperzije u odnosu na aktivnu supstancu, što može rezultirati boljim kvašenjem i rastvaranjem. Određeni nosači imaju osobine površinski aktivnih materija (PAM), što može dodatno olakšati kvašenje supstance i povećati njenu rastvorljivost (Greeshmika i sar., 2021). Odabrani nosač, zahvaljujući svojim osobinama i nastalim međumolekulskim interakcijama sa aktivnom supstancom, može da inhibira rekristalizaciju aktivne supstance i na taj način utiče na rastvorljivost, kao i na stabilnost čvrste disperzije (Bhujbal i sar, 2021).

Jedna od prednosti primene amorfnih čvrstih disperzija u farmaceutskoj industriji je mogućnost inkorporiranja mnogo većih doza slabo rastvorljivih aktivnih supstanci, uz smanjenje mase tablete (Mudie i sar., 2020a; Mudie i sar; 2020b). Formulacijom čvrstih disperzija može se značajno povećati udeo aktivne supstance u finalnom farmaceutskom obliku, u poređenju sa konvencionalnim formulacijama. Ovakav pristup je izabrala kompanija Astra Zeneca kada je reformulisala lek Lynparza® kapsule, koje sadrže 50 mg olapariba. Lek je namenjen za lečenje karcinoma jajnika, u terapijskoj dozi od 800 mg (16 kapsula dnevno), što je nepraktično i teško za primenu. Reformulisane tablete su sadržale čvrstu disperziju olapariba (u dozi 150 mg i 200 mg) sa nosačem kopovidonom, i na ovaj način je doza aktivne supstance uvećana 3 i 4 puta, u odnosu na konvencionalne kapsule. Takođe, primenom tableta sa čvrstom disperzijom je značajno povećana bioraspoloživosti olapariba, čime je omogućeno smanjenje terapijske doze na 300 mg, što je značajno povećalo komplijansu pacijentkinja (Bechtold i sar., 2013; Mudge i sar, 2016).

Slično, drugi autori (Mudie i sar., 2020a) su formulacijom čvrstih disperzija povećali udeo aktivne supstance erlotinib u tabletama sa 18% na 29%, pri čemu je masa tableta smanjena sa 585 mg na 350 mg. Za dobijanje čvrstih disperzija korišćen je polimer Eudragit® L100 (metakrilna kiselina – metilmetakrilat kopolimer 1:1) i metoda sušenja raspršivanjem. Čvrste disperzije su zatim granulisane sa 29% rastvorom HPMCAS H, pomešane sa laktozom i silicijum dioksidom i tabletirane. Brzina rastvaranja aktivne supstance iz obe formulacije tableta (pre i posle povećanja doze/smanjenja mase tablete) je bila slična. Formulacijom čvrste disperzije je omogućeno povećanje doze erlotiniba u

tabletama i smanjenje mase tablete za 40%, bez negativnog uticaja na brzinu rastvaranja aktivne supstance.

Studije na životinjama su pokazale dobru podnošljivost čvrstih disperzija kada se za njihovu proizvodnju koriste poznati, provereni, dugo upotrebljavani nosači, koje FDA navodi kao bezbedne (He i Ho, 2015). Korišćenjem jednog ili kombinacije više nosača, u zavisnosti od aktivne supstance i terapijske primene, može se obezbediti primena leka sa trenutnim, produženim ili kontrolisanim oslobađanjem aktivne supstance (Tambe i sar., 2022). Čvrste disperzije su, u mnogim objavljenim studijama, pokazale poboljšanje *in vitro* brzine rastvaranja, ali i poboljšanje bioraspoloživosti u *in vivo* studijama na životinjama i ljudima (Jørgensen i sar., 2023; Huang i sar., 2022; Nupur i sar., 2023; Oliveira i sar., 2020; Tran i sar., 2013). Jedan od novijih primera za značajno povećanje bioraspoloživosti itrakonazola su kapsule Tolsura[®] (Mayne). Ovaj lek sadrži čvrstu disperziju sa itrakonazolom i polimerom hipromeloza-ftalatom kao nosačem, a koja je proizvedena metodom sušenja raspršivanjem. Polimer ima pH-zavisnu rastvorljivost i rastvara se u crevima. Konvencionalno proizvedena formulacija kapsula sa itrakonazolom sadrži aktivnu supstancu u kristalnom obliku, koja se oslobađa i rastvara u želucu. Primenom leka Tolsura[®], aktivna supstanca se rastvara u tankom crevu, što je postignuto formulacijom čvrste disperzije, a *in vivo* studija na ljudima je pokazala povećanje bioraspoloživosti itrakonazola do 90%, u poređenju sa konvencionalnim kapsulama. Takođe, smanjena je terapijska doza itrakonazola, kao i interindividualne varijacije u terapiji (Rauseo i sar., 2021).

Tokom razvoja čvrstih disperzija mogu se pojaviti različiti izazovi, kao što su fizička i hemijsku nestabilnost tokom izrade/proizvodnje i roka upotrebe, izbor odgovarajuće metode izrade/proizvodnje i potreba za određenom specifičnom opremom za proizvodnju, ograničena reproduktivnost proizvodnog procesa i fizičko-hemijskih karakteristika čvrstih disperzija, problemi obrade čvrstih disperzija u finalne farmaceutske oblike, kao i otežan prenos proizvodnje sa laboratorijskog na industrijski nivo (Iyer i sar., 2021; Pandi i sar., 2020; Samsoen i sar., 2024). Stabilnost čvrstih disperzija može biti ugrožena zbog uticaja spoljašnjih uslova (vlage, temperature), nedovoljne homogenosti čvrstih disperzija, razdvajanja faza, rasta kristala ili rekristalizacije aktivne supstance iz amornog u stabilni kristalni oblik. Da bi se osigurala optimalna stabilnost čvrste disperzije, molekulska mobilnost unutar čvrstih disperzija se mora smanjiti na najmanji mogući nivo, što se može postići, korišćenjem odgovarajućih nosača, koji će obezbediti dobro mešanje, povećati T_g čvrste disperzije, i obezbediti uspostavljanje međumolekulskih interakcija između nosača i aktivne supstance (Haser i Zhang, 2018). Poznavanje osobina aktivne supstance kao što su rastvorljivost, lipofilnost i tendencija ka rekristalizaciji su neophodni pilikom formulisanja čvrstih disperzija. Aktivna supstanca koja pokazuje manju i sporiju rekristalizaciju će imati bolju rastvorljivost i stabilnost. Higroskopan nosač može biti uzrok nestabilnosti, pa je razmatranje fizičko-hemijskih osobina i aktivne supstance i nosača neophodno za izbegavanje problema nestabilnosti čvrstih disperzija (Mariano, 2024). Pravilan izbor vrste i udela nosača, kao i metode izrade/proizvodnje su ključni za postizanje dugotrajne stabilnosti čvrstih disperzija (Lee i sar., 2021; Patel i sar., 2022; Yu i Hoag, 2024).

Veliki udeo nosača u čvrstoj disperziji je često neophodan, kako bi se postiglo željeno povećanje brzine rastvaranja aktivne supstance, a to može da otežava izradu/proizvodnju finalnog farmaceutskog oblika sa čvrstim disperzijama. Veliki izazov predstavlja formulacija tableta i kapsula sa čvrstim disperzijama, jer su navedeni farmaceutske oblici lekova ograničeni masom i dimenzijama.

Izrada/proizvodnja čvrstih disperzija može biti otežana na standardnoj opremi zbog česte lepljivosti ili žilave konzistencije, slične vosku. Prenos proizvodnje sa laboratorijskog na industrijski nivo može predstavljati problem, što je jedan od glavnih razloga što se farmaceutske oblici lekova sa čvrstim disperzijama ne nalaze na tržištu u većem obimu. Proces, kao što su topljenje i hlađenje tokom

izrade/proizvodnje čvrstih disperzija, kao i isparavanje veće količine rastvarača kada se proizvode velike serije čvrstih disperzija mogu biti otežani, jer zahtevaju dugo vreme i veliki utrošak energije, zbog čega ovakva proizvodnja može biti neekonomična i ekološki neprihvatljiva.

1.2. *In silico* modeli za procenu apsorpcije, distribucije i bioraspoloživosti aktivne supstance

Primena računarski podržanog modelovanja i simulacija (*in silico* modelovanje) sve više dobija na značaju u razvoju farmaceutskih oblika lekova. Jedan od alata *in silico* modelovanja i simulacija jeste „fiziološki zasnovano farmakokinetičko modelovanje“ (engl. *Physiologically-based pharmacokinetic modelling*, skr. PBPK), koje predstavlja alat za analizu i predviđanje procesa apsorpcije, distribucije, metabolizma i eliminacije (ADME) aktivne supstance u organizmu.

Nedavno je uveden i noviji termin „fiziološki zasnovano biofarmaceutsko modelovanje“ (engl. *Physiologically Based Biopharmaceutics Modeling*, skr. PBBM), koje predstavlja alat za mehanističku interpretaciju i predviđanje apsorpcije i distribucije aktivne supstance, jer uspostavlja vezu između fizičko-hemijskih osobina aktivne supstance, karakteristika formulacije i farmaceutskog oblika i specifičnih fizioloških uslova u organizmu, kako bi se razumeo uticaj ovih faktora na rastvaranje, apsorpciju i distribuciju aktivne supstance u GIT (Heimbach i sar., 2019; Wu i Li, 2023). PBBM može da predvidi kako promene u formulaciji, koje imaju uticaj na *in vitro* profil rastvaranja aktivne supstance, mogu da utiču na *in vivo* apsorpciju i farmakokinetički profil aktivne supstance (Bhattiprolu i sar. 2022; Laisney i sar., 2022; Mackie i sar., 2024). Korišćenjem PBBM može se ispitati kako promena određenih osobina aktivne supstance i formulacije (veličina čestica, rastvorljivost, brzina rastvaranja aktivne supstance), ili fizioloških karakteristika, utiče na apsorpciju i biološku raspoloživost aktivne supstance i na taj način se mogu identifikovati najznačajniji faktori koji utiču na brzinu i obim apsorpcije, distribucije i bioraspoloživosti aktivne supstance. PBBM se može koristiti u različitim fazama razvoja leka, uključujući izbor formulacije, razvoj bio-prediktivnih metoda za ispitivanje brzine rastvaranja, ispitivanje uticaja hrane na bioraspoloživost aktivne supstance i predviđanje lek-lek interakcija (Wu i Li, 2023). *In silico* modelovanje zahteva manje vremena i resursa za ispitivanje uticaja osobina aktivne supstance i farmaceutskog oblika leka na bioraspoloživost, u poređenju sa *in vivo* ispitivanjima (Cvijić i sar., 2018). Može se koristiti kao praktično rešenje za ekstrapolaciju farmakokinetičkih profila različitih doza ili puteva primene, etničkih i populacija različitog uzrasta, kao i u slučajevima gde je teško sprovesti kliničke studije (Cvijić i sar., 2018; Shi i sar., 2021). Komercijalni softverski paketi nude mogućnost izbora fizioloških parametara i mogućnost modelovanja za različite životinjske vrste, a za ljudsku populaciju se mogu odabrati fiziološki parametri ispitanika (telesna masa, pol i uzrast) i etnička pripadnost. Veliki izazov prilikom dizajna modela predstavlja pravilan izbor i unos podataka. Podaci koji opisuju fiziološke procese, ukoliko su dostupni, se preuzimaju iz literature i odnose se na prosečne podatke za ciljnu populaciju ljudi ili životinja. Međutim, ovi podaci su ponekad teško dostupni zbog ograničenih ili nedovoljnog broja objavljenih studija, posebno kada je reč o specifičnim populacijama kao što su pedijatrijska i gerijatrijska populacija, trudnice i populacije sa različitim bolestima (Hartmanshenn i sar., 2016). Olakšavajuća okolnost je što savremeni softveri danas poseduju integrisane podatke za fiziološke procese za različite populacije i zdravstvena stanja. PBPK/PBBM modelom se mogu simulirati uslovi određenih patofizioloških stanja (bolesti jetre, bubrega, transportnih sistema), koja utiču na farmakokinetiku aktivne supstance. Stalni razvoj softvera i proširenje softverskih baza podataka omogućili su modelovanje za posebne populacije, kao što su trudnice, dojilje, pedijatrijska i gerijatrijska populacija.

Razvoj PBBM modela temelji se na poznavanju tri grupe ulaznih podataka: biofarmaceutskih osobina aktivne supstance (fizičko-hemijska i farmakokinetička svojstva), osobina formulacije leka i fiziološkim karakteristikama organizma. Ulazni podaci za izgradnju modela mogu se dobiti eksperimentalno, koristiti *in silico* predviđeni podaci iz odgovarajućeg softvera ili se mogu preuzeti iz literature. Pored podataka specifičnih za aktivnu supstancu i fizioloških karakteristika organizma, za PBBM model je neophodno odabrati i/ili uneti podatke koji se odnose na ispitivanu formulaciju, kao što su, na primer, profil brzine rastvaranja aktivne supstance, farmaceutski oblik, veličina čestica aktivne supstance, doza i način doziranja, zapremina uzete tečnosti sa lekom, primena leka u stanju sitosti/gladi.

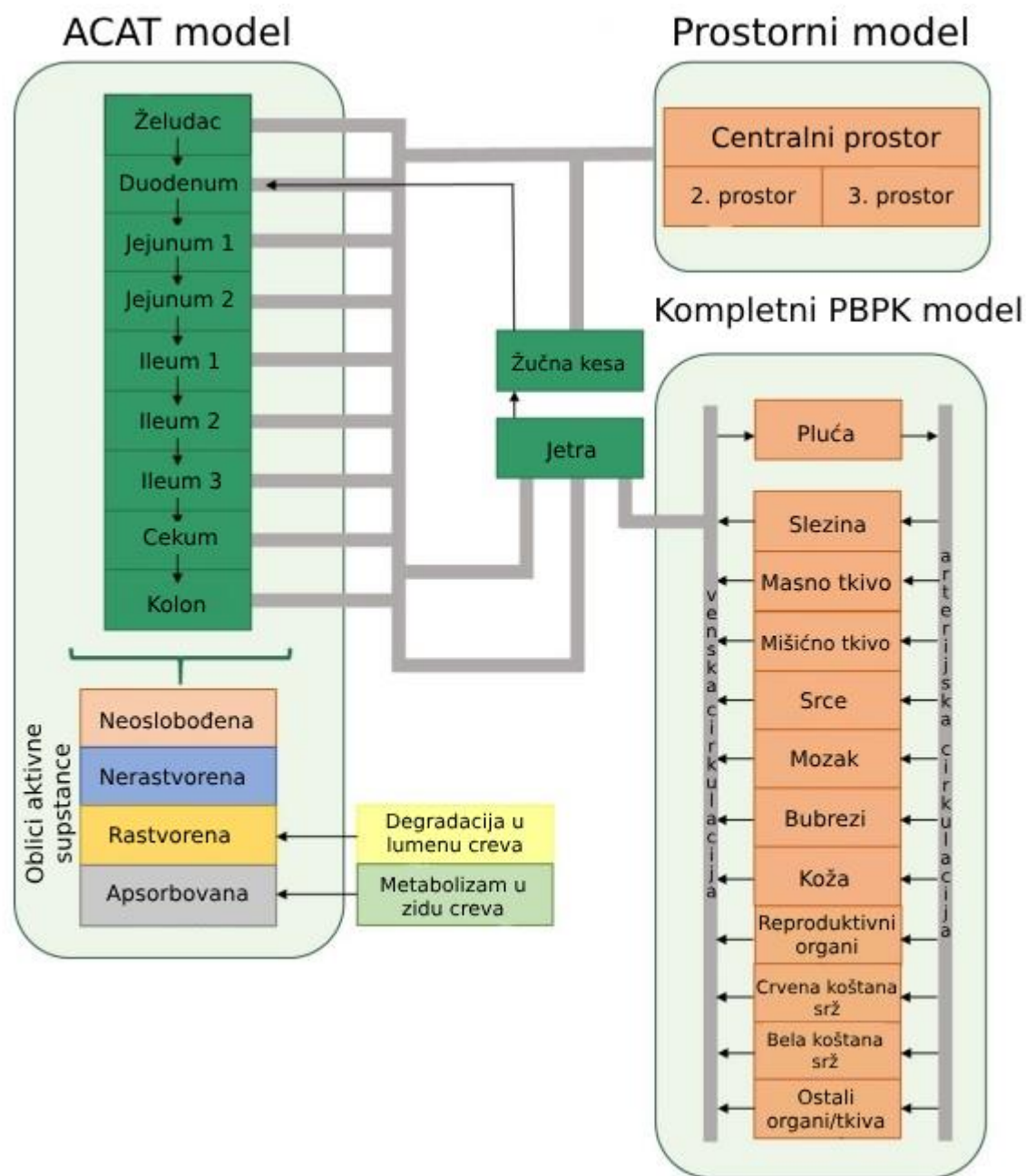
Jedan od značajnih programskih softvera koji se koristi za *in silico* modelovanje je GastroPlus™ (Simulation Plus Inc., SAD), softverski paket zasnovan na mehanističkim modelima, koji simulira brzinu oslobađanja, apsorpciju, farmakokinetiku, farmakodinamiku i bioraspoloživost aktivne supstance kod ljudi ili životinja. Omogućava prilagođavanje izgrađenih farmakokinetičkih modela na osnovu podataka iz objavljenih kliničkih studija, a zatim korišćenje dobijenih modela za predviđanje uticaja promene doze, farmaceutskog oblika i režima doziranja na apsorpciju, distribuciju i bioraspoloživost aktivne supstance. Softver omogućava i uspostavljanje korelacija između *in vitro* i *in vivo* podataka (Cvijić i sar., 2021). Na ovaj način moguće je predvideti kritična svojstva aktivne supstance i farmaceutskog oblika, koja utiču na brzinu rastvaranja i bioraspoloživost leka, čime se može ubrzati razvoj i izbor formulacije (Heimbach i sar., 2019).

Regulatorna tela, kao što su Evropska agencija za lekove (engl. *European Medicine Agency*, skr. EMA) i Američka uprava za hranu i lekove (engl. *Food and Drug Administration*, skr. FDA) su prepoznale važnost *in silico* modelovanja u farmaceutskoj industriji i objavile su smernice za njihovu upotrebu (EMA: Guideline on Reporting of physiologically based pharmacokinetics (PBPK) modeling and simulation (2018); FDA: Physiologically Based Pharmacokinetic Analyses — Format and Content Guidance for industry (2018)), kako bi se obezbedilo da se modeli razvijaju i koriste na odgovarajući i transparentan način.

Matematički modeli, koji prikazuju prolazak aktivne supstance kroz GIT, kao i brzinu i/ili stepen njene apsorpcije, čine sastavni deo PBBM modela za predviđanje ponašanja lekova primenjenih oralnim putem. Jedan od prvih fiziološki zasnovanih modela, koji je razvijen za predviđanje brzine i stepena apsorpcije aktivne supstance nakon peroralne primene je tzv. CAT model (engl. *Compartmental Absorption and Transit Model*, skr. CAT). CAT model obuhvata želudac, tanko crevo i kolon, a apsorpcija aktivne supstance se prema ovom modelu predviđa samo u tankom crevu. Tanko crevo je podeljeno na sedam regiona, koji se razlikuju prema dužini i zapremini tečnosti i nisu u vezi sa anatomskim celinama, a vreme prolaska leka kroz svaki segment je jednako (SimulationPlus Inc., SAD). Unapređenjem CAT modela, dobijen je unapređeni prostorni model apsorpcije i transporta aktivne supstance kroz GIT (engl. *Advanced Compartmental Absorption and Transit Model*, skr. ACAT), koji pruža detaljan prikaz humanog GIT-a i procesa kroz koje lek prolazi u različitim regionima GIT-a. Za razliku od osnovnog prostornog modela apsorpcije i transporta aktivne supstance kroz GIT (CAT), po kojem je, kako je navedeno, tanko crevo podeljeno na sedam regiona, ACAT model deli GIT na devet regiona, gde su pored tankog creva kao regioni uključeni i želudac i kolon. Svaki od regiona je okarakterisan zapreminom tečnosti, pH vrednošću i vremenom prolaska (Bermejo i sar., 2020). Ovo poboljšanje modela je doprinelo preciznosti predviđanja apsorpcije aktivnih supstanci kod kojih apsorpcija nije potpuna u tankom crevu, a omogućava predviđanje apsorpcije i za preparate sa modifikovanim oslobađanjem. ACAT model predviđa da se u svakom regionu GIT-a aktivna supstanca može nalaziti u šest oblika: neoslobodena, nerastvorena, rastvorena, degradirana, metabolizovana i apsorbovana. Takođe, model uzima u obzir pH-zavisnu rastvorljivost i brzinu rastvaranja aktivne supstance, apsorpciju u svim delovima GIT-a, metabolizam prvog prolaza u zidu

creva i jetri, kao i precipitaciju i degradaciju aktivne supstance. Kada supstanca uđe u enterocite, smatra se da je apsorbirana (SimulationPlus Inc., SAD).

ACAT model, u okviru Gastroplus™ softvera, je povezan sa prostornim (engl. *compartmental*) farmakokinetičkim modelom (jednostupni, dvostupni i trostupni) i kompletnim fiziološki-zasnovanim farmakokinetičkim (engl. *full/whole body Physiologically-Based Pharmacokinetic*, skr. PBPK) modelom, kako bi se simulirali distribucija i metabolizam leka i predvideli farmakokinetički parametri. Shematski prikaz ACAT prostornog i kompletnog PBPK modela u sklopu GastroPlus™ je dat na slici 1.14. Prostorni model je relativno jednostavan, ali zahteva prethodno poznavanje farmakokinetičkih parametara aktivne supstance, kao što su klirens (CL), volumen distribucije (V_d) i konstante distribucije između pojedinih prostora (k_{12} , k_{21} , k_{13} , k_{31}). Aktivna supstanca se u ovom modelu raspodeljuje u jedan (centralni) i/ili dva, odnosno tri prostora u organizmu. Ovi prostori ne predstavljaju anatomske ili fiziološke celine, nego hipotetičke, farmakokinetičke celine. Kompletni PBPK model se sastoji iz organa (srce, mozak, pluća, bubrezi, koža, reproduktivni organi) i tkiva (masno i mišićno), koji su međusobno povezani sistemskom cirkulacijom. Kompletni PBPK model detaljnije opisuje fiziološke karakteristike odabrane populacije u odnosu na prostorne modele i omogućava, osim predviđanja koncentracije leka u plazmi tokom vremena, predviđanje izloženosti leku različitih tkiva ili organa. Kompletni PBPK model je komplikovaniji za izgradnju i zahteva poznavanje većeg broja podataka. Svaki organ ili tkivo opisan je odgovarajućim parametrima (sastav, veličina, masa, prokrvljenost, metabolička aktivnost tkiva, ekspresija transportera) dok su organi i tkiva međusobno povezani „regionima” koji predstavljaju arterijski i venski krvotok. Raspodela aktivne supstance unutar svakog organa/tkiva je ograničena perfuzijom krvi kroz tkivo ili permeabilnošću aktivne supstance (Jones i Rowland-Yeo, 2013). Koji od modela će biti odabran zavisi od ciljeva istraživanja, dostupnosti podataka, zahtevnosti aktivne supstance i nivoa željenih podataka za simulaciju (Lin i Wong, 2017; Olivares-Morales i sar., 2016).



Slika 1.14. Shematski prikaz ACAT prostornog i kompletnog PBPK modela u sklopu GastroPlus™ softvera (prilagođeno iz Simulation plus, Inc., SAD)

Tačnost i pouzdanost modela se proverava validacijom modela, na osnovu kliničkih studija. Podaci iz kliničkih studija, koji se koriste za prilagođavanje i validaciju modela se preuzimaju iz objavljenih studija, zbog čega su obično dostupni samo prosečni podaci za ispitivanu populaciju, a ne individualni profili koncentracije leka u plazmi u toku vremena. Obično se porede profili koncentracije leka u plazmi tokom vremena i farmakokinetički parametri, kao što su maksimalna koncentracija leka u plazmi (C_{max}), vreme postizanja maksimalne koncentracije leka u plazmi (t_{max}) i vrednosti „površine ispod krive” (PIK). Ukoliko nisu dostupni podaci iz kliničkih studija, validacija modela se može izvršiti i na osnovu pretkliničkih ili *in silico* predviđenih podataka (Kesisoglou i Mitra, 2017). Ovakav pristup

može da pokaže neusaglašenost između predviđenih podataka i *in vivo* podataka iz kasnije sprovedenih studija. Prednost se uvek daje eksperimentalnim podacima, bilo da se radi o *in vitro* ili *in vivo* podacima, kada god je to moguće izvesti. Takođe, ako neki parametri nisu dostupni, potrebno ih je optimizovati. Preporučuje se da se validacija radi sa više doza i puteva primene, ukoliko za to postoje dostupni podaci (Kuepfer i sar., 2016).

Jedna od ključnih karakteristika PBBM modela je analiza osetljivosti parametara (engl. *Parameter Sensitivity Analysis*, skr. PSA), koja se koristi za procenu uticaja ulaznih parametara, kao što su osobine aktivne supstance i formulacije (veličina čestica, rastvorljivost, brzina rastvaranja) ili fizioloških karakteristika (promena pH vrednosti u GIT-u, vremena prolaska kroz GIT) na apsorpciju i bioraspoloživost aktivne supstance. Na ovaj način se mogu identifikovati kritični faktori koji utiču na brzinu i obim apsorpcije aktivne supstance i optimizovati razvoj formulacije kako bi se dobio željeni terapijski ishod (Cvijić i sar., 2021). Tokom razvoja formulacije leka važno je proceniti kako promene u formulaciji utiču na oslobađanje aktivne supstance *in vivo* i kako te promene utiču na koncentraciju aktivne supstance u plazmi tokom vremena. Podaci o *in vitro* rastvaranju aktivne supstance predstavljaju jedan od ključnih ulaznih parametara za primenu PBBM modela (Han i sar., 2022). Ukoliko se poznaju i razumeju faktori formulacije koji utiču na *in vitro* brzinu rastvaranja aktivne supstance, a koji mogu imati uticaj na *in vivo* farmakokinetički profil, mogu se sprečiti promene u formulaciji koje utiču na efikasnost i bezbednost leka prilikom primene na pacijentima (Laisney i sar., 2022). Zbog toga je važno razviti i odgovarajuću metodu za ispitivanje *in vitro* brzine rastvaranja, koja će na adekvatan način pokazati uticaj varijabilnosti uslova u GIT na brzinu rastvaranja aktivne supstance iz formulacije (Kollipara i sar., 2024). Kao ulazni podatak u PBBM modelu može se koristiti i predviđeni profil rastvaranja, zasnovan na Johnsonovoj jednačini (Han i sar., 2022).

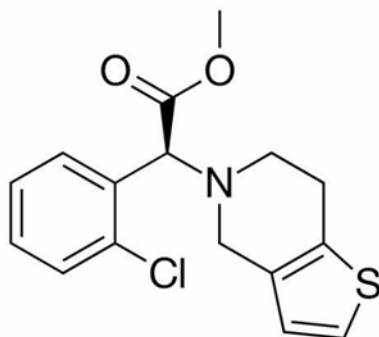
Praktična upotreba PBBM je značajno porasla poslednjih nekoliko godina (Anand i sar., 2022, Han i sar., 2022, Heimbach i sar., 2021, Wu i sar., 2021, Wu i sar., 2023). Činjenica da PBBM može da simulira *in vivo* ponašanje aktivne supstance prilikom izmena u formulaciji i uporedi njihovu relativnu bioraspoloživost, ostavlja mogućnost da se ovaj *in silico* alat u budućnosti više koristi umesto studija bioekvivalencije. Zbog mogućnosti koje trenutno nudi i uzimajući u obzir aktualne trendove, PBBM modelovanje bi uskoro moglo postati sastavni deo procesa razvoja formulacija lekova, što bi svakako olakšalo i ubrzalo razvoj novih lekova.

1.3. Klopidogrel-hidrogensulfat

Fizičkohemijske osobine

Klopidogrel (hemijski naziv: metil (2S)-2-(2-hlorofenil)-2 [6,7-dihidrotieno[3,2-c]piridin-5(4H)-il)acetat (slika 1.15)) je uljasta, veoma viskozna tečnost, nestabilna na povišenoj temperaturi i u prisustvu vlage, zbog čega se koristi u obliku soli, najčešće klopidogrel-hidrogensulfata (sin. klopidogrel-bisulfat). Postoje i druge soli (besilat, hidrohlorid, napadisilat, rezinat) koje se zbog nedovoljno studija o bezbednosti i efikasnosti retko koriste (Tsoumani i sar., 2015; Zupančič i sar., 2010).

Klopidogrel-hidrogensulfat pripada klasi II BSK, jer ima nisku rastvorljivost i visoku permeabilnost. Niska rastvorljivost ograničava njegovu bioraspoloživost i terapijsku efikasnost (Collete i sar., 2021; Coons i sar., 2022). Dodatni problem predstavlja i pH-zavisna rastvorljivost (s povećanjem pH vrednosti, rastvorljivost klopidogrel-hidrogensulfata opada), što uzrokuje lošu apsorpciju iz creva i smanjenu efikasnost (Chen i sar., 2022; El-Laithy i sar., 2019; Irshad i sar., 2019). Takođe, može doći do precipitacije lekovite supstance u crevima (Singh i sar., 2023) kao i do problema vraćanja apsorbovanog klopidogrel-hidrogensulfata u lumen creva posredstvom P-glikoproteinskog transportnog sistema (El-Laithy i sar., 2019). Klopidogrel-hidrogensulfat se može naći u više polimorfnih oblika, ali se jedino polimorfni oblici I i II koriste u proizvodnji farmaceutskih oblika, zbog veće stabilnosti i bioraspoloživosti (Koradia i sar., 2004; Zupančič i sar., 2010).



Slika 1.15. *Strukturna formula klopidogrela (preuzeto od Cvetkovski i sar., 2024)*

Zbog specifičnih fizičkohemijskih osobina, postoje problemi i tokom procesa proizvodnje farmaceutskih oblika sa klopidogrel-hidrogensulfatom. Budući da sadrži estarsku vezu i hiralni C-atom, koji su uzrok nestabilnosti molekula, pod uticajem povišene temperature i vlage može da dođe do degradacije molekula ili inverzije hiralnog centra (prelazak D-izomera u L-izomer) što utiče na stabilnost leka. Ova promena se može desiti i tokom procesa tabletiranja, pod uticajem visokih sila/pritisaka kompresije. L-izomer ne ispoljava terapijski efekat inhibicije agregacije trombocita, a može da dovede do konvulzija (Zhao, 2014). Takođe, klopidogrel-hidrogensulfat jako adsorbuje vlagu, pa se može javiti i problem lepljenja na delove mašine u toku procesa tabletiranja (Zhao, 2014; Sherman, 2002).

Dugi niz godina se sprovode istraživanja u cilju prevazilaženja navedenih problema vezanih za klopidogrel-hidrogensulfat, korišćenjem različitih formulacionih pristupa kao što su tečno-čvrsti sistemi (Ali i sar., 2021); čvrste disperzije (Correa Soto i sar., 2022); submikronske emulzije (Chen i

sar., 2022); kubozi (El-Laithy i sar., 2019; Hakeem i sar., 2020); upotreba plutajućih mikronosača (Irshad i sar., 2019) i građenje kompleksa sa ciklodekstrinima (Singh i sar., 2023).

Mehanizam delovanja i indikacije

Klopidogrel je inhibitor aktivacije i agregacije trombocita, jer ima afinitet da se ireverzibilno vezuje za purinski P_2Y_{12} receptor trombocita, zbog čega sprečava aktivaciju trombocita i nastanak tromba. Dokazano smanjuje učestalost ishemijskog moždanog udara, infarkta miokarda i nestabilne angine pectoris kod pacijenata sa kardiovaskularnim aterosklerotskim oboljenjima (FDA, 2009; Jourdi i sar., 2022).

Klopidogrel je pro-lek, 85-90% primenjene doze prolazi intenzivni metabolizam prvog prolaza kroz jetru, gde se posredstvom enzima hidrolizira u neaktivni metabolit, klopidogrel karboksilnu kiselinu. Ostatak od 10-15% primenjene doze se metaboliše u dve reakcije oksidacije u aktivni oblik klopidogrela (Lee i sar., 2022). Samo oko 2% primenjene doze klopidogrela se metaboliše u aktivni oblik, koji stiže u sistemsku cirkulaciju (FDA, 2009; Jiang i sar., 2015). Zbog ovih osobina klopidogrela, u terapiji se koriste visoke doze (300 - 600 mg), pogotovo u akutnim i hitnim stanjima (Singh i sar., 2023). Kod značajnog broja pacijenata (5 - 40%), koji su na terapiji klopidogrelom se ne postiže očekivani terapijski odgovor, a ispoljavaju se neželjeni efekti, od kojih je najozbiljniji pojava krvarenja (intrakranijalna krvarenja i krvarenja u GIT-u), a postoji i povećan rizik od ponovljenog kardiovaskularnog incidenta (Chen i sar., 2022). Loš odgovor na terapiju i izražene interindividualne varijacije mogu biti uzrokovane starošću pacijenta, genetičkim polimorfizmom citohromskog enzimskog sistema CYP₄₅₀ (od čega je za metabolizam klopidogrela najvažniji CYP_{2C19}), velikom reaktivnošću trombocita i interakcijama sa drugim lekovima.

Iako su uvedeni noviji P_2Y_{12} inhibitori, kao što su prasugrel i tikagrelol, kliničke studije na velikom broju pacijenata nisu pokazale značajne prednosti novih lekova u pogledu efikasnosti i bezbednosti u odnosu na klopidogrel (Patti i sar., 2022; van den Broek i sar., 2022). U isto vreme, upotreba tikagrelola i prasugrela je povezana sa povećanim rizikom od neželjenih dejstava, u prvom redu krvarenja, koja mogu biti i fatalna, ali i efekata koji nisu povezani sa krvarenjem, kao što je česta pojava apneje, posebno kod upotrebe tikagrelola (Coons i sar., 2022; De Luca i sar., 2016; Zocca i sar., 2017).

Mnogo je češći prekid terapije novim lekovima zbog neželjenih dejstava, u poređenju sa klopidogrelom (Neumann i Sousa-Uva, 2019; van den Broek i sar., 2022). Klopidogrel je odobren za veći broj indikacija, u poređenju sa tikagrelolom i prasugrelom. Takođe, prasugrel se ne preporučuje kod pacijenata sa nižom telesnom masom, starijih pacijenata i pacijenata sa prethodnom istorijom ishemijskog napada i moždanog udara (Essa i sar., 2023). Noviji lekovi zbog svoje cene, učestalosti kardiovaskularnih bolesti i dugotrajnosti lečenja, podrazumevaju i velike troškove lečenja, što predstavlja opterećenje za ekonomski siromašnije zemlje (Essa i sar., 2023). Zbog navedenih nedostataka lečenja novijim lekovima, uveden je termin "de-eskalacije" koji podrazumeva prebacivanje pacijenata lečenih novijim P_2Y_{12} inhibitorima na klopidogrel, u slučaju pojave neželjenih efekata, kao i zbog smanjenja troškova lečenja (Neumann i Sousa-Uva, 2019; Sibbing i sar., 2017; van den Broek i sar., 2022). Kod starijih pacijenata, pacijenata sa dijabetesom i onih sa većim rizikom od krvarenja, daje se prednost klopidogrelu za lečenje bolesti u odnosu na novije lekove i aspirin (Ferlini i sar., 2018; Gimbel i sar., 2020; Neumann i Sousa-Uva, 2019; Rhee i sar., 2023; Tscharré i sar., 2017).

S obzirom na prisustvo P_2Y_{12} receptora u mnogim imunološkim ćelijama primećena je uloga klopidogrela u moduliranju upalnih procesa u organizmu, te se sve više istražuje primena klopidogrela kod bolesti kao što multipla skleroza (Micklewright i sar., 2018), Alchajmerova bolest (Khalaf i sar.,

2020), plućne bolesti kao što su upala pluća i astma (Mansour i sar., 2020), sepsa (Assinger i sar., 2018; Wang i sar., 2018) i ateroskleroza (Kuszyński i Lauver, 2022; Mansour i sar., 2020; Zhang i sar., 2022). Primećeno je i pozitivno delovanje klopidoigrela kod promena na krvnim sudovima nastalih zbog delovanja visokog krvnog pritiska (Kuszyński i Lauver, 2022; Wang i sar., 2019) i prevenciji demencije (Pan i sar., 2022). Klopidoigrel je ispitivan i kao potencijalni novi lek za tretman virusa gripa, i pokazalo se da smanjuje broj inficiranih ćelija, kao i smanjenje replikacije virusa gripa (Kuszyński i Lauver, 2022; Orr-Burks i sar., 2021).

Mogućnost primene klopidoigrela dobila je na značaju otkrićem da su trombociti važan deo mikrokruženja različitih karcinoma, a njihova aktivacija dovodi do pogoršanja stanja bolesti, rasta tumora i nastanka metastaza. Iz ovih razloga se intenzivno sprovode istraživanja o ulozi trombocita u nastanku i progresiji karcinoma, kao i terapije koja bi delovala na njih, kako bi se pronašli novi pristupi za dijagnozu, prognozu i lečenju različitih tipova karcinoma (Ankus i sar., 2018; Huong i sar., 2019; Marx i sar., 2019; Pavlovic i sar., 2019; Zhang i sar., 2023). Do sada, primena klopidoigrela je dala značajne rezultate u lečenju melanoma (Jantsch i sar., 2023); karcinoma pankreasa (Palacios-Acedo i sar., 2021), karcinoma kolona (Kuan i sar., 2019; Jovani i sar., 2019; Rodríguez-Miguel i sar. 2018) karcinoma prostate i karcinoma dojke (Porshneva i sar., 2018; Smeda i sar., 2018). U dve velike studije sa preko 180 000 pacijenata, i trajanju studije dužem od 5 godina, dokazano je da pacijenti koji su koristili klopidoigrel i aspirin u terapiji imaju manji rizik od obolevanja od kancera u poređenju sa ispitanicima koji su koristili samo aspirin ili nisu uopšte koristili antitrombocitnu terapiju. S obzirom na ove rezultate, pozitivan efekat na smanjenju incidence novih karcinoma se može pripisati klopidoigrelu (Leader i sar., 2015; Leader i sar., 2017).

Farmakokinetičke osobine

Klopidoigrel se brzo apsorbuje u GIT-u nakon inicijalne i ponovljene doze od 75 mg. Srednje vrednosti maksimalne koncentracije nepromenjenog klopidoigrela u plazmi su oko 2,2 - 2,5 ng/ml nakon inicijalne oralne doze od 75 mg i postižu se za oko 45 minuta nakon primene leka. C_{max} aktivnog metabolita nakon primene jednokratne inicijalne doze od 300 mg klopidoigrela je dvostruko veća od C_{max} nakon 4 dana primene doze od 75 mg. C_{max} za dozu 300 mg postiže se 30 do 60 minuta nakon doziranja. Horenstein i sar. (2014) navode da je sa povećanjem doze klopidoigrela sa 75 mg na 150 mg i 300 mg došlo do povećanja koncentracije aktivnog metabolita za 1,5 i 2,2 puta, što ukazuje da metabolizam klopidoigrela nije linearan. Rezultati *in vitro* studija (Taubert i sar., 2006) pokazuju da je apsorpcija klopidoigrela u Caco-2 ćelije ograničena P-glikoproteinom, što ukazuje na važnost P-glikoproteina za apsorpciju u crevima i bioraspoloživost klopidoigrela.

Klopidoigrel se najvećim delom metaboliše u jetri. CYP_{2C19} je glavni enzim zadužen za formiranje intermedijernog metabolita (2-okso klopidoigrela) i aktivnog metabolita. Ovaj enzim ima jako izražen polimorfizam, sa preko 2000 genetskih varijanti. Farmakokinetika i antitrombocitno delovanje aktivnog metabolita klopidoigrela, određeni u *ex vivo* testovima agregacije trombocita, razlikuju se u zavisnosti od genotipa CYP_{2C19}.

Oko 50% doze klopidoigrela izluči se putem urina se, dok se putem fecesa izluči 46% primenjene doze, 120h nakon primene. Nakon inicijalne doze od 75 mg poluvreme eliminacije klopidoigrela iznosi 6h. Poluvreme eliminacije glavnog neaktivnog metabolita (klopidoigrel karboksilna kiselina) nakon inicijalne i ponovljene doze od 75 mg klopidoigrela je 8h.

CILJ ISTRAŽIVANJA

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Sveobuhvatni cilj istraživanja ove doktorske disertacije je formulacija, izrada i farmaceutsko-tehnološka i biofarmaceutska karakterizacija čvrstih disperzija sa slabo rastvorljivom model aktivnom supstancom, klopido^grel-hidrogensulfatom, u cilju povećanja brzine rastvaranja navedene aktivne supstance.

Pojedinačni ciljevi istraživanja su:

- Formulacija i izrada čvrstih disperzija sa različitim vrstama i udelima hidrofilnih polimera, u cilju povećanja *in vitro* brzine rastvaranja aktivne supstance klopido^grel-hidrogensulfata.
- Farmaceutsko-tehnološka karakterizacija odabranih čvrstih disperzija prihvatljive stabilnosti, radi procene mogućnosti obrade/procesuiranja u finalni farmaceutski oblik (tablete ili kapsule).
- Razvoj klopido^grel-specifičnog PBBM modela, korišćenjem programskog softvera GastroPlusTM za predviđanje apsorpcije nakon peroralne primene aktivne supstance, kao i primena razvijenog modela za procenu uticaja vrste i udela hidrofilnog polimera na apsorpciju i farmakokinetičke parametre, te posledično i na bioraspoloživost klopido^grela iz odabranih čvrstih disperzija.

EKSPERIMENTALNI DEO

3. EKSPERIMENTALNI DEO

3.1. Materijali i metode

3.1.1. Materijali

Za izradu čvrstih disperzija korišćena je model aktivna supstanca klopidogetrel-hidrogensulfat (Ph. Eur.) (skr. CHS), polimorfnog oblika II i četiri hidrofilna polimera: kopovidon (Kollidon® VA 64, BASF, Nemačka), makrogol 6000 (Polyglycol® 6000 S, Clariant SE, Švajcarska), poloksamer 407 (Kolliphor® P 407, BASF, Nemačka) i povidon K30 (Kollidon® 30, BASF, Nemačka). Najvažnije osobine korišćenih polimera navedene su u tabeli 3.1.

Za izradu čvrstih disperzija, metodom rastvaranja, korišćen je etanol 96% (V/V) (Győr Distillery, Mađarska) kao rastvarač.

Za izradu medijuma za ispitivanje rastvorljivosti i *in vitro* ispitivanje brzine rastvaranja su korišćene sledeće supstance: hlorovodonična kiselina (35-38%) (Macron Fine Chemicals™, SAD), natrijum-acetat (Sigma-Aldrich Chemie, Nemačka), glacijalna sirćetna kiselina ($\geq 99,7\%$) (Fischer Scientific, Belgija), natrijum-hidroksid (Sigma-Aldrich Chemie, Nemačka), kalijum-dihidrogenfosfat (Sigma-Aldrich Chemie, Nemačka).

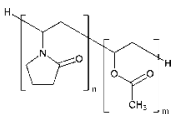
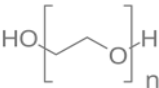
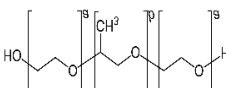
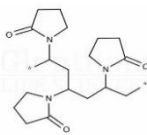
Za pripremu mobilnih faza za reverzno-faznu tečnu hromatografiju velike moći razdvajanja (engl. *Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography*, skr. RP-HPLC) metodu za određivanje sadržaja klopidogetrel-hidrogensulfata u čvrstim disperzijama korišćeni su acetonitril ($\geq 99,9\%$) (Honeywell, Nemačka) i metanol ($\geq 99,9\%$) (Honeywell, Nemačka).

Za izradu standardnih rastvora za RP-HPLC analizu je korišćen referentni standard klopidogetrel-hidrogensulfata (Ph.Eur., HPLC čistoće).

Korišćena kolona za RP-HPLC analizu je C-18 (4,6 mm $\times$ 150 mm; 5 μ m; Agilent, SAD).

Za filtriranje uzoraka tokom ispitivanja rastvorljivosti je korišćen membranski filter od celuloznih estara veličine pora od 0,45 μ m (Merck Millipore, Merck KGaA, SAD), a tokom RP-HPLC analize je korišćen polietilenski filter sa veličinom pora od 35 μ m (Micron Full Flow Filter, Agilent, SAD).

Tabela 3.1. Pregled najvažnijih osobina hidrofilnih polimera korišćenih za izradu čvrstih disperzija

Polimer	Kopovidon Copovidone (Ph.Eur.)	Makrogol 6000 Macrogol 6000 (Ph.Eur.)	Poloksamer 407 Poloxamer (Ph. Eur.)	Povidon K30 Povidone (Ph.Eur.)
Komercijalni naziv	Kollidon® VA 64	Polyglycol® 6000 S	Kolliphor® P 407	Kollidon® 30
Proizvođač, zemlja	BASF, Nemačka	Clariant SE, Švajcarska	BASF, Nemačka	BASF, Nemačka
Izgled	Beo ili žućkasto-beo amorfni prašak, blagog mirisa i slabog ukusa.	Bele ljušpice ili komadi slični vosku.	Beo do skoro beo prašak.	Beo do skoro beo prašak, bez mirisa.
Fizičko stanje	Amorfan	Kristalan	Semikristalan	Amorfan
Temperatura topljenja	100 - 107 °C	55 - 63 °C	56 - 57 °C	163 °C
Rastvorljivost	Lako rastvorljiv u vodi, etanolu, metanolu i metilen-hloridu. Slabo rastvorljiv u nepolarnim rastvaračima.	Lako rastvorljiv u vodi, etanolu i acetonu. Nerastvorljiv u nepolarnim rastvaračima.	Lako rastvorljiv u vodi i etanolu.	Lako rastvorljiv u vodi, etanolu, metanolu, hloroformu i kiselinama.
Hemijska formula	$(C_6H_9NO)_n$ $(C_4H_6O_2)_m$	$(C_2H_4O)_nH_2O$	$C_{572}H_{1146}O_{259}$	$(C_6H_9NO)_n$
Molekulska masa	45000 - 70000	6000	10000 - 14600	66800
Strukturna formula				

3.1.2. Metode

3.1.2.1. I faza eksperimentalnog rada

3.1.2.1.1. Ispitivanje rastvorljivosti klopido-rel-hidrogensulfata

Rastvorljivost klopido-rel-hidrogensulfata je određena u medijumima različitih pH vrednosti: hlorovodoničnoj kiselini (pH 1,2), acetatnom puferu (pH 4,5) i fosfatnom puferu (pH 6,8). Određena masa supstance u višku je dodavana u 25 ml medijuma, nakon čega je vršeno mućkanje na šejkeru (LSB Aqua Pro Shaking Bath, Grant Instruments, Velika Britanija), pri 100 obr/min, na temperaturi $37 \pm 0,5$ °C, u toku 24 h. Nakon toga su uzorci profiltrirani kroz 0,45 µm membranski filter (Merck Millipore, Merck KGaA, SAD), a sadržaj rastvorenog klopido-rela je određen korišćenjem RP-HPLC metode. Rezultati predstavljaju srednju vrednost tri merenja, $\pm$ standardna devijacija.

Na osnovu dobijenih vrednosti za rastvorljivost aktivne supstance izračunavan je dozni broj (D_0) prema jednačini (2):

$$D_0 = \frac{D}{V_0 \times C_0} \quad (2)$$

gde je D - primenjena doza (mg), V_0 - zapremina vode uzeta s lekom (250 ml), a C_0 - maksimalna rastvorljivost u vodi (mg/ml).

3.1.2.1.2. Formulacija i izrada čvrstih disperzija

Tokom istraživanja, izrađeno je 20 formulacija čvrstih disperzija, čiji je sastav prikazan u tabeli 3.2. Odnos aktivna supstanca/polimer u čvrstim disperzijama bio je 1:1, 1:2, 1:3, 1:5 i 1:9.

Čvrste disperzije su izrađivane metodom rastvaranja, korišćenjem etanola 96% (V/V), kao rastvarača. Postupak izrade je podrazmevao da se odgovarajuća količina klopido-rel-hidrogensulfata i hidrofilnog polimera (kopovidon, makrogol 6000, poloksamer 407 ili povidon K30) rastvori u određenoj zapremini etanola u čaši, uz mešanje, nakon čega se rastvarač uklanja korišćenjem rotirajućeg evaporatora (Rotavapor® R-205, Büchi, Švajcarska), na temperaturi od 55 °C i konstantnoj brzini mešanja od 95 obr/min. Dobijena čvrsta masa se usitnjavala u tarioniku uz pomoć pistila i prosejavala kroz sito 500 (Ph. Eur.). Izrađene čvrste disperzije su pakovane u boce od tamnog stakla sa polietilenskim zatvaračem i skladištile do planiranih ispitivanja na sobnoj temperaturi, pod kontrolisanim uslovima (22 ± 2 °C, $55 \pm 10\%$ RH).

Fizičke smeše (udeo aktivne supstance i polimera odgovara udelima u čvrstim disperzijama) (tabela 3.2.) su izrađivane mešanjem odgovarajuće količine aktivne supstance i polimera u tarioniku sa pistilom, da se dobije homogena smeša, nakon čega su prosejane kroz sito 500 (Ph. Eur.), pakovane i čuvane na isti način kao i čvrste disperzije.

Tabela 3.2. Sastav čvrstih disperzija i fizičkih smeša

Redni broj uzorka	Oznaka čvrste disperzije	Polimer	Udeo CHS/ polimer	Oznaka fizičkih smeša
1	C1	Kopovidon	1:1	CPM1
2	C2	Kopovidon	1:2	CPM2
3	C3	Kopovidon	1:3	CPM3
4	C5	Kopovidon	1:5	CPM5
5	C9	Kopovidon	1:9	CPM9
6	M1	Makrogol 6000	1:1	MPM1
7	M2	Makrogol 6000	1:2	MPM2
8	M3	Makrogol 6000	1:3	MPM3
9	M5	Makrogol 6000	1:5	MPM5
10	M9	Makrogol 6000	1:9	MPM9
11	P1	Poloksamer 407	1:1	PPM1
12	P2	Poloksamer 407	1:2	PPM2
13	P3	Poloksamer 407	1:3	PPM3
14	P5	Poloksamer 407	1:5	PPM5
15	P9	Poloksamer 407	1:9	PPM9
16	K1	Povidon K30	1:1	KPM1
17	K2	Povidon K30	1:2	KPM2
18	K3	Povidon K30	1:3	KPM3
19	K5	Povidon K30	1:5	KPM5
20	K9	Povidon K30	1:9	KPM9

3.1.2.1.3. *In vitro* ispitivanje brzine rastvaranja klopido-grel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija

In vitro ispitivanje brzine rastvaranja klopido-grel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija i fizičkih smeša, punjenih u tvrde želatinske kapsule (tako da svaka kapsula sadrži 75 mg klopido-grela), sprovedeno je na aparaturi sa rotirajućim korpicama (Ph. Eur. aparatura 1) (VanKel 7010, sa automatskim uzorkovačem Varian 8000, Agilent, SAD). Ispitivanje je sprovedeno i za fizičke smeše, komercijalne tablete i aktivnu supstancu klopido-grel-hidrogensulfat. Kao medijum za ispitivanje brzine rastvaranja korišćen je fosfatni pufer pH 6,8, zapremine 900 ml, zagrejan na temperaturu od $37 \pm 0,5$ °C. Brzina okretanja korpice bila je 75 obr/min. Uzorkovanje (po 1,5 ml) je vršeno automatski, uz pomoć autosemplera, u definisanim vremenskim intervalima (15, 30, 45 i 60 min), uz nadoknadu medijuma. Uzorci su filtrirani kroz filter veličine pora 35 µm (Micron Full Flow Filter, Agilent, SAD) direktno u HPLC vialu. Koncentracija rastvorenog klopido-grela je određena prethodno razvijenom i validiranom RP-HPLC metodom, na HPLC uređaju sa UV detektorom (Agilent 1100 Series HPLC Sistem, Agilent, SAD). Finalno odabrani RP-HPLC uslovi su podrazumevali korišćenje kolone C-18 (Agilent, SAD), na temperaturi od 30 °C. Mobilna faza se sastojala od acetonitrila–metanola–fosfatnog pufera pH 3.0 (500:70:430, V/V/V). Brzina protoka mobilne faze kroz kolonu je iznosila 1,2 ml/min, a zapremina

injektovanja bila je 20 μ l. Vreme trajanja analize po uzorku bilo je 6 min. Određivanje sadržaja klopidozola je sprovedeno korišćenjem UV detektora, na talasnoj dužini apsorpcionog maksimuma od 240 nm.

Ispitivanje brzine rastvaranja je sprovedeno u triplicatu, a rezultati su prikazani kao srednja vrednost $\pm$ standardna devijacija.

3.1.2.2. II faza eksperimentalnog rada

U II fazi eksperimentalnog rada sprovedena je karakterizacija odabranih uzoraka čvrstih disperzija korišćenjem metoda diferencijalne skenirajuće kalorimetrije (engl. *Differential scanning calorimetry*, skr. DSC), infracrvene spektrofotometrije sa Furijeovom transformacijom (engl. *Fourier transform infrared spectroscopy*, skr. FT-IR) i difrakcije X-zraka na prašku (engl. *Powder X-ray Diffraction*, skr. PXRD). Takođe je određen sadržaj klopidozola u ovim čvrstim disperzijama.

U cilju dobijanja podataka o dugotrajnoj stabilnosti čvrstih disperzija, odabrani uzorci su čuvani u komorama za praćenje stabilnosti (Pharma 2000, Weiss Technik, Nemačka), na temperaturi od 25 °C $\pm$ 2 °C i vlažnosti vazduha od 60% $\pm$ 5%, u trajanju od 12 meseci.

Inicijalno i nakon jednogodišnjeg skladištenja uzoraka pod navedenim uslovima, ponovljena su sledeća ispitivanja: DSC, FT-IR, PXRD, određivanje sadržaja klopidozola, kao i *in vitro* ispitivanje brzine rastvaranja aktivne supstance iz čvrstih disperzija.

Karakterizacija čvrstih disperzija

3.1.2.2.1. Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija

DSC merenja su vršena korišćenjem DSC1 diferencijalnog skenirajućeg kalorimetra (Mettler Toledo, Nemačka). Precizno odmerena količina uzorka (1-5 mg) u perforiranoj aluminijumskoj posudi zapremine 40 μ l zagrevana je na temperaturama od 20 °C do 250 °C. Brzini zagrevanja je bila 10 °C/min, pri konstantnom protoku azota od 50 ml/min.

3.1.2.2.2. Infracrvena spektrofotometrija sa Furijeovom transformacijom

FT-IR spektrofotometrijska analiza je sprovedena korišćenjem uređaja Nicolet iS10 (Thermo Scientific, Waltham, SAD), sa ATR sistemom za pojedinačnu refleksiju zraka (Smart iTR, Thermo Scientific, SAD) sa dijamantskom pločom i Zn-Se sočivima. Ispitivani uzorci su stavljani direktno na nosač za uzorke, a spektri su snimani u intervalu od 4000 cm^{-1} do 650 cm^{-1} , sa rezolucijom od 4 cm^{-1} , pri čemu je izvršeno 16 skeniranja za svaki uzorak.

3.1.2.2.3. Difrakcija X-zraka na prašku

Merenja difrakcije X-zraka na prašku su izvršena korišćenjem uređaja D4 Endeavor (Bruker AXS, Nemačka). Difraktometar je opremljen bakarnom anodom, kao izvorom zračenja (talasna dužina X-zraka $\lambda = 1,54060 \text{ \AA}$, napon od 50 kV omogućava bolje prodiranje X-zraka u uzorak, snaga od 1,5 kW utiče na količinu emitovanih X-zraka, dimenzije efektivnog fokusa X-zraka iz anode: 0,4 mm x 0,8

mm). Merenja su vršena na sobnoj temperaturi (25 °C), a uzorci su postavljeni na kvarcnu ploču (26 x 26 mm) sa aluminijumskim držačem u obliku prstena, prečnika 51,5 mm. Uzorci su snimani u opsegu 2θ uglova od 8° do 65°, sa povećanjem od 1°, brzinom snimanja od 25 °/s, a reflektovana svetlost je detektovana na LYNXEYE XE-T detektoru.

3.1.2.2.4. Određivanje sadržaja klopidogetela

Sadržaj klopidogetela u čvrstim disperzijama je određivan ranije opisanom RP-HPLC metodom. Priprema uzoraka za određivanje sadržaja klopidogetela je sprovedena na sledeći način: odmerena količina čvrste disperzije, koja sadrži 75 mg klopidogetela, je prenetu u odmerni sud od 100 ml, dodatu je 75 ml mobilne faze (acetonitril–metanol–fosfatni pufera pH 3,0 (500:70:430, V/V/V) i mućkano u ultrazvučnom kupatilu 15 minuta. Sud se do oznake dopuni mobilnom fazom, a sadržaj filtrira kroz membranski filter veličine pora 0,45 µm. U odmerni sud od 10 ml se prenese 1 ml filtrata i sud dopuni do oznake mobilnom fazom.

3.1.2.2.5. *In vitro* ispitivanje brzine rastvaranja klopidogetel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija nakon studija stabilnosti

In vitro ispitivanje brzine rastvaranja klopidogetel-hidrogensulfata iz odabranih čvrstih disperzija, nakon 12 meseci skladištenja pod kontrolisanim uslovima, sprovedeno je na isti način kao u I fazi eksperimentalnog rada (deo 3.2.2.1.).

Matematičko modelovanje kinetike i mehanizama oslobađanja klopidogetela iz čvrstih disperzija

Matematičkim modelovanjem kinetike oslobađanja aktivne supstance iz ispitivanih čvrstih disperzija (inicijalno i nakon studije stabilnosti) identifikovani su modeli koji najbolje opisuju profil oslobađanja i ukazuju na mehanizam oslobađanja klopidogetela iz čvrstih disperzija. Za modelovanje su korišćeni sledeći modeli: kinetika nultog reda, kinetika prvog reda, Higuchi-jev, Korsmeyer-Peppas-ov i Hixson-Crowell-ov model. Da bi se objasnili mehanizmi, kojima se klopidogetel oslobađa iz čvrstih disperzija, analizirani su *in vitro* profili brzine rastvaranja klopidogetela iz čvrstih disperzija i pomoću matematičkih jednačina za svaki model su izračunati koeficijenti determinacije (R^2). Model za koji je dobijena najveća vrednost R^2 najbolje opisuje oslobađanje klopidogetela iz čvrstih disperzija.

Kinetika nultog reda opisuje oslobađanje aktivne supstance konstantnom brzinom tokom vremena, nezavisno od preostale koncentracije aktivne supstance. Model se može opisati sledećom jednačinom (3) (Costa i Suosa Lobo, 2001):

$$W_t = W_0 - k_0 \times t \quad (3)$$

gde W_t predstavlja količinu nerastvorene aktivne supstance nakon vremena t , W_0 predstavlja početnu količinu aktivne supstance, k_0 je konstanta brzine oslobađanja aktivne supstance kinetikom nultog reda.

Kinetika prvog reda opisuje oslobađanje aktivne supstance tako da je brzina oslobađanja aktivne supstance proporcionalna količini neoslobodene aktivne supstance. To znači da će se na početku aktivna supstanca oslobađati većom brzinom, a s vremenom će se oslobađanje usporavati (Lu i ten Hagen, 2020). Model se opisuje sledećom jednačinom (4):

$$\ln W_t = \ln W_0 - k_1 \times t \quad (4)$$

gde W_t predstavlja količinu nerastvorene aktivne supstance nakon vremena t , W_0 predstavlja početnu količinu aktivne supstance, k_1 je konstanta brzine oslobađanja aktivne supstance kinetikom prvog reda.

Higuchi-jev model opisuje oslobađanje aktivne supstance iz nerastvorljivog matriksa i zasnovan je na *Fick*-ovom zakonu difuzije, gde se aktivna supstanca oslobađa kroz porozni matriks. Najčešće opisuje oslobađanje aktivne supstance iz farmaceutskih oblika sa modifikovanim oslobađanjem (*Higuchi*, 1963). Model se opisuje sledećom jednačinom (5):

$$Q = k_H \times t^{1/2} \quad (5)$$

gde je Q količina oslobođene aktivne supstance nakon vremena t , a k_H *Higuchi*-jeva konstanta.

Korsmeyer-Peppas-ov model najčešće opisuje oslobađanje aktivne supstance iz polimernog matriksa. Kod ovog modela je zastupljena kombinacija različitih mehanizama oslobađanja aktivne supstance, kao što su na primer difuzija i erozija (*Costa i Suosa Lobo*, 2001). Model se opisuje sledećom jednačinom (6):

$$Q = k_{kp} \times t^n \quad (6)$$

gde je Q količina oslobođene aktivne supstance nakon vremena t , k_{kp} predstavlja *Korsmeyer-Peppas*-ovu konstantu brzine rastvaranja, a n je eksponent difuzije.

U slučaju *Korsmeyer-Peppas*-ovog modela, na osnovu vrednosti eksponenta difuzije procenjuje se mehanizam oslobađanja aktivne supstance. Ukoliko je vrednost eksponenta difuzije $n \leq 0,45$ radi se o *Fick*-ovoj difuziji. Ako je vrednost eksponenta difuzije n između 0,45 i 0,89, mehanizam oslobađanja je ne-*Fick*-ova difuzija ili tzv. anomalni transport, a mehanizmi oslobađanja aktivne supstance su difuzija i erozija polimera. Za vrednosti eksponenta difuzije $n = 0,89$ radi se o „slučaju transporta I“ koji odgovara kinetici nultog reda, dok se za vrednosti $n > 0,89$ radi o „super slučaju transporta II“, kod kojeg dolazi do ubrzanog bubrenja i erozije polimera (*Costa i Suosa Lobo*, 2001).

Hixson-Crowell-ov model opisuje oslobađanje aktivne supstance iz farmaceutskog oblika čija se površina smanjuje tokom vremena, a oblik ostaje konstantan (*Hixson i Crowell*, 1931). Jednačina koja opisuje ovaj model je sledeća (7):

$$W_0^{1/3} - W_t^{1/3} = k_c \times t \quad (7)$$

gde W_0 predstavlja početnu količinu aktivne supstance, W_t predstavlja količinu nerastvorene aktivne supstance nakon vremena t , a k_c je konstanta brzine rastvaranja za *Hixson-Crowell*-ov model (*Lu i ten Hagen*, 2020).

3.1.2.3. III faza eksperimentalnog rada

U III fazi eksperimentalnog rada sprovedena je karakterizacija odabranih čvrstih disperzija prihvatljive stabilnosti, radi procene mogućnosti obrade/procesuiranja u finalni farmaceutski oblik.

Urađena su sledeća ispitivanja: određivanje veličine i raspodele veličina čestica čvrstih disperzija, određivanje stvarne, nasipne i tapkane gustine, određivanje protočnosti, izračunavanje poroziteta, određivanje sadržaja vlage i određivanje reoloških karakteristika.

Karakterizacija čvrstih disperzija

3.1.2.3.1. Određivanje veličine i raspodele veličina čestica

Veličina i raspodela veličina čestica odabranih čvrstih disperzija je određivana pomoću dve metode: metodom sitane analize i metodom laserske difrakcije.

3.1.2.3.1.1. Sitana analiza

Metoda sitane analize je izvedena prema metodi opisanoj u važećoj Evropskoj farmakopeji (Ph. Eur. 11.0). Za analizu se koristio uređaj za granulometrijsko određivanje veličine čestica AS200 (Retsch GmbH, Nemačka) sa sistemom vibracionih sita sledećih veličina: 710, 500, 355, 250, 180, 125, 90. Odmeravana je količina uzorka od 25 g, postavljena je na sistem sita i prosejavana u trajanju od 10 minuta. Po završetku ispitivanja, odmeravana je svaka frakcija uzorka i izračunavan je maseni udeo. Rezultati su prikazani grafički.

3.1.2.3.1.2. Laserska difrakcija

Za merenje veličine i raspodele veličina čestica metodom laserske difrakcije korišćen je uređaj PSA 1190 (Anton Paar, Austrija). Kao tečni nosač korišćeno je suncokretovo ulje, a uzorci su dispergovani 60 sekundi uz korišćenje brzog mešanja i ultrazvuka snage 50 W. Veličina čestica je određena prema Fraunhoferovoj teoriji (Xu i sar., 2014). Rezultati su predstavljeni preko vrednosti prečnika D_{10} (što znači da 10% čestica ima manji prečnik od izmerene vrednosti), prečnika D_{50} (50% čestica ima manji prečnik od izmerene vrednosti), D_{90} (90% čestica ima manji prečnik od izmerene vrednosti), $D_{4,3}$ (srednje vrednosti prečnika svih čestica) i *span* vrednosti (mera raspodele veličina čestica).

Span vrednost se izračunava preko sledeće jednačine (8) (Trivedi i sar., 2017):

$$\text{span} = \frac{D_{90} - D_{10}}{D_{50}} \quad (8)$$

3.1.2.3.2. Određivanje stvarne gustine

Stvarna gustina čestica čvrstih disperzija određivana je gasnim piknometrom, prema metodi opisanoj u važećoj Ph. Eur. 11.0. Za merenje je korišćen uređaj UltraPyc 5000 GasPycnometer (Anton Paar, Austrija). Za određivanje stvarne gustine uzoraka korišten je gas argon. Odmeravano je oko 35 g uzorka, koji se postavlja u ćeliju uređaja zapremine 135 cm³. Putanja gasa je usmerena tako da on prvo prolazi kroz referentnu ćeliju, a zatim kroz ćeliju sa uzorkom. Merenja su vršena na temperaturi od 20

$^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ $^{\circ}\text{C}$ i pritisku o 0,69 bara. Za pripremu uzoraka pre merenja korišćeno je 9 ciklusa impulsnog protoka gasa, tako da je pritisak doveden do 0,2 bara, a zatim naglo smanjen. Ovo se radi da bi se uklonio „zarobljeni“ vazduh i postiglo stabilno i precizno merenje stvarne gustine čestica. Za svaki uzorak je urađeno najmanje pet uzastopnih merenja, a merenje je završeno kada je odstupanje između pojedinačnih rezultata merenja bilo manje od 0,1%. Dobljene vrednosti stvarne gustine (g/cm^3) predstavljaju srednju vrednost pet uzastopnih merenja.

3.1.2.3.3. Određivanje nasipne i tapkane gustine

Nasipna i tapkana gustina uzoraka klopidogrel-hidrogensulfata, polimera i odabranih čvrstih disperzija određene su u skladu sa metodom opisanom u važećoj Ph. Eur. 11.0. Za određivanje nasipne i tapkane gustine je korišćen graduisani cilindar od 100 ml, klase tačnosti A.

Nasipna gustina je određivana tako što je uzorak, prethodno prosejan kroz sito 500 (Ph. Eur.), pažljivo sipan u graduisani cilindar od 100 ml postavljen na vagu. Nakon odmeravanja mase (m) od 25,0 g očitana je zapremina uzorka u cilindru (V_0). Izračunavanje nasipne gustine (ρ_0) je izvršeno na osnovu jednačine (9):

$$\rho_0 = \frac{m}{V_0} \quad (9)$$

Tapkana gustina je određena tapkanjem uzoraka do konstantne zapremine, na uređaju Erweka SWM 22 (Erweka GmbH, Nemačka). Ispitivani uzorci su tapkani 10, 500 i 1250 puta, frekvencijom od 250 udara/min. Na osnovu izmerene mase (m) i tapkane zapremine (V_t) uzorka, izvršeno je izračunavanje tapkane gustine (ρ_t) korišćenjem sledeće jednačine (10):

$$\rho_t = \frac{m}{V_t} \quad (10)$$

Prikazani rezultati nasipne i tapkane gustine predstavljaju srednje vrednosti tri merenja.

3.1.2.3.4. Određivanje protočnosti

Određivanjem nasipne i tapkane gustine se mogu izračunati vrednosti za *Carr*-ov indeks (indeks kompresibilnosti) i *Hausner*-ov odnos, a iz njih se posredno može opisati protočnost. *Carr*-ov indeks i *Hausner*-ov odnos su izračunati preko jednačina (11) i (12) (Ph. Eur. 11.0.).

$$\text{Carr} - \text{ov indeks} = 100 \times \frac{\text{tapkana gustina} - \text{nasipna gustina}}{\text{tapkana gustina}} \quad (11)$$

$$\text{Hausner} - \text{ov odnos} = \frac{\text{tapkana gustina}}{\text{nasipna gustina}} \quad (12)$$

Veza između *Carr*-ovog indeksa, *Hausner*-ovog odnosa i protočnosti je preuzeta iz Ph. Eur 11.0. i prikazana u tabeli 3.3.

Tabela 3.3. Opisivanje protočnosti na osnovu vrednosti *Carr*-ovog indeksa i *Hausner*-ovog odnosa (Ph. Eur. 11.0.; poglavlje 2.9.36.)

<i>Carr</i>-ov indeks (% kompresibilnosti)	Protočnost	<i>Hausner</i>-ov odnos
1-10	odlična	1,00-1,11
11-15	dobra	1,12-1,18
16-20	prosečna	1,19-1,25
21-25	prihvatljiva	1,26-1,34
26-31	loša	1,35-1,45
32-37	jako loša	1,46-1,59
> 38	izuzetno loša	> 1,60

3.1.2.3.5. Određivanje poroziteta

Dobijene vrednosti nasipne (ρ_o) i stvarne gustine (ρ_r) uzoraka korišćene su za izračunavanje poroziteta (ε_t) čvrstih disperzija na osnovu jednačine (13) (Janssen i sar., 2022):

$$\varepsilon_t = 1 - \frac{\rho_o}{\rho_r} \quad (13)$$

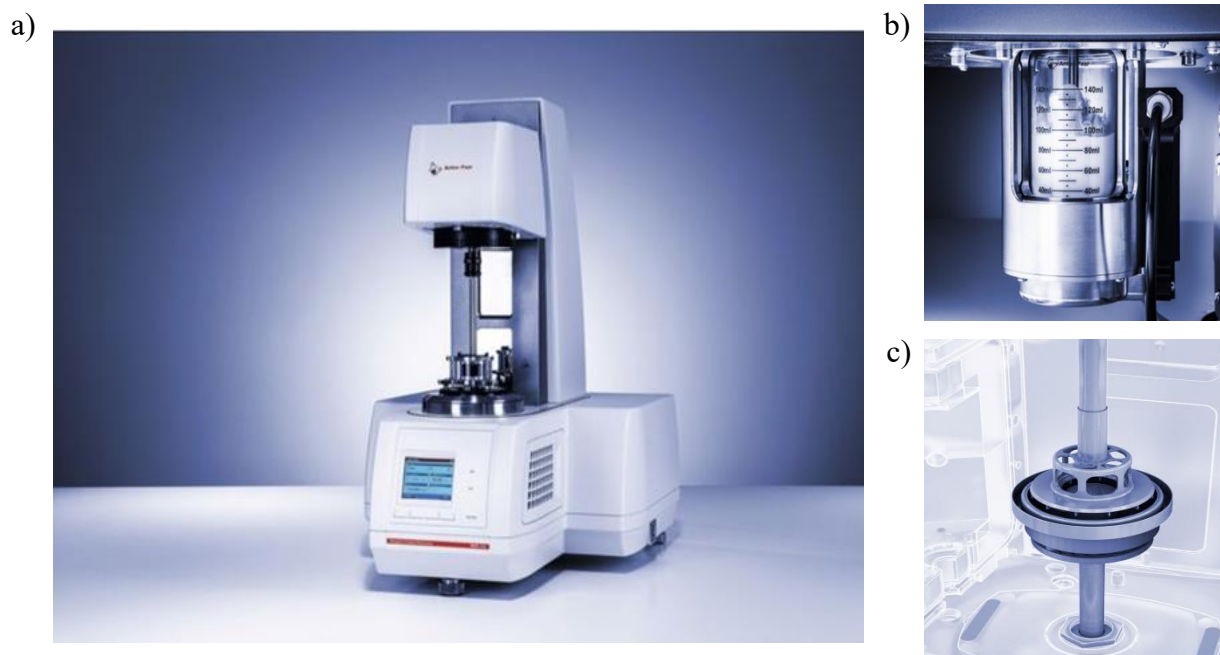
3.1.2.3.6. Određivanje sadržaja vlage

Sadržaj vlage (gubitak sušenjem) uzoraka klopidogrel-hidrogensulfata, polimera i odabranih čvrstih disperzija je određivan termogravimetrijski na uređaju Mettler-Toledo HG63 (Mettler-Toledo, SAD), na temperaturi od 80 °C, u trajanju od 7 minuta. Masa uzorka je bila 3,0 g. Prikazani rezultati predstavljaju srednje vrednosti dva uzastopna merenja.

3.1.2.3.7. Određivanje reoloških karakteristika

Za reološku karakterizaciju odabranih čvrstih disperzija korišćen je reometar Modular Compact Rheometer MCR 302 (Anton Paar, Austrija), sa integrisanim softverom (RheoCompass, Anton Paar, Austria). U radu su korišćene dve merne ćelije: ćelija za proticanje praškova (engl. *Powder Flow Cell*) i ćelija za smicanje praškova (engl. *Powder Shear Cell*) (slika 3.1). Određivani su sledeći reološki parametri: zapreminski protok vazduha potreban za fluidizaciju čestica (engl. *Pressure drop*), vreme potrebno da se čestice slegnu nakon fluidizacije (engl. *Deaeration*), prividni viskozitet (engl. *Apparent viscosity*), dinamičko proticanje uzorka (engl. *Dinamic Flow*), trenje između čestica i zida uređaja (engl. *Wall coefficient*) i kompresibilnost (engl. *Compressibility*).

Ispitivanja su sprovedena u uslovima sobne temperature i vlažnosti vazduha (22 °C ± 2 °C; 45 - 55%).

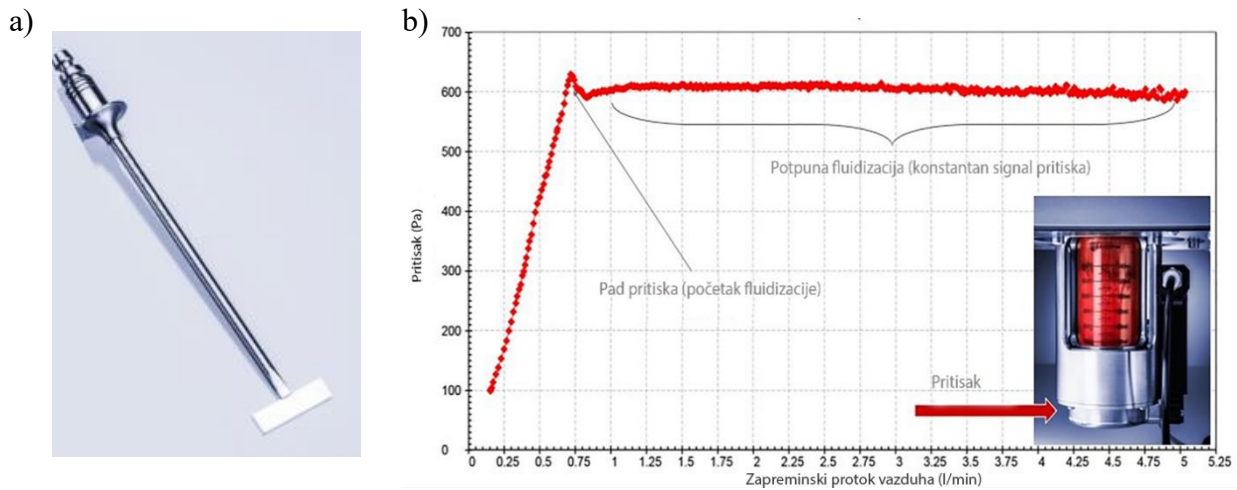


Slika 3.1. *Modular Compact Rheometer MCR 302 (Anton Paar, Austrija) (a), ćelija za proticanje praškova (b) i ćelija za smicanje praškova (c) (preuzeto iz Introduction in powder rheology, 2023)*

3.1.2.3.7.1. Zapreminski protok vazduha potreban za fluidizaciju čestica

Određivanje zapreminskog protoka vazduha koji je potreban za fluidizaciju čestica (engl. *Pressure drop*) je izvedeno korišćenjem ćelije za proticanje praškova i sa mernim sistemom sa mešačem sa dve lopatice (slika 3.2a). U mernu ćeliju sa poklopcem je odmereno 50 g uzorka. Brzina okretanja mešača je podešena na 8 obr/min. Merenje se zasnivalo na povećanju zapreminskog protoka vazduha kroz bazni deo ćelije, koji dovodi do kretanja čestica uzorka. Postepenim povećavanjem zapreminskog protoka vazduha, koji je podešen na maksimalnu vrednost od 7 l/min, dolazi do sve bržeg kretanja čestica i njihove fluidizacije. Sa povećanjem zapreminskog protoka vazduha pritisak unutar ćelije raste, jer čestice uzorka pružaju otpor kretanju. Do fluidizacije čestica dolazi kada se postigne dovoljan protok vazduha, što zavisi od osobina čestica. Početak fluidizacije označava pad pritiska (slika 3.2b), nakon čega dolazi do potpune fluidizacije, sa povećanjem zapreminskog protoka vazduha. Potpuna fluidizacija je postignuta kada je pritisak konstantan, a kriva pritiska na grafiku je ravna linija (slika 3.2b). Mešanjem pomoću mešača sa lopaticama se poboljšava fluidizacija, naročito kod uzoraka koje je teško fluidizovati (Wu i sar., 2024).

Rezultati zapreminskog protoka vazduha potrebnog za fluidizaciju čestica su prikazani tabelarno i grafički.

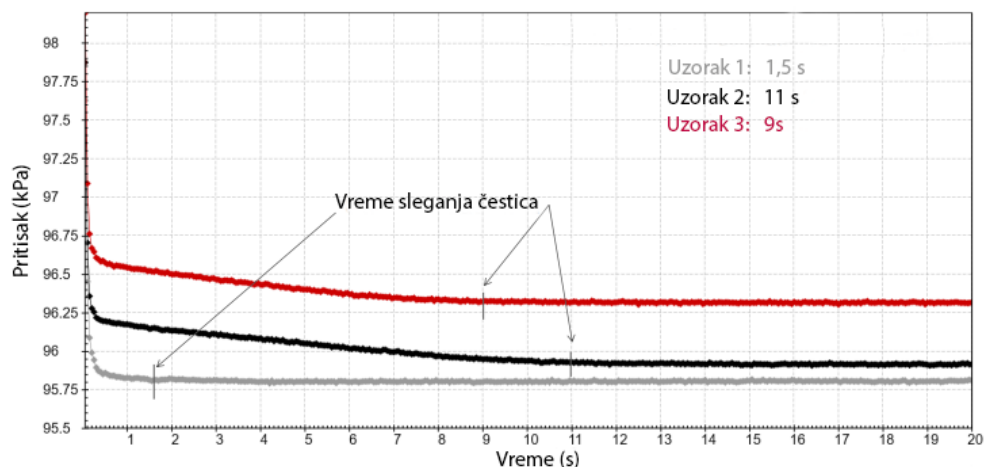


Slika 3.2. Mešač sa dve lopatice (a) grafički prikaz fluidizacije čestica (b) (preuzeto i prilagođeno iz *Introduction in powder rheology*, 2023)

3.1.2.3.7.2. Vreme potrebno da se čestice slegnu nakon fluidizacije

Vreme potrebno da se čestice potpuno slegnu nakon fluidizacije (engl. *Deaeration*) je mereno na reometru automatski, nakon završetka merenja zapreminskog protoka vazduha koji dovodi do potpune fluidizacije čestica. Princip merenja se zasniva na tome da se nakon postizanja potpune fluidizacije čestica zaustavlja protok vazduha i meri se vreme koje je potrebno da se čestice slegnu (istalože). Ovo vreme se očitava sa grafika (primer je prikazan na slici 3.3), koji daje zavisnost promene vrednosti pritiska od proteklog vremena ispitivanja. Kada vrednosti pritiska na grafiku postanu konstantne (ne menjaju se s vremenom), tada je došlo do potpunog sleganja (taloženja) čestica.

Rezultati merenja su prikazani tabelarno i grafički.



Slika 3.3. Grafički prikaz vremena potrebnog da se čestice potpuno slegnu nakon fluidizacije, za tri različita uzorka (preuzeto i prilagođeno iz *Introduction in powder rheology*, 2023)

3.1.2.3.7.3. Prividni viskozitet

Određivanje prividnog viskoziteta (engl. *Apparent viscosity*) je izvedeno na reometru, korišćenjem ćelije za proticanje praškova i sa mernim sistemom sa mešačem sa profilisanim cilindrom (slika 3.4). Profilisani cilindar nema ravnu površinu, već na njoj postoje udubljenja. Prividni viskozitet je meren u zavisnosti od brzine smicanja i zapreminskog protoka vazduha. U toku izvođenje testa, zapreminski protok vazduha se povećava, u opsegu od 0 do 15 l/min da se postigne potpuna fluidizacija uzorka.

Rezultati su prikazani grafički.



Slika 3.4. Mešač sa profilisanim cilindrom (preuzeto iz *Introduction in powder rheology*, 2023)

3.1.2.3.7.4. Dinamičko proticanje uzorka

Određivanje dinamičkog proticanja uzorka (engl. *Dinamic Flow*) je izvedeno na reometru sa ćelijom za proticanje praškova i mernim sistemom sa mešačem sa dvostrukim izvijenim lopaticama (slika 3.5a). Princip merenja zasniva se na tome da se 100 ml uzorka sipa u mernu ćeliju (do oznake). Određivanje dinamičkog proticanja se sastoji od jedanaest ciklusa (tačaka) merenja. Svaki ciklus podrazumeva pripremu uzorka i merenje uzorka. Kod pripreme uzorka mešač se okreće u pravcu kretanja kazaljke na satu brzinom $-0,4 \text{ s}^{-1}$ uranjajući u uzorak konstantnom brzinom od $-5,3 \text{ mm/s}$. Dubina uranjanja mešača je bila od -100 mm do -10 mm .

Merenje se odvija u dve faze. Prva faza (naziva se i test stabilnosti) obuhvata prvih osam ciklusa merenja i izvodi se u uslovima konstantne brzine uranjanja ($-5,3 \text{ mm/s}$) i brzine okretanja mešača ($-0,4 \text{ s}^{-1}$), suprotno od kretanja kazaljke na satu.

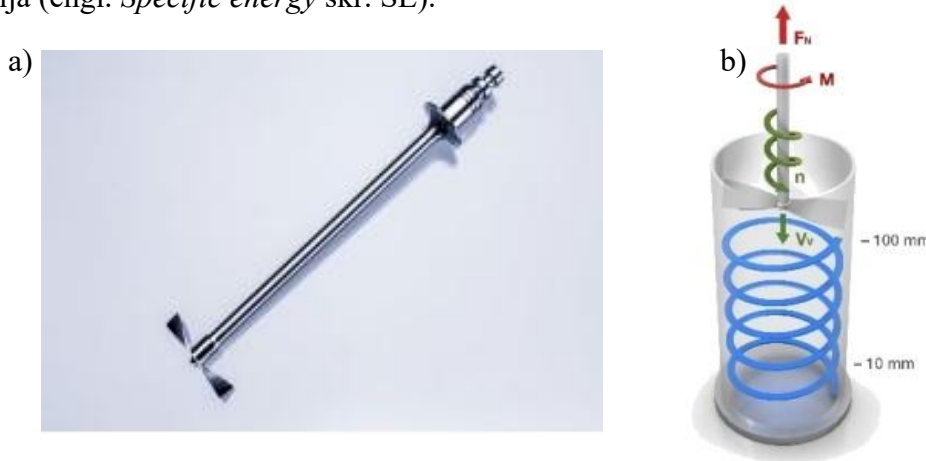
Druga faza podrazumeva merenje poslednja tri ciklusa merenja, kod kojih se brzina uranjanja i brzina okretanja mešača menjaju, odnosno smanjuju se za 30%, 60% i 90%, u poređenju sa vrednostima brzine uranjanja i brzine okretanja tokom testa stabilnosti. Dok se mešač uranja u uzorak, meri se normalna sila (koja deluje vertikalno kroz uzorak) i obrtni moment sile (sila potrebna za rotaciju mešača). Ova dva parametra omogućavaju procenu otpora koji materijal pruža kretanju mešača. Za svaki od jedanaest ciklusa merenja, računa se ukupna energija proticanja (E_{tot}). Ukupna energija proticanja se izračunava kao integral normalne sile i obrtnog momenta sile, u odnosu na unapred

definisano poziciju merenja, tj. dubinu uranjanja mešača u uzorak i prikazana je jednačinom (14) (Introduction in powder rheology, 2023):

$$E_{tot} = \int_0^h \left(\frac{M}{r \times \tan \alpha} + F_N \right) dh \quad (14)$$

gde je E_{tot} ukupna energija protočnosti (mJ); M je obrtni moment sile (mNm); r je prečnik lopatice mešača (mm); α je ugao izvijenosti mešača ($^\circ$); F_N je normalna sila (N); h je merna pozicija mešača (dubina uranjanja mešača u uzorak, koja može biti od 100 mm do 10 mm). Princip merenja sa parametrima potrebnim za izračunavanje ukupne energije proticanja su prikazani na slici 3.5b.

Ukupna energija proticanja pokazuje koliko je energije potrebno za pomeranje i mešanje uzorka na određenoj dubini uranjanja mešača. Na osnovu ukupne energije proticanja izračunavaju se sledeći parametri: osnovna energija proticanja (engl. *Basic flowability energy* skr. BFE), indeks stabilnosti (engl. *Stability index* skr. SI); indeks brzine proticanja (engl. *Flow rate index* skr. FRI) i specifična energija (engl. *Specific energy* skr. SE).



Slika 3.5. Mešač sa dvostrukim izvijenim lopaticama (a) i shematski prikaz uranjanja i okretanja mešača i parametara potrebnih za izračunavanje ukupne energije dinamičkog proticanja (b) (preuzeto i prilagođeno iz Introduction in powder rheology, 2023)

Osnovna energija proticanja (BFE) opisuje proticanje uzorka pod uticajem kompresije (sabijanja) i predstavlja energiju koja je potrebna da se mešač uroni u uzorak. Rotacijom mešača u smeru suprotnom od smera kazaljke na satu uzorak se komprimuje i smanjuje mu se zapremina. Osnovna energija proticanja se definiše kao ukupna energija proticanja sedmog ciklusa (tačke) merenja (jednačina 15) (Introduction in powder rheology, 2023) (slika 3.6).

$$BFE = E_{tot,7} \quad (15)$$

Indeks stabilnosti (SI) se koristi za procenu stabilnosti uzorka pod konstantnim uslovima merenja (brzine uranjanja i okretanja mešača). Nakon 7 ciklusa merenja izračunava se odnos ukupne energije proticanja između sedmog i prvog ciklusa merenja (jednačina 16), što predstavlja indeks stabilnosti (Introduction in powder rheology, 2023) (slika 3.6).

$$SI = \frac{E_{tot,7}}{E_{tot,1}} \quad (16)$$

Indeks brzine proticanja (FRI) opisuje osetljivost uzorka, odnosno uticaj promena brzine okretanja i uranjanja mešača na njegovu protočnost. Određuje se za zadnja četiri ciklusa merenja, kada dolazi do smanjenja brzine okretanja mešača, a predstavlja odnos između ukupne energije proticanja poslednjeg i osmog ciklusa merenja (Introduction in powder rheology, 2023) (jednačina 17) (slika 3.6).

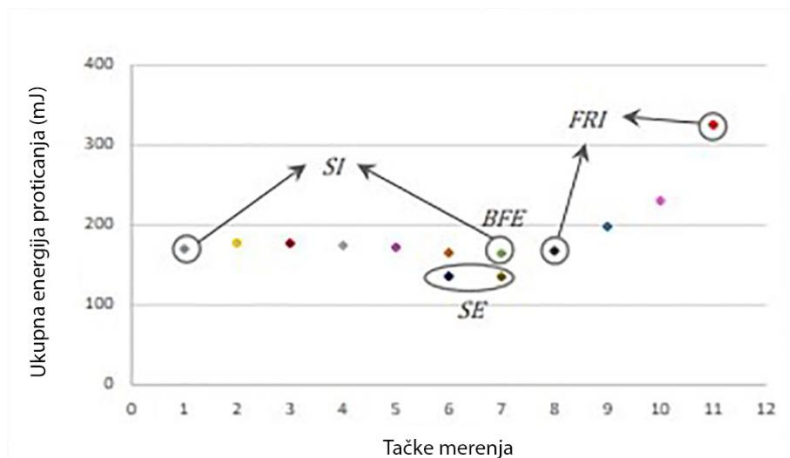
$$FRI = \frac{E_{tot,11}}{E_{tot,8}} \quad (17)$$

Specifična energija (SE) se može definisati kao energija koja nastaje tokom kretanja mešača prema gore (nakon što je uranjen u uzorak), što omogućava širenje uzorka (jednačina 18) (slika 3.6). Ova vrednost se koristi za procenu tendencije nastajanja međusobnih interakcija i veza između čestica uzorka. Prisustvo jakih interakcija može dovesti do lošeg proticanja i nedovoljnog mešanja uzorka. Specifična energija se meri tokom kretanja mešača prema gore, tokom šestog i sedmog ciklusa merenja (Introduction in powder rheology, 2023).

$$SE = \left(\frac{E_{tot,6up} + E_{tot,7up}}{2} \right) / m \quad (18)$$

gde je m masa uzorka koji se meri.

Rezultati merenja su prikazani tabelarno i grafički.



Slika 3.6. Grafik ukupne energije proticanja u 11 tačaka merenja, koje se koriste za izračunavanje parametara koji karakterišu dinamičko proticanje uzorka (preuzeto i prilagođeno iz Introduction in powder rheology, 2023)

3.1.2.3.7.5. Trenje između čestica uzorka i zida uređaja

Trenje između čestica uzorka i zida mernog uređaja (engl. *Wall friction*) se koristi za određivanje interakcija između površine zida mernog uređaja i uzorka koji se ispituje. U praksi, na primer u farmaceutskoj industriji, prilikom proizvodnje tableta i kapsula, značajno je poznavati podatke o trenju, koje nastaje između čestica praškastog materijala i površina delova opreme i uređaja koji se koriste u proizvodnji (kontejneri, levkovi i dr.).

Za ovo ispitivanje je korišćena merna ćelija za smicanje praškova i merni sistem PSC43-21-0 (slika 3.7). U mernu ćeliju zapremine 18,9 ml pažljivo je sipani uzorak do vrha. Na uzorak se primenjuje

normalna sila (σ_n) od 3, 6 i 9 kPa, pri brzini rotacije mernog sistema od 0,5 obr/min. Za različite vrednosti normalne sile meri se sila smicanja (engl. *shear stress*), potrebna da pokrene uzorak. Rezultati merenja se prikazuju kao ugao koji kriva proticanja zatvara sa x osom (ϕ_w), adhezija čestica na zidove uređaja (τ_{ad}), koeficijent trenja (μ) i srednji ugao trenja (ϕ_{WFA}).

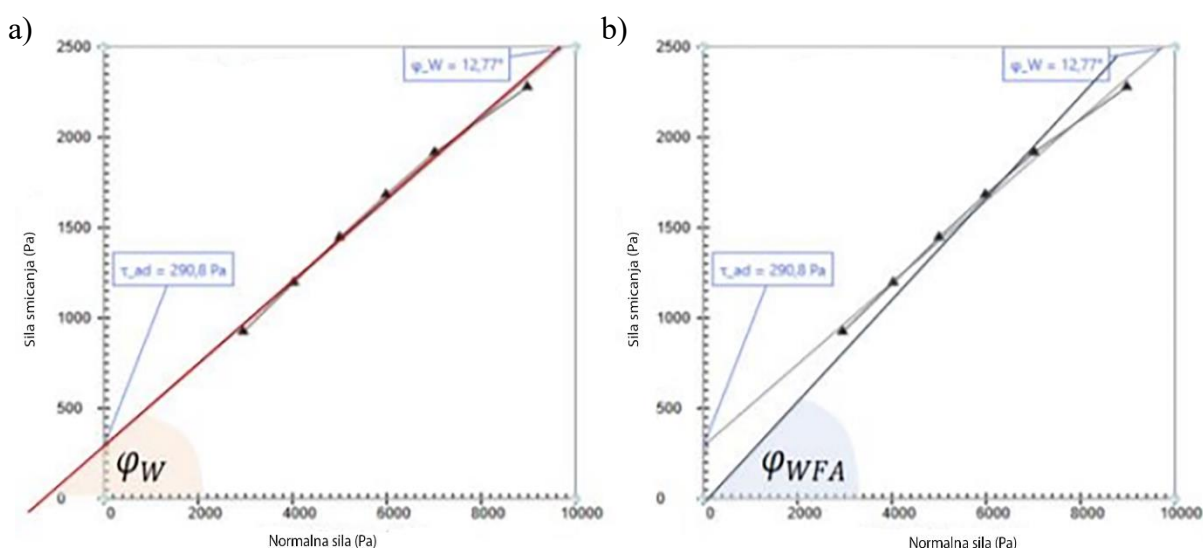
Kriva proticanja uzorka duž zida uređaja opisuje zavisnost sile smicanja (τ), (koja je potrebna da se uzorak kontinuirano kreće duž zida uređaja) od normalne sile (slika 3.8a). Kada se postigne konstantna vrednost sile smicanja (τ_w), tada je proticanje uzorka duž zida ujednačeno. Ugao krive proticanja predstavlja ugao koji kriva proticanja zatvara sa X-osom (slika 3.8a). Ugao trenja (ϕ) predstavlja ugao koji linija koja prolazi kroz koordinatni početak i određenu tačku na krivoj proticanja zatvara sa x-osom (slika 3.8.b). Koeficijent trenja (μ) opisuje odnos između konstantne vrednosti sile smicanja (τ_w) i normalne sile (σ_n) (Introduction in powder rheology, 2023) (jednačina 19).

$$\mu = \frac{\tau_w}{\sigma_n} \quad (19)$$

Rezultati određivanja trenja između čestica čvrstih disperzija i zida uređaja su prikazani tabelarno i grafički.



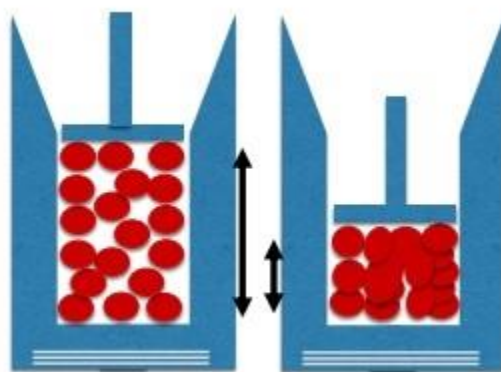
Slika 3.7. Merna ćelija za smicanje (levo) i merni sistem PSC43-21-0 (desno) (preuzeto iz *Introduction in powder rheology*, 2023)



Slika 3.8. Zavisnost ugla krive proticanja uzorka duž zida (ϕ_w) (a) i srednjeg ugla trenja (ϕ_{wFA}) (b) od normalne sile (preuzeto i prilagođeno iz *The Field Guide to Pharmaceutical Powder Characterization*, 2023)

3.1.2.3.7.6. Kompresibilnost

Kompresibilnost uzoraka je određivanja korišćenjem merne ćelije za smicanje praškova, sa mernim sistemom PSC43-21-0 (slika 3.7). U mernu ćeliju zapremine 18,9 ml pažljivo je sipan uzorak do vrha. Određivanje se zasnivalo na merenju promene relativne zapremine uzorka, u zavisnosti od primenjene sile na uzorak. Sa povećanjem sile kompresije dolazi do sabijanja uzorka i smanjenja njegove zapremine. Zapremina pre i posle kompresije se određivala kao razlika između tačke u kojoj merni sistem dodirne uzorak na početku merenja (pre primene sile) i nakon primene sile (slika 3.9) (*Introduction in powder rheology*, 2023) u odnosu na nultu tačku (odgovara dnu merne ćelije). U toku ispitivanja, na uzorke je primenjivana sila kompresije od 0 do 45 kPa.



Slika 3.9. Prikaz merenja zapremine uzorka pre i posle kompresije preuzeto i prilagođeno iz *The Field Guide to Pharmaceutical Powder Characterization*, 2023)

Nasipna gustina pre i posle kompresije je izračunavana na osnovu poznate mase i zapremine uzorka, pre i nakon kompresije.

Carr-ov indeks i *Hausner*-ov odnos su se izračunavali na osnovu jednačina 20 i 21 (Ph.Eur. 11.0):

$$\text{Carr} - \text{ov indeks} = 100 \times \frac{V_B - V_T}{V_B} \quad (20)$$

gde je V_B zapremina uzorka pre primene sile kompresije, V_T zapremina uzorka nakon primene sile kompresije.

$$\text{Hausner} - \text{ov odnos} = \frac{\rho_T}{\rho_B} \quad (21)$$

gde je ρ_B nasipna gustina pre primene sile kompresije, ρ_T nasipna gustina nakon primene sile kompresije.

Rezultati su prikazani tabelarno i grafički.

3.1.2.4. IV faza eksperimentalnog rada

3.1.2.4.1. *In silico* modelovanje

U četvrtoj fazi istraživanja razvijen je i validiran *in silico* PBBM klopido-grel-specifičan model za procenu apsorpcije i farmakokinetičkih parametara klopido-grela. Razvijeni model je korišćen za procenu uticaja vrste i udela hidrofilnih polimera na apsorpciju i farmakokinetičke parametre aktivne supstance, nakon peroralne primene čvrstih disperzija, kao i za razmatranje eventualnog povećanja bioraspoloživosti aktivne supstance.

U ovom delu istraživanja, eksperimentalno je sprovedeno ispitivanje *in vitro* brzine rastvaranja klopido-grel-hidrogensulfata u uslovima izmene medijuma tako da se oponašaju promene fiziološke pH vrednosti kroz gastrointestinalni trakt. Dobijeni rezultati su korišćeni za modelovanje.

3.1.2.4.1.1. *In vitro* ispitivanje brzine rastvaranja klopido-grel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija pomoću aparature sa cilindrom sa povratnim kretanjem

Ispitivanje *in vitro* brzine rastvaranja klopido-grela iz čvrstih disperzija, punjenih u tvrde želatinske kapsule (sadrže uobičajenu terapijsku dozu klopido-grela od 75 mg), sprovedeno je na aparaturi sa cilindrom sa povratnim kretanjem (Bio-Dis Extended Release Tester, VanKel Technology Group, SAD), pri čemu je vršena izmena medijuma u toku ispitivanja, tako da se oponašaju promene fiziološke pH vrednosti kroz gastrointestinalni trakt. Eksperimentalni uslovi izvođenja testa su prikazani u tabeli 3.4. Uzrokovanje (5 ml) je vršeno prema protokolu ispitivanja, u definisanim vremenskim intervalima, uz nadoknadu medijuma nakon uzorkovanja. Uzorci su profiltrirani kroz 0,45 µm membranski filter (Merck Millipore, Merck KGaA, SAD), a sadržaj klopido-grela je određivan korišćenjem ranije opisane RP-HPLC metode. Analiza je urađena u triplikatu za svaki medijum, a rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost ± standardna devijacija.

Tabela 3.4. Uslovi *in vitro* ispitivanja brzine rastvaranje klopido-grela pomoću aparature sa cilindrom sa povratnim kretanjem

Red	I	II	III	IV	V
Region GIT	želudac	duodenum	proksimalni jejunum	distalni jejunum	distalni ileum
pH vrednost	pH 1,2	pH 6,0	pH 6,4	pH 6,9	pH 7,4
Vreme zadržavanja (min)	15	15	90	60	150
Zapremina medijuma (ml)			240		
Vreme odlaganja (s)			30		
Vreme ceđenja (s)			60		

3.1.2.4.1.2. Razvoj i validacija PBBM klopido-rel specifičnog modela

Razvoj klopido-rel-specifičnog PBBM modela je podrazumevao izbor ulaznih parametara, opimizaciju i validaciju modela. Za *in silico* modelovanje korišćen je programski softver GastroPlus™ (verzija 9.8.2000, Simulation Plus Inc., SAD). Klopido-rel-specifičan model je razvijen na osnovu ulaznih podataka koji su se odnosili na fizičko-hemijska i biofarmaceutska svojstva klopido-rela, kao i fiziološke uslove u organizmu. Odgovarajući ulazni parametri (tabela 3.5.) su odabrani iz literature, određeni eksperimentalno ili predviđeni korišćenjem GastroPlus™ softvera.

Za predviđanje apsorpcije i distribucije klopido-rela u gastrointestinalnom traktu korišćen je unapređeni prostorni model apsorpcije i transporta (engl. *Advanced Compartmental Absorption and Transit Model*, skr. ACAT). Odabrani ACAT model, u okviru GastroPlus™ softvera, koristio je podrazumevane vrednosti fizioloških parametara za zdravu odraslu osobu, telesne težine od 70 kg, u stanju gladovanja, osim procenta zapremine tečnosti u tankom crevu (23%) i kolonu (0,5%), koje su preuzete iz literature (Jereb i sar., 2019; Porat i sar., 2022).

GastroPlus™ PKPlus™ modul, pomoćni modul GastroPlus™ softvera, korišćen je za dobijanje farmakokinetičkih parametara klopido-rela (vrednosti ukupnog klirensa CL , volumena distribucije V_d i konstanti distribucije $k_{1/2}$, $k_{2/1}$, $k_{1/3}$, $k_{3/1}$) analizom *in vivo* profila koncentracije klopido-rela u plazmi u toku vremena, nakon intravenske (i.v.) primene različitih doza klopido-rela (1 mg, 10 mg, 100 mg i 300 mg) (Cushing i sar., 2012). *In vivo* brzina rastvaranja klopido-rela iz tableta sa trenutnim oslobađanjem (IR) procenjena je korišćenjem Johnsonove jednačine (Lu i sar., 1993). Vrednost za permeabilnost klopido-rela je izračunata pomoću GastroPlus™ integrisanog konvertera, na osnovu podatka o permeabilnosti klopido-rela na Caco-2 ćelijama, preuzetih iz literature (Djebli i sar., 2015).

Validacija modela je izvršena poređenjem rezultata predviđanja sa podacima iz *in vivo* studija nakon i.v. primene (za doze 1 mg, 10 mg, 100 mg i 300 mg) (Cushing i sar., 2012) i peroralne (p.o.) primene (za doze 75 mg i 300 mg) (Karaźniewicz-Łada i sar., 2014). Program WebPlotDigitizer v4.4 (Automeris LLC, SAD) je korišćen za očitavanje vrednosti *in vivo* podataka sa grafičkih prikaza iz *in vivo* studija (Cushing i sar., 2012; Karaźniewicz-Łada i sar., 2014).

3.1.2.4.1.3. Primena PBBM klopido-rel specifičnog modela

U drugoj fazi *in silico* modelovanja razvijeni i validirani model je korišćen za predviđanje apsorpcije i raspodele klopido-rela nakon peroralne primene odabranih čvrstih disperzija. Da bi se procenila moć predviđanja izgrađenog modela korišćena je jednačina za izračunavanje vrednosti nivoa greške FE (engl. *fold error*), koja opisuje odnos između vrednosti iz *in vivo* studija i *in silico* predviđenih podataka (jednačina 22) (Zhang i sar., 2015; Park i sar., 2017).

$$FE = \frac{\text{in silico predviđena vrednost}}{\text{in vivo vrednost}} \quad (22)$$

Ukoliko se predviđene vrednosti farmakokinetičkih parametara nalaze u dvostrukom opsegu *in vivo* vrednosti, odnosno ako je vrednost nivoa greške FE bliska vrednosti 1, predviđanje se smatra uspešnim (Zhang i sar., 2015; Park i sar., 2017; Medarević i sar., 2018).

Tabela 3.5. Ulazni parametri za *in silico* predviđanje aspsorpcije i distribucije klopdiogrela

Parametar	Vrednost
Molekulska masa	321,82
log D (pH 7,4)	3,9 ^a
pK _a vrednost	4,55 ^b
Rastvorljivost na 37 °C (mg/ml)	Rezultati prikazani u tabeli 4.1 ^c
Efektivna permeabilnost kroz humani jejunum P _{eff} (cm/s)	4,7767 x 10 ⁻⁴ ^d
Koeficijent difuzije (cm ² /s)	0,7397 x 10 ⁻⁵ ^e
Prečnik čestica (μm)	150 (D ₅₀); 250 (D ₉₀) ^f
Doza (mg)	1, 10, 100, 300 (i.v.) ^g ; 75, 300 (p.o.) ^h
Zapremina tečnosti uzeta sa lekom (ml)	200 ^h
Slobodna frakcija aktivne supstance u plazmi (%)	2 ⁱ
Odnos koncentracije aktivne supstance u krvi/plazmi	0,72 ^b
Presistemiški metabolizam u jetri (FPE %)	96,5 ^j
Ukupni klirens C _L (l/h/kg)	1,2 ^k
Volumen distribucije V _d (l/kg)	0,073 ^k
Konstanta distribucije k _{1/2} (h ⁻¹)	9,285 ^k
Konstanta distribucije k _{2/1} (h ⁻¹)	2,058 ^k
Konstanta distribucije k _{1/3} (h ⁻¹)	1,243 ^k
Konstanta distribucije k _{3/1} (h ⁻¹)	0,17 ^k
Poluvreme eliminacije t _{1/2} (h)	4,4 ^l

^a Podatak preuzet iz literature (Sanofi-Aventis, Plavix product monograph, 2020)

^b Podatak preuzet iz literature (Djebli i sar., 2015)

^c Eksperimentalne vrednosti

^d Vrednost izračunata pomoću konvertera integrisanog u softver GastroPlus™, na osnovu podataka za permeabilnost u Caco-2 ćelijama (Djebli i sar., 2015)

^e GastroPlus™ izračunata vrednost na osnovu molekulske mase

^f Podaci preuzeti sa sertifikata proizvođača aktivne supstance

^g Podatak preuzet iz literature (Cushing i sar., 2012)

^h Podatak preuzet iz literature (Karaźniewicz-Łada i sar., 2014)

ⁱ Podatak preuzet iz literature (El-Sadek i sar., 2011)

^j Optimizovana vrednost tako da predviđeni profil koncentracije u plazmi odgovara *in vivo* profilu (Jiang i sar., 2015)

^k Vrednost izračunata pomoću GastroPlus™ PKPlus™ modula, na osnovu i.v. vrednosti iz literature (Cushing i sar., 2012)

^l GastroPlus™ izračunata vrednost

REZULTATI I DISKUSIJA

4. REZULTATI I DISKUSIJA

4.1. I faza eksperimentalnog rada

4.1.1. Ispitivanje rastvorljivosti klopido-rel-hidrogensulfata

Rezultati ispitivanja rastvorljivosti klopido-rel-hidrogensulfata u medijumima različite pH vrednosti prikazani su u tabeli 4.1. Rezultati ispitivanja rastvorljivosti su pokazali pH-zavisnu rastvorljivost aktivne supstance, što je u saglasnosti sa literaturnim podacima (FDA, 2009; Jassim i Hussein, 2017; Singh i sar., 2013; Sravani i sar., 2012; Qureshi i sar., 2017). Klopido-rel-hidrogensulfat je lako rastvorljiv u medijumu pH 1,2 (268,750 mg/ml), dok je u medijumima viših pH vrednosti rastvorljivost značajno niža (0,055 mg/ml u medijumu pH 4,5 i 0,016 mg/ml u medijumu pH 6,8) (tabela 4.1). Iz dobijenih rezultata se vidi da s porastom pH vrednosti dolazi do opadanja rastvorljivosti klopido-rel-hidrogensulfata. Budući da se radi o slaboj bazi, rezultati su u skladu sa očekivanjima. Literaturni podaci za rastvorljivost klopido-rel-hidrogensulfata variraju u jako velikom opsegu, u zavisnosti od većeg broja faktora, a pre svega od vrste medijuma u kojem je ispitivanje rađeno. Tako se navode vrednosti rastvorljivosti u opsegu 0,01-0,1 mg/ml u prečišćenoj vodi (Renuka i sar., 2016; Sharma i sar., 2017; Singh i sar., 2013). Vrednosti rastvorljivosti u medijumima pH 1,2 su u opsegu 40,0 mg/ml – 694,5 mg/ml, dok su vrednosti u medijumu pH 6,8 u opsegu 0,08 mg/ml – 13,3 mg/ml (Jassim i Hussein, 2017; Singh i sar., 2013; Sravani i sar., 2012; Rao i Lakshmi, 2014). Razlog ovako velikih odstupanja u rezultatima rastvorljivosti nije uvek lako naći, jer autori u svojim istraživanjima vrlo često ne navode detaljne uslove izvođenja ovog testa (sastav i zapremina medijuma, temperatura, brzina mućkanja, dužina trajanja testa). Ono u čemu su svi autori saglasni jeste da klopido-rel-hidrogensulfat pokazuje pH-zavisnu rastvorljivost i da sa porastom pH vrednosti dolazi do opadanja rastvorljivosti aktivne supstance (FDA, 2009; Jassim i Hussein, 2017; Singh i sar., 2013; Sravani i sar., 2012; Qureshi et al, 2017). Treba istaći da podaci u vezi sa rastvorljivošću klopido-rel-hidrogensulfata navedeni u Ph. Eur. 11.0 (lako rastvorljiv u vodi i metanolu, praktično nerastvorljiv u cikloheksanu) ne ukazuju na pH-zavisnu rastvorljivost ove aktivne supstance.

Na osnovu izračunate vrednosti doznog broja (jednačina 2), aktivna supstanca se može smatrati dobro rastvorljivom ako je dozni broj manji od 1, a slabo rastvorljivom ako je dozni broj veći od 1 (Wolk i sar., 2014). Izračunavanjem doznog broja za terapijske doze klopido-rela od 75 mg, 300 mg i 600 mg, potvrđena je pH-zavisna rastvorljivost, jer je dozni broj manji od 1, za medijum pH 1,2, dok je za medijume pH vrednosti 4,5 i 6,8 vrednost doznog broja veća od 1 (Wolk i sar., 2014) (Tabela 4.1).

Table 4.1. Rastvorljivosti klopido-rel-hidrogensulfata u medijumima različitih pH vrednosti i vrednosti izračunatog doznog broja

pH vrednost	Rastvorljivost (mg/ml) ± S.D.	Terapijska doza (mg)		
		75	300	600
		Dozni broj (D ₀)		
1,2	268,750 ± 6,159	0,001	0,004	0,009
4,5	0,055 ± 0,005	5,455	21,818	43,636
6,8	0,016 ± 0,003	21,429	85,714	171,429

S.D. - standardna devijacija

4.1.2. Formulacija i izrada čvrstih disperzija

U prvoj fazi istraživanja izrađeno je 20 uzoraka čvrstih disperzija sa model aktivnom supstancom, klopido-grel-hidrogensulfatom i različitim hidrofilnim polimerima (kopovidon, makrogol 6000, poloksamer 407 i povidon K30). Udeo aktivna supstanca/polimer u izrađenim čvrstim disperzijama bio je 1:1, 1:2, 1:3, 1:5 i 1:9 (tabela 3.2).

Iako su uobičajeni odnosi aktivna supstanca/nosač (polimer) u čvrstim disperzijama 1:1, 1:2 i 1:3, nije redak slučaj da koriste i znatno viši udeli polimera, jer je za poboljšanje rastvorljivosti i brzine rastvaranja slabo rastvorljive aktivne supstance formulacijom čvrstih disperzija često potrebna veća količina polimera. Yani i sar. (2017) su izrađivali čvrste disperzije ibuprofena, sa polimerima kopovidonom i Eudragit®-om EPO udela 1:9. Sa povećanjem udela aktivne supstance na 20% i 30%, izrada čvrstih disperzija je bila veoma otežana, a dobijeni uzorci su bili lepljivi i teški za karakterizaciju. Iz čvrste disperzije sa ibuprofenom i kopovidonom, pri udelu 1:9 oslobodilo se 85% aktivne supstance nakon 120 minuta, što ukazuje da se visokim udelom polimera postiže oslobađanje znatno veće količine ibuprofena, u poređenju sa čistom aktivnom supstancom (oko 20%, nakon 120 minuta). Ipak, u ovom slučaju ni udeo aktivna supstanca/kopovidon 1:9 nije bio dovoljan da se oslobodi celokupna količina ibuprofena nakon 120 minuta ispitivanja. Za razliku od toga, iz čvrstih disperzija sa Eudragit®-om EPO, pri udelu 1:9, nakon 120 min se oslobodilo 100% ibuprofena (Yani i sar., 2017). Annepogu i sar. (2020) su izrađivali čvrste disperzije tiokolhikozida sa poloksamerom 407 i udelima aktivna supstanca/polimer 1:1, 1:2, 1:4, 1:6. S povećanjem udela polimera povećavala količina oslobođenog tiokolhikozida. U poređenju sa aktivnom supstancom, gde se nakon 60 minuta rastvorilo 40% tiokolhikozida, iz čvrste disperzije sa najvećim udelom poloksamera 407 (1:6), nakon 60 min, je postignuto kompletno oslobađanje aktivne supstance.

Čvrste disperzije su izrađene metodom rastvaranja korišćenjem etanola 96% (V/V), kao rastvarača. Izrada čvrstih disperzija može biti zahtevna, zbog mogućnosti da nastala čvrsta masa nakon isparavanja rastvarača može biti lepljiva i smolasta, te problematična za dalju obradu (usitnjavanje i prosejavanje).

Na slici 4.1 je prikazan izgled dobijenih čvrstih disperzija, sa većim udelima korišćenih polimera (1:5 i 1:9).

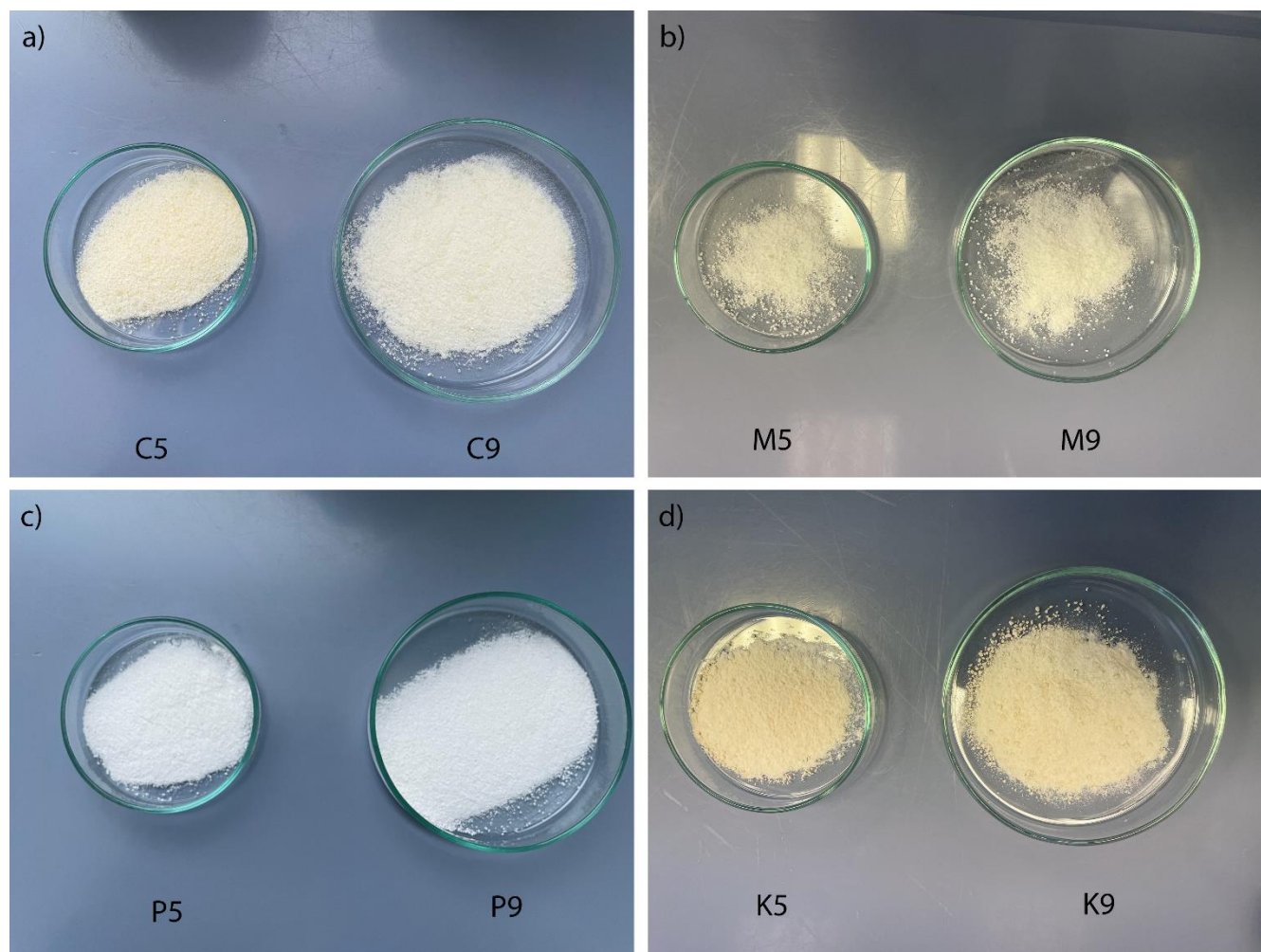
Čvrste disperzije sa kopovidonom imale su izgled svetlo žutog do belog, sitnog praška (slika 4.1a). Lako su se izrađivale, usitnjavale i prosejavale.

Čvrste disperzije sa makrogolom 6000 izgledale su kao beli prašak (slika 4.1b). Prilikom usitnjavanja u tarioniku i prosejavanja, zbog strukture slične vosku, koja potiče od makrogola 6000, lepile su se na zidove tarionika i sita, što je usporavalo proces izrade, jer je bilo potrebno dodatno skidanje čvrste mase sa zidova tarionika i sita.

Čvrste disperzije sa poloksamerom 407 izgledom su bile slične čvrstim disperzijama sa makrogolom 6000, ali nisu imale strukturu sličnu vosku (slika 4.1c). Lako su se izrađivale, usitnjavale i prosejavale.

Prilikom izrade čvrstih disperzija sa povidonom K30, primećeno je lepljenje nastale čvrste mase na zidove suda rotirajućeg evaporatora. Dobijena čvrsta masa se teže skidala sa zidova suda, zbog čega je u ovom slučaju prinos bio najmanji. Imale su izgled žućkastog, sitnog praška, slične čvrstim disperzijama sa kopovidonom (slika 4.1d).

Između čvrstih disperzija različitih udela polimera nije bilo vidljive razlike u izgledu.



Slika 4.1. Izgled čvrstih disperzija sa kopovidonom (a), makrogolom 6000 (b), poloksamerom 407 (c) i povidonom K30 (d) (odnos aktivna supstanca/polimer 1:5 i 1:9)

4.1.3. *In vitro* ispitivanje brzine rastvaranja klopidogrel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija

U cilju procene uticaja vrste i udela polimera na brzinu rastvaranja klopidogrela, sprovedeno je *in vitro* ispitivanje brzine rastvaranja klopidogrela iz izrađenih čvrstih disperzija. U cilju poređenja rezultata, ispitivanje je sprovedeno i za aktivnu supstancu, fizičke smeše aktivne supstance i polimera i komercijalne tablete.

Profili *in vitro* brzine rastvaranja klopidogrel-hidrogensulfata iz uzoraka čvrstih disperzija, fizičkih smeša, aktivne supstance i komercijalnih tableta su prikazani u tabeli 4.2 i na slici 4.2 (a-d).

Nakon 60 minuta ispitivanja, iz čvrstih disperzija sa kopovidonom se oslobodilo od 54,05% do 90,44% aktivne supstance, iz čvrstih disperzija sa makrogolom 6000 od 43,72% do 92,01%, iz čvrstih disperzija sa poloksamerom 407 od 47,38% do 96,38% i iz čvrstih disperzija sa povidonom K30 od 40,98% do 77,22%. Za isto vreme ispitivanja, količina rastvorenog klopidogrela-hidrogensulfata je bila samo 32,20% što je u skladu sa očekivanjima, jer je klopidogrel-hidrogensulfat slabo rastvorljiva supstanca u uslovima neutralne pH vrednosti (fosfatni pufer 6,8). Količina rastvorenog klopidogrel-

hidrogensulfata iz komercijalnih tableta je bila 37,74%, dok je za fizičke smeše iznosila od 22,31% do 50,45%. Uzorci čvrstih disperzija, osim uzorka P1 (odnos aktivna supstanca/poloksamer 407 1:1), omogućavaju rastvaranje veće količine klopido-grel-hidrogensulfata, u poređenju sa odgovarajućim fizičkim smešama, aktivnom supstancom i komercijalnim tabletama (tabela 4.2; slika 4.2).

Na osnovu literaturnih podataka, povećanje brzine rastvaranja aktivne supstance iz čvrstih disperzija se najčešće može objasniti prelaskom aktivne supstance iz kristalnog oblika u amorfni oblik, smanjenjem veličine čestica, poboljšanjem kvašenja i solubilizacijom aktivne supstance, kao i nastankom međumolekulskih interakcija između aktivne supstance i polimera (Almeida i sar., 2024; Malkawi i sar., 2022; Patel i sar., 2022; Sokač i sar., 2024). Poređenjem oslobođenih količina klopido-grel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija i fizičkih smeša, uočava se da se jednostavnim mešanjem klopido-grel-hidrogensulfata i polimera ne postiže poboljšanje rastvaranja aktivne supstance. Može se pretpostaviti da fizičkim mešanjem aktivne supstance i polimera ne dolazi do pojave fenomena, koji se dešavaju u čvrstim disperzijama, a koji dovode do povećanog rastvaranja aktivne supstance.

Shodno očekivanjima, povećanje udela hidrofilnih polimera generalno dovodi do povećanog rastvaranja klopido-grel-hidrogensulfata iz izrađenih čvrstih disperzija. Takve rezultate istraživanja navode i drugi autori (Alshehri i sar., 2020; Nair i sar., 2020; Krstić i sar., 2020). Smatra se da veći udeo polimera povećava stepen kvašenje i specifičnu površinu aktivne supstance izloženu rastvaraču, čime se pospešuje njeno rastvaranje iz čvrstih disperzija. S povećanjem udela polimera dolazi i do smanjenja kristaliniteta aktivne supstance (Nair i sar., 2020). Ovi faktori zajednički doprinose poboljšanju rastvaranja aktivne supstance iz čvrstih disperzija.

Količina rastvorenog klopido-grel-hidrogensulfata, nakon 60 minuta, iz čvrstih disperzija sa kopovidonom, u zavisnosti od udela polimera, bila je od 54,05% do 90,44% (uzorci sa oznakom C; tabela 4.2). U poređenju sa čvrstim disperzijama sa drugim polimerima, pri odnosu aktivna supstanca/polimer 1:1, uzorak C1 je omogućio da se rastvori najveća količina klopido-grel-hidrogensulfata, što ukazuje na sposobnost kopovidona da utiče na povećanje rastvaranja i kod čvrstih disperzija sa manjim udelima polimera. Ovo može biti značajna osobina kopovidona kao nosača u čvrstim disperzijama, jer manji udeo polimera omogućava formulisanje tableta i kapsula manje mase, što olakšava primenu kod pacijenata.

S povećanjem udela kopovidona dolazi do povećanog rastvaranja klopido-grel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija, što navode i drugi autori. De Assis i sar. (2022) su pokazali da s povećanjem udela kopovidona u čvrstoj disperziji dolazi do povećanja brzine rastvaranja aktivne supstance flubendazol, pri čemu je ovaj efekat najviše bio izražen u slučaju čvrste disperzije sa odnosom flubendazol/kopovidon 1:9.

Prema literaturnim podacima, različiti su mehanizmi koji dovode do poboljšanog rastvaranja aktivne supstance iz čvrstih disperzija sa kopovidonom, pri čemu se najčešće navodi prelazak kristalnog oblika aktivne supstance u amorfni (de Assis i sar., 2022; Nair i sar., 2020; Yani i sar., 2017). Takođe, smatra se da može doći i do formiranja koloidne faze u kontaktu čvrste disperzije sa medijumom, što su Que i sar. (2019) dokazali u slučaju čvrste disperzije ledipasvira sa kopovidonom. Koloidna faza se ponaša kao rezervoar za aktivnu supstancu i obezbeđuje njeno postepeno oslobađanje i poboljšanje brzine rastvaranja.

Količina rastvorenog klopido-grel-hidrogensulfata nakon 60 minuta, iz čvrstih disperzija sa makrogolom 6000 u zavisnosti od udela polimera je bila od 43,72% do 94,03% (uzorci sa oznakom M; tabela 4.2.). S povećanjem udela makrogola 6000 u čvrstim disperzijama dolazi do povećanog rastvaranja aktivne supstance, do udela 1:5 (uzorak M5). Sa daljim povećanjem udela makrogola 6000

ne dolazi do daljeg povećanja rastvaranja. U slučaju uzorka M9 (udeo 1:9) količina rastvorenog klopido α rel-hidrogensulfata je nešto manja (92,01%), nego kog uzorka M5 (udeo 1:5) (94,03%). Dobijeni rezultati ukazuju da prevelika količina polimera u čvrstim disperzijama može biti neodgovarajuća za povećanje rastvaranja aktivne supstance. Ovo se može objasniti time da makrogol 6000 u kontaktu sa medijumom bubri i da nastaje deblji viskozni sloj koji usporava prodiranje medijuma do čestica aktivne supstance, što usporava oslobađanje. Takođe, velika količina polimera u čvrstim disperzijama može smanjiti specifičnu površinu leka koja je izložena medijumu i usporiti proces rastvaranja (Bolourchian i sar., 2013).

Količina rastvorenog klopido α rel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija sa poloksamerom 407 bila je od 30,74% do 96,38% nakon 60 minuta (uzorci sa oznakom P; tabela 4.2). I u ovom slučaju, sa povećanjem udela poloksamera 407 dolazi do povećanog rastvaranja aktivne supstance iz čvrstih disperzija. Najmanji udeo poloksamera 407 (uzorak P1) nije bio dovoljan da poboljša rastvaranje aktivne supstance, jer se iz ovog uzorka rastvorilo samo 30,74% klopido α rel-hidrogensulfata, što je manje nego za čistu aktivnu supstancu (32,20%). Količina rastvorenog klopido α rel-hidrogensulfata bila je najveća kod uzorka P9 (udeo 1:9) i iznosila je 96,38%. Ovo je najveća količina oslobođene aktivne supstance iz svih ispitivanih čvrstih disperzija. U poređenju sa čistom aktivnom supstancom, oslobođena količina klopido α rel-hidrogensulfata iz uzorka P9 (nakon 60 minuta) je veća za 3 puta, a u poređenju sa komercijalnim tabletama za 2,5 puta.

S obzirom da je poloksamer 407 polimer koji ima osobine surfaktanta, može se pretpostaviti da se povećano rastvaranje dešava zbog povećanja kvašenja klopido α rel-hidrogensulfata, kao i prelaska aktivne supstance iz kristalnog u amorfni oblik (Yusuf i sar., 2023; Nair i sar., 2020). Poloksamer 407 u kontaktu s medijumom formira micelle, koje omogućavaju solubilizaciju i značajno povećanje brzine rastvaranja aktivne supstance (Park i sar., 2018; Szafraniec i sar. 2018). Szafraniec i sar. (2018) su dokazali da je solubilizacija lipofilne aktivne supstance bikalutamida u prisustvu poloksamera 407 glavni mehanizam koji dovodi do povećanog rastvaranja bikalutamida iz čvrstih disperzija.

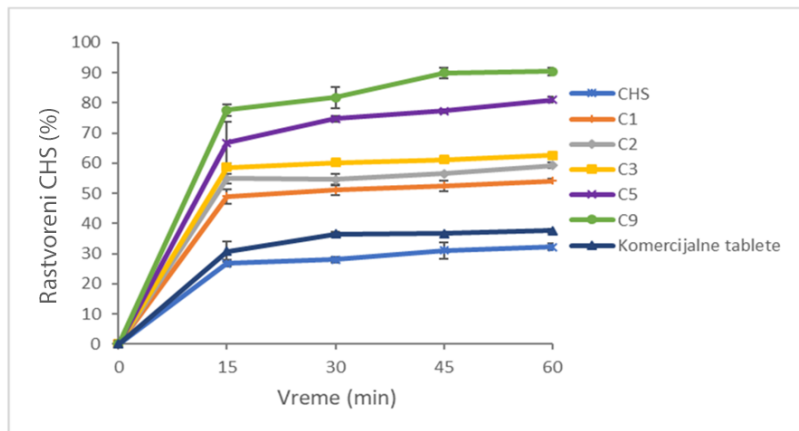
Količina rastvorenog klopido α rel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija sa povidonom K30 bila je od 40,98% do 77,22% (uzorci sa oznakom K; tabela 4.2). Prema literaturnim podacima, kao najčešći razlozi za poboljšano rastvaranje aktivne supstance iz čvrstih disperzija sa povidonom K30 se navode stvaranje molekulске disperzije aktivne supstance u amorfnom obliku, inhibicija rekristalizacije aktivne supstance, kao i smanjenje veličine čestica (Baghel i sar., 2019; Browne i sar., 2019; Smeets i sar., 2018; Yan i sar., 2019). U ovim istraživanjima, povidon K30 kao polimer u čvrstim disperzijama je pokazao najmanju sposobnost da poboljša rastvaranje klopido α rel-hidrogensulfata, u poređenju sa sa kopovidonom, makrogolom 6000 i poloksamerom 407.

Tabela 4.2. Profili brzine rastvaranja klopidoigrela-hidrogensulfata iz ispitivanih čvrstih disperzija

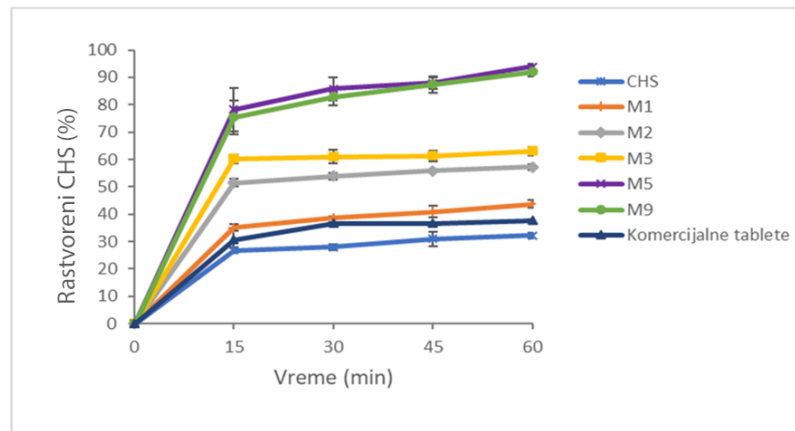
Čvrste disperzije					Fizičke smeše				
Rastvoreni CHS % (±S.D.)					Rastvoreni CHS % (±S.D.)				
Vreme (min)	15	30	45	60		15	30	45	60
C1	48,93 (±2,32)	50,99 (±1,69)	52,50 (±1,69)	54,05 (±0,61)	CPM1	24,22 (±1,00)	25,45 (±0,87)	26,30 (±1,48)	30,93 (±1,28)
C2	54,83 (±1,50)	54,62 (±1,74)	56,46 (±0,37)	59,28 (±1,06)	CPM2	26,74 (±1,29)	28,38 (±1,15)	29,35 (±1,23)	31,86 (±0,54)
C3	58,58 (±0,51)	60,19 (±0,86)	61,19 (±0,96)	62,56 (±0,35)	CPM3	20,77 (±1,68)	25,96 (±1,37)	31,62 (±1,24)	33,22 (±1,10)
C5	66,79 (±6,80)	74,73 (±0,91)	77,24 (±0,53)	81,01 (±0,93)	CPM5	15,68 (±6,98)	22,26 (±11,99)	25,66 (±10,38)	28,77 (±3,41)
C9	77,61 (±1,88)	81,73 (±3,56)	89,94 (±1,82)	90,44 (±1,33)	CPM9	28,18 (±1,21)	36,86 (±2,86)	42,05 (±2,60)	44,35 (±0,53)
M1	35,02 (±1,23)	38,52 (±0,56)	40,82 (±2,11)	43,72 (±1,50)	MPM1	24,94 (±1,34)	25,93 (±0,62)	25,94 (±0,72)	27,34 (±0,87)
M2	51,46 (±1,47)	53,85 (±1,24)	55,85 (±0,52)	57,22 (±1,01)	MPM2	26,38 (±0,75)	28,16 (±1,00)	29,04 (±0,77)	30,83 (±0,53)
M3	60,23 (±1,62)	60,95 (±2,44)	61,31 (±1,96)	63,01 (±1,51)	MPM3	20,72 (±1,46)	25,70 (±1,53)	34,02 (±1,65)	36,06 (±0,96)
M5	78,17 (±7,88)	85,78 (±4,37)	87,89 (±2,04)	94,03 (±0,85)	MPM5	33,97 (±5,77)	34,07 (±1,37)	38,82 (±2,14)	45,20 (±1,40)
M9	75,34 (±6,03)	82,80 (±3,07)	87,38 (±3,00)	92,01 (±1,60)	MPM9	32,02 (±2,11)	43,19 (±7,88)	44,68 (±8,59)	50,45 (±2,14)
P1	26,49 (±1,19)	27,46 (±1,20)	28,15 (±0,70)	30,74 (±0,68)	PPM1	28,73 (±2,12)	29,10 (±2,15)	29,40 (±1,16)	29,60 (±0,58)
P2	13,92 (±6,86)	24,07 (±3,76)	42,91 (±0,48)	47,38 (±1,00)	PPM2	28,83 (±2,06)	29,89 (±2,24)	31,40 (±2,15)	32,60 (±2,04)
P3	26,25 (±0,83)	45,87 (±3,12)	56,28 (±1,92)	60,34 (±0,98)	PPM3	19,39 (±0,93)	25,37 (±1,00)	30,69 (±1,68)	34,94 (±0,51)
P5	73,63 (±0,97)	84,12 (±2,42)	86,94 (±2,77)	89,21 (±1,86)	PPM5	12,38 (±2,79)	18,81 (±7,77)	41,86 (±1,24)	42,71 (±1,04)
P9	90,76 (±5,45)	95,81 (±2,03)	96,25 (±1,71)	96,38 (±1,68)	PPM9	19,25 (±4,69)	29,09 (±1,29)	42,34 (±1,58)	42,71 (±1,21)
K1	30,90 (±0,69)	35,05 (±0,59)	37,13 (±1,01)	40,98 (±0,32)	KPM1	16,92 (±0,70)	20,69 (±1,57)	21,32 (1,10)	22,31 (0,93)
K2	50,83 (±0,30)	52,49 (±0,46)	53,23 (±0,80)	54,75 (±0,71)	KPM2	17,75 (±1,21)	19,42 (±1,64)	21,24 (±2,62)	23,07 (±2,13)
K3	41,86 (±9,47)	53,29 (±0,65)	54,86 (±0,58)	57,34 (±2,34)	KPM3	19,79 (±1,93)	21,64 (±2,77)	23,24 (±2,55)	25,30 (±1,98)
K5	57,80 (±2,52)	63,73 (±1,67)	66,46 (±3,06)	70,20 (±0,55)	KPM5	16,58 (±3,65)	24,23 (±2,04)	26,77 (±0,62)	27,04 (±0,10)
K9	50,94 (±7,65)	64,64 (±2,01)	72,17 (±4,72)	77,22 (±2,58)	KPM9	26,99 (±5,22)	29,75 (±5,71)	29,61 (±4,48)	29,91 (±3,06)
CHS	26,76 (±1,09)	27,99 (±1,02)	32,02 (±2,62)	32,20 (±1,04)	Tablete	30,65 (±3,25)	36,57 (±0,61)	36,60 (±0,28)	37,62 (±0,65)

S.D. – standardna devijacija

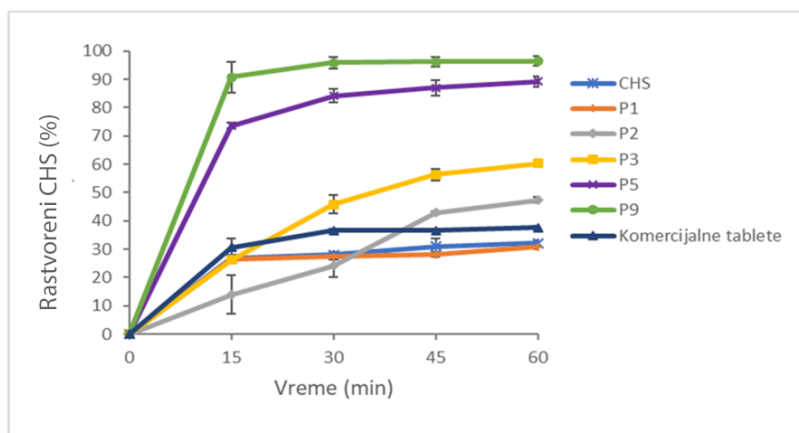
a)



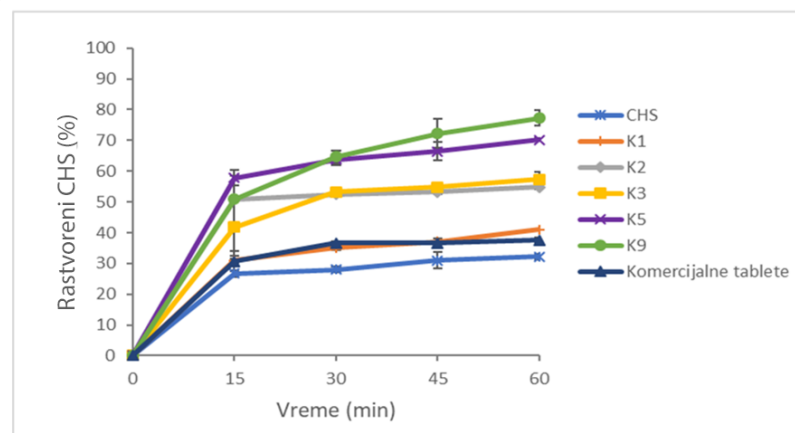
b)



c)



d)



Slika 4.2. Komparativni profili brzine rastvaranja klopidoogrel-hidrogensulfata iz: ispitivanih čvrstih disperzija sa kopovidonom (a), makrogolom 6000 (b), poloksamerom 407(c), povidonom K30 (d), aktivne supstance (CHS) i komercijalnih tableta

4.2. II faza eksperimentalnog rada

Na osnovu rezultata ispitivanja *in vitro* brzine rastvaranja klopidogrel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija (I faza eksperimentalnog rada) moglo se zaključiti da su čvrste disperzije sa kopovidonom, makrogolom 6000 i poloksamerom 407, sa udelima aktivna supstanca/polimer 1:5 i 1:9 (uzorci C5, C9, M5, M9, P5, P9) omogućile da se rastvori najveća količina klopidogrel-hidrogensulfata (više od 80% za 60 minuta). Navedeni uzorci su odabrani za dalja ispitivanja (karakterizaciju fizičkog stanja aktivne supstance DSC, FT-IR i PXRD metodama i određivanje sadržaja klopidogrela). U cilju procene dugotrajne stabilnosti ovih uzoraka čvrstih disperzija, navedena ispitivanja, uključujući i *in vitro* ispitivanje brzine rastvaranja klopidogrel-hidrogensulfata ponovljena su nakon 12 meseci skladištenja uzoraka u komorama za ispitivanje stabilnosti, pod kontrolisanim uslovima (temperatura od 25 ± 2 °C i vlažnost vazduha od $60 \pm 5\%$).

Karakterizacija čvrstih disperzija

4.2.1. Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija

DSC termogrami aktivne supstance, polimera (kopovidon, makrogol 6000 i poloksamer 407) i odabranih čvrstih disperzija (C5, C9, M5, M9, P5 i P9) su prikazani na slici 4.3.

Na DSC termogramu klopidogrel-hidrogensulfata se uočava jedan endotermni pik na temperaturi od 178 °C, koji odgovara tački topljenja aktivne supstance. Ovaj podatak ukazuje da se aktivna supstanca nalazi u polimorfnom obliku II, jer prema literaturnim podacima (Koradia i sar., 2004; Lestari i sar., 2010; Zupančič i sar., 2010) polimorfni oblik II ima tačku topljenja u rasponu od 176 – 178 °C. Za razliku od polimorfnog oblika II, polimorfni oblik I ima tačku topljenja na višim temperaturama (198 – 200 °C) (Koradia i sar., 2004; Lestari i sar., 2010; Zupančič i sar., 2010).

Na DSC termogramu za kopovidon se vide dva pika, jedan oštiji, koji odgovara temperaturi od 63 °C i drugi, razvučen, koji odgovara temperaturnom rasponu od 100 - 107 °C (slika 4.3a) što je u saglasnosti sa literaturnim podacima drugih autora (De Assis i sar., 2022; Mehatha i sar., 2014; Song i sar., 2013). De Assis i sar. (2022) su analizirali DSC metodom čvrste disperzije flubendazola sa kopovidonom, a njihovi rezultati ukazuju na sličan izgled termograma za polimer, a pik na 106 °C su okarakterisali kao T_g polimera.

Na DSC termogramu za makrogol 6000 vidljiv je endotermni pik na temperaturi 63 °C (slika 4.3b), što odgovara temperaturnom rasponu tačke topljenja (55 - 63 °C) za ovaj polimer (Biswal i sar., 2008; Bolourchian i sar., 2013; Jassim i Hussein, 2014).

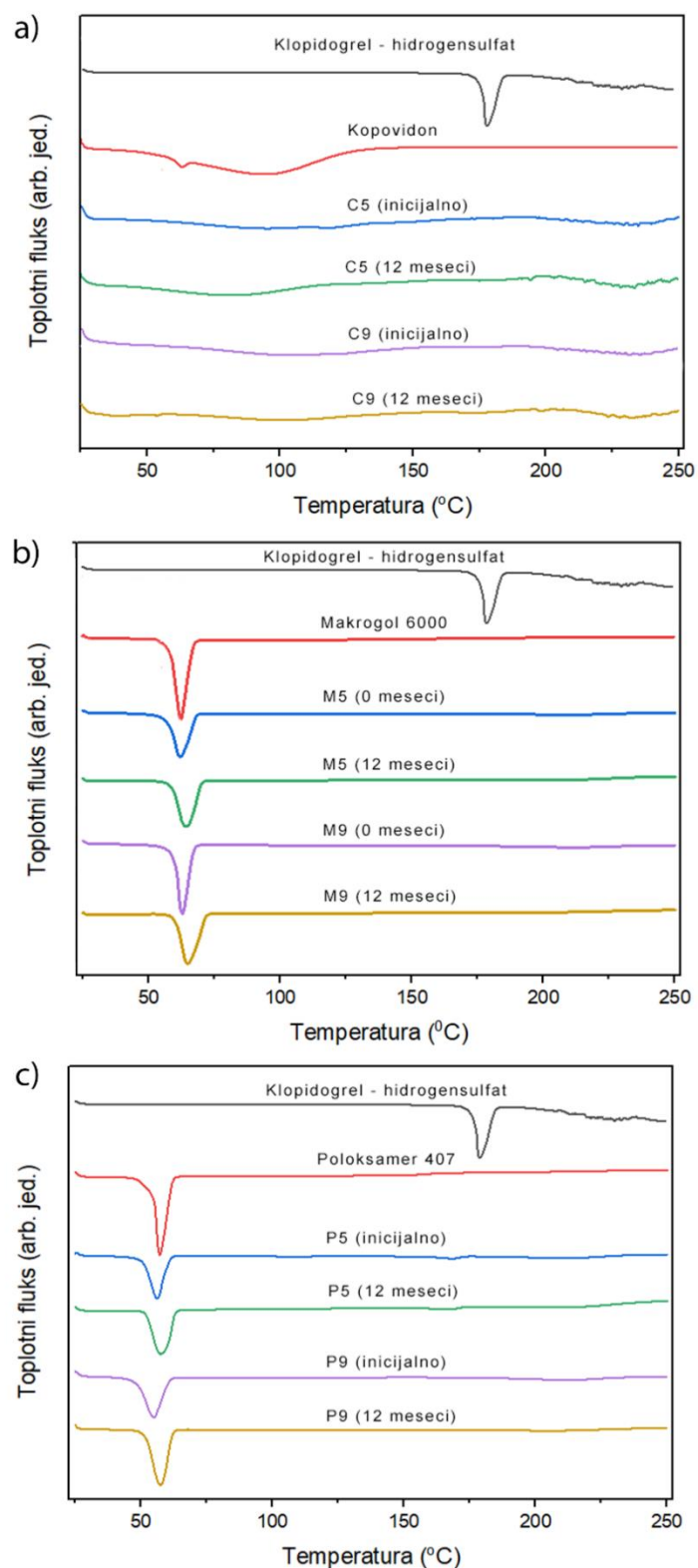
DSC termogram za poloksamer 407 na temperaturi od 57 °C (slika 4.3c) odgovara tačkama topljenja polimera (56 – 57 °C) i u skladu je sa literaturnim podacima drugih autora (Jin i sar., 2021; Kher i Sorathia, 2024).

Na DSC termogramima svih čvrstih disperzija ne uočava se karakteristični pik na 178 °C, koji odgovara tački topljenja klopidogrel-hidrogensulfata, što ukazuje da je aktivna supstanca u čvrstim disperzijama iz kristalnog oblika prešla u amorfni, što su objavili i drugi autori (Patel i sar., 2020; Singh i sar., 2011). Prema navodima autora, (De Assis i sar., 2022), za nastanak amornog oblika su odgovorne međumolekulske interakcije između aktivne supstance i polimera.

Karakteristični pikovi kopovidona su u čvrstim disperzijama dodatno razvučeni i skoro da potpuno nestaju. Yani i sar. (2017) su pokazali sličan izgled termograma čvrstih disperzija sa jako razvučenim pikovima za kopovidon i bez pikova za aktivne supstance ibuprofen i fenofibrat, što su okarakterisali kao prelazak kristalog oblika aktivnih supstanci u amorfni.

Kod čvrstih disperzija sa makrogolom, pikovi koji odgovaraju polimeru su ostali na bliskim pozicijama kao kod čistog polimera, uz minimalna pomeranja pikova ka višim temperaturama. Biswal i sar. (2008) su objavili da je kod čvrstih disperzija gliklazida sa poloksamerom 6000 takođe došlo do malog pomeranja pikova (59,2 - 60,1 °C) u odnosu na čisti polimer (61,9 °C), ali ka nižim temperaturama. Febriyenti i sar. (2019) navode da su kod čvrstih disperzija gliklazida sa smešom makrogola 6000 i povidona K30, u različitim odnosima (1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5), pikovi koji odgovaraju tački topljenja makrogola 6000 ostali na bliskim pozicijama (60 - 63 °C) u odnosu na čisti polimer.

Na DSC termogramima čvrstih disperzija, nakon 12 meseci skladištenja uzoraka (slika 4.3), ne uočavaju se značajnije promene u pozicijama endotermnih pikova u odnosu na inicijalna ispitivanja. Izostanak karakterističnog pika za kristalni oblik klopido-grel-hidrogensulfata na temperaturi 178 °C, ukazuje da se fizičko stanje aktivne supstance nije promenilo tokom skladištenja, odnosno da je klopido-grel-hidrogensulfat nakon 12 meseci ostao u amorfnom obliku u svim ispitivanim čvrstim disperzijama.



Slika 4.3. DSC termogrami klopido-grel-hidrogensulfata, polimera i čvrstih disperzija sa: kopolidonom (C5 i C9) (a), makrogolom 6000 (M5 i M9) (b) i poloksamerom 407 (P5 i P9) (c), inicijalno i nakon 12 meseci

4.2.2. Infracrvena spektrofotometrija sa Furijeovom transformacijom

Na slici 4.4 su prikazani FT-IR spektri klopido-grel-hidrogensulfata, polimera i čvrstih disperzija.

FT-IR spektar klopido-grel-hidrogensulfata pokazuje karakteristične apsorpcione trake na sledećim talasnim brojevima: 3121 cm^{-1} odgovara aromatičnoj i alkinil -CH vibraciji, na 1750 cm^{-1} je traka jačeg intenziteta koja potiče od valencione vibracije -C=O grupe iz estarske funkcionalne grupe, na 1590 i 1437 cm^{-1} (tipične C=C vibracije iz aromatičnog prstena), na 1186 , 1150 i 1028 cm^{-1} su trake koje potiču od C-O, C-N i C-S veza, dok razvučena traka na 2505 cm^{-1} potiče od veza iz formirane soli. Na 770 , 721 i 697 cm^{-1} mogu se uočiti trake karakteristične za C-Cl i C-H deformacione vibracije iz aromatičnog prstena koje su karakteristične za mono- supstituisane aromatične prstenove i halogene. Slične podatke navode i drugi autori (Koradia i sar., 2004; Lestari i sar., 2010; Srivastava i sar., 2010) za polimorfni oblik II klopido-grel-hidrogensulfata. Traka na 1028 cm^{-1} je karakteristična za polimorfni oblik II klopido-grel-hidrogensulfata i ona se može koristiti za kvalitativno i kvantitativno određivanje polimornog oblika klopido-grel-hidrogensulfata u smeši, ili farmaceutskom obliku, dok je za polimorfni oblik I karakteristična traka na 841 cm^{-1} (Koradia i sar., 2004). Zbog prisustva karakterističnih traka za polimorfne oblike I i II klopido-grel-hidrogen-sulfata, FT-IR analiza se može koristiti za proveru transformacije jednog polimornog oblika u drugi (Koradia i sar., 2004).

FT-IR spektri izrađenih čvrstih disperzija pokazuju mala pomeranja pozicija karakterističnih apsorpcionih traka klopido-grel-hidrogensulfata u odnosu na aktivnu supstancu klopido-grel-hidrogensulfat. Uzrok pomeranja apsorpcionih traka su međumolekulske interakcije između funkcionalnih grupa aktivne supstance i polimera (Veronez i sar., 2014).

Za čvrste disperzije sa kopovidonom karakteristična apsorpciona traka klopido-grel-hidrogensulfata na 1750 cm^{-1} , koja potiče od -C=O grupe, se pomerila na 1730 cm^{-1} . Apsorpciona traka klopido-grel-hidrogensulfata na 1150 cm^{-1} se pomerila na 1166 cm^{-1} . Za uzorak C5 apsorpcione trake na 1186 cm^{-1} i 1028 cm^{-1} su se pomerile na 1181 cm^{-1} i 1034 cm^{-1} , dok su se za uzorak C9 ove trake pomerile na 1184 cm^{-1} i 1042 cm^{-1} . Uzrok ovih pomeranja su, verovatno, međumolekulske interakcije između klopido-grel-hidrogensulfata i kopovidona (Yani i sar., 2017). Drugi autori (Yani i sar., 2017) su sprovedi FT-IR analizu čvrstih disperzija ibuprofena sa kopovidonom i konstatovali da je došlo do malog pomeranja apsorpcione trake kopovidona, sa 1654 cm^{-1} na 1666 cm^{-1} , što istraživači objašnjavaju nastankom vodoničnih veza između karbonilne -C=O grupe kopovidona i -OH grupe ibuprofena (Yani i sar., 2017).

Za čvrste disperzije sa makrogolom 6000 i poloksamerom 407 na FT-IR spektrima (slika 4.4) su primećena mala pomeranja karakterističnih apsorpcionih traka klopido-grel-hidrogensulfata. Ove blage promene su verovatno uzrokovane nastankom vodoničnih veza između aktivne supstance i polimera.

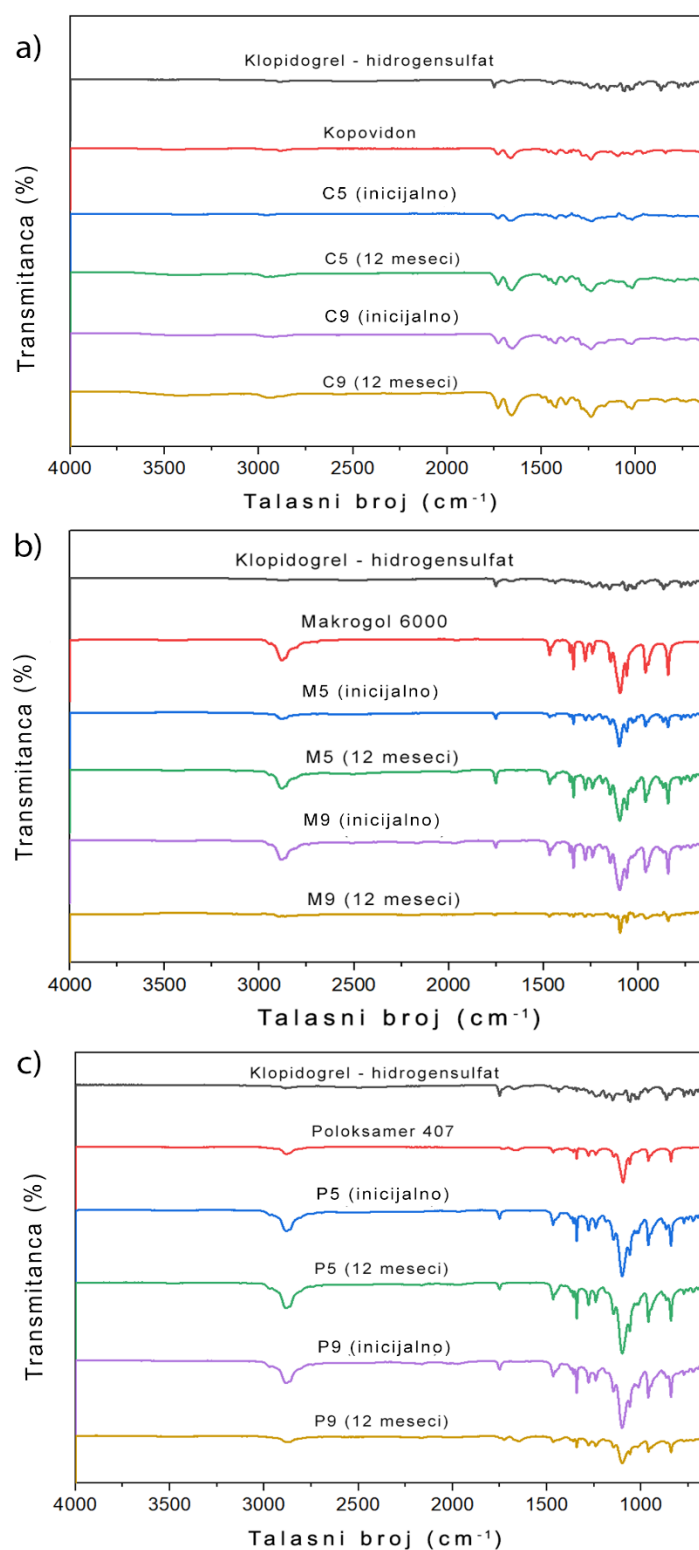
Xiong i sar. (2019) su pokazali da je na FT-IR spektrima čvrstih disperzija izrađenih sa makrogolom 6000 i aktivnom supstancom telaprevir, takođe došlo do malog pomeranja karakterističnih apsorpcionih traka. Autori navode da se traka sa 3327 cm^{-1} pomerila na 3323 cm^{-1} , traka sa 1664 cm^{-1} na 1667 cm^{-1} i traka sa 1519 cm^{-1} na 1525 cm^{-1} . Ovo malo pomeranje traka je verovatno posledica nastanka vodonične veze između hidroksilne grupe makrogola 6000 i karbonilne grupe telaprevira (Xiong i sar., 2019). Kod čvrstih disperzija gliklazida sa makrogolom 6000, kako su objavili Biswal i sar. (2008), došlo je do malog pomeranja karakterističnih apsorpcionih traka, što autori objašnjavaju nastankom vodoničnih veza između aktivne supstance i polimera. Febriyenti i sar. (2019) su mala pomeranja karakterističnih apsorpcionih traka gliklazida, na spektrima čvrstih disperzija sa makrogolom 6000 objasnili nastankom vodoničnih veza između aktivne supstance i polimera.

Kod čvrste disperzije taladafila sa poloksamerom 407 došlo je do blagih pomeranja apsorpcionih traka (na 1438 cm^{-1} , koja potiče od C-N grupe i na 3328 cm^{-1} , koja potiče od N-H grupe) prema višim frekvencijama, što je posledica nastanka vodoničnih veza između aktivne supstance i polimera (Vyas i sar., 2009).

Uočene vodonične veze, van der Walsove interakcije, jonske veze i hidrofobne interakcije, nastale između aktivne supstance i polimera u čvrstim disperzijama mogu biti uzrok prelaska klopido-grel-hidrogensulfata iz kristalnog oblika u amorfni i poboljšanja brzine rastvaranja navedene aktivne supstance (Alladi i Nalini, 2010; Kolašinac i sar., 2012).

Kako ni na jednom spektru čvrstih disperzija nisu uočene nove trake, može se zaključiti da nije došlo do hemijske reakcije između klopido-grel-hidrogensulfata i polimera (Febriyenti i sar., 2019; Vyas i sar., 2009).

Nakon 12 meseci skladištenja, FT-IR spektri ispitivanih čvrstih disperzija su gotovo nepromenjeni u odnosu na spektre dobijene nakon inicijalnog ispitivanja, sa minimalnim ili bez pomeranja pozicija karakterističnih traka klopido-grel-hidrogensulfata (slika 4.4). Na osnovu dobijenih rezultata se može zaključiti da su nastale međumolekulske interakcije bile dovoljno jake da stabilizuju amorfni oblik klopido-grel-hidrogensulfata u čvrstim disperzijama.



Slika 4.4. FT-IR spektri klopido-grel-hidrogensulfata, polimera i čvrstih disperzija sa: kopolidonom (C5 i C9) (a), makrogolom 6000 (M5 i M9) (b) i poloksamerom 407 (P5 i P9) (c), inicijalno i nakon 12 meseci

4.2.3. Difrakcija X-zraka na prašku

Difrakcija X-zraka na prašku je korišćena s ciljem provere fizičkog stanja aktivne supstance u odabranim čvrstim disperzijama. Slike 4.5 i 4.6 prikazuju difraktograme klopido-grel-hidrogensulfata, polimera i odabranih čvrstih disperzija.

Na difraktogramu aktivne supstance vidljivi su difrakcioni pikovi sa većim intenzitetom za sledeće uglove: $9,61^\circ$, $12,28^\circ$, $12,89^\circ$, $13,62^\circ$, $15,62^\circ$, $17,66^\circ$, $18,47^\circ$, $19,29^\circ$, $21,61^\circ$, $22,95^\circ$, $23,76^\circ$, $24,71^\circ$ 2θ , koji odgovaraju karakterističnim pikovima za polimorfni oblik II klopido-grel-hidrogensulfata (Lestari i sar., 2010). Postoje jasne razlike između difraktograma za polimorfni oblik I i II klopido-grel-hidrogensulfata. Za polimorfni oblik II je karakteristična regija od nekoliko pikova na 12° - 13° , dok je za polimorfni oblik I karakterističan pik visokog intenziteta na 21° , koji se ne preklapa ni sa jednim pikom polimorfnog oblika II (Yin i sar., 2016). Navedeni podaci ukazuju da je PXRD metoda pogodna za razlikovanje polimorfnih oblika I i II klopido-grel-hidrogensulfata.

Na difraktogramu kopovidona (slika 4.6a) se se ne uočavaju pikovi, jer je polimer amorfan.

Na difraktogramu makrogola 6000 (slika 4.6b) su vidljiva dva oštra pika: $19,2^\circ$ i $23,1^\circ$ 2θ , zbog kristalne strukture polimera, što je u saglasnosti sa literaturnim podacima (Adibkia i sar. 2019; Xiong i sar., 2019). Adibkia i sar. (2019) su u svom radu objavili da se na PXRD difraktometru makrogola 6000 uočavaju dva intenzivna pika, na $19,4^\circ$ i $23,3^\circ$ 2θ , što potvrđuje kristalni oblik polimera. Xiong i sar. (2019) su pokazali da su na difraktometru makrogola 6000 vidljivi karakteristični difrakcioni pikovi na $19,1^\circ$ i $23,2^\circ$.

Na difraktogramu poloksamera 407 (slika 4.6c), kao posledica semikristalne strukture polimera, ističu se difrakcioni pikovi velikog intenziteta na $19,3^\circ$ i $23,2^\circ$ 2θ , uz amorfne regije između različitih pikova bez oštrih vrhova. Slične podatke navode i drugi autori (Simonazzi i sar., 2018; Yusuf i sar., 2023). Simonazzi i sar. (2018) su na difraktogramima poloksamera 407 uočili karakteristične pikove visokog intenziteta na $19,2^\circ$ i $23,2^\circ$ 2θ . Yusuf i sar. (2023) su pokazali da se na difraktometrima poloksamera 407 vidi nekoliko oštrih karakterističnih pikova zbog kristalne strukture polimera, uz regije sa pikovima različitog oblika i slabijeg intenziteta, što je posledica semikristalne strukture polimera.

Difraktogrami čvrstih disperzija su značajno izmenjeni u odnosu na difraktogram klopido-grel-hidrogensulfata i više liče na difraktograme polimera. Takođe se može primetiti da bazne linije difraktograma svih čvrstih disperzija nisu ravne, kao što je slučaj kod difraktograma aktivne supstance, više prate oblik difraktograma polimera, što je karakteristično za amorfni oblik aktivne supstance.

Na difraktogramu čvrstih disperzija sa kopovidonom (C5 i C9) (slika 4.6a) se vide pojedinačni pikovi slabog intenziteta, dok karakteristični pikovi klopido-grel-hidrogensulfata izostaju, pomereni su ili značajno manjeg intenziteta. Na osnovu ovih podataka može se pretpostaviti da se klopido-grel-hidrogensulfat u čvrstim disperzijama sa kopovidonom nalazi u amorfnom obliku. Usled povećanja udela kopovidona i manje koncentracije aktivne supstance, kod uzorka C9 dolazi do smanjenja intenziteta pikova na difraktogramu, u poređenju sa uzorkom C5.

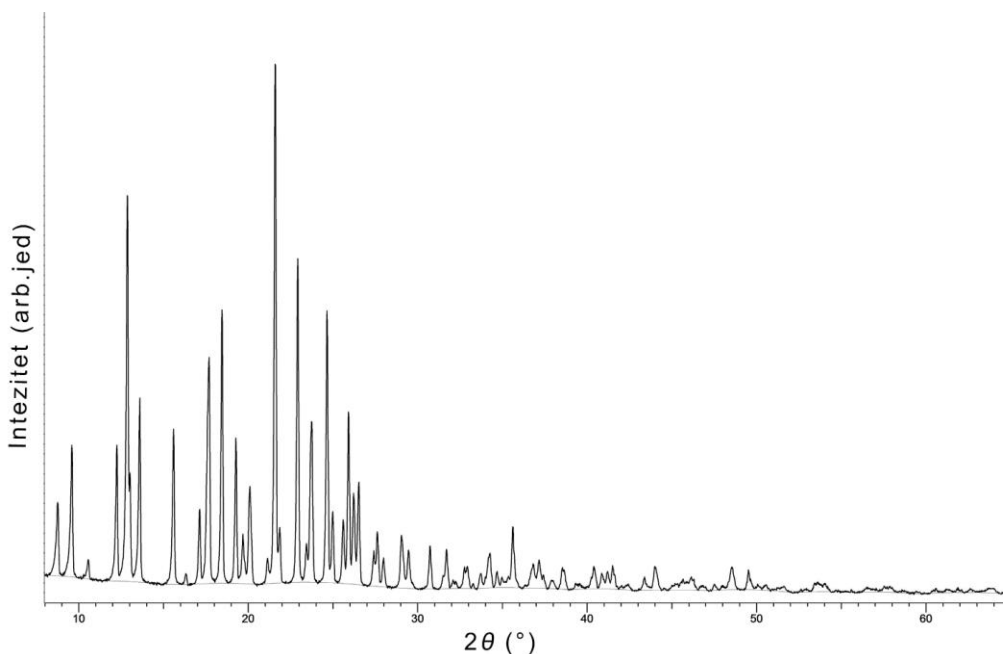
Na difraktogramu čvrstih disperzija sa makrogolom 6000 (M5 i M9) (slika 4.6b) su vidljivi karakteristični pikovi koji odgovaraju čistom polimeru, ali su nešto manjeg intenziteta, što može da ukazuje da je polimer zadržao kristalni oblik. Karakteristični pikovi klopido-grel-hidrogensulfata na difraktometrima čvrstih disperzija su potpuno nestali, što ukazuje da je aktivna supstanca prešla iz kristalnog oblika u amorfni oblik. Kod čvrstih disperzija mefenaminske kiseline i makrogola 6000 došlo je do smanjenja intenziteta i blagog pomeranja karakterističnih pikova polimera prema višim

uglovima, uz izostanak karakterističnih pikova za aktivnu supstancu. Na osnovu ovih rezultata se može zaključiti da je aktivna supstanca prešla iz kristalnog oblika u amorfni ili je dispergovana na molekulskom novou unutar matriksa polimera (Fülöp i sar., 2015). Za čvrste disperzije telaprevira sa makrogolom 6000, vidljiva su samo dva pika, koja odgovaraju makrogolu 6000, dok su karakteristični pikovi za aktivnu supstancu izostali, što ukazuje na amorfni oblik telaprevira u čvrstoj disperziji (Xiong i sar., 2019).

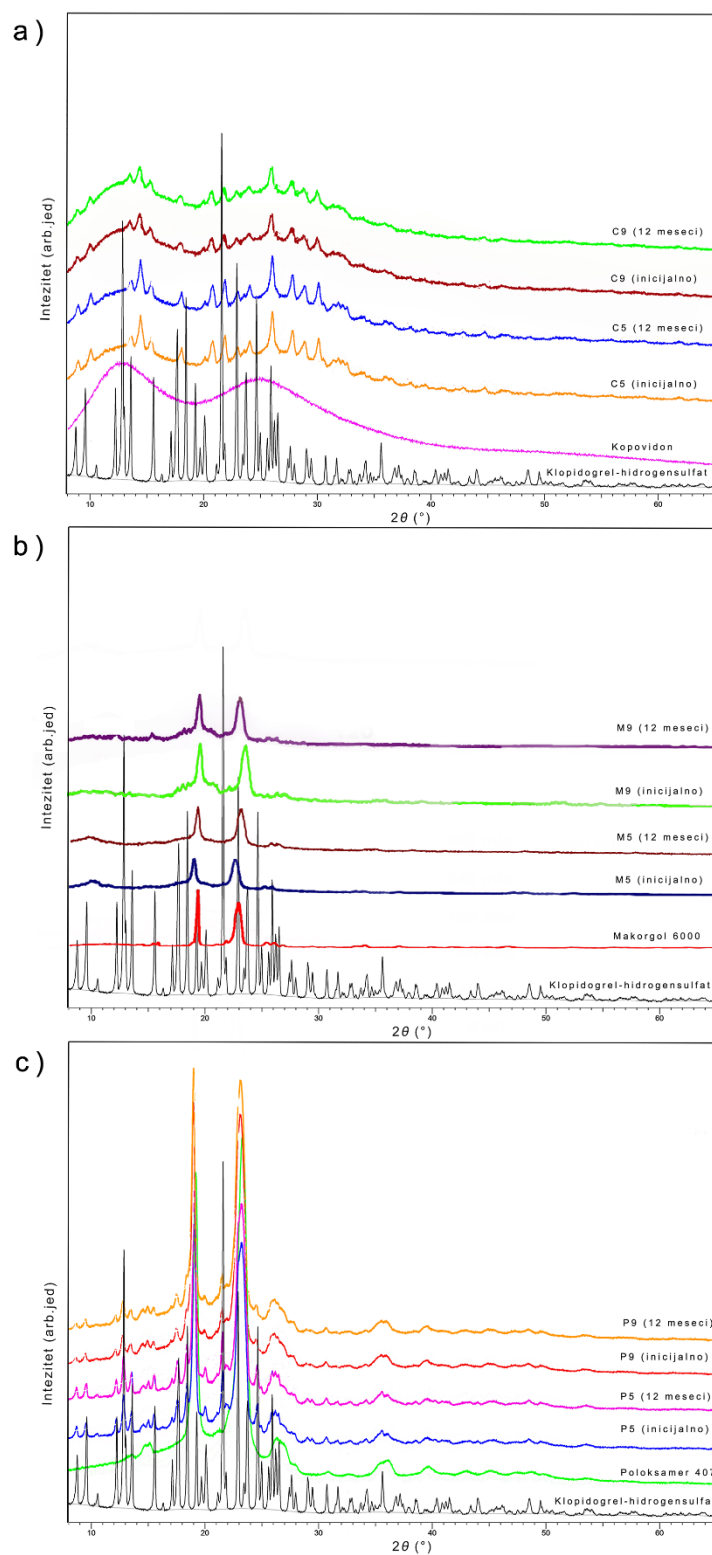
Za čvrste disperzije sa poloksamerom 407 (P5 i P9) (slika 4.6c) može se primetiti da su karakteristični pikovi za polimer ostali na istim pozicijama, što ukazuje da je polimer zadržao kristalnu strukturu. Karakteristični pikovi klopido-grel-hidrogensulfata u čvrstim disperzijama P5 i P9 se ne uočavaju, ili su jako slabog intenziteta, što može da ukazuje da je aktivna supstanca prešla iz kristalnog oblika u amorfni oblik, što je i opisano ranije u literaturi (Vyas i sar., 2009; Yusuf i sar., 2023). Na difraktogramima čvrstih disperzija taladafila sa poloksamerom 407, nedostaju karakteristični pikovi za taladafil (na pozicijama $14,56^\circ$ i $21,14^\circ 2\theta$), što autori objašnjavaju prelaskom kristalnog oblika aktivne supstance u amorfni (Vyas i sar., 2009).

Na osnovu inicijalnih difraktograma ispitivanih čvrstih disperzija, čini se da je samo u slučaju čvrstih disperzija sa makrogolom 6000 postignuta potpuna amorfizacija klopido-grel-hidrogensulfata. Kod ostalih uzoraka postoje pikovi slabijeg intenziteta, u poređenju sa aktivnom supstancom, što može da ukazuje da kod čvrstih disperzija sa kopovidonom i poloksamerom 407 nije došlo do potpune amorfizacije aktivne supstance.

Na PXRD spektrima čvrstih disperzija nakon 12 meseci skladištenja uzoraka, ne uočavaju se značajnije promene u pozicijama difrakcionih pikova, u odnosu na inicijalna ispitivanja. Na osnovu izostanka karakterističnih pikova za kristalni oblik klopido-grel-hidrogensulfata, može se zaključiti da se fizičko stanje aktivne supstance nije promenilo tokom skladištenja, odnosno da je klopido-grel-hidrogensulfat nakon 12 meseci ostao u amorfnom obliku u svim ispitivanim čvrstim disperzijama.



Slika 4.5. *Diifraktogram klopido-grel-hidrogensulfata*



Slika 4.6. Difraktogrami klopidoogrel-hidrogensulfata, polimera i čvrstih disperzija sa: kopovidonom (C5 i C9) (a), makrogolom 6000 (M5 i M9) (b) i poloksamerom 407 (P5 i P9) (c) inicijalno i nakon 12 meseci

4.2.4. Određivanje sadržaja klopidoigrela

Sadržaj klopidoigrela u čvrstim disperzijama nakon izrade bio je u opsegu 96,13% do 99,93% (tabela 4.3). Rezultati ispitivanja sadržaja klopidoigrela su u skladu sa zahtevima smernice 3AQ11a, prema kojoj je dozvoljeno odstupanje od deklarisanog sadržaja $\pm 5\%$ (3AQ11a, 1992).

Tabela 4.3. Sadržaj klopidoigrela u čvrstim disperzijama (inicijalno i nakon 12 meseci)

Uzorak	Sadržaj klopidoigrela (%)	
	Inicijalno	12 meseci
C5	96,77	95,82
C9	96,35	95,98
M5	98,99	98,51
M9	96,13	97,41
P5	99,93	99,86
P9	99,91	99,38

Sadržaj klopidoigrela u čvrstim disperzijama nakon 12 meseci skladištenja bio je sličan sadržaju aktivne supstance u početnim ispitivanjima (od 95,98% do 99,86%; tabela 4.3). I u ovom slučaju, odstupanje od deklarisanog sadržaja je u okviru $\pm 5\%$, što odgovara zahtevima smernice (3AQ11a, 1992).

4.2.5. *In vitro* ispitivanje brzine rastvaranja klopidoigrel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija nakon studija stabilnosti

Rezultati *in vitro* ispitivanja brzine rastvaranja klopidoigrel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija, nakon 12 meseci skladištenja uzoraka pod kontrolisanim uslovima, prikazani su u tabeli 4.4 i na slici 4.7. Rezultati inicijalnog *in vitro* ispitivanja brzine rastvaranja su prikazani u tabeli 4.2 i na slici 4.2.

Kod čvrstih disperzija sa kopovidonom (C5 i C9) količina rastvorenog klopidoigrel-hidrogensulfata nakon 12 meseci (78,16% i 89,21% posle 60 minuta) se nije značajnije promenila u odnosu na inicijalne vrednosti (81,01% i 90,44% posle 60 minuta).

Čvrste disperzije sa poloksamerom 407 (P5 i P9) su takođe imale slične vrednosti količine rastvorene aktivne supstance nakon 12 meseci (88,71% i 95,50%), u poređenju sa inicijalnim vrednostima (89,21% i 96,38%).

U slučaju čvrstih disperzija sa makrogolom 6000 (M5 i M9), nakon 12 meseci došlo je do velikog smanjenja količine rastvorene aktivne supstance. U slučaju uzorka M5, količina rastvorenog klopidoigrel-hidrogensulfata se od početnih 94,02% smanjila na 65,1%, a u slučaju uzorka M9 od početnih 92,01% na 49,62%.

Tabela 4.4. Profili *in vitro* ispitivanja brzine rastvaranja klopidogrel-hidrogensulfata nakon 12 meseci

Uzorak	Rastvoreni CHS % ($\pm$ S.D.)			
	15 min	30 min	45 min	60 min
C5	63,44 ($\pm 0,77$)	72,07 ($\pm 3,24$)	76,11 ($\pm 2,95$)	78,16 ($\pm 1,49$)
C9	76,25 ($\pm 0,85$)	82,99 ($\pm 0,86$)	89,12 ($\pm 1,09$)	89,21 ($\pm 0,42$)
M5	42,83 ($\pm 1,89$)	49,59 ($\pm 3,65$)	57,49 ($\pm 4,90$)	65,13 ($\pm 2,00$)
M9	37,84 ($\pm 0,25$)	41,17 ($\pm 1,00$)	43,95 ($\pm 5,65$)	49,62 ($\pm 5,68$)
P5	73,53 ($\pm 2,06$)	83,53 ($\pm 3,5$)	86,91 ($\pm 1,22$)	88,71 ($\pm 0,55$)
P9	71,48 ($\pm 2,52$)	84,60 ($\pm 2,33$)	92,00 ($\pm 0,88$)	95,50 ($\pm 0,51$)

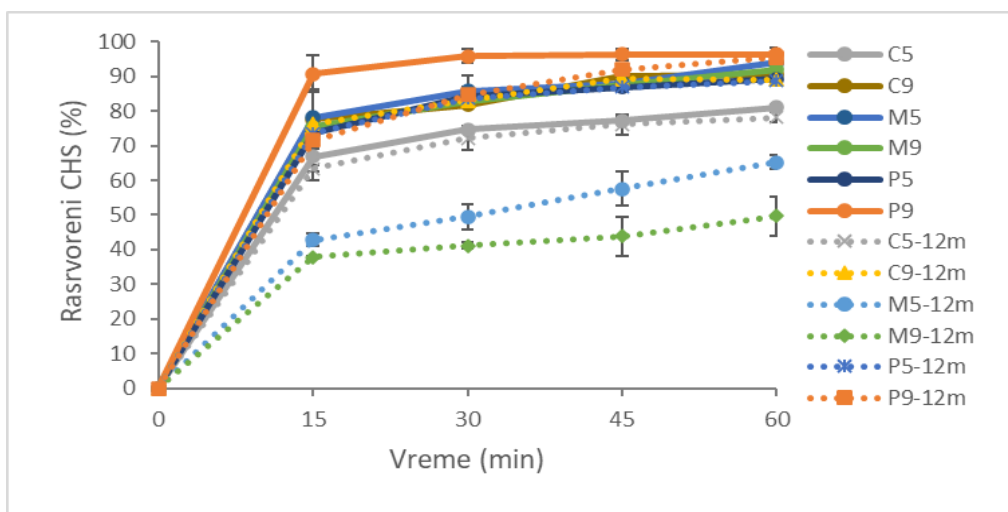
S.D. – standardna devijacija

Rezultati DSC, FT-IR i PXRD merenja, kao i određivanja sadržaja aktivne supstance u čvrstim disperzijama sa makrogolom 6000 (M5 i M9), sprovedeni inicijalno i nakon 12 meseci skladištenja, ukazivali su na njihovu prihvatljivu stabilnost. Međutim, rezultati *in vitro* oslobađanja klopidogrel-hidrogensulfata iz ovih uzoraka su pokazali da je količina oslobođene aktivne supstance (nakon 60 minuta) bitno manja u odnosu na inicijalne vrednosti, pri čemu je ovaj fenomen bio više izražen kod uzorka sa većim udelom polimera. Ovakvi rezultati ukazuju na neprihvatljivu stabilnost, odnosno na neprihvatljiv kvalitet čvrstih disperzija sa makrogolom 6000, pri odnosima aktivna supstanca/polimer 1:5 (M5) i 1:9 (M9). Takođe, dobijeni rezultati ukazuju na veliki značaj *in vitro* ispitivanja oslobađanja aktivne supstance iz čvrstih disperzija u funkciji starenja.

Smatra se da stabilnost čvrstih disperzija sa makrogolom 6000 kao polimerom, zavisi od fizičkog stanja aktivne supstance i polimera u čvrstim disperzijama. Nair i sar. (2020) navode da su najstabilnije čvrste disperzije sa makrogolom 6000 one kod kojih je i polimer i aktivna supstanca u kristalnom obliku. Čvrste disperzije sa makrogolom 6000, kod kojih je aktivna supstanca i/ili polimer u amorfnom obliku, imaju lošiju stabilnost, što može da dovede do razdvajanja faza, odnosno do delimične ili potpune kristalizacije supstance ili polimera (Obaidat i sar., 2017; Tran i sar., 2011). Rezultati ovih istraživanja su pokazali da se u čvrstim disperzijama sa makrogolom 6000 (M5 i M9), aktivna supstanca nalazila u amorfnom, dok je polimer bio u kristalnom stanju. Kako je navedeno, makrogol 6000 zbog svoje kristalne strukture u čvrstoj disperziji, može dovesti do rekristalizacije aktivne supstance. DSC, FT-IR i PXRD analiza nisu ukazivale da se to desilo. Verovatni razlog za ovakvo ponašanje ispitivanih čvrstih disperzija sa makrogolom 6000 su promene u strukturi polimera, koje se dešavaju u toku skladištenja, što navode i drugi autori (Damian i sar. 2002; Obaidat i sar., 2017; Tran i sar., 2011).

U istraživanju Damian i sar. (2002), takođe je došlo do smanjenja brzine rastvaranja aktivne supstance (antivirusni lek UC-781) iz čvrstih disperzija sa makrogolom 6000, nakon 12 meseci. Koristeći DSC i PXRD analizu, inicijalno i nakon 12 meseci, autori su pokazali da nije došlo do rekristalizacije aktivne supstance tokom skladištenja. Zaključili su da je razlog smanjenja brzine rastvaranja aktivne supstance upravo promena u kristalnoj strukturi polimera, koja se desila tokom skladištenja. Higroskopnost makrogola 6000, koju navode Bley i sar. (2010), takođe može biti razlog za smanjene stabilnosti čvrstih disperzija sa makrogolom 6000. U prilog navedenom idu i rezultati istraživanja Antosik-Rogóž i sar. (2020). Navedeni autori su ispitivali stabilnost tableta, koje sadrže čvrste disperzije bikalutamida

sa makrogolom 6000, u trajanju od 6 meseci, pod uslovima od 25 °C/60% RH i 40 °C/75% RH. Nakon 6 meseci došlo je do smanjenja brzine rastvaranja aktivne supstance iz tableta, bez obzira na uslove čuvanja. U poređenju sa inicijalnim rezultatima (rastvorilo se 80,16% bikalutamida, nakon 60 minuta), manja promena se desila kod uzoraka čuvanih na 25 °C/60% RH (rastvoreno 50,82% nakon 60 minuta), u poređenju sa uslovima čuvanja na 40 °C/75% RH (rastvoreno 32,01%, nakon 60 minuta). Slično kao i kod prethodnih studija, PXRD metodom nije pokazano da dolazi do rekristalizacije aktivne supstance, nakon 6 meseci skladištenja.



Slika 4.7. Komparativni profili brzine rastvaranja klopidogetrel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija (inicijalno i nakon 12 meseci)

Matematičko modelovanje kinetike i mehanizama oslobađanja klopidogetrel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija

Da bi se procenio mehanizam, koji najbolje opisuje oslobađanje klopidogetrel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija (inicijalno i nakon 12 meseci) korišćeni su sledeći modeli: kinetika nultog reda, kinetika I reda, *Korsmeyer-Peppas*-ov model, *Higuchi*-jev model i *Hixson-Crowell*-ov model.

Inicijalno, sve čvrste disperzije su imale najveći koeficijent determinacije R^2 za *Korsmeyer-Peppas*-ov model (tabela 4.5). S obzirom da mehanizam oslobađanja supstance za ovaj model zavisi od vrednosti parametra n , koji je u slučaju ispitivanih čvrstih disperzija bio veći od 0,89, može se smatrati da se radi o „super slučaju II transporta“, kod kojeg je dominantan mehanizam oslobađanja ubrzano bubrenje i erozija polimera. Ovaj model navode i drugi autori, za opisivanje oslobađanja različitih aktivnih supstanci iz čvrstih disperzija (Altaani i sar., 2020; Biswal i sar., 2008; Krishnamoorthy i sar., 2015).

Za uzorke čvrstih disperzija sa kopividonom i poloksamerom 407, nakon 12 meseci skladištenja, *Korsmeyer-Peppas*-ov model najbolje opisuje mehanizam oslobađanja. Međutim, za uzorke izrađene sa makrogolom 6000, nakon 12 meseci skladištenja, dobijene su skoro iste vrednosti R^2 za dva modela, *Higuchi*-jev i *Korsmeyer-Peppas*-ov model (tabela 4.5). *Higuchi*-jev model opisuje mehanizam oslobađanja aktivne supstance baziran na principima *Fick*-ove difuzije, što znači da se aktivna supstanca oslobađa kontrolisano kroz pore nastale u polimeru. Promene u kinetici i mehanizmu oslobađanja klopidogetrel-hidrogensulfata, koje su uočene kod čvrstih disperzija sa makrogolom 6000, nakon jednogodišnjeg skladištenja, verovatno se mogu pripisati promenama polimera, koje se dešavaju u toku skladištenja.

Tabela 4.5. Kinetika oslobađanja klopidogetrel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija (inicijalno i nakon 12 meseci)

Uzorak	Kinetika nultog reda		Kinetika I reda		Korsmeyer-Peppas model				Higuchi model		Hixson-Crowell model	
	R ²		R ²		R ²		n		R ²		R ²	
	Inicijalno	12 meseci	Inicijalno	12 meseci	Inicijalno	12 meseci	Inicijalno	12 meseci	Inicijalno	12 meseci	Inicijalno	12 meseci
C5	0,6464	0,6602	0,7858	0,7858	0,9287	0,9840	1,8268	1,6257	0,8851	0,8952	0,7348	0,7434
C9	0,6338	0,6291	0,8342	0,8111	0,9863	0,9594	1,8867	1,7410	0,8751	0,8737	0,7619	0,7447
M5	0,6402	0,8102	0,8805	0,9094	0,9673	0,9713	1,8928	1,3559	0,8794	0,9714	0,7956	0,8787
M9	0,6573	0,7097	0,8869	0,7720	0,9970	0,9163	1,8761	1,2724	0,8915	0,9193	0,8057	0,7507
P5	0,6430	0,6419	0,8287	0,8240	0,9576	0,9628	1,8725	1,7098	0,8840	0,8830	0,7609	0,7575
P9	0,5450	0,7168	0,7126	0,9714	0,8433	0,9895	1,9614	1,6071	0,8113	0,9300	0,6397	0,8988

4.3. III faza eksperimentalnog rada

Kako je ranije navedeno, čvrste disperzije nisu finalni farmaceutski oblici lekova, ali se one koriste za proizvodnju čvrstih farmaceutskih oblika lekova, najčešće tableta i kapsula.

Formulisanje čvrstih disperzija u finalni farmaceutski oblik zavisi od brojnih osobina kao što su, na primer: veličina i raspodela veličina čestica, stvarna, nasipna i tapkana gustina, poroznost, protočnost, kompresibilnost, reoliške karakteristike, sadržaj vlage i drugo. Radi procene mogućnosti formulisanja čvrstih disperzija u finalni farmaceutski oblik, dalja karakterizacija i određivanje navedenih osobina sprovedena je za uzorke C5, C9, P5 i P9, a na osnovu rezultata prethodnih ispitivanja (I i II faza eksperimentalnog rada).

Karakterizacija čvrstih disperzija

4.3.1. Određivanje veličine i raspodele veličina čestica

4.3.1.1. Sitana analiza

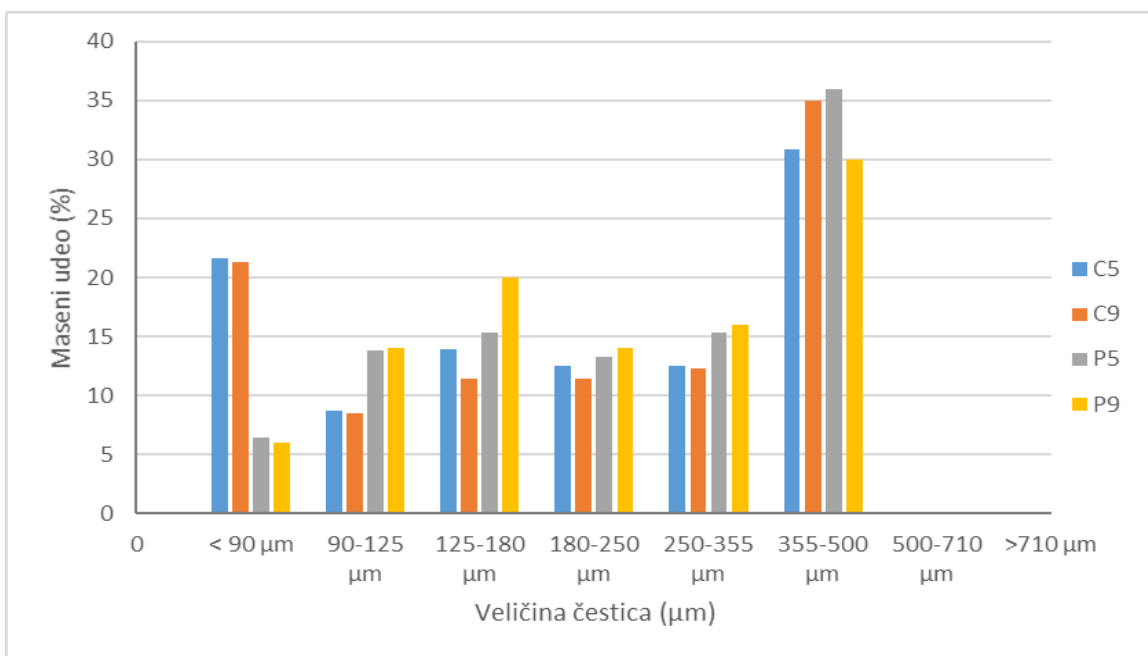
Rezultati raspodele veličina čestica čvrstih disperzija C5, C9, P5 i P9, dobijeni sitanom analizom su prikazani na slici 4.8.

Sve ispitivane čvrste disperzije su pokazale široku raspodelu veličina čestica. Za sve uzorke najzastupljenija je frakcija veličine čestica opsega od 355 do 500 μm , koja čini oko 30% mase svakog uzorka. Sve čestice su manje od 500 μm , što je očekivano, s obzirom da su uzorci čvrstih disperzija nakon izrade prosejivani kroz sito veličine otvora 500 μm .

Čvrste disperzije sa kopovidonom (C5 i C9) su imale više od 20% čestica manjih od 90 μm , što se može objasniti krtošću ovih uzoraka, koji su verovatno krunili tokom usitnjavanja, kao i tokom izvođenja ovog testa.

Za razliku od toga, uzorci sa poloksamerom 407 (P5 i P9) su imali mali udeo od oko 7% sitnih čestica (manjih od 90 μm), što ukazuje na njihovu čvršću strukturu i manje krunjenje tokom prosejavanja.

Udeo polimera u čvrstim disperzijama nije imao veliki uticaj na raspodelu veličina čestica. Zheng i sar. (2018) su pokazali da udeo kopovidona (10%, 20%, 30%, 40% i 50%) nije imao veći uticaj na raspodelu veličina čestica čvrstih disperzija sa grizeofulvinom. Takođe su pokazali da su čvrste disperzije imale široku raspodelu veličina čestica, koja se kretala u opsegu od 45-355 μm . Trasi i sar. (2019) su prikazali rezultate sitane analize čvrstih disperzija sa dve aktivne supstance lopinavir i ritonavir sa kopovidonom koje su imale široku raspodelu veličina čestica, gde je 80% čestica bilo udela 150-595 μm , a samo 1,5% čestica manjih od 45 μm .



Slika 4.8. Raspodela veličina čestica čvrstih disperzija C5, C9, P5 i P9 određena sitanom analizom

4.3.1.2. Laserska difrakcija

Za opisivanje veličine i raspodele veličina čestica metodom laserske difrakcije su korišćeni sledeći parametri: D_{10} , D_{50} , D_{90} , $D_{4,3}$ (srednji zapreminski prečnik) i *span* vrednost. Rezultati su prikazani u tabeli 4.6 i na slici 4.9 (a-d).

Dobijeni rezultati za D_{10} , D_{50} , D_{90} i $D_{4,3}$ pokazuju da sve ispitivane čvrste disperzije imaju približno jednaku veličinu čestica. U uzorcima sa kopovidonom, najzastupljenije su čestice (D_{90}) čija je veličina do oko 370 μm, a 10% je sitnih čestica, veličine do oko 15 μm (D_{10}). Čvrste disperzije sa poloksamerom 407 imaju 90% čestica manjih od 360 μm, a 10% čestica ima prečnik manji od 20 μm. Srednji zapreminski prečnik čestica $D_{4,3}$ je veoma sličan za sve ispitivane čvrste disperzije (101,40 – 109,33 μm) (tabela 4.6).

Span vrednost se koristi za opisivanje raspodele veličina čestica. Manja *span* vrednost (vrednost bliža 0) ukazuje na užu i ujednačeniju raspodelu veličina čestica, dok veća *span* vrednost ukazuje na širu raspodelu veličina čestica (Dhiman i sar., 2022). *Span* vrednost za sve ispitivane čvrste disperzije je slična (3,08-3,52) i ukazuje na širu raspodelu veličina čestica. Širu raspodelu veličina čestica je pokazala i sitana analiza.

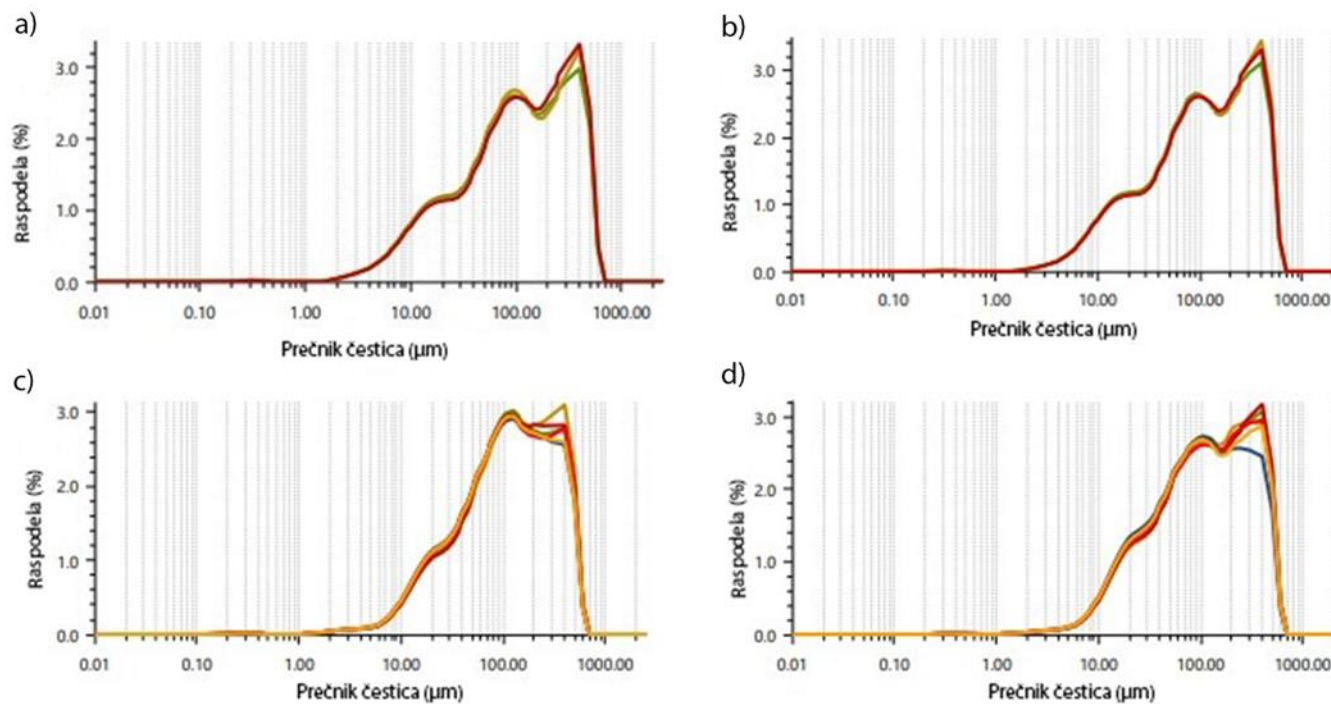
Udeo polimera u čvrstim disperzijama nije imao veći uticaj na raspodelu veličina čestica, što se vidi i sa slike 4.9, gde su grafici čvrstih disperzija sa istim polimerom veoma slični. Grafici raspodele veličina čestica ispitivanih uzoraka ukazuju na bimodalnu raspodelu, što sugerise prisustvo dve dominantne frakcije, jedna u opsegu 10-100 μm, koja je nešto slabijeg intenziteta i druga iznad 100 μm koja je jasnije izražena. Maksimalne vrednosti raspodele veličina čestica su slične za sve uzorke. Ovo je potpuno očekivano imajući u vidu da su nakon dobijanja disperzije podvrgnute manuelnom procesu usitnjavanja i prosejavanja. Antosik-Rogóz i sar. (2020) su takođe pokazali da čvrste disperzije

bikalutamida sa makrogolom 6000 i poloksamerom 407 imaju široku raspodelu veličina čestica, sa *span* vrednošću oko 2.

Sitnije čestice, manje od 100 μm , zbog velike površine koju imaju mogu biti podložne silama kohezije, što bi se moglo negativno odraziti na protočnost čvrstih disperzija, dok su veće čestice izložene delovanju sile gravitacije i može doći do raslojavanja uzorka (Divya i Ganesh, 2019; Shah i sar., 2023). Čestice manje od 200 μm , kojih ima najviše u svim uzorcima čvrstih disperzija, manje su izložene silama kohezije i mogu se smatrati dobro protočnim (Aisford i Saunders, 2012; Divya i Ganesh, 2019). S obzirom na širu raspodelu veličina čestica, a zbog mogućeg uticaja različitih sila na čestice različitih veličina, prilikom obrade čvrstih disperzija u finalni farmaceutski oblik, potrebno je optimizirati mešanje da ne bi došlo do razdvajanja faza, problema u proizvodnji, kao i dobijanja finalnog farmaceutskog oblika leka neodgovarajućeg kvaliteta (Kaialy, 2016; Mateo-Ortiz i sar., 2014). Iako se prilikom proizvodnje čvrstih farmaceutskih oblika, kao što su tablete, teži ka užoj raspodeli veličina čestica, manji udeo sitnih čestica, koji je i prisutan u ispitivanim čvrstim disperzijama, poželjan je kako bi popunio prostor između većih čestica i obezbedila bolja kompresibilnost (Shahidulla, 2022).

Tabela 4.6. Vrednosti D_{10} , D_{50} , D_{90} , $D_{4,3}$ i *span*-a ispitivanih čvrstih disperzija, određeni metodom laserske difrakcije

Uzorak	$D_{10} \pm \text{S.D.}$ (μm)	$D_{50} \pm \text{S.D.}$ (μm)	$D_{90} \pm \text{S.D.}$ (μm)	$D_{4,3} \pm \text{S.D.}$ (μm)	<i>Span</i> vrednost $\pm$ S.D. (μm)
C5	$13,70 \pm 0,316$	$101,40 \pm 4,601$	$368,85 \pm 5,660$	$164,45 \pm 4,682$	$3,52 \pm 0,116$
C9	$14,60 \pm 0,222$	$105,23 \pm 3,427$	$371,72 \pm 4,983$	$168,23 \pm 3,845$	$3,40 \pm 0,071$
P5	$19,90 \pm 0,749$	$109,33 \pm 4,576$	$356,62 \pm 7,043$	$164,18 \pm 5,220$	$3,08 \pm 0,076$
P9	$18,81 \pm 0,635$	$104,29 \pm 5,282$	$359,71 \pm 9,391$	$163,34 \pm 6,390$	$3,27 \pm 0,099$



Slika 4.9. Raspodjela veličina čestica čvrstih disperzija određena metodom laserske difrakcije: C5 (a) C9 (b) P5 (c) P9 (d)

4.3.2. Određivanje stvarne gustine

Rezultati određivanja stvarne gustine čestica aktivne supstance, polimera i čvrstih disperzija su prikazani u tabeli 4.7. Posmatrajući polazne supstance, stvarna gustina je najveća za klopido-grel-hidrogensulfat ($1,459 \text{ g/cm}^3$), zatim za kopovidon ($1,247 \text{ g/cm}^3$), dok je najmanju stvarnu gustinu imao poloksamer 407 ($1,006 \text{ g/cm}^3$). Dobijene vrednosti su u skladu sa literaturnim podacima, koje su za klopido-grel-hidrogensulfat $1,472 \text{ g/cm}^3$ (Zupančič i sar., 2010), za kopovidon $1,160 \text{ g/cm}^3$ (Verma i Rudraraju, 2014) i za poloksamer 407 $1,060 \text{ g/cm}^3$ (BASF, 2020).

Vrednosti stvarne gustine izrađenih čvrstih disperzija su bile bliske, u opsegu $1,220$ - $1,247 \text{ g/cm}^3$ (tabela 4.7). Stvarna gustina čvrstih disperzija je manja u poređenju sa klopido-grel-hidrogensulfatom. Čvrste disperzije sa kopovidonom imaju skoro istu stvarnu gustinu kao polimer, dok čvrste disperzije sa poloksamerom 407 imaju veću stvarnu gustinu od polimera. Što je veća stvarna gustina, uzorak je kompaktniji, odnosno ima manje međučestičnog prostora (Ahmed i sar., 2022). Iako je udeo polimera u ispitivanim čvrstim disperzijama bitno različit (1:5 i 1:9), on nije uticao na stvarnu gustinu čvrstih disperzija.

4.3.3. Određivanje nasipne i tapkane gustine

Vrednosti nasipne i tapkane gustine klopido-grel-hidrogensulfata, polimera i čvrstih disperzija su prikazane u tabeli 4.7.

Vrednosti nasipne i tapkane gustine za uzorke sa kopovidonom (C5 i C9) su veće od pojedinačnih vrednosti za kopovidon i klopido-grel-hidrogensulfat (tabela 4.7). Povećanje udela kopovidona je dovelo do određenog povećanja vrednosti nasipne i tapkane gustine. Verovatno je na vrednost nasipne gustine čvrstih disperzija sa kopovidonom uticala i nasipna gustina klopido-grel-hidrogensulfata ($0,532 \text{ g/cm}^3$) čija vrednost je mnogo bliža vrednostima čvrstih disperzija u poređenju sa nasipnom gustinom za kopovidon ($0,348 \text{ g/cm}^3$). Čvrste disperzije sa kopovidonom su imale nešto veće vrednosti nasipne i tapkane gustine, u poređenju sa čvrstim disperzijama sa poloksamerom 407 (tabela 4.7). Ovo može da ukazuju na to da su čestice polimera i aktivne supstance unutar čvrstih disperzija sa kopovidonom međusobno bolje povezane omogućavajući bolje „pakovanje“ čestica i veću nasipnu gustinu. Iako je nasipna gustina poloksamera 407 ($0,577 \text{ g/cm}^3$) veća od nasipne gustine aktivne supstance i kopovidona, povećanje udela poloksamera 407 u čvrstim disperzijama nije imalo uticaj na nasipnu i tapkanu gustinu čvrstih disperzija.

Što je razlika između nasipne i tapkane gustine uzoraka čvrstih disperzija manja, to su slabije međučestične interakcije unutar uzorka. Čvrste disperzije sa manjom razlikom između nasipne i tapkane gustine će imati bolju protočnost u odnosu na one kod kojih je razlika između nasipne i tapkane gustine veća, ali verovatno lošiju kompresibilnost (Balaci i sar., 2021; Fita i sar., 2022).

4.3.4. Određivanje protočnosti

Protočnost je jedan od kritičnih parametara u farmaceutskoj industriji, koji utiče na sve faze procesa proizvodnje čvrstih farmaceutskih oblika. Na protočnost utiče više faktora kao što su: nasipna gustina, veličina, oblik i površina čestica, sadržaj vlage i kohezivnost čestica (Shah i sar., 2023). Nije neuobičajeno da čvrste disperzije imaju lošiju protočnost (Barghi i sar., 2023; Ekdahl i sar., 2019; Schönfeld i sar., 2021). Najčešća rešenja za poboljšanje protočnosti čvrstih disperzija su podešavanja parametara u procesu proizvodnje, promena postupka proizvodnje (npr. suva granulacija ili ekstruzija topljenjem) i dodatak ekscipijensa koji poboljšavaju protočnost (Szabó i sar., 2019; Ekdahl i sar., 2019). U ovim istraživanjima protočnost je određena posredno, izračunavanjem *Carr*-ovog indeksa i *Hausner*-ovog odnosa. Vrednosti *Hausner*-ov odnosa i *Carr*-ov indeks (izračunate iz vrednosti nasipne i tapkane gustine), kao i protočnost (opisana na osnovu vrednosti *Hausner*-ov odnosa i *Carr*-ov indeksa) ispitivanih uzoraka su date u tabeli 4.7.

Iz tabele 4.7 se može videti da je protočnost čvrstih disperzija zavisila od vrste i udela polimera. Čvrste disperzije imaju lošiju protočnost u poređenju sa odgovarajućim polimerima, ali bolju protočnost u poređenju sa klopidogetrel-hidrogensulfatom. Jedino uzorak C5 ima istu protočnost kao i aktivna supstanca. Najbolju protočnost je imao uzorak P5 izrađen sa nižim udelom poloksamera 407. Bilo bi očekivano da se s povećanjem udela poloksamera 407, povećava i protočnost čvrste disperzije, međutim, uzorak sa većim udelom ovog polimera (P9) je imao lošiju protočnost u poređenju sa samim polimerom i uzorkom P5.

Veličina čestica može veoma da utiče na protočnost čvrstih disperzija. Sa povećanjem veličine čestica dolazi do smanjenja sila kohezije između čestica, a i samim tim i do povećanja protočnosti (Shi i sar., 2018). U ovim istraživanjima, najlošiju protočnost je imao uzorak C5, a najbolju uzorak P5. Verovatno je da je i u ovom slučaju veličina čestica imala uticaja na protočnost uzoraka, jer uzorak C5 ima sitnije čestice ($D_{50} = 101,40 \mu\text{m}$), u poređenju sa uzorkom P5 ($D_{50} = 109,33 \mu\text{m}$).

Na bolju protočnost uzoraka sa poloksamerom 407 bi mogla da utiče i njegova površinska aktivnost (Hu i sar., 2023).

Tabela 4.7. Rezultati određivanja stvarne, nasipne i tapkane gustine, *Hausner*-ovog odnosa, *Carr*-ovog indeksa, protočnosti, poroziteta i sadržaja vlage klopido-grel-hidrogensulfata, polimera i odabranih čvrstih disperzija

Uzorak	Stvarna gustina (g/cm ³)	Nasipna gustina (g/cm ³)	Tapkana gustina (g/cm ³)	<i>Hausner</i> -ov odnos	<i>Carr</i> -ov indeks (%)	Protočnost	Porozitet (%)	Sadržaj vlage (%)
Klopido-grel- hidrogensulfat	1,459	0,532	0,676	1,271	21,30	Prihvatljiva	0,64	0,17
Kopovidon	1,247	0,348	0,405	1,164	14,07	Dobra	0,72	1,57
Poloksamer 407	1,006	0,577	0,625	1,083	7,68	Odlična	0,57	0,27
C5	1,247	0,595	0,769	1,292	22,63	Prihvatljiva	0,52	2,86
C9	1,235	0,641	0,781	1,218	17,93	Prosečna	0,51	1,44
P5	1,240	0,532	0,625	1,175	14,88	Dobra	0,57	0,40
P9	1,220	0,521	0,641	1,230	18,72	Prosečna	0,43	0,43

4.3.5. Određivanje poroziteta

Vrednosti poroziteta aktivne supstance, polimera i čvrstih disperzija, izračunate iz nasipne i stvarne gustine, su prikazane u tabeli 4.7.

Čvrste disperzije sa kopovidonom su imale gotovo identične vrednosti poroziteta (0,52% i 0,51%), što ukazuje da udeo polimera, u ovom slučaju nema uticaja na porozitet uzoraka.

Najveći porozitet je imala čvrsta disperzija P5, čija je vrednost poroziteta (0,57%) jednaka vrednosti poroziteta poloksamera 407. Očekivano bi bilo da s povećanjem udela polimera, kod uzorka P9 dolazi do povećanja poroziteta. Međutim, dobijeni rezultati ukazuju da povećanje udela polimera poloksamera 407 u čvrstim disperzijama dovodi do smanjenja poroziteta. Može se pretpostaviti da, u ovom slučaju, veći udeo polimera doprinosi uspostavljanju jačih veza između čestica, što uzrokuje bolje „pakovanje“ čestica i niži porozitet čvrste disperzije P9.

4.3.6. Određivanje sadržaja vlage

Prisustvo vlage u čvrstim disperzijama može uticati na stabilnost (fizičku, hemijsku i mikrobiološku) i aktivne supstance i finalnog farmaceutskog oblika. Takođe, prisustvo vlage može da utiče na protočnost i kompresibilnost čvrstih disperzija (Divya i Ganesh, 2019, Shah i sar., 2023). Visok sadržaj vlage u čvrstim disperzijama može da dovede do agregacije čestica i njihovog lepljenja za površine uređaja u toku proizvodnje (Kauppinen i sar., 2018).

Sadržaj vlage u aktivnoj supstanci, polimerima i čvrstim disperzijama prikazan je u tabeli 4.7.

Genearlno, sadržaj vlage u ispitivanim uzorcima nije visok. Sadržaj vlage u aktivnoj supstanci (0,17%) i poloksameru 407 (0,27%) je veoma nizak. Nešto viši sadržaj vlage u kopivodonu (1,57%) svakako utiče na sadržaj vlage u čvrstim dispezijama sa ovim polimerom, koji je bio 2,86% za C5 i 1,44% za C9. Uzorci P5 i P9 su imali sadržaj vlage 0,40% i 0,43% (tabela 4.7). Prema podeli za čvrste materijale, koju navodi Mariano (2024) uzorci C9, P5 i P9 se mogu svrstati u slabo higroskopne, jer je sadržaj vlage od 0,2 – 2,0%, dok se uzorak C5 može smatrati umereno higroskopnim, jer je sadržaj vlage od opsegu 2,0 – 15,0%.

4.3.7. Određivanje reoloških karakteristika

U cilju određivanja reoloških karakteristika čvrstih disperzija, koje su značajne za obradu u finalni farmaceutski oblik, korišćene su dve merne ćelije reometra (ćelija za proticanje i ćelija za smicanje uzorka), a mereni su sledeći parametri: zapreminski protok vazduha potreban za fluidizaciju čestica, vreme potrebno da se čestice slegnu (sedimentiraju) nakon fluidizacije, prividni viskozitet, dinamičko proticanje uzorka, parametri koji opisuju trenje između čestica čvrstih disperzija i zida (mernog) uređaja i kompresibilnost. Značaj ovih merenja ogleda se u mogućnosti preciznog prilagođavanja sastava formulacije i procesa proizvodnje, čime se osigurava optimalna protočnost i kompresibilnost čvrstih disperzija. Na osnovu dobijenih rezultata mogu se donositi odluke o optimizaciji sastava i izboru tehnologije proizvodnje.

4.3.7.1. Zapreminski protok vazduha potreban za fluidizaciju čestica

Rezultati merenja zapreminskog protoka vazduha koji dovodi do fluidizacije čestica (engl. *Pressure drop*) izrađenih čvrstih disperzija (C5, C9, P5 i P9) su prikazani u tabeli 4.8 i na slici 4.10.

Na slici 4.10 se vidi da za sve uzorke prilikom kontinuiranog povećanja brzine protoka vazduha raste pritisak unutar ćelije jer se čestice opiru kretanju zahvaljujući međusobnim silama kohezije.

Kada se, u zavisnosti od osobina čestica, postigne dovoljan protok vazduha, dolazi do fluidizacije čestica. Početak fluidizacije označava pad pritiska (obeleženo krugom na slici 4.10 a-d), nakon čega s povećanjem zapreminskog protoka vazduha dolazi do sve veće fluidizacije, a pritisak unutar ćelije raste manjim intenzitetom. Kada pritisak dostigne konstantnu vrednost, smatra se da je došlo do potpune fluidizacije čestica (The Field Guide to Pharmaceutical Powder Characterization, 2023). S daljim povećavanjem zapreminskog protoka vazduha pritisak ostaje konstantan. Ovo se dešava jer su nadvladane sile koje postoje između čestica (Introduction in powder rheology, 2023). Kriva zavisnosti pritiska od zapreminskog protoka vazduha (slika 4.10) može imati oscilacije vrednosti pritiska zbog čega može biti teško odrediti kada je došlo do konstantne vrednosti pritiska i potpune fluidizacije. Zbog toga se potpuna fluidizacija češće određuje na krivoj za obrtni moment sile (engl. *torque*) (The Field Guide to Pharmaceutical Powder Characterization, 2023). Kada je postignuta potpuna fluidizacija čestica uzorka (konstantna vrednost obrtnog momenta sile na krivoj) nema oscilacija obrtnog momenta sile (slika 4.10). Razlog za visoke vrednosti za moment sile na početku merenja je veći otpor kretanju čestica, usled delovanja sile gravitacije i međumolekulskih sila. S povećanjem zapreminskog protoka vazduha dolazi do nadvladavanja ovih sila i obrtni moment sile se smanjuje (slika 4.10). U slučaju neujednačenog obrtnog momenta sile sa povećanjem zapreminskog protoka vazduha, smatra se da nije došlo do potpune fluidizacije čestica.

Uzorak C5 počinje fluidizirati pri najmanjem protoku vazduha (0,3 l/min), a potpuna fluidizacija se postiže pri protoku vazduha od 5,6 l/min. Uzorak C9 počinje fluidizirati pri najvećim vrednostima za protok vazduha (1,0 l/min), a potpunu fluidizaciju postiže pri protoku vazduha od 6,5 l/min (tabela 4.8). Ovo ukazuje da je uzorak C5 lakše dovesti do fluidizacije. Porast pritiska tokom merenja za uzorak C9 je blaži, u poređenju sa uzorkom C5, kod kojeg brže dolazi do porasta pritiska unutar ćelije. Ovo može ukazivati da uzorak C5 ima veću gustinu i jače kohezivne sile, zbog čega se prilikom izlaganja protoku vazduha stvara veći otpor i nagli rast pritiska. Međutim, sa krive za obrtni moment sile, uočavaju se veće vrednosti za početni obrtni moment sile za uzorak C9 (slika 4.10b), što ukazuje da se za uzorak C9 stvara veći otpor kretanju i trenje između čestica. Povećanje udela kopovidona u čvrstim disperzijama utiče na ponašanje uzorka tokom fluidizacije. Za uzorak C9, sa većim udelom kopovidona, potreban je veći zapreminski protok vazduha da bi dostigao početak fluidizacije. Veći udeo kopovidona u uzorku rezultira i većim obrtnim momentom sile u početnim fazama što ukazuje da čestice ovog uzorka stvaraju veće unutrašnje trenje prilikom povećanja zapreminskog protoka zraka.

Za uzorak P5 fluidizacija počinje pri vrednosti zapreminskog protoka vazduha od 0,7 l/min, dok se potpuna fluidizacija postiže pri protoku od 6,5 l/min. Za razliku od P5, uzorak P9 počinje fluidizirati pri nižim vrednostima zapreminskog protoka od 0,5 l/min, a potpuna fluidizacija se postiže pri protoku od 6,0 l/min. Sa slike 4.10 (c i d) se može uočiti da su vrednosti pritiska i obrtnog momenta sile tokom fluidiziranja, pri istim vrednostima zapreminskog protoka, veće kod uzoraka P5, u odnosu na uzorak P9. Ovo može ukazivati na to da su čestice uzorka P5 kohezivnije, što otežava početak njihovog kretanja.

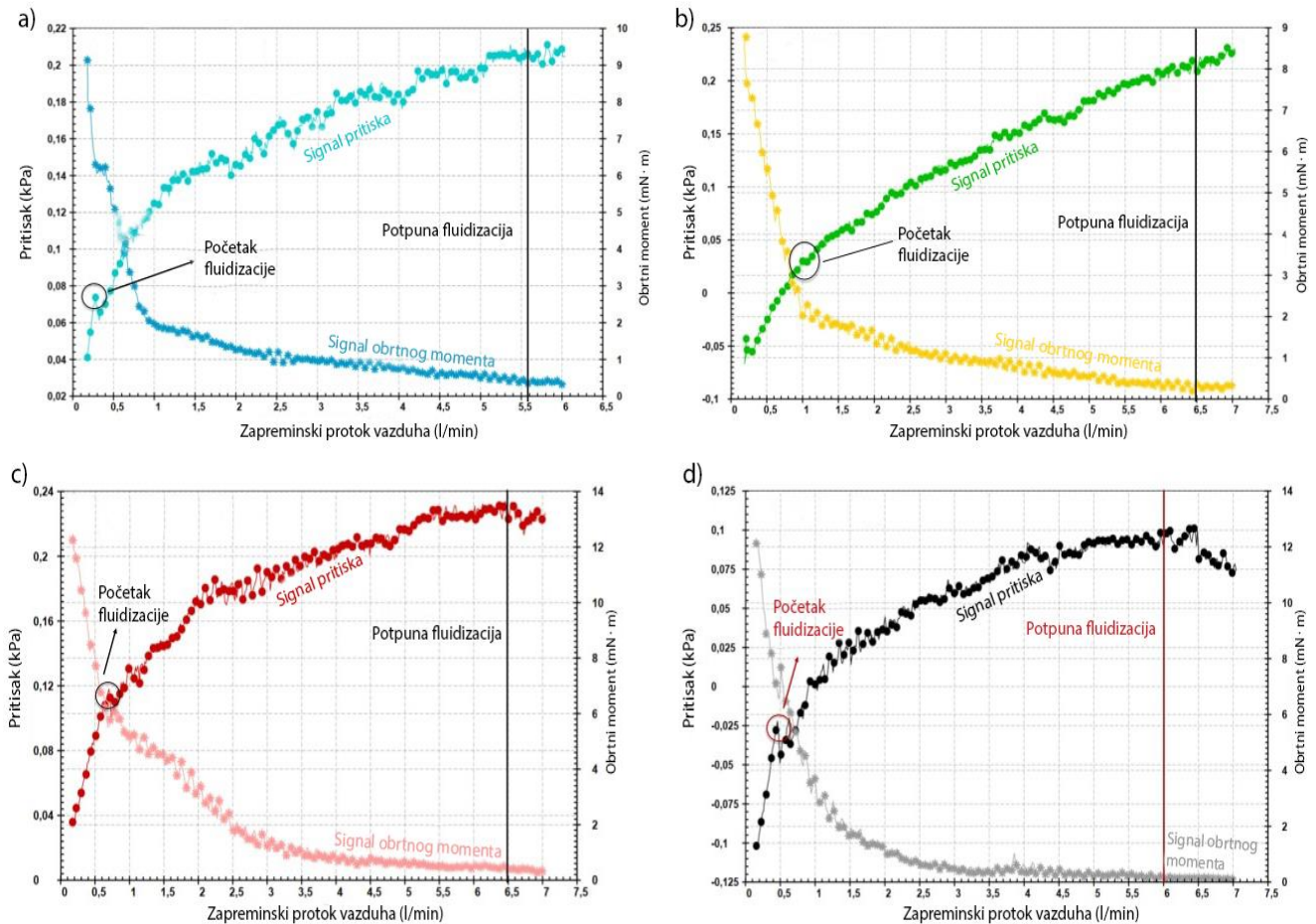
Obrtni moment sile kod svih ispitivanih uzoraka opada s povećanjem protoka vazduha, ali kod uzoraka sa manjim udelom polimera (C5 i P5) ostaje iznad nule, što može značiti da čestice imaju određeni nivo trenja i u fluidizovanom stanju. Kod uzoraka sa većim udelom polimera (C9 i P9) obrtni

moment sile se spušta ispod nule, što ukazuje da ne postoji trenje između čestica i da se one slobodno kreću.

Na osnovu rezultata merenja može se zaključiti da svi uzorci ispitivanih čvrstih disperzija imaju sposobnost fluidizacije, pri niskim vrednostima protoka vazduha.

Tabela 4.8. Parametri koji opisuju fluidizaciju čestica čvrstih disperzija

Uzorak	Početak fluidizacije (l/min)	Potpuna fluidizacija (l/min)	Vreme do potpunog sleganja čestica (s)
C5	0,3	5,6	2,80
C9	1,0	6,5	2,05
P5	0,7	6,5	1,05
P9	0,5	6,0	2,05



Slika 4.10. Grafici fluidizacije čestica čvrstih disperzija: C5 (a) C9 (b) P5 (c) P9 (d)

4.3.7.2. Vreme potrebno da se čestice slegnu nakon fluidizacije

Rezultati merenja vremena potrebnog da se čestice potpuno slegnu nakon fluidizacije (engl. *Deareation*) prikazani su u tabeli 4.8 i slici 4.11. Ovo vreme se detektuje promenom pritiska nakon potpune fluidizacije. Meri se od momenta kada pritisak unutar ćelije počinje da pada, nakon prestanka fluidizacije, pa do uspostavljanja konstantne vrednosti pritiska (The Field Guide to Pharmaceutical Powder Characterization, 2023). Ovaj parametar pokazuje koliko dugo uzorak ima sposobnost zadržavanja vazduha između čestica nakon fluidizacije. Karakterističan je za svaki uzorak, a zavisi od veličine i oblika čestica i nasipne gustine uzorka. Uzorak sa visokom sposobnošću zadržavanja vazduha zauzima veću zapreminu (engl. *powder bed*). Nakon prestanka protoka vazduha, vazduh se postepeno oslobađa iz uzorka, pa se visina sloja uzorka u ćeliji sporo vraća na početnu (pre fluidizacije). Kod uzorka sa niskom sposobnošću zadržavanja vazduha dolazi do malog povećanja visine sloja, jer uzorak zadržava manje vazduha. Kod ovih uzoraka odmah nakon prestanka protoka vazduha, visina sloja unutar ćelije se brzo vraća na početnu, jer se vazduh odmah oslobađa iz uzorka (The Field Guide to Pharmaceutical Powder Characterization, 2023). Poznavanje ovih svojstava praškastih materijala je važno za procese kao što su transport, mešanje, granulacija, punjenje i pakovanje.

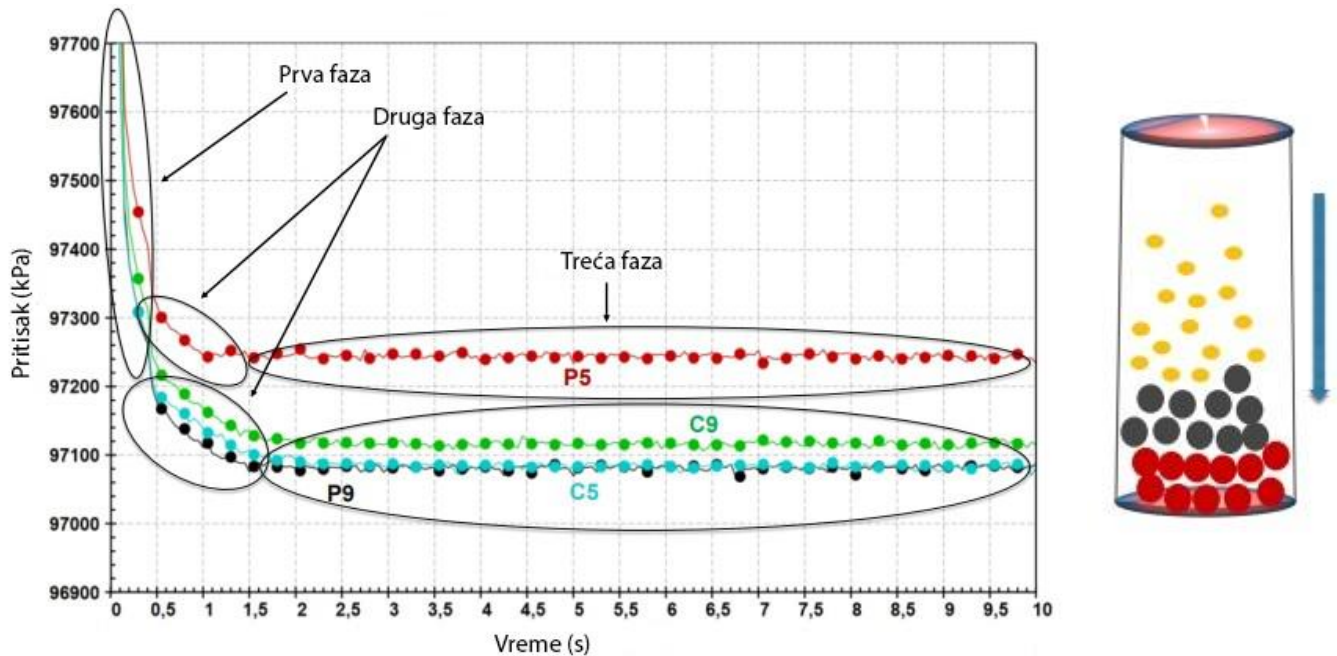
Najduže vreme (2,80 s; tabela 4.8) do potpunog sleganja čestica imao je uzorak C5. Uzorak sa većim udelom kopovidona C9 ima kraće vreme sleganja čestica (2,05 s), u odnosu na uzorak C5. Duže vreme potrebno da se čestice slegnu ukazuje da se vazduh između čestica sporije oslobađa. To može biti posledica veće poroznosti čestica, ili većeg slobodnog prostora između čestica u uzorku, koji omogućavaju vazduhu da duže ostane „zarobljen“. Ako se čestice uzorka sporije sležu, to može značiti da one nisu dovoljno međusobno povezane i da postoji manja sila kohezije između njih. Međusobni odnos čestica u uzorku zavisi od oblika, veličine ili površinskih osobina čestica. Veći udeo sitnih čestica može biti uzrok sporijeg sleganja čestica (Kamranian Marnani i sar., 2019) (slika 4.11 desno). S povećanjem udela kopovidona dolazi do bržeg sleganja čestica, što može značiti da je došlo do boljeg „pakovanja“ čestica, da su slabije izražene sile kohezije između čestica i da između čestica postoji manje trenja.

Uzorak P5 pokazuje najkraće vreme potrebno da se čestice potpuno slegnu (1,05 s), odnosno ima najmanji kapacitet za zadržavanje vazduha između čestica uzorka. Uzorak P9 ima skoro dva puta duže vreme sleganja (2,05 s) od vremena potrebnog da se čestice uzorka P5 potpuno slegnu. S povećanjem udela poloksamera 407 dolazi do sporijeg sleganja čestica, verovatno iz razloga što poloksamer 407 uzrokuje nastanak kohezivnijih čestica, koje teže oslobađaju vazduh.

Kada se analizira kriva sleganja čestica uzorka, ona se može podeliti na tri dela (slika 4.11). Prvi deo krive odgovara naglom padu pritiska, kada dolazi do najbržeg sleganja čestica. Uglavnom prvo dolazi do sleganja najkrupnijih čestica. Ova faza najčešće traje do 0,3 s. Druga faza opisuje sporije sleganje čestica i često je najvažnija faza, jer omogućava analizu zadržavanja vazduha u uzroku i pokazuje ponašanje sitnih čestica u uzorku. Ovo je važno s aspekta gubitka materijala tokom fluidizacije i mogućeg smanjenja prinosa, jer jako sitne čestice mogu i sa malim strujanjem vazduha, biti nošene iznad uzorka i odnete u struji izlaznog vazduha. Ovaj podatak je važno poznavati i zbog sprečavanja emisije prašine sitnih čestica. Druga faza najviše zavisi od aerodinamičkog prečnika čestica, gustine uzorka i raspodele veličina čestica. U trećoj fazi se uspostavlja konstantna vrednost pritiska, koji se s daljim povećanjem vremena ne menja i tada se može reći da je došlo do potpunog sleganja čestica (slika 4.11) (Introduction in powder rheology, 2023).

Najkraće vreme druge faze imao je uzorak P5, dok uzorci P9 i C9 imaju sličnu dužinu druge faze. Ova dva uzorka pokazuju i iste vrednosti ukupnog vremena za koje se čestice potpuno slegnu nakon

fluidizacije. Uzorak C5 ima najduže vreme trajanja druge faze, što može biti posledica najvećeg udela sitnih čestica u ovom uzorku.



Slika 4.11. Vreme potrebno da se čestice čvrstih disperzija slegnu nakon fluidizacije (levo) i prikaz sporijeg sleganja sitnijih čestica (desno)

4.3.7.3. Prividni viskozitet

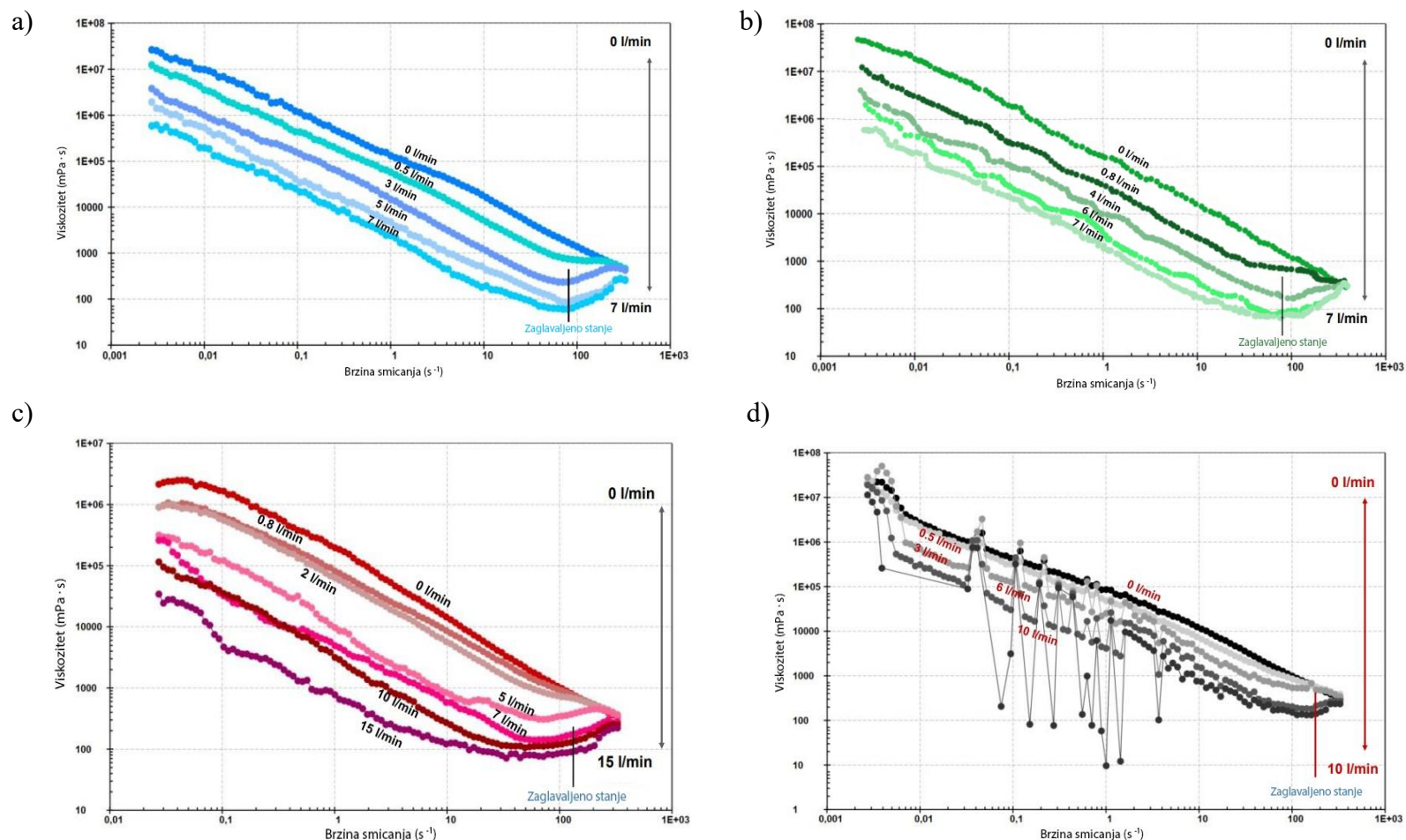
Poznavanje prividnog viskoziteta čvrstih disperzija je značajno, jer može uticati na sve faze obrade do finalnog oblika, kao što su tablete ili kapsule. Ukoliko uzorak ima visoke vrednosti prividnog viskoziteta, mogu se javiti problemi prilikom njegovog prolaska kroz različite delove opreme i uređaja, posebno uske otvore levkova, prilikom prosejavanja i mešanja, prolaska kroz transportne cevi, prilikom granulacije i punjenja u matrice tokom tabletiranja (Introduction in powder rheology, 2023).

Krive prividnog viskoziteta ispitivanih čvrstih disperzija su prikazane na slici 4.12.

U toku izvođenja testa, ispituje se uticaj različitih brzina smicanja i zapreminskog protoka vazduha na viskozitet uzorka. Značaj ovih merenja ogleda se u mogućnosti prilagođavanja sastava formulacije i proizvodnih uslova, čime se osigurava optimalna protočnost i kompresibilnost čvrstih disperzija. Zapreminski protok vazduha se povećava do potpune fluidizacije i kada je ona postignuta, za očekivati je da uzorci ispoljavaju njutnovsko ponašanje, kod koga je viskozitet konstantan, bez obzira na povećanje sile smicanja (Lu i sar., 2023). Međutim, uzorci ispitivanih čvrstih disperzija (C5, C9, P5 i P9) su pokazali drugačije ponašanje. Iako je za uzorke čvrstih disperzija postignuta potpuna fluidizacija, oni su pokazali pseudoplastično (eng. *shear-thinning*) ne-njutnovsko proticanje. Na početku merenja i pri niskim vrednostima zapreminskog protoka vazduha, uzorci su se ponašali kao pseudoplastični sistemi, odnosno viskozitet se smanjivao sa povećanjem brzine smicanja. Ovakvo ponašanje čvrstih disperzija je posledica smanjenja otpora čestica prema kretanju, pod delovanjem sile smicanja. Ovi podaci su korisni za procenu ponašanja uzoraka u procesima koji zahtevaju kontrolisano proticanje materijala, kao što su na primer mešanje, granulacija ili kompresija (Lu i sar., 2023).

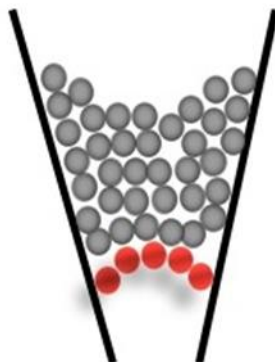
Kod uzorka C5 i C9 (slika 4.12 a i b) pri protoku vazduha od 0 l/min, viskozitet je najviši, što znači da su kohezija i trenje između čestica najveći. Sa povećanjem protoka (do 7 l/min) viskozitet opada, što znači da fluidizacija pomaže razdvajanju čestica i smanjenju otpora kretanju. Na grafiku se takođe uočava da pri niskim brzinama smicanja viskozitet ima visoke vrednosti, dok se sa povećanjem brzine smicanja viskozitet smanjuje.

Kod uzoraka čvrstih disperzija sa poloksamerom 407 (P5 i P9) (slika 4.12 c i d), takođe je vidljivo pseudoplastično proticanje, gde sa povećanjem protoka vazduha dolazi do značajnog smanjenja viskoziteta. Razlika kod uzorka P5 u odnosu na uzorke s kopovidonom (C5 i C9) je što za srednje protoke vazduha (5-10 l/min), odnosno u uslovima fluidizacije uzorka, krive imaju drugačiji izgled, odnosno one se na određenim pozicijama preklapaju, a i razmak između krivih nije konstantan. Primetno odstupanje između krivih pri srednjim protocima vazduha može biti posledica toga što poloksamer 407 utiče na formiranje drugačijih interakcija između čestica u odnosu na kopovidon. Takođe, uzrok ovih razlika može biti i oslobađanje zarobljenog vazduha, što dovodi do razlika u kretanju čestica. Kod uzorka P9, pri odsustvu protoka vazduha (0 l/min) uzorak očekivano ima najviše vrednosti viskoziteta, za sve brzine smicanja. S povećanje protoka vazduha (0,5 – 10 l/min) dolazi do postepenog smanjenja viskoziteta, što znači da se protokom vazduha olakšava kretanje čestica i smanjuje unutrašnje trenje. Pri najvišem protoku (10 l/min), kriva pokazuje nestabilnost i oscilacije pri nižim brzinama smicanja, što može ukazivati na prelazak u fluidizovano stanje.



Slika 4.12. Krive zavisnosti prividnog viskoziteta od brzine smicanja i protoka vazduha uzoraka čvrstih disperzija: C5 (a) C9 (b) P5 (c) P9 (d)

Kada je postignut određen nivo fluidizacije (s povećanjem zapreminskog protoka vazduha u toku izvođenja testa) i s povećanjem brzine smicanja može doći do pojave tzv. *shear-thickening* ponašanja, gde se viskozitet ili otpor prema smicanju povećava, sa povećanjem brzine smicanja (Introduction in powder rheology, 2023). Primena veće brzine smicanja uzrokuje smanjenje slobodnog prostora između čestica, što povećava kontakt između čestica, a sa tim i otpor prema smicanju. Ova faza se naziva i „zaglavljeno stanje“ (engl. *jamming transition*) (slika 4.13) i može prouzrokovati smanjenje protočnosti, ili zaglavljivanje uzorka u levkovima za punjenje, transportnim cevima i mešalicama (Brown i Jaeger, 2009; Kawasaki i Ludovic, 2018).



Slika 4.13. Prikaz tzv. „zaglavljenog stanja“ (eng. *Jamming transition*) (preuzeto iz *Introduction in powder rheology*, 2023)

Za uzorke sa kopovidonom (C5 i C9), tzv. „zaglavljeno stanje“ se javljalo za vrednosti brzine smicanja ispod 100 s^{-1} , dok se za uzorke sa poloksamerom 407 (P5 i P9) „zaglavljeno stanje“ dešavalo na vrednostima brzine smicanja iznad 100 s^{-1} . Razlika u brzini smicanja pri kojoj dolazi do zaglavljivanja čestica (ispod 100 s^{-1} za uzorke sa kopovidonom i iznad 100 s^{-1} za uzorke sa poloksamerom 407) ukazuje na različite reološke osobine uzoraka, koje mogu biti ključne za optimizaciju procesa granulacije, mešanja i tabletiranja. Uzorci kod kojih do „zaglavljivanja“ dolazi pri većoj brzini smicanja imaju bolje proticanje i manja je mogućnost da dođe do zaglavljivanja, dok uzorci s nižom brzinom smicanja lakše prelaze u „zaglavljeno stanje“. „Zaglavljeno stanje“ može ukazivati na to da je došlo do agregacije čestica, povećanja trenja među česticama i da brzina smicanja više ne može uticati na interakcije između čestica (Samsuzzaman i sar., 2022).

4.3.7.4. Dinamičko proticanje uzorka

Određivanje dinamičkog proticanja uzorka omogućava analizu proticanja dok se uzorak nalazi u stanju kretanja. Na dinamičko proticanje utiče više faktora, kao što su na primer, veličina i raspodela veličina čestica, međumolekulske sile između čestica (elektrostatičke sile i trenje), količina vlage u uzorku i temperatura okoline (Divya i Ganesh, 2019). Ovo merenje se može koristiti kao brza i jednostavna metoda za određivanje faktora koji utiču na proticanje praškova (Introduction in powder rheology, 2023). U toku izvođenja testa, što je više energije potrebno da se uroni mešać u uzorak, to je veći otpor proticanju uzorka i on slabije teče (Freeman i sar., 2017).

Rezultati merenja dinamičkog proticanja uzoraka čvrstih disperzija su prikazani u tabeli 4.9 i slici 4.14.

Tabela 4.9. Rezultati merenja dinamičkog proticanja čvrstih disperzija

Uzorak	Osnovna energija proticanja, BFE (mJ)	Specifična energija, SE (mJ/g)	Indeks stabilnosti, SI	Indeks brzine proticanja, FRI
C5	472	56,5	1,08	0,96
C9	460	57,5	0,89	1,08
P5	621	75,6	0,93	0,98
P9	425	60,3	0,91	0,95

Niska vrednost osnovne energije proticanja (BFE) pokazuje da se radi o lako protočnim uzorcima, jer kod takvog uzorka čestice stvaraju manji otpor kretanju i mešač se lakše uranja u uzorak (Freeman i sar., 2017). Uzorci koji imaju lošije proticanje imaju veće vrednosti BFE, jer je potrebna veća energija da se uzorak počne kretati i da mešač uroni u uzorak (Suhag i sar., 2024). Na vrednosti osnovne energije proticanja uzorka utiču i nasipna gustina uzorka i kompresibilnost tokom merenja (Hrishikesh i sar., 2017).

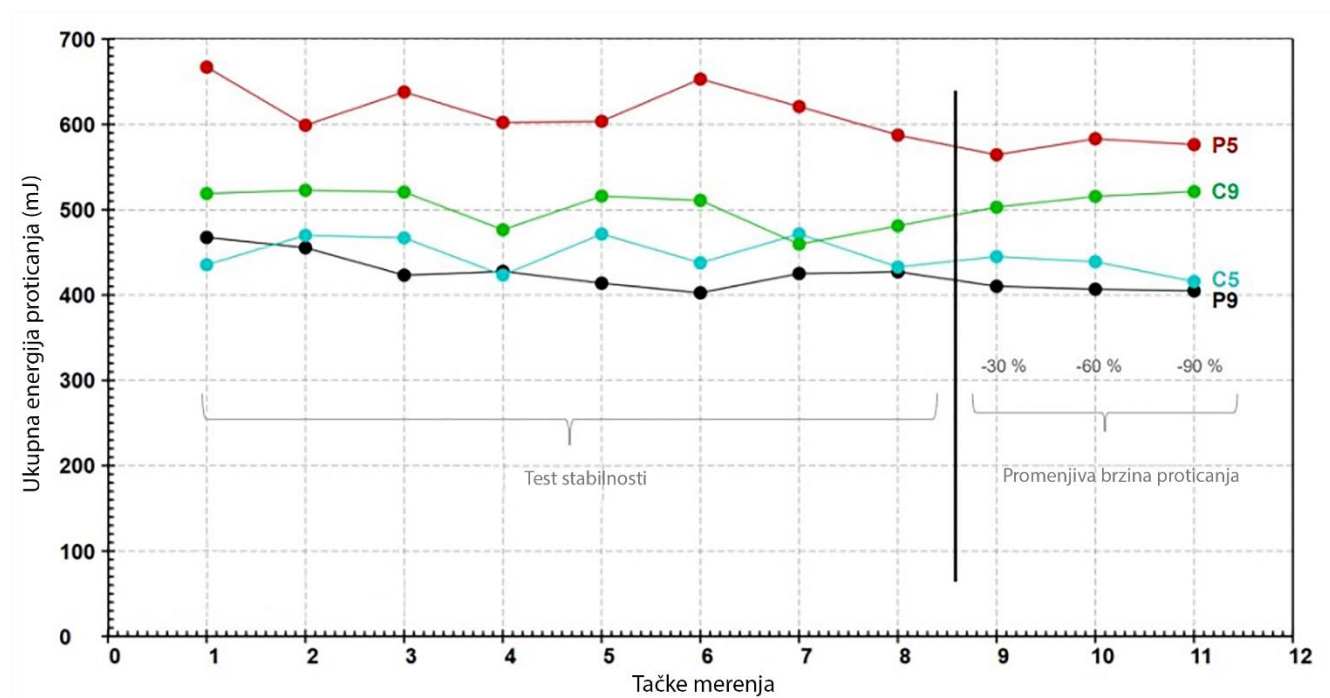
Na slici 4.14 se vidi da u prvom delu testa, kada su konstantni uslovi brzine okretanja i uranjanja mešača (prvih 7 tačaka merenja), vrednosti ukupne energije proticanja relativno stabilne za sve uzorke, sa blagim oscilacijama. Uzorci sa kopovidonom, C5 i C9, imaju slične vrednosti ispitivanih parametara dinamičkog proticanja (tabela 4.9) i može se reći da imaju sličnu protočnost. Udeo kopovidona u ovim uzorcima nema bitnog uticaja na proticanje. Za razliku od toga, udeo poloksamera 407 ima uticaja na parametre dinamičkog proticanja. BFE vrednost je najveća za uzorak P5, što znači da je najviše energije potrebno da se mešač uroni u ovaj uzorak, odnosno da između čestica uzorka P5 vladaju najveće sile kohezije. Zanimljivo je da uzorak P9 ima najmanju BFE vrednost, te se može reći da ima najbolje osobine proticanja kada je u pitanju ovaj parametar. Iako uzorci P5 i P9 imaju sličnu veličinu i raspodelu veličina čestica, različita protočnost izmerena na način kada su uzorci u stanju kretanja, ukazuje da veličina čestica nije jedini parametar koji ima uticaj na dinamičko proticanje čvrstih disperzija sa poloksamerom 407. Freeman i sar. (2017) su ispitivali ponašanje tri uzorka praškova (A, B, i C) prilikom punjenja u kesice. Uzorci su imali različito proticanje na mašini za punjenje, što je za rezultat imalo varijacije u masi kesice. Merenja su sprovedena korišćenjem uređaja FT4 Powder Rheometer® (Freeman Technology, Velika Britanija). Uzorak A je pokazao dobru protočnost, dok je kod uzorka B (koji je imao širu raspodelu veličina čestica) protočnost ocenjena kao prosečna. Uzorak C, koji je imao istu raspodelu veličina čestica kao uzorak A je pokazao veoma lošu protočnost, što je ukazalo na činjenicu da veličina čestica nije jedini parametar koji je odgovoran za protočnost uzorka. Uzorak A je imao najnižu BFE vrednost, što znači da zahteva manje energije za kretanje mešača kroz uzorak, dok je uzorak C imao najvišu BFE vrednost.

Na vrednosti specifične energije (SE) uzorka utiče oblik čestica, kohezivnost čestica, hrapavost površine i raspodela veličina čestica, ali i hemijske i fizičke interakcije između čestica (Suhag i sar., 2024). Najmanje vrednosti specifične energije (SE) imaju uzorci sa kopovidonom što ukazuje da se kod njih javlja najmanje interakcija između čestica i da imaju sposobnost dobrog mešanja i proticanja. Iako čvrste disperzije sa kopovidonom imaju veći udeo najsitnijih čestica, koje bi trebale da su kohezivnije i manje protočne (Shi i sar., 2018), u ovim istraživanjima to nije uticalo na protočnost navedenih uzoraka. Rezultati nisu iznenađujući, jer kako je navedeno, veličina čestica nije jedini parametar koji utiče na protočnost uzoraka.

Uzorci sa poloksamerom 407 imaju veće vrednosti specifične energije u poređenju sa uzorcima sa kopovidonom. Vrednost specifične energije (SE) je najveća za uzorak P5, što znači da je za ovaj uzorak, prilikom kretanja mešača u suprotnom smeru (iz uronjenog uzorka prema gore) potrebna najveća energija, u poređenju sa ostalim uzorcima (Freeman i sar., 2017).

Prema navodima autora (Freeman, 2000; McGuire i sar., 2022), ukoliko su vrednosti indeksa stabilnosti (SI) praškova blizu 1,0, tada uzorci teže da zadrže svoju zapreminu. Uzorci koji imaju SI vrednost manju od 1,0 teže povećanju zapremine, dok oni sa SI vrednošću većom od 1,0 imaju tendenciju ka smanjenju zapremine i komprimovanju. Vrednosti indeksa stabilnosti ispitivanih uzoraka su bile od 0,89 - 1,08 (tabela 4.9). Na osnovu dobijenih vrednosti SI indeksa, za uzorak C5 bi se moglo reći da teži ka blagom komprimovanju, dok uzorci C9, P5 i P9 imaju tendenciju da blago povećaju svoju zapreminu.

Merenja, sprovedena prilikom promene brzine okretanja i uranjanja mešača su pokazala da protočnost čvrstih disperzija ne zavisi od brzine mešanja, što je vidljivo na delu krive koji pokazuje vrednosti ukupne energije proticanja prilikom promene brzine (slika 4.14, poslednje 3 tačke merenja). Osnovna energija proticanja je ostala slična za različite brzine proticanja uzoraka (odnosno smanjenje brzine proticanja za 30%, 60% i 90%) kao i vrednosti indeksa brzine proticanja (FRI) (tabela 4.9) što je karakteristično za nekohezivne praškove. Nekohezivni praškovi stvaraju manje problema prilikom obrade u tablete ili kapsule. Oni imaju bolju protočnost, manje teže segregaciji, lijepljenju za otvore i levkove i bolje se i ravnomernije komprimuju. Na vrednosti indeksa brzine proticanja nije imao uticaj udeo polimera u čvrstim disperzijama.



Slika 4.14. Grafik zavisnosti ukupne energije proticanja čvrstih disperzija od različitih uslova merenja (konstantna i promenljiva brzina proticanja)

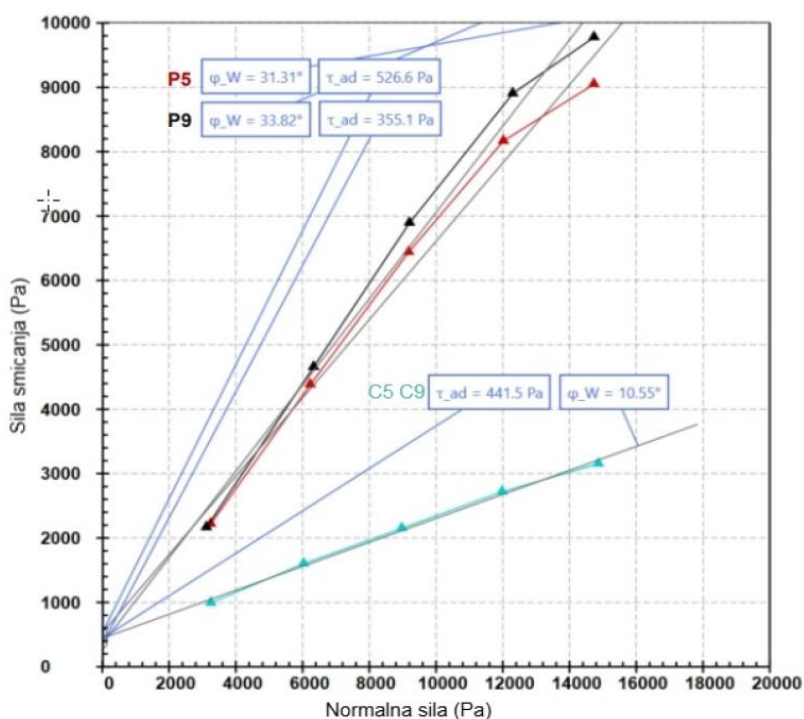
4.3.7.5. Trenje između čestica uzorka i zida uređaja

U cilju dobijanja podataka o trenju koje se dešava tokom kretanja čestica čvrstih disperzija duž zida uređaja, određivani su sledeći parametri: ugao krive proticanja uzorka duž zida mernog uređaja (ϕ_w), adhezija (τ_{ad}), srednji ugao trenja (ϕ_{WFA}) i koeficijent trenja (μ). Dobijeni rezultati su prikazani u tabeli 4.10 i na slici 4.15.

Tabela 4.10. Parametri trenja između čestica uzoraka i zida mernog uređaja

Uzorak	Ugao krive proticanja uzorka duž zida, ϕ_w (°)	Adhezija, τ_{ad} (Pa)	Srednji ugao trenja, ϕ_{WFA} (°)	Koeficijent trenja, μ
C5	10,55	441,5	13,4	0,26
C9	10,55	441,5	13,4	0,26
P5	31,31	526,6	32,6	0,70
P9	33,82	355,1	34,1	0,72

τ_{ad} —interakcija uzorka sa zidovima merne ćelije (adhezija uzorka na zidove uređaja)



Slika 4.15. Ispitivani parametri trenja čvrstih disperzija (napomena: podaci za uzorke C5 i C9 su isti, pa se krive preklapaju)

Uobičajeno se test trenja sprovodi tako što se normalna sila smanjuje. To znači da se na uzorak prvo deluje najvećom normalnom silom (u ovim istraživanjima je ona iznosila 9 kPa), kada je i potrebna najveća sile smicanja da bi se uzorak počeo kretati. Tada je trenje između uzorka i zida uređaja najveće. Tokom vremena dolazi do smanjenja trenja prilikom proticanja uzorka, sve do uspostavljanja

konstantne vrednosti trenja duž zida (engl. *steady-state shear stress*). Dalje se normalna sila smanjuje (u ovim istraživanjima je smanjena prvo na 6 kPa, a zatim na 3 kPa). Sa svakim smanjenjem normalne sile smanjuje se i trenje duž zida. Nakon određenog vremena se uspostavlja konstantna vrednost trenja duž zida. Na ovaj način se mere različite konstantne vrednosti trenja duž zida, za svaku primenjenu vrednost normalne sile. Iz ovih vrednosti se dobija kriva proticanja uzorka duž zida, a iz krive proticanja se dobijaju vrednosti drugih parametara koji opisuju trenje. Ukoliko je kriva proticanja uzorka duž zida ravna linija, onda su vrednosti koeficijenta trenja i ugla trenja iste za svaku vrednost normalne sile i tada trenje ne zavisi od primenjene normalne sile. Ukoliko je kriva proticanja zakrivljena, što je bio slučaj kod ispitivanih uzoraka čvrstih disperzija (kod uzoraka sa kopovidonom je jedva vidljiva blaga zakrivljenost krive; slika 4.15), tada svakoj tački na krivoj proticanja odgovara različita vrednost koeficijenta trenja i ugla trenja, koji zavise od primenjene normalne sile. Rezultati merenja uglova trenja i koeficijenta trenja se prikazuju kao srednje vrednosti svih merenja. Što su vrednosti ugla trenja i koeficijenta trenja veće, to je i trenje između uzorka i zida veće i potrebna je veća sila da bi se uzorak kretao.

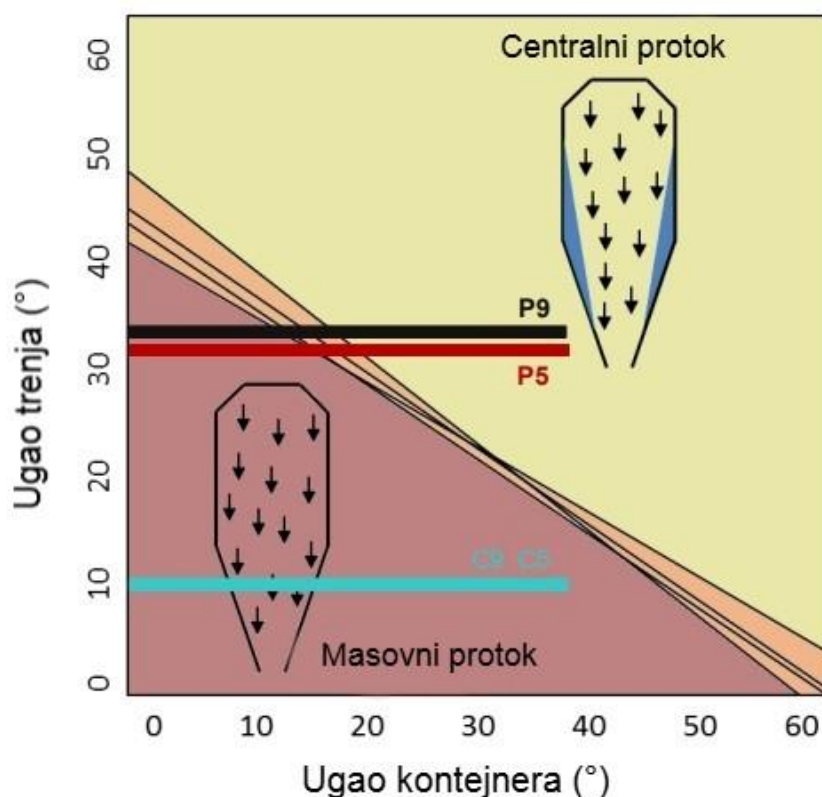
Adhezija (τ_{ad}) se definiše kao tačka preseka krive tečenja zida sa y-osom. Povećanje adhezivnih sila ukazuje na značajan porast trenja između uzorka i zida mernog uređaja.

U slučaju uzoraka sa kopovidonom, parametri trenja ne zavise od udela polimera u formulaciji, jer su dobijene iste vrednosti svih ispitivanih parametara za uzorke C5 i C9. Uzorak P9 pokazuje najveće vrednosti ugla krive proticanja uzorka duž zida, srednjeg ugla trenja i koeficijenta trenja. Ove vrednosti su neznatno veće od ovih vrednosti za uzorak P5, što ukazuje da parametri trenja ne zavise mnogo od udela poloksamera 407 u formulaciji čvrstih disperzija (tabela 4.10 i slika 4.15). Poredeći uzorke čvrstih disperzija izrađenih sa različitim polimerima, uočava se da uzorci sa kopovidonom pokazuju mnogo manje vrednosti merenih parametara, što ukazuje i manje trenje ovih uzoraka tokom kretanja duž zida i samim tim bolju protočnost uzoraka. Koeficijent trenja za uzorke sa kopovidonom je oko tri puta manji u odnosu na vrednost koeficijenta trenja za uzorak P9.

Ukoliko kriva proticanja uzorka duž zida uređaja ne prolazi kroz nultu tačku koordinatnog sistema, nego je seče na y osi ($\tau_{ad} > 0$), što je slučaj kod svih ispitivanih čvrstih disperzija, smatra se da uzorci imaju tendenciju adhezije na zidove uređaja. Vrednost τ_{ad} je najveća za uzorak P5 (526,6 Pa). Zanimljivo je da uzorak P9 ima najmanju vrednost adhezije (355,1 Pa), iako ima najveću vrednost koeficijenta trenja, koja je veoma bliska vrednosti za uzorak P5. Veće vrednosti adhezije za uzorke sa kopovidonom se mogu objasniti većim udelom sitnijih čestica, koje imaju veću tendenciju da se lepe za zidove mernog uređaja. Vrednosti adhezije za uzorke sa kopovidonom su identične (tabela 4.10), što pokazuje da udeo polimera u čvrstim disperzijama sa kopovidom ne utiče na ovu osobinu čvrstih disperzija.

Važnost merenja parametara trenja uzoraka prilikom kretanja duž zidova uređaja se ogleda u izboru materijala od kojeg je oprema izrađena, odnosno dizajna opreme kroz koji uzorak prolazi. Postoji direktna povezanost između ugla trenja (ϕ) i ugla zidova levka (kontejnera ili levka za punjenje prilikom tabletiranja) u odnosu na vertikalnu osu (θ), jer oba parametra utiču na protočnost materijala u levcima i konusnim kontejnerima za skladištenje i mešanje. Ugao zida kontejnera i levka je ključan za osiguranje protočnosti materijala iz kontejnera ili levka, pod uticajem sile gravitacije. Odnos ova dva ugla obezbeđuje odgovarajuću protočnost uzoraka, u skladu s njegovim karakteristikama i interakcijom sa zidovima (The Field Guide to Pharmaceutical Powder Characterization, 2023). Za veće vrednosti ugla trenja, što je slučaj sa uzorcima sa poloksamerom 407, potreban je veći ugao zidova levka da bi uzorak slobodno proticao. Kao što se sa slike 4.16 može videti, za vrednosti ugla trenja uzorka veće od 30° , vrednosti ugla zida levka treba da su veće od 40° , kako bi se savladao otpor kretanju uzorka. Sa većim uglom zida levka povećava se protočnost uzoraka, ali se smanjuje skladišni kapacitet kontejnera

ili levka. Ako ugao trenja ima malu vrednost, kao što je slučaj sa uzorcima sa kopovidonom, mali ugao zida levka može biti dovoljan, jer uzorak ima dobru protočnost niz zidove levka ili kontejnera. Uzorci sa kopovidonom se kreću tzv. masovnim protokom (engl. *mass flow*), kod kojeg se ceo sadržaj kontejnera istovremeno kreće prema izlazu. Materijal klizi duž zidova, čime se izbegava zastoje ili zadržavanje. Kod ovakvog tipa protočnosti ne dolazi do zaustavljanja materijala i raslojavanja (koje može biti uzrokovano neujednačenim proticanjem, odnosno zaustavljanjem čestica duž zida koje imaju veće trenje), te je manja mogućnost da dođe do neujednačenosti sadržaja proizvedenog leka (Carson i Pittenger, 2018). Sa slike 4.16 se vidi da bi se uzorci sa poloksamerom 407 kretali kroz centralni deo kontejnera ili levka (engl. *core flow*), dok deo uzoraka blizu zidova ostaje nepomičan, stvarajući zone koje se ne kreću. Zbog neujednačene protočnosti može doći do neadekvantnog doziranja prilikom tabletiranja ili punjenja u kapsule, a samim tim i do proizvodnje leka neodgovarajućeg kvaliteta (Freeman i sar., 2017).



Slika 4.16. Zavisnost ugla trenja čvrstih disperzija od ugla kontejnera/levka

4.3.7.6. Kompresibilnost

U cilju dobijanja podataka o kompresibilnosti ispitivanih čvrstih disperzija reološkim merenjima, određivani su sledeći parametri: nasipna gustina, *Hausner*-ov odnos i *Carr*-ov indeks. Rezultati merenja su prikazani u tabeli 4.11 i slici 4.17.

Tabela 4.11. Rezultati reoloških merenja kompresibilnosti čvrstih disperzija

Uzorak	Nasipna gustina (g/cm ³)		Carr-ov indeks		Hausner-ov odnos	
	0 (kPa)	45 (kPa)	9 (kPa)	45 (kPa)	9 (kPa)	45 (kPa)
C5	0,712	0,745	2,7	4,5	1,03	1,05
C9	0,685	0,724	3,2	5,4	1,03	1,06
P5	0,645	0,727	5,4	11,3	1,06	1,13
P9	0,619	0,720	7,2	14,0	1,08	1,16

U toku izvođenja testa kompresije, prati se odnos između nasipne gustine i primenjene sile. Na osnovu dobijenih rezultata može se konstatovati da uzorak C5 ima najveću nasipnu gustinu (0,712 g/cm³) u odnosu na sve ispitivane uzorke, pre primene sile kompresije. Uzorak C9 ima nešto manju nasipnu gustinu (0,685 g/cm³), u poređenju sa uzorkom C5. Uzorak P9 ima najmanju nasipnu gustinu (0,619 g/cm³), u odnosu na sve uzorke, dok P5 ima veću nasipnu gustinu (0,645 g/cm³) od P9. Nakon primene sile kompresije do 45 kPa dolazi do povećanja nasipne gustine svih uzoraka, što je i očekivano. Povećanje nasipne gustine nakon primene sile kompresije nalaze i drugi autori (Shi i sar., 2018). Nasipna gustina je idalje najmanja za uzorak P9 (0,720 g/cm³), iako je ona veoma bliska vrednostima nasipne gustine uzoraka P5 (0,727 g/cm³) i C9 (0,724 g/cm³), dok uzorak C5 ima najveću nasipnu gustinu (0,745 g/cm³) nakon primene kompresije. Sa slike 4.17a se mogu videti različite krive zavisnosti nasipne gustine od sile kompresije, koje opisuju promenu nasipne gustine uzoraka tokom povećanja kompresije na uzorak. Uzorak C5 pokazuje najveće vrednosti nasipne gustine, kako pre kompresije (0,712 g/cm³), tako i nakon kompresije (0,742 g/cm³). Ove vrednosti ukazuju na to da čestice u ovom uzorku već u početnom stanju imaju relativno gust raspored, što može biti posledica njihovog oblika, veličine ili međusobnih interakcija. Najmanja razlika između početne i nasipne gustine nakon kompresije (0,030 g/cm³) sugerise da je uzorak C5 manje podložan dodatnom sabijanju, u poređenju s drugim uzorcima. To može značiti da njegove čestice već gusto zbijene na početku, sa malo međučestičnih praznina koje bi mogle biti dalje smanjene primenom pritiska. Kod uzorka C9 promena nasipne gustine nakon primene kompresije (0,039 g/cm³) je nešto izraženija u poređenju sa C5. Tokom primene pritiska, čestice se sabijaju, smanjujući međučestične praznine i povećavajući gustinu. Ovakvo ponašanje može biti posledica razlika u veličini, obliku ili površinskim svojstvima čestica u odnosu na uzorak C5 (The Field Guide to Pharmaceutical Powder Characterization, 2023). S obzirom na nešto veću promenu nasipne gustine, očekuje se da uzorak C9 ima veću kompresibilnost, što obično dovodi do veće čvrstoće tableta.

Uzorak P5 ima veću početnu gustinu u odnosu na uzorak P9, što sugerise da su njegove čestice bolje pakovane u početnom stanju pre kompresije. Manja promena tokom kompresije znači da je manje podložan dodatnom sabijanju prilikom primene sile kompresije. Uzorak P9 pokazuje veću promenu nasipne gustine tokom kompresije (0,101 g/cm³, u poređenju sa 0,082 g/cm³ kod uzorka P5), što ukazuje na njegovu veću sposobnost sabijanja. Veća kompresibilnost obično znači da čestice imaju više međuprostora koji se može smanjiti tokom pritiska (The Field Guide to Pharmaceutical Powder Characterization, 2023). Može se smatrati da je uzorak P9 kompresibilniji i da bi prilikom tabletiranja

došlo do plastične deformacije, koja bi omogućila bliži kontakt između čestica i dobijanje tableta veće čvrstoće (The Field Guide to Pharmaceutical Powder Characterization, 2023).

Ukoliko se porede uzorci sa različitim polimerima može se zaključiti da uzorci C5 i C9 imaju veće početne nasipne gustine u poređenju sa P5 i P9, što znači da su čestice bolje pakovane u uzorku, dok P5 i P9 imaju niže početne nasipne gustine, što sugerise da imaju više međučestičnih praznina pre kompresije. C5 i C9 pokazuju manje promene u gustini, što znači da imaju manju kompresibilnost u poređenju sa P5 i P9.

Vrednosti *Carr*-ovog indeksa (tabela 4.11 i slika 4.17) pokazuju veliku razliku između čvrstih disperzija sa dva različita polimera, poloksamerom 407 i kopovidonom. Kod uzoraka sa kopovidonom (C5 i C9), pri primenjenoj sili od 9 kPa i 45 kPa, povećanje vrednosti *Carr*-ovog indeksa (tabela 4.11) je manje izraženo. Na krivama (slika 4.17b) se uočava zaustavljeno napredovanje kompresibilnosti uzoraka C5 i C9 sa povećanjem sile, što je predstavljeno smanjenjem zakrivljenosti krive.

Uzorci sa poloksamerom 407 pokazuju značajno povećanje vrednosti *Carr*-ovog indeksa (tabela 4.11) s povećanjem primenjene sile. Ovaj fenomen se može uočiti i na slici 4.17b, kao veliki nagib krive za uzorke P5 i P9, što ukazuje na bolju kompresibilnost čvrstih disperzija sa poloksamerom 407.

Sa povećanjem udela oba polimera dolazi do povećanja kompresibilnosti čvrstih disperzija. Krive komprimovanja uzoraka sa istim polimerom, a različitim udelom (1:5 i 1:9) imaju isti trend, što znači da vrsta polimera ima značajnu ulogu u procesu komprimovanja ispitivanih uzoraka čvrstih disperzija. Ipak, udeo polimera utiče na to da su finalne vrednosti *Carr*-ovog indeksa nakon kompresije različite. Uzorak P9 ima najveću kompresibilnost, dok uzorak C5 ima najmanju sposobnost komprimovanja.

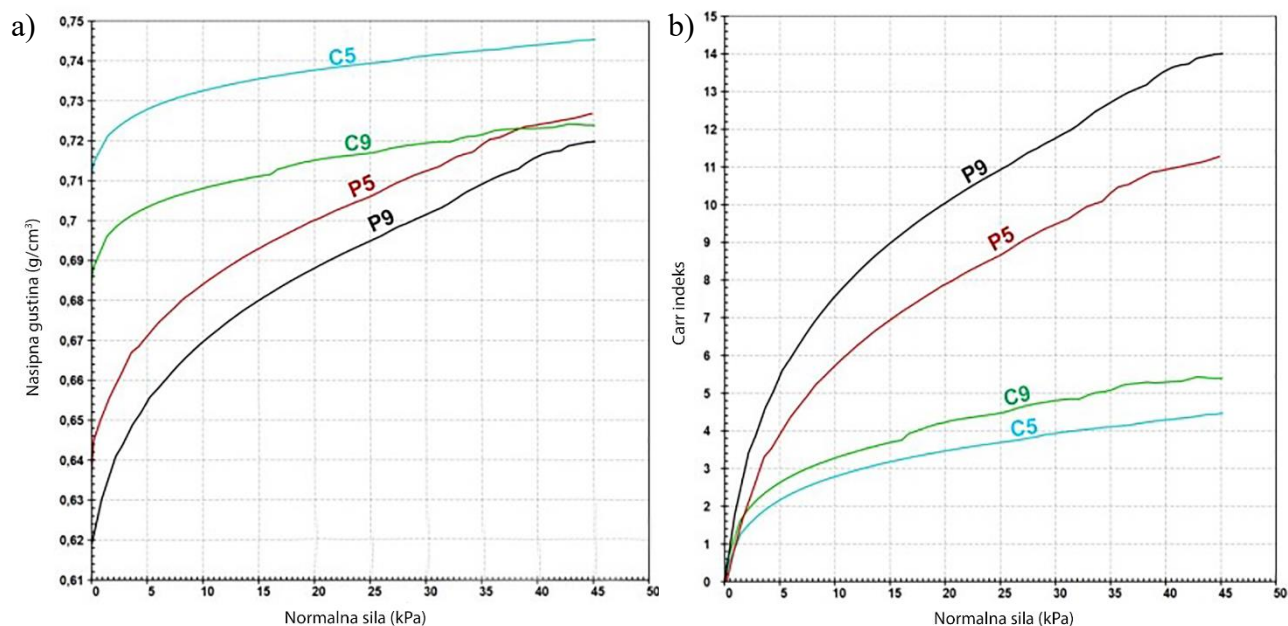
Vrednosti *Hausner*-ovog odnosa za čvrste disperzije sa kopovidonom (C5 i C9) su skoro identične za obe sile kompresije, a udeo polimera nema uticaj na vrednosti ovog parametra. Male razlike u *Hausner*-ovom odnosu uzoraka sa kopovidonom, za sile kompresije od 9 kPa i 45 kPa ukazuju da ove čvrste disperzije ne menjaju značajno svoju strukturu pod uticajem sile kompresije. To ukazuje da se čestice ne sabijaju u velikoj meri, što sugerise da već poseduju dobru početnu gustinu. Sa aspekta protočnosti, vrednosti *Hausner*-ovog odnosa za obe čvrste disperzije i pri svim primenjenim silama bile su manje od 1,11. Prema Ph. Eur. klasifikaciji (tabela 3.3), *Hausner*-ov odnos manji od 1,11 ukazuje na odličnu protočnost.

Čvrste disperzije sa poloksamerom 407 pokazuju blago povećanje *Hausner*-ovog odnosa usled porasta sile kompresije sa 9 kPa na 45 kPa. Uzorak P9 pokazuje nešto više vrednosti ovog parametra (porast vrednosti *Hausner*-ovog odnosa sa 1,08 na 1,16) u poređenju sa P5 (porast vrednosti sa 1,06 na 1,13) (Tabela 4.11). Prema Ph. Eur. ove promene ukazuju na blago smanjenje protočnosti, prelaskom iz odlične (1,00-1,11) u dobru (1,12-1,18) (tabela 3.3).

Na osnovu navedenog, može se zaključiti da sve čvrste disperzije, uprkos promenama tokom kompresije, imaju zadovoljavajuću protočnost za procesuiranje u finalni farmaceutski oblik, s tim da da čvrste disperzije sa poloksamerom 407 imaju nešto lošiju protočnost u poređenju sa čvrstim disperzijama sa kopovidonom.

Ukoliko se uporede vrednosti nasipne gustine, vrednosti *Carr*-ovog indeksa i *Hausner*-ovog odnosa dobijene reološkim merenjima, sa klasičnim merenjem na uređaju za merenje tapkane zapremine (deo 4.2.3) vidljiva je značajna razlika. Vrednosti nasipne gustine, *Carr*-ovog indeksa i *Hausner*-ovog odnosa dobijene reološkim merenjima (tabela 4.11) su značajno manje za sve čvrste disperzije u odnosu na merenja dobijena klasičnom metodom (tabela 4.7). Na osnovu rezultata merenja na uređaju

za određivanje tapkane zapremine, samo je uzorak P5 imao protočnost koja je odgovarala dobroj protočnosti, dok su ostali uzorci imali protočnost koja je prosečna ili prihvatljiva. Kod klasičnog merenja nasipne i tapkane gustine (iz kojih su izračunate vrednosti *Carr*-ovog indeksa i *Hausner*-ovog odnosa) generalno bolju protočnost su imali uzorci sa poloksamerom 407, dok je kod reoloških merenja bolja protočnost dobijena za uzorke sa kopovidonom. Može se pretpostaviti da je razlog za dobijanje različitih rezultata primenom ove dve metode značajan uticaj analitičara u pripremi uzoraka za farmakopejsku analizu. I Ph. Eur. 11.0 navodi da se prilikom merenja nasipne i tapkane gustine mogu dobiti različiti rezultati, u zavisnosti od postupanja s uzorkom prilikom pripreme za analizu, što i jeste nedostatak farmakopejske metode. Merenja na reometru su preciznija i manje zavise od analitičara koji merenja sprovodi (Mariano, 2024).



Slika 4.17. Krive zavisnosti nasipne gustine (a) i Carr-ovog indeksa (b) od primenjene normalne sile (sile kompresije) za uzorke čvrstih disperzija

Na osnovu sprovedenih reoloških ispitivanja može se reći da svi ispitivani uzorci čvrstih disperzija pokazuju sposobnost fluidizacije pri niskim protocima vazduha i imaju zadovoljavajuće reološke karakteristike koje omogućavaju dobru protočnost. Međutim, izbor polimera bi mogao značajno uticati na reološke karakteristike, sile kohezija između čestica, trenje i proticanje materijala tokom procesa proizvodnje. Uzorci sa kopovidonom pokazuju bolju protočnost, imaju niže vrednosti trenja i stabilniji masovni tok iz kontejnera, što ih čini pogodnijim za industrijsku primenu. Nasuprot tome, uzorci sa poloksamerom 407, naročito sa manjim udelom polimera (P5), pokazuju izraženije kohezivne sile, veće trenje i tendenciju ka zaglavljenju tokom proticanja, što može izazvati probleme u proizvodnji. Iako uzorci sa kopovidonom imaju nešto lošiju kompresibilnost, njihova bolja protočnost i manja adhezija čestica čine ih pogodnijim za obradu u finalne farmaceutske oblike, kao što su tablete i kapsule.

4.4. IV faza eksperimentalnog rada

4.4.1. *In silico* modelovanje

4.4.1.1. *In vitro* ispitivanje brzine rastvaranja klopido­grel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija pomoću aparature sa cilindrom sa povratnim kretanjem

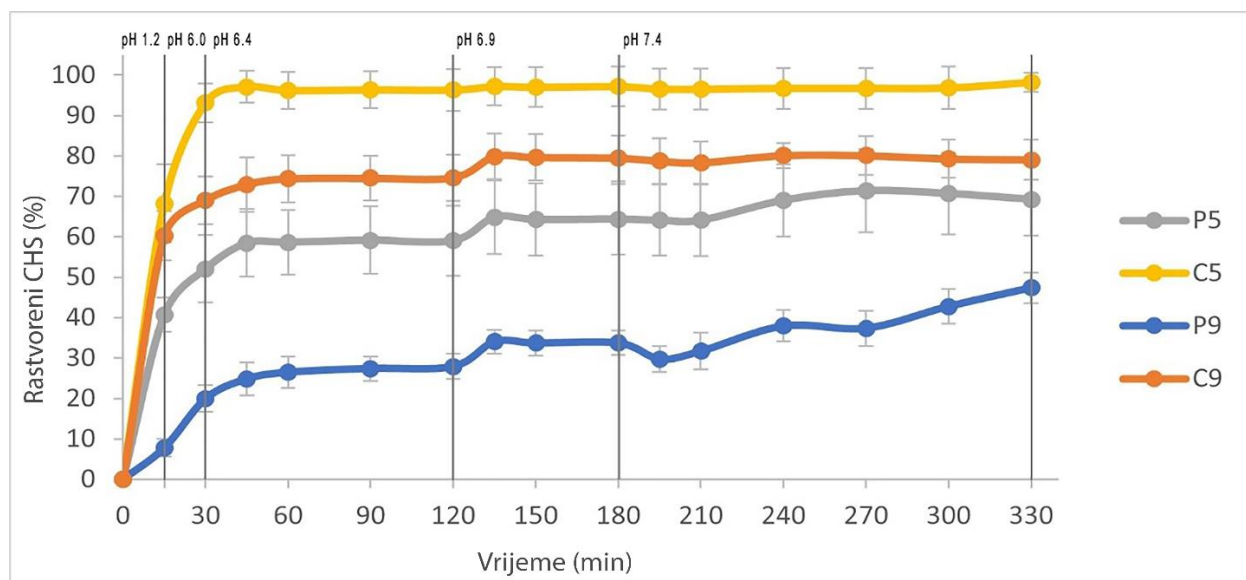
Rezultati *in vitro* ispitivanja brzine rastvaranja klopido­grel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija C5, C9, P5 i P9, pomoću aparature sa cilindrom sa povratnim kretanjem su prikazani na slici 4.18. Na slici se može videti da se klopido­grel-hidrogensulfat brzo i skoro kompletno oslobađa iz uzorka C5 (96,21% nakon 60 minuta). Za isto vreme ispitivanja iz uzoraka C9 i P5 se oslobodi manje aktivne supstance (74,38% i 58,65%). Iz uzorka P9 se nakon 60 minuta oslobodilo samo 26,48% klopido­grel-hidrogensulfata. Razlog ovako niskom procentu oslobođenog klopido­grel-hidrogensulfata je verovatno bubrenje polimera u kontaktu s medijumom što je dovelo do postepenog oslobađanja aktivne supstance. Rezultati ovog ispitivanja su u saglasnosti sa rezultatima ispitivanja rastvorljivosti klopido­grel-hidrogensulfata, što je očekivano s obzirom na pH-zavisnu rastvorljivost aktivne supstance. Na slici 4.18 se vidi da uzorak C5 nakon 60 minuta postiže plato (u medijumu pH 6,4). Kod uzoraka C9 i P5 plato se postiže kasnije, nakon 135 minuta (u pH medijumu pH 6,8). Kod uzorka P9 tokom izmene medijuma dolazi do sporog i postepenog oslobađanja klopido­grel-hidrogensulfata iz čvrste disperzije sa maksimalnom količinom rastvorenog klopido­grel-hidrogensulfata od 47,37% nakon 330 minuta ispitivanja.

Poredeći međusobno uzorke izrađene sa istim polimerom, uočava se da se manja količina aktivne supstance oslobađa iz uzoraka sa većim udelom polimera. Jedan od mogućih razloga za ovakvo ponašanje ispitivanih čvrstih disperzija je što dolazi do bubrenja polimera u kontaktu sa medijumom, formiranja viskoznog sloja oko čestica klopido­grela, usporavanja difuzije i posledično smanjenja količine klopido­grela koja se oslobodi (Maincent i Williams, 2018; Vyas i sar., 2009; Szafraniec i sar., 2018). Vyas i sar. (2009) su pokazali da se s povećanjem udela poloksamera 407 u čvrstoj disperziji sa taladafilom dolazi do smanjenja oslobađanja taladafila iz čvrste disperzije. Čvrste disperzije taladafila i poloksamera 407 su imale odnos aktivna supstanca/polimer 1,0:0,5; 1,0:1,5 i 1,0:2,5. Najveća količina taladafila, 75,3% nakon 15 minuta, se oslobodila iz čvrste disperzije udela 1,0:0,5, dok se najmanja količina aktivne supstance, 52,5% nakon 15 minuta, oslobodila iz čvrste disperzije udela 1,0:2,5. Autori su objasnili da do ovoga dolazi zbog gelirajućih osobina poloksamera 407 pri višim koncentracijama, zbog čega se usporava difuzija aktivne supstance u medijum. Veliki udeo polimera u formulaciji može da smanji oslobađanje aktivne supstance i zbog nastanka međumolekulskih interakcija između aktivne supstance i polimera koje su uzrok smanjene mobilnosti molekula aktivne supstance (Que i sar., 2019; Que i sar., 2021). Određeni rezultati *in vitro* ispitivanja brzine rastvaranja klopido­grela iz čvrstih disperzija pomoću aparature sa cilindrom sa povratnim kretanjem su u suprotnosti sa ranije navedenim rezultatima *in vitro* ispitivanja brzine rastvaranja klopido­grela na aparaturi sa korpicama. Na aparaturi sa korpicama u medijumu pH 6,8 (tabela 4.2, slika 4.2), sa povećanjem udela polimera u čvrstim disperzijama je došlo do povećanja količine oslobođenog klopido­grela. Najveća količina klopido­grel-hidrogensulfata (96,38%, nakon 60 minuta) se oslobodila iz uzorka P9. Za razliku od toga, tokom ispitivanja na aparaturi sa povratnim kretanjem uz izmenu medijuma, iz uzorka P9 se oslobodila najmanja količina klopido­grel-hidrogensulfata (26,48 % nakon 60 minuta).

Volumen medijuma takođe može imati uticaj na rezultate *in vitro* oslobađanja aktivne supstance. Za ispitivanje brzine rastvaranja klopido­grel-hidrogensulfat korišćenjem aparature sa korpicama volumen medijuma je bio 900 ml i tada se iz uzorka P9 oslobodilo najviše klopido­grel-hidrogensulfata u

poređenju sa drugim ispitivanim čvrstim disperzijama. Kod testa sa aparaturom sa cilindrom sa povratnim kretanjem, volumen medijuma je bio 250 ml i iz istog uzorka P9 se oslobodila najmanja količina klopidogetrel-hidrogensulfata. Ovo se može objasniti time da se viskozni gel, koji nastaje bubrenjem poloksamera 407 oko čestica aktivne supstance, lakše rastvori u većoj količini medijuma (Abdeltawab i sar., 2020).

Prikazani rezultati pokazuju da vrsta i udeo polimera, kao i uslovi pod kojima se izvodi test, imaju veliki uticaj na *in vitro* oslobađanje klopidogetrel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija.



Slika 4.18. Komparativni profili brzine rastvaranja klopidogetrel-hidrogensulfata iz odabranih čvrstih disperzija, korišćenjem aparature sa cilindrom sa povratnim kretanjem

Prema vrednostima R^2 koeficijenta determinacije, prikazanim u tabeli 4.12, Higuchi-jev model najbolje opisuje kinetiku oslobađanja klopidogetrel-hidrogensulfata iz uzoraka čvrstih disperzija C5, C9 i P5. Proces oslobađanja klopidogetrela iz ovih uzoraka je kontrolisan procesom difuzije kroz pore nastale u polimeru. Prema ovom modelu, brzina oslobađanja supstance je proporcionalna koncentracionom gradijentu. Kako se aktivna supstanca oslobađa iz matriksa polimera, smanjuje se koncentracioni gradijent i posledično dolazi do usporavanja oslobađanja (Siepmann i Peppas, 2011). Najveća vrednost R^2 koeficijenta determinacije kod uzorka P9 je dobijena za Korsmeyer-Peppas-ov model, tako da ovaj model najbolje opisuje kinetiku oslobađanja klopidogetrel-hidrogensulfata iz uzorka P9. Model se zasniva na činjenicama da se oslobađanje aktivne supstance dešava kombinovanim mehanizmom difuzije i erozije polimera. Koji od mehanizama je dominantno prisutan zavisi od vrednosti eksponenta n , kako je opisano u delu 3.3.3. Za uzorak P9 vrednost eksponenta n je 1,83 (veća od 0,89), što upućuje na to da je glavni mehanizam oslobađanja klopidogetrel-hidrogensulfata iz P9 erozija polimera (Karthikeyan i sar., 2021). Čvrste disperzije sa različitim udelom poloksamera 407 (1:5 i 1:9) imaju različit mehanizam oslobađanja klopidogetrel-hidrogensulfata. Poloksamer 407 u kontaktu sa medijumom bubri stvarajući porozni gel koji omogućava difuziju aktivne supstance što se dešava kod uzorka P5. Kod uzorka P9, sa većim udelom polimera (1:9), nastaje gel jače strukture sa manje pora, pa je dominantan mehanizam oslobađanja klopidogetrel-hidrogensulfata iz ovog uzorka erozija polimera (Abdeltawab i sar., 2020). Navedeni podaci su u saglasnosti sa dobijenim podacima za oslobađanje klopidogetrel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija na aparaturi sa povratnim kretanjem, gde kod uzorka P9 dolazi do sporog i postepenog oslobađanja klopidogetrela iz čvrste disperzije, usled erozije polimera.

Tabela 4.12. Kinetika oslobađanja klopidoigrela-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija korišćenjem aparature sa cilindrom sa povratnim kretanjem

Uzorak	Kinetika 0 reda	Kinetika I reda	Korsmeyer-Peppas model	Higuchi-jev model	Hixson-Crowell model
	R ²	R ²	R ²	n	R ²
C5	0,7141	0,8787	0,9595	1,6856	0,9734
C9	0,6603	0,7728	0,9901	1,5178	0,9984
P5	0,7549	0,8307	0,9742	1,6920	0,9769
P9	0,9304	0,9409	0,9937	1,8339	0,7395

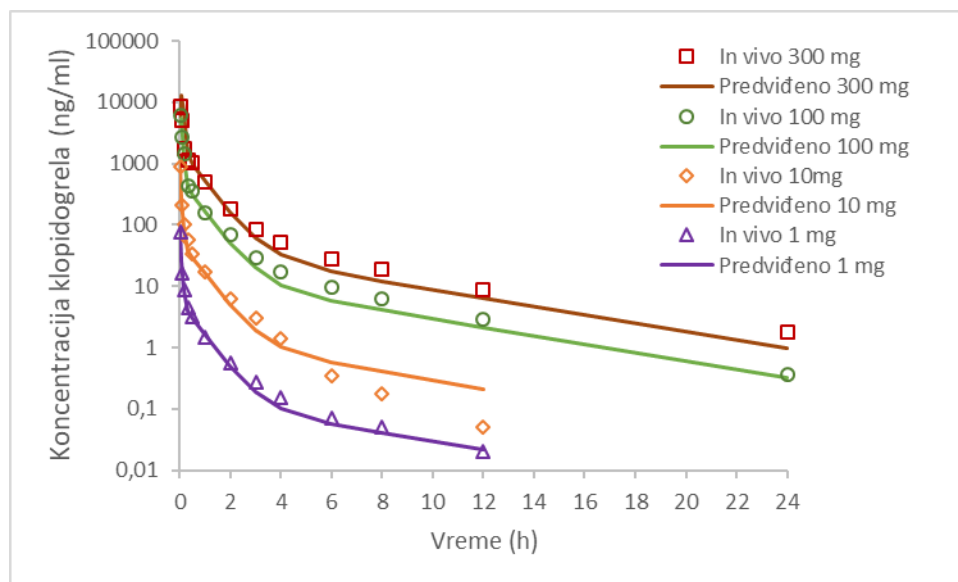
4.4.1.2. Razvoj i validacija PBBM klopidoigrel specifičnog modela

U četvrtoj fazi eksperimentalnog rada razvijen je *in silico* PBBM model za predviđanje apsorpcije i distribucije klopidoigrela nakon peroralne primene čvrstih disperzija. Model je izgrađen za zdravog čoveka, prosečne mase 70 kg, u stanju gladi.

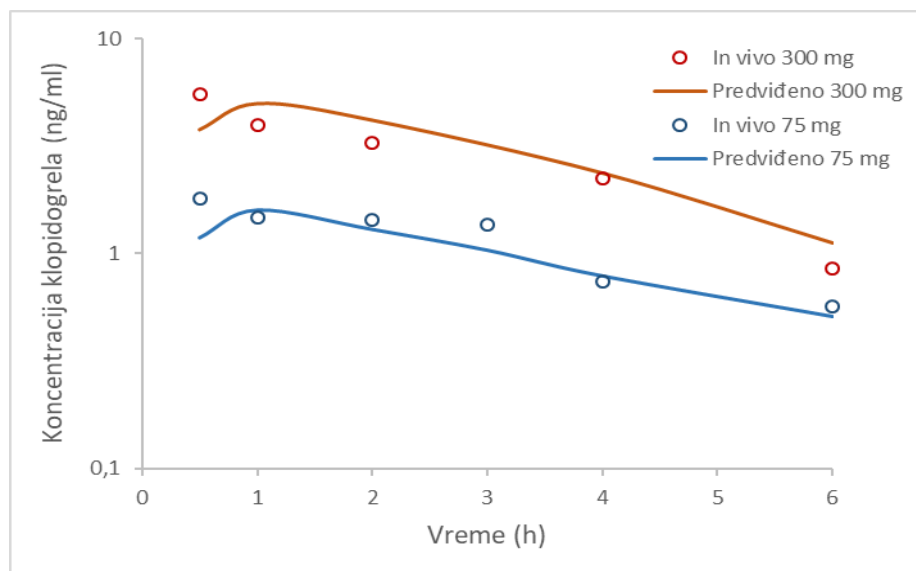
Na osnovu odabranih ulaznih parametara, primenom PKPlus™ modula je utvrđeno da se farmakokinetika klopidoigrela najbolje opisuje troprostornim farmakokinetičkim modelom. Analizom *in vivo* profila koncentracije klopidoigrela u plazmi u toku vremena nakon intravenske primene (Cushing i sar., 2012), pomoću PKPlus™ modula, izračunate su vrednosti farmakokinetičkih parametara (Cl, Vd, $t_{1/2}$, k_{12} , k_{21} , k_{13} i k_{31}) i prikazane u tabeli 3.5. Predviđena vrednost vremena polueliminacije $t_{1/2}$ iznosi 4,4 h i nalazi se u opsegu vrednosti iz literaturnih podataka (3,94 - 5,69 h) (Kim i sar., 2012; Zaid i sar., 2015) što pokazuje da izgrađeni model može da simulira farmakokinetiku klopidoigrela.

U cilju validacije izgrađenog modela, izvršeno je poređenje predviđenih rezultata simulacija sa *in vivo* odabranim vrednostima, kako bi se potvrdila pouzdanost predviđanja modela. Za validaciju su odabrane dve *in vivo* studije. Za intravensku primenu različitih doza klopidoigrela (1 mg, 10 mg, 100 mg u obliku injekcije i 300 mg u obliku infuzije) je odabrana studija Cushing i sar. (2012), dok je za peroralnu primenu (75 mg, 300 mg u obliku tableta sa trenutnim (IR) oslobađanjem) odabrana studija koju su sprovedi Karaźniewicz-Łada i sar. (2014).

Na slikama 4.19 i 4.20 je prikazano poređenje predviđenih profila koncentracije klopidoigrela u plazmi, u funkciji vremena, sa *in vivo* podacima iz odabranih studija. Srednje vrednosti predviđenih i *in vivo* odabranih farmakokinetičkih parametara, koji opisuju obim i brzinu apsorpcije su: maksimalne koncentracije leka u plazmi (C_{max}), vreme za koje se postiže maksimalna koncentracija leka u plazmi (t_{max}), površine ispod krive ($PIK_{0 \rightarrow \infty}$ i $PIK_{0 \rightarrow t}$) (tabele 4.13 i 4.14) i nivo greške FE.



Slika 4.19. Poređenje predviđenih i in vivo odabranih profila koncentracije klopidogetrela u plazmi u funkciji vremena, nakon intravenske primene doza od 1 mg, 10 mg, 100 mg i 300 mg



Slika 4.20. Poređenje predviđenih i in vivo odabranih profila koncentracije klopidogetrela u plazmi u funkciji vremena, nakon peroralne primene doza od 75 mg i 300 mg

Tabela 4.13. Predviđeni i *in vivo* odabrani (Cushing i sar., 2012) farmakokinetički parametri nakon intravenske primene različitih doza klopidoigrela

	Parametar	C _{max} (ng/ml)	t _{max} (h)	PIK _{0→∞} (ng h/ml)	PIK _{0→t} (ng h/ml)
1 mg i.v. injekcija	Predviđeno	188,17	0	11,45	11,31
	<i>In vivo</i>	77,47	0,02	10,80	10,71
	FE	2,42	0	1,06	1,06
10 mg i.v. injekcija	Predviđeno	1881,70	0	114,45	113,08
	<i>In vivo</i>	878,87	0,02	121,41	121,25
	FE	2,14	0	0,94	0,93
100 mg i.v. injekcija	Predviđeno	7884,50	0,067	1144,50	1142,40
	<i>In vivo</i>	6279,60	0,02	1137,60	1135,40
	FE	1,25	3,35	1,01	1,01
300 mg i.v. infuzija	Predviđeno	15000,00	0,13	3433,50	3427,20
	<i>In vivo</i>	8631,40	0,02	2406,50	2393,30
	FE	1,74	3,35	1,43	1,43

Tabela 4.14. Predviđeni i *in vivo* odabrani (Karaźniewicz-Łada i sar., 2014) farmakokinetički parametri nakon peroralne primene različitih doza klopidoigrela

	Parametar	C _{max} (ng/ml)	t _{max} (h)	PIK _{0→∞} (ng h/ml)	PIK _{0→t} (ng h/ml)
75 mg IR tablete	Predviđeno	1,60	0,94	9,43	5,76
	<i>In vivo</i>	1,81	0,50	10,87	6,50
	FE	0,88	1,88	0,87	0,89
300 mg IR tablete	Predviđeno	5,03	0,92	21,32	17,69
	<i>In vivo</i>	5,47	0,50	17,70	15,95
	FE	0,92	1,84	1,20	1,11

Predviđeni profili koncentracije klopidoigrela u plazmi tokom vremena za intravensku primenu su u saglasnosti sa *in vivo* odabranim profilima. Za sve predviđene doze nakon intravenske primene (1 mg, 10 mg, 100 mg i 300 mg) PIK_{0→∞} i PIK_{0→t} greška predviđanja (FE) ima vrednost blisku 1 (tabela 4.13). Ovo ukazuje da predviđeni profili koncentracije klopidoigrela u plazmi u toku vremena dobro opisuju intravensku primenu leka. Predviđene vrednosti za C_{max} za doze 1 mg, 10 mg i 300 mg za oko 2 puta veće u odnosu na *in vivo* odabrane vrednosti, što nije retka pojava kada se radi o intravenskoj primeni lekova (Barbour i Fossler, 2018). Razlike se mogu objasniti time da je došlo do kašnjenja prilikom uzorkovanja krvi, pa su vrednosti za C_{max} manje u odabranoj *in vivo* studiji u odnosu na realno očekivane i predviđene vrednosti.

Predviđeni profili koncentracije klopidoigrela u plazmi tokom vremena nakon peroralne primene tableta sa 75 mg i 300 mg aktivne supstance se takođe slažu sa *in vivo* odabranim profilima iz referentne studije (tabela 4.14). Greška predviđanja je blizu 1, što ukazuje da izgrađeni model dobro opisuje farmakokinetiku klopidoigrela nakon peroralne primene. Dobijeni rezultati pokazuju da je PBBM klopidoigrel-specifičan model uspešno izgrađen i validiran i da se može koristiti za predviđanja apsorpcije i distribucije klopidoigrela nakon primene čvrstih disperzija sa klopidoigrel-hidrogensulfatom.

4.4.1.3. Primena PBBM klopido-grel-specifičnog modela

Izgrađeni PBBM klopido-grel-specifični model je korišćen za predviđanje uticaja faktora formulacije (vrste i udela polimera) na apsorpciju klopido-grela, nakon peroralne primene čvrstih disperzija C5, C9, P5 i P9. Kao dodatan set podataka u model su uključeni *in vitro* profili brzine rastvaranja klopido-grela iz čvrstih disperzija, dobijeni pomoću aparature sa cilindrom sa povratnim kretanjem. Za predviđanje apsorpcije i distribucije klopido-grela za tablete sa trenutnim oslobađanjem (sadrže 75 mg klopido-grela) korišćen je profil brzine rastvaranja generisan od strane softvera.

Predviđeni farmakokinetički parametri za čvrste disperzije i tablete sa trenutnim oslobađanjem su prikazani u tabeli 4.15.

Predviđene C_{max} vrednosti (2,00 ng/ml) za IR tablete dobijene na osnovu GastroplusTM predviđenog profila brzine rastvaranja, su u saglasnosti sa literaturnim podacima za C_{max} nakon primene doze od 75 mg, u kojima se srednja vrednost za klopido-grel nalazi se u opsegu od 2,2-2,5 ng/ml (FDA, 2009). Predviđene vrednosti za C_{max} za sve čvrste disperzije (sadrže 75 mg klopido-grela) (6,0-19,0 ng/ml) su značajno veće u odnosu na vrednosti za IR tablete. Predviđene vrednosti C_{max} za ispitivane čvrste disperzije su značajno veće i od *in vivo* vrednosti C_{max} , nakon peroralne primene 300 mg klopido-grela (5,47 ng/ml) (Karaźniewicz-Łada i sar., 2014). Rezultati predviđanja ukazuju da se za sve ispitivane čvrste disperzije može očekivati povećanje apsorpcije, bioraspoloživosti i ukupne izloženosti leku (što se vidi iz povećanih vrednosti za PIK). U poređenju sa IR tabletama, može se očekivati povećanje apsorpcije, bioraspoloživosti i $PIK_{0 \rightarrow t}$, u opsegu od 57% do 120%, u zavisnosti od formulacije. Najizraženije povećanje vrednosti procenta apsorbovane doze unutar enterocita (F_a), bioraspoloživosti (F_b) i $PIK_{0 \rightarrow \infty}$ i $PIK_{0 \rightarrow t}$ se može očekivati za čvrste disperzije C5 i P9. Za uzorak C5 se može očekivati povećanje F_a i F_b za 120%, dok za uzorak P9 može očekivati povećanje F_a i F_b za 102%, u poređenju sa IR tabletama. Takođe se za vrednosti $PIK_{0 \rightarrow \infty}$ može očekivati povećanje za 72,22% za uzorak C5 i 61,11% za uzorak P9, dok se za vrednosti $PIK_{0 \rightarrow t}$ može očekivati povećanje za 121,43% za uzorak C5 i 100% za uzorak P9. Predviđene vrednosti C_{max} za čvrste disperzije (koje sadrže 75 mg klopido-grela) su mnogo veće od *in vivo* vrednosti dobijenih primenom 300 mg klopido-grela, što je najčešće početna doza u terapiji ovim lekom. Kako je za sve čvrste disperzije predviđeno povećanje vrednosti za apsorpciju, bioraspoloživost i PIK, može se smatrati da bi primena čvrstih disperzija mogla omogućiti smanjenje terapijskih doza i neželjenih efekata primene klopido-grela.

Tabela 4.15. *In silico* predviđeni farmakokinetički parametri za IR tablete i čvrste disperzije

Parametar	IR tablete ¹	C5 ²	C9 ²	P5 ²	P9 ²
F _a (%)	45,385	99,883	80,126	71,330	91,637
F _b (%)	1,585	3,496	2,804	2,497	3,207
C _{max} (ng/ml)	2,00	19,00	15,00	12,00	6,00
t _{max} (h)	0,96	0,56	0,50	0,80	0,80
PIK _{0→∞} (ng h/ml)	18,00	31,00	25,00	22,00	29,00
PIK _{0→t} (ng h/ml)	14,00	31,00	25,00	22,00	28,00
C _{max liver} (ng/ml)	5,00	55,00	42,00	35,00	18,00

F_a- procenat apsorbirane doze (apsorbirane unutar enterocita)

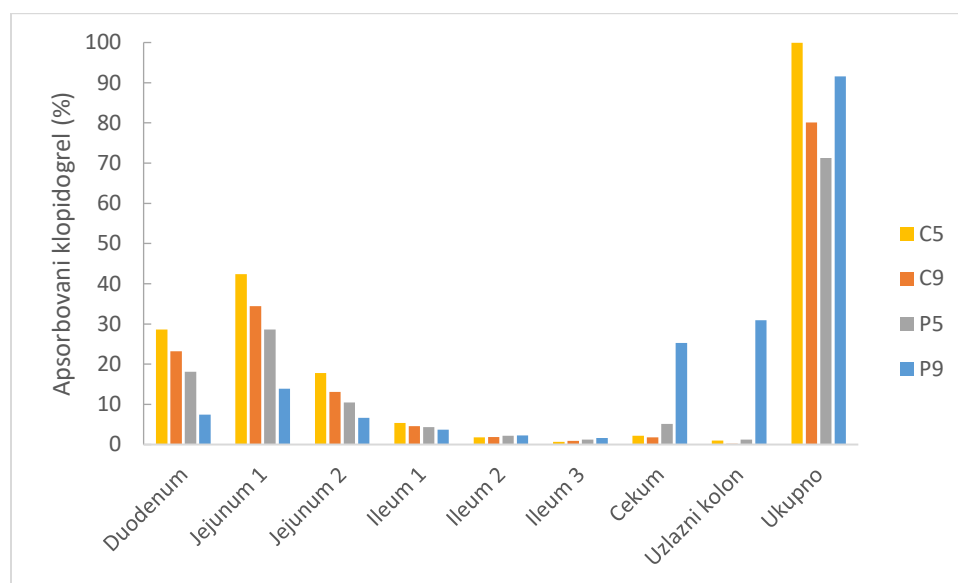
F_b- bioraspoloživost leka

¹predviđene vrednosti na osnovu brzine rastvaranja klopidozola dobijene pomoću softvera (*Johnson-ov model*) (Lu i sar., 1993)

²predviđene vrednosti na osnovu *in vitro* brzina rastvaranja klopidozola iz čvrstih disperzija dobijenih eksperimentalno

Predviđena regionalna apsorpcija klopidozola u GIT (slika 4.21), pokazuje da se najveći deo oslobođene doze iz uzoraka C5, P5 i P9 apsorbirao u duodenumu i jejunumu (88,8%, 57,2% i 70,7%, za uzorke C5, P5 i P9), a manji deo se apsorbirao u distalnim delovima creva i kolonu. Za uzorak P9 apsorpcija se može očekivati celom dužinom creva, uz najveći procenat apsorbirane doze u cekumu i kolonu (56%), što se može pripisati postepenom oslobađanju klopidozola iz ove čvrste disperzije.

Rezultati predviđanja su pokazali da se iz uzorka C5 apsorbirao najveći procenat doze, skoro 100%, što je u skladu sa rezultatima *in vitro* ispitivanja brzine rastvaranja na aparaturi sa cilindrom sa povratnim kretanjem, gde se najveći procenat klopidozola oslobodio iz ovog uzorka. Za uzorak C5, u poređenju sa IR tabletama, može se očekivati i najveća bioraspoloživost klopidozola. Visoka predviđena vrednost bioraspoloživosti za uzorak P9 se može objasniti činjenicom da doza apsorbirana u donjim delovima GIT ne podleže metabolizmu prvog prolaza. Ovo potvrđuje i najmanje vrednosti za maksimalnu koncentraciju klopidozola u jetri C_{max liver} od 18 ng/ml, za uzorak P9 (tabela 4.15) u poređenju sa drugim čvrstim disperzijama (tabela 4.15). Zbog jako intenzivnog metabolizma klopidozola, što je jedan od razloga velikih inter-individualnih razlika u terapijskom odgovoru na klopidozol (Alfredsson i sar., 2019; Brown i sar., 2018), primenom čvrste disperzije P9 bi se mogao smanjiti presistemski metabolizam u jetri, što bi moglo potencijalno uticati na smanjenje varijacija u terapiji klopidozalom. Na osnovu rezultata predviđanja regionalne apsorpcije klopidozola u GIT-u može se reći da bi cekum i kolon mogli biti ciljno mesto za oslobađanje klopidozola iz formulacija, što bi moglo uticati na povećanje apsorpcije i bioraspoloživosti ove aktivne supstance. U literaturi su zabeleženi podaci da se kroz različite formulacione pristupe postigne produženo oslobađanje klopidozola, u cilju poboljšanja terapijskog odgovora i smanjenja neželjenih efekata (Jiangui i sar., 2008; Patel i sar., 2007, Tan i Degim, 2012). Ipak, mora se istaći da je ovo prvi put da se koristi kombinovani *in vitro-in silico* pristup za razvoj i optimizaciju formulacija čvrstih disperzija sa klopidozalom. Rezultati ovih istraživanja su ukazali na važnost izbora vrste i udela hidrofilnih polimera u čvrstim disperzijama za farmakokinetičke osobine i bioraspoloživost klopidozola.



Slika 4.21. *Predviđena regionalna apsorpcija klopidoğrela u GIT nakon peroralne primene odabranih čvrstih disperzija*

ZAKLJUČAK

5. ZAKLJUČAK

U okviru ove doktorske disertacije sprovedena su istraživanja sa ciljem formulacije i izrade, kao i farmaceutsko-tehnološke i biofarmaceutske karakterizacije čvrstih disperzija sa slabo rastvorljivom aktivnom supstancom klopidoget-hidrogensulfatom. Na osnovu rezultata sprovedenih istraživanja doneti su sledeći zaključci:

Zaključak I faze eksperimentalnog rada

Rezultati ispitivanja rastvorljivosti klopidoget-hidrogensulfata su pokazali pH-zavisnu rastvorljivost. Rastvorljivost aktivne supstance (268,750 mg/ml, 0,055 mg/ml i 0,016 mg/ml u medijumima pH vrednosti 1,2; 4,5 i 6,8), opada sa porastom pH vrednosti.

Formulisane su i izrađene čvrste disperzije sa različitim vrstama (kopovidon, makrogol 6000, poloksamer 407 i povidon K30) hidrofilnih polimera. Udeo aktivna supstanca/polimer u izrađenim čvrstim disperzijama bio je (1:1, 1:2, 1:3, 1:5 i 1:9). Za izradu je korišćenja metoda rastvaranja uz etanol, 96% (V/V), kao rastvarač.

Formulacijom čvrstih disperzija postignuto je značajno *in vitro* povećanje količine rastvorenog klopidoget-hidrogensulfata (od 43,72% do 96,38%), u poređenju sa aktivnom supstancom (32,20%), odgovarajućim fizičkim smešama (od 22,31% do 50,45%) i komercijalnim tabletama (37,74%). Najveći procenat klopidoget-hidrogensulfata (96,38%) rastvorio se iz čvrste disperzije sa poloksamerom 407, pri udelu aktivna supstanca/polimer 1:9.

Za dalju karakterizaciju odabrane su čvrste disperzije sa kopovidonom, makrogolom 6000 i poloksamerom 407, pri udelima aktivna supstanca/polimer 1:5 i 1:9, jer su omogućile rastvaranje više od 80% klopidoget-hidrogensulfata, nakon 60 minuta.

Zaključak II faze eksperimentalnog rada

DSC, FT-IR i PXRD metodama potvrđeno je prisustvo klopidoget-hidrogensulfata u amorfnom obliku, što znači da je formulacija čvrstih disperzija omogućila prelazak aktivne supstance iz kristalnog u amorfni oblik.

Sadržaj klopidogeta u ispitivanim čvrstim disperzijama inicijalno je bio u opsegu 96,13% do 99,93%, što odgovara zahtevima ICH smernice ($\pm 5\%$).

Rezultati DSC, FT-IR i PXRD merenja i određivanja sadržaja aktivne supstance u čvrstim disperzijama nakon 12 meseci skladištenja uzoraka pod kontrolisanim uslovima ($25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, vlažnost vazduha $60\% \pm 5\%$), ukazali su na njihovu dobru stabilnost. Na dobru stabilnost čvrstih disperzija sa kopovidonom i poloksamerom 407 ukazalo je i *in vitro* ispitivanje brzine rastvaranja aktivne supstance nakon 12 meseci skladištenja. Međutim, rezultati *in vitro* brzine rastvaranja klopidoget-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija sa makrogolom 6000 su pokazali da je nakon 12 meseci došlo je do velikog smanjenja količine rastvorenog klopidoget-hidrogensulfata (od 94,02% na 65,1%, za uzorak M5 i od 92,01% na 49,62% za uzorak M9). Ovi rezultati su ukazali na neprihvatljivu stabilnost, odnosno na neprihvatljiv kvalitet čvrstih disperzija sa makrogolom 6000, pri odnosima aktivna supstanca/polimer 1:5 (M5) i 1:9 (M9). Može se smatrati da su razlog nestabilnosti ovih uzoraka strukturne promene makrogola 6000, koje su se desile tokom jednogodišnjeg skladištenja.

Matematičko modelovanje kinetike oslobađanja klopidoget-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija nakon izrade je pokazalo da *Korsmeyer-Peppas*-ov model najbolje opisuje oslobađanje aktivne supstance. Vrednosti *Korsmeyer-Peppas*-ovog eksponenta n (1,8268 -1,9614) ukazuju da mehanizam oslobađanja odgovara „super slučaju II transporta“, kod kojeg je dominantan mehanizam oslobađanja ubrzano

bubrenje i erozija polimera. *Korsmeyer-Peppas*-ov model je najbolje opisivao i mehanizam oslobađanja klopido-grel-hidrogensulfata iz čvrstih disperzija sa poloksamerom 407 i kopovidonom nakon 12 meseci skladištenja. Međutim, za uzorke čvrstih disperzija sa makrogolom 6000, nakon 12 meseci skladištenja, dobijene su gotovo iste vrednosti koeficijenta determinacije R^2 za dva modela, *Higuchi*-jev (0,9714 za M5; 0,9193 za M9) i *Korsmeyer-Peppas*-ov model (0,9713 za M5; 0,9163 za M9). *Higuchi*-jev model opisuje mehanizam oslobađanja aktivne supstance zasnovan na principima *Fick*-ove difuzije, što znači da se aktivna supstanca oslobađa kontrolisano kroz pore nastale u polimeru.

Zaključak III faze eksperimentalnog rada

U trećoj fazi istraživanja ispitivane su karakteristike čvrstih disperzija prihvatljive stabilnosti (sa kopovidonom i poloksamerom 407, sa udelima aktivna supstanca/polimer 1:5 i 1:9) značajne za njihovu dalju obradu u finalni farmaceutski oblik (tablete i kapsule).

Sitana analiza je pokazala široku raspodelu veličina čestica, sa najzastupljenijom frakcijom (30% - 35%) veličina od 355 μm do 500 μm . Rezultati laserske difrakcije su pokazali da su čvrste disperzije sa kopovidonom imale 90% čestica < 350 μm , a čvrste disperzije sa poloksamerom 407 imale 90% čestica < 370 μm . *Span* vrednost (3,08-3,52) je ukazivala na široku raspodelu veličina čestica. Udeo polimera nije imao veliki uticaj na raspodelu veličina čestica čvrstih disperzija.

Kod čvrstih disperzija sa kopovidonom, sa povećanjem udela polimera, došlo je do povećanja nasipne i tapkane gustine, dok povećanje udela poloksamera 407 nije imalo većeg uticaja na ove parametre. Vrednosti stvarne gustine nisu zavisile od udela polimera i bile su bliske za sve ispitivane čvrste disperzije (1,220 g/cm^3 - 1,247 g/cm^3). Najbolju protočnost (na osnovu vrednosti *Carr*-ovog indeksa i *Hausner*-ovog odnosa) je imala čvrsta disperzija sa poloksamerom 407 (1:5). Povećanje udela kopovidona je imalo pozitivan uticaj na protočnost čvrstih disperzija, dok je povećanje udela poloksamera 407 imalo suprotan efekat.

Na porozitet čvrstih disperzija (0,43% - 0,57%) nije značajno uticala vrsta i udeo polimera.

Čvrste disperzije sa kopovidonom su imale veći sadržaj vlage (2,86% za C5 i 1,44% za C9), u poređenju sa čvrstim disperzijama sa poloksamerom 407 (0,43% za P5 i 0,40% za P9).

Na osnovu rezultata merenja zapreminskog protoka vazduha potrebnog za fluidizaciju čestica čvrstih disperzija može se zaključiti da svi uzorci imaju sposobnost fluidizacije pri niskim vrednostima protoka vazduha (5,6 l/min - 6,5 l/min). Vreme potrebno da se čestice slegnu nakon fluidizacije bilo je kratko za sve ispitivane uzorke (1,05 s – 2,80 s).

Sve ispitivane čvrste disperzije su ispoljile ne-njutnovsko pseudoplastično proticanje, pri čemu se prividni viskozitet smanjivao sa povećanjem protoka vazduha i sile smicanja. Kod svih uzoraka je u određenim uslovima (protoka vazduha i sile smicanja) zabeleženo povećanje viskoziteta i pojava tzv. „zaglavljene stanja“, što može nepovoljno uticati na proticanje i dovesti do začepljenja u opremi tokom procesa proizvodnje.

Uzorak sa nižim udelom poloksamera 407 (P5) je imao najveće vrednosti osnovne energiju proticanja (624 mJ) i specifične energije (75,6 mJ/g), što ukazuje da su u ovom uzorku najveće sile kohezije između čestica. Na osnovu vrednosti osnovne energije proticanja (472 mJ za C5 i 460 mJ za C9) i specifične energije (56,5 mJ/g za C5 i 57,5 mJ/g za C9) može se smatrati da čvrste disperzije sa kopovidonom imaju dobru protočnost. Uzorak C5 teži ka blagom komprimovanju (SI indeks > 1), dok uzorci C9, P5 i P9 imaju tendenciju da blago povećaju zapreminu (SI indeks < 1).

Uzorak P9 pokazuje najveće vrednosti parametara trenja (ugao krive proticanja uzorka duž zida $33,8^\circ$, srednji ugao trenja $34,1^\circ$, koeficijent trenja 0,72). Neznatno manje vrednosti parametara trenja su dobijene za uzorak P5 (ugao krive proticanja $31,3^\circ$; srednji ugao trenja $32,6^\circ$, koeficijent trenja 0,70). Uzorci sa kopovidonom su imali niže vrednosti parametara trenja, koji su bili identični, bez obzira na udeo polimera u formulaciji (ugao krive proticanja $10,6^\circ$; srednji ugao trenja $13,4^\circ$, koeficijent trenja 0,26). Ovi rezultati ukazuju na bolju protočnost uzoraka sa kopovidonom, u poređenju sa uzorcima sa poloksamerom 407.

Adhezija čestica za zidove uređaja bila je najveća za uzorak P5 (526,6 Pa), dok je uzorak P9 imao najmanju vrednost adhezije (355,1 Pa). Udeo polimera u čvrstim disperzijama sa kopovidonom nije imao uticaja na vrednosti adhezije (441,5 Pa, u oba slučaja).

Uzorci sa kopovidonom se kreću tzv. masovnim protokom iz kontejnera, dok se uzorci sa poloksamerom 407 kreću samo kroz centralni deo kontejnera, što bi moglo dovesti do problema u proizvodnji.

Rezultati reološkog merenja kompresibilnosti ukazuju da najmanju nasipnu gustinu, pre primene sile kompresije, ima uzorak P5 (0,645 g/ml), a najveću uzorak C5 (0,712 g/ml). Vrednosti nasipne gustine nakon primene sile kompresije su bile slične za uzorke C9, P5 i P9 (0,724 g/ml, 0,727 g/ml i 0,720 g/ml), dok je uzorak C5 imao neznatno veću vrednost nasipne gustine (0,745 g/ml).

Svi uzorci su imali dobru protočnost, bez obzira na primenjenu silu kompresije. Na osnovu vrednosti Carr-ovog indeksa i Hausner-ovog odnosa, dobijenih reološkim merenjima, može se zaključiti da uzorci sa kopovidonom imaju nešto bolju protočnost, a lošiju kompresibilnost, u odnosu na uzorke sa poloksamerom 407.

Zaključak IV faze eksperimentalnog rada

U četvrtoj fazi eksperimentalnog rada je izgrađen klopidogrel-specifični PBBM model, u cilju procene apsorpcije, distribucije i bioraspoloživosti klopidogrela nakon peroralne primene čvrstih disperzija. Poređenjem predviđenih i odabranih vrednosti farmakokinetičkih parametara za klopidogrel iz *in vivo* studija procenjeno je da vrednosti $PIK_{0 \rightarrow \infty}$ i $PIK_{0 \rightarrow t}$ (za intravensku primenu) i vrednosti maksimalne koncentracija u plazmi (C_{max}), $PIK_{0 \rightarrow \infty}$ i $PIK_{0 \rightarrow t}$ (za peroralnu primenu) za klopidogrel, imaju nivo greške predviđanja blisku vrednosti 1, što je ukazivalo da je klopidogrel-specifični PBBM model uspešno razvijen i validiran.

Rezultati *in vitro* ispitivanja brzine rastvaranja klopidogrela iz čvrstih disperzija dobijeni pomoću aparature sa cilindrom sa povratnim kretanjem su pokazali da se klopidogrel brzo i skoro kompletno oslobađa iz uzorka C5 (96,21% nakon 60 minuta), dok se za isto vreme iz uzorka P9 oslobodilo samo 26,48% klopidogrela. Povećanje udela polimera (kopovidona i poloksamera 407) uticalo je na smanjenje brzine oslobađanja klopidogrela.

Higuchi-jev model ($R^2 > 0,97$) je najbolje opisivao kinetiku oslobađanja klopidogrela iz čvrstih disperzija C5, C9 i P5, te se može smatrati da je proces oslobađanja klopidogrela iz ovih formulacija kontrolisan procesom difuzije kroz pore nastale u polimeru. Korsmeyer-Peppas-ov model najbolje opisuje kinetiku oslobađanja klopidogrela iz uzorka P9 ($R^2 > 0,94$), pa se može smatrati da je glavni mehanizam oslobađanja klopidogrela iz ovog uzorka erozija polimera ($n = 1,83$).

Rezultati *in silico* predviđanja ukazuju da se za sve ispitivane čvrste disperzije može očekivati povećanje apsorpcije, bioraspoloživosti i $PIK_{0 \rightarrow t}$, u opsegu od 57% do 120%, u poređenju sa tabletama sa trenutnim oslobađanjem. Najveće povećanje bioraspoloživosti, se može očekivati za formulaciju C5 (3,496%) i P9 (3,207%), što je povećanje za 120% za C5 i 102% za C9, u poređenju sa tabletama sa

trenutnim oslobađanjem. Visoka predviđena vrednost bioraspoloživosti za uzorak P9 se može objasniti pretpostavkom da doza apsorbovana u donjim delovima GIT ne podleže metabolizmu prvog prolaza ($C_{\max \text{ liver}}$ 18 ng/ml) što bi moglo uticati na smanjenje izraženih varijacija u terapiji klopidogetrelom.

Predviđena regionalna apsorpcija klopidogetrela u GIT pokazuje da se najveći deo oslobođene doze iz uzoraka C5, P5 i P9 apsorbovao u duodenumu i jejunumu (88,8%, 57,2%, 70,7%), a manji deo u distalnim delovima creva i kolonu. Za uzorak P9 apsorpcija se može očekivati celom dužinom creva, uz najveći procenat apsorbovane doze u cekumu i kolonu (56%). Na osnovu ovih rezultata može se konstatovati da bi cekum i kolon mogli biti ciljno mesto za oslobađanje klopidogetrela iz formulacije, što bi moglo uticati na povećanje apsorpcije i bioraspoloživosti klopidogetrela.

Na osnovu sprovedenih istraživanja, kao generalni zaključak ove doktorske disertacije može se istaći da se sa hidrofilnim polimerima, kopovidonom i poloksamerom 407, pri odnosima aktivna supstanca/polimer 1:5 i 1:9, mogu uspešno izraditi čvrste disperzije sa klopidogetrel-hidrogensulfatom dobre dugotrajne stabilnosti, koje omogućavaju povećanje brzine rastvaranja aktivne supstance. Na osnovu rezultata farmaceutske-tehnološke karakterizacije, odabrane čvrste disperzije se mogu koristiti za dalju obradu u finalne farmaceutske oblike. Rezultati in silico modelovanja su pokazali da se može očekivati povećanje apsorpcije i bioraspoloživosti klopidogetrela iz čvrstih disperzija za više od 100%, u poređenju sa tabletama sa trenutnim oslobađanjem, što bi moglo dovesti do smanjenja terapijske doze, kao i do smanjenja neželjenih efekata primene klopidogetrela.

LITERATURA

6. LITERATURA

- Abdeltawab H, Svirskis D, Sharma M. Formulation strategies to modulate drug release from poloxamer based in situ gelling systems. *Expert Opin Drug Deliv.* 2020; 17(4): 495-509.
- Adibkia K, Ghajar S, Osouli-Bostanabad K, Balaei N, Emami S, Barzegar-Jalali M. Novel Gliclazide Electrospayed Nano-Solid Dispersions: Physicochemical Characterization and Dissolution Evaluation. *Adv Pharm Bull.* 2019; 9(2): 231-240.
- Ahmed MM, Anwer MK, Soliman GA, Aldawsari MF, Mohammed AA, Alshehri S, Ghoneim MM, Alali AS, Alshetali A, Alalaiwe A, Bukhari SI, Zafar A. Application of hydrophilic polymers for the preparation of tadalafil solid dispersions: micromeritics properties, release and erectile dysfunction studies in male rats. *PeerJ.* 2022; 10: e13482.
- Aisford S, Saunders M. *Essential of Pharmaceutical Preformulation.* Oxford: Wiley-Blackwell, 2012.
- Aleti SR, Rangaraju D, Kant A, Shankraiah MM, Venkatesh JS, Rao RN, Nagesh C. Solubility and dissolution enhancement of cefixime using natural polymer by solid dispersion technique. *Int J Res Pharm Chem.* 2011; 1:283-288.
- Alfredsson J, Swahn E, Gustafsson KM, Janzon M, Jonasson L, Logander E, Nilsson L, Lindahl TL. Individual long-term variation of platelet reactivity in patients with dual antiplatelet therapy after myocardial infarction. *Platelets.* 2019; 30(5): 572-578.
- Ali B, Khan A, Alyami HS, Ullah M, Wahab A, Badshah M, Naz A. Evaluation of the effect of carrier material on modification of release characteristics of poor water soluble drug from liquisolid compacts. *PLoS One.* 2021; 16(8): e0249075.
- Alladi S, Nalini S. Preparation, physico chemical characterization of solid dispersion of tenoxicam with poloxamer. *J Pharm Sci Technol.* 2010; 20: 308-301.
- Allahham A, Stewart P. Enhancement of the dissolution of indomethacin in interactive mixtures using added fine lactose. *Eur J Pharm Biopharm.* 2007; 67: 732-742.
- Almansour K, Alfagih IM, Shalash AO, Brockbank K, Ali R, Freeman T, Elsayed MMA. Insights into the potential of rheological measurements in development of dry powder inhalation formulations. *Int J Pharm.* 2022; 614: 121407.
- Almeida H, Teixeira N, Sarmiento B, Vasconcelos T. Freeze-drying cycle optimization of an amorphous solid dispersion of resveratrol. *Eur J Pharm Sci.* 2024; 200: 106855.
- Almoazen H, Felton L. *Remington: Essentials of Pharmaceutics.* Pharmaceutical Press; 2013.
- Alopaus JF, Hagesæther E, Tho I. Micellisation Mechanism and Behaviour of Soluplus® Furosemide Micelles: Preformulation Studies of an Oral Nanocarrier-Based System. *Pharmaceuticals (Basel).* 2019; 12(1): 15.
- Alshehri S, Imam SS, Hussain A, Altamimi MA, Alruwaili NK, Alotaibi F, Alanazi A, Shakeel F. Potential of solid dispersions to enhance solubility, bioavailability, and therapeutic efficacy of poorly water-soluble drugs: newer formulation techniques, current marketed scenario and patents. *Drug Deliv.* 2020; 27(1): 1625-1643.
- Altaani B, Obaidat R, Malkawi W. Enhancement of dissolution of atorvastatin through preparation of polymeric solid dispersions using supercritical fluid technology. *Res Pharm Sci.* 2020;15(2): 123-136.
- Anand O, Pepin XJH, Kolhatkar V, Seo P. The Use of Physiologically Based Pharmacokinetic Analyses-in Biopharmaceutics Applications - Regulatory and Industry Perspectives. *Pharm Res* 2022; 39: 1681-1700.
- Ankus E, Price SJ, Ukoumunne OC, Hamilton W, Bailey SER. Cancer incidence in patients with a high normal platelet count: a cohort study using primary care data. *Fam Pract.* 2018; 35(6): 671-675.
- Annepogu H, Ahad HA, Nayakanti D. Determining the Best Poloxamer Carrier for Thiocolchicoside Solid Dispersions. *Turk J Pharm Sci.* 2020; 17(4): 372-380.

- Antosik-Rogóż A, Szafraniec-Szczęsny J, Chmiel K, Knapik-Kowalczyk J, Kurek M, Gawlak K, Danesi VP, Paluch M, Jachowicz R. How Does the CO₂ in Supercritical State Affect the Properties of Drug-Polymer Systems, Dissolution Performance and Characteristics of Tablets Containing Bicalutamide? *Materials* (Basel). 2020; 13(12): 2848.
- Assinger A, Schrottmaier WC, Salzmann M, Rayes J. Platelets in Sepsis: An Update on Experimental Models and Clinical Data. *Front Immunol*. 2019; 10: 1687.
- Attia MS, Hasan AA, Ghazy FES, Gomaa E. Solid Dispersion as a Technical Solution to Boost the Dissolution Rate and Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs. *Indian J Pharm Educ Res*. 2021; 55(2s): 327-339.
- Awad A, Fina F, Trenfield SJ, Patel P, Goyanes A, Gaisford S, Basit AW. 3D Printed Pellets (Miniprintlets): A Novel, Multi-Drug, Controlled Release Platform Technology. *Pharmaceutics*. 2019; 11(4):148.
- Awad A, Trenfield SJ, Gaisford S, Basit AW. 3D printed medicines: A new branch of digital healthcare. *Int J Pharm*. 2018; 548(1):586-596.
- Bachmaier RD, Monschke M; Faber T, Krome AK, Pellequer Y, Stoyanov E, Lamprecht A, Wagner KG. In vitro and in vivo assessment of hydroxypropyl cellulose as functional additive for enabling formulations containing itraconazole. *Int J Pharm X*. 2021; 3: 100076.
- Baghel S, Cathcart H, O' Reilly NJ. Understanding the generation and maintenance of supersaturation during the dissolution of amorphous solid dispersions using modulated DSC and ¹H NMR. *Int J Pharm*. 2018; 536(1): 414-425.
- Baghel S, Cathcart H, O'Reilly NJ. Polymeric Amorphous Solid Dispersions: A Review of Amorphization, Crystallization, Stabilization, Solid-State Characterization, and Aqueous Solubilization of Biopharmaceutical Classification System Class II Drugs. *J Pharm Sci*. 2016; 105(9): 2527-2544.
- Balaci T., Velescu B., Karamelas O., Musuc A.M., Nitulescu G.M., Ozon E.A., Nitulescu G., Gird C.E., Fita C., Lupuliasa D. Physico-Chemical and Pharmaco-Technical Characterization of Inclusion Complexes Formed by Rutoside with beta-Cyclodextrin and Hydroxypropyl-beta-Cyclodextrin Used to Develop Solid Dosage Forms. *Processes*. 2021; 9:26.
- Barbour AM, Fossler MJ. Infusions Are the Optimal Dosing Method in Intravenous ADME Studies Rather Than Bolus Dosing. *J Clin Pharmacol*. 2018, 58(1): 25–28.
- Barghi L, Vekalati A, Jahangiri A. Stability-Enhanced Ternary Solid Dispersions of Glyburide: Effect of Preparation Method on Physicochemical Properties. *Adv Pharmacol Pharm Sci*. 2023; 2023: 2641153.
- BASF, Technical information for Kolliphor® P 407. Date of revision: November 2020. Dostupno na: <https://pharma.basf.com/products/kolliphor-p-407-geismar> (zadnji pristup sajtu: 19.01.2025.)
- Baumgartner A, Dobaj N, Planinšek O. Investigating the Influence of Processing Conditions on Dissolution and Physical Stability of Solid Dispersions with Fenofibrate and Mesoporous Silica. *Pharmaceutics*. 2024; 16(5): 575.
- Bechtold MK, Packaeuser CB, Fastnacht KM, Liepold BH, Steitz B, Cahill JK, Lennon KJ. Immediate release pharmaceutical formulation of 4-[3-(4-cyclopropanecarbonyl-piperazine-1-carbonyl)-4-fluoro-benzyl]-2H-phthalazin-1-one. U.S. Patent 8 475 842, 2013.
- Bennett-Lenane H, O'Shea JP, O'Driscoll CM, Griffin BT. A Retrospective Biopharmaceutical Analysis of >800 Approved Oral Drug Products: Are Drug Properties of Solid Dispersions and Lipid-Based Formulations Distinctive? *J Pharm Sci*. 2020; 109: 3248-3261.
- Bermejo M, Hens B, Dickens J, Mudie D, Paixão P, Tsume Y, Shedden K, Amidon GL. A Mechanistic Physiologically-Based Biopharmaceutics Modeling (PBBM) Approach to Assess the In Vivo Performance of an Orally Administered Drug Product: From IVIVC to IVIVP. *Pharmaceutics*. 2020; 12(1): 74.
- Bertoni S, Albertini B, Passerini N. Different BCS Class II Drug-Gelucire Solid Dispersions Prepared by Spray Congealing: Evaluation of Solid State Properties and In Vitro Performances. *Pharmaceutics*. 2020; 12(6): 548.

- Bhattiprolu AK, Kollipara S, Ahmed T, Boddu R, Chachad S. Utility of Physiologically Based Biopharmaceutics Modeling (PBBM) in Regulatory Perspective: Application to Supersede f2, Enabling Biowaivers & Creation of Dissolution Safe Space. *J Pharm Sci.* 2022; 111(12): 3397-3410.
- Bhujbal SV, Mitra B, Jain U, Gong Y, Agrawal A, Karki S, Taylor LS, Kumar S, Tony Zhou Q. Pharmaceutical amorphous solid dispersion: A review of manufacturing strategies. *Acta Pharm Sin B.* 2021; 11(8): 2505-2536.
- Bindhani S, Mohapatra S. Recent approaches of solid dispersion: a new concept toward oral bioavailability. *Asian J Pharm Clin Res.* 2018; 11: 72-78.
- Biswal S, Sahoo J, Murthy PN, Giradkar RP, Avari JG. Enhancement of dissolution rate of gliclazide using solid dispersions with polyethylene glycol 6000. *AAPS PharmSciTech.* 2008; 9(2): 563-570.
- Bley H, Fussnegger B, Bodmeier R. Characterization and stability of solid dispersions based on PEG/polymer blends. *Int J Pharm.* 2010; 390(2): 165-173.
- Bolourchian N, Mahboobian MM, Dadashzadeha S. The Effect of PEG Molecular Weights on Dissolution Behavior of Simvastatin in Solid Dispersions. *Iran J Pharm Res.* 2013;12: 11-20.
- Bookwala M, Buckner IS, Wildfong PLD. Implications of Coexistent Halogen and Hydrogen Bonds in Amorphous Solid Dispersions on Drug Solubility, Miscibility, and Mobility. *Mol Pharm.* 2022; 19(11): 3959-3972.
- Borde S, Paul SK, Chauhan H. Ternary solid dispersions: classification and formulation considerations. *Drug Dev Ind Pharm.* 2021; 47(7): 1011-1028.
- Brown E, Jaeger HM. Dynamic jamming point for shear thickening suspensions. *Physical review letters.* 2009; 103: 8.
- Brown SA, Pereira N. Pharmacogenomic Impact of CYP2C19 Variation on Clopidogrel Therapy in Precision Cardiovascular Medicine. *J Pers Med.* 2018; 8(1): 8.
- Browne E, Charifou R, Worku ZA, Babu RP, Healy AM. Amorphous solid dispersions of ketoprofen and poly-vinyl polymers prepared via electrospraying and spray drying: A comparison of particle characteristics and performance. *Int J Pharm.* 2019; 566: 173-184.
- Browne E, Worku ZA, Healy AM. Physicochemical Properties of Poly-vinyl Polymers and Their Influence on Ketoprofen Amorphous Solid Dispersion Performance: A Polymer Selection Case Study. *Pharmaceutics.* 2020; 12(5): 433.
- Brubaker J, Moghtadernejad. A Comprehensive Review of the Rheological Properties of Powders in Pharmaceuticals. *Powders.* 2024; 3(2): 233-254.
- Brümmer H. Particle characterisation in excipients, drug products and drug substances. *Tec Bull.* 2008; 1(11): 1-6.
- Budiman A, Lailasari E, Nurani NV, Yunita EN, Anastasya G, Aulia RN, Lestari IN, Subra L, Aulifa DL. Ternary Solid Dispersions: A Review of the Preparation, Characterization, Mechanism of Drug Release, and Physical Stability. *Pharmaceutics.* 2023; 15(8): 2116.
- Budiman A, Nurfadilah N, Muchtaridi M, Sriwidodo S, Aulifa DL, Rusdin A. The Impact of Water-Soluble Chitosan on the Inhibition of Crystal Nucleation of Alpha-Mangostin from Supersaturated Solutions. *Polymers (Basel).* 2022; 14(20): 4370.
- Butreddy A. Hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate as an exceptional polymer for amorphous solid dispersion formulations: A review from bench to clinic. *Eur J Pharm Biopharm.* 2022; 177: 289-307.
- Capece M, Silva KR, Sunkara D, Strong J, Gao P. On the relationship of inter-particle cohesiveness and bulk powder behavior: flowability of pharmaceutical powders. *Int J Pharm.* 2016; 511: 178–189.
- Carson J.W., Pittenger B.H. Bulk properties of powders. *Powder Metall.* 2018; 7: 111–126.
- Chavan RB, Rath S, Jyothi VGSS, Shastri NR. Cellulose based polymers in development of amorphous solid dispersions. *Asian J Pharm Sci.* 2019; 14(3): 248–264.

- Chen X, Zhu W, Liu H, Deng F, Wang W, Qin L. Preparation of injectable clopidogrel loaded submicron emulsion for enhancing physicochemical stability and anti-thrombotic efficacy. *Int J Pharm.* 2022; 611: 121323.
- Chen Y, Chen H, Wang S, Liu C, Qian F. A Single Hydrogen to Fluorine Substitution Reverses the Trend of Surface Composition Enrichment of Sorafenib Amorphous Solid Dispersion upon Moisture Exposure. *Pharm Res.* 2019; 36(7): 105.
- Chen Y, Wang S, Wang S, Liu C, Su C, Hageman M, Hussain M, Haskell R, Stefanski K, Qian F. Initial Drug Dissolution from Amorphous Solid Dispersions Controlled by Polymer Dissolution and Drug-Polymer Interaction. *Pharm Res.* 2016; 33(10): 2445-2458.
- Chiang CW, Lubach JW, Chen T, Chin S, Ly J, Zhang W, Hou HH, Nagapudi K. Development of an Amorphous Solid Dispersion Formulation for Mitigating Mechanical Instability of Crystalline Form and Improving Bioavailability for Early Phase Clinical Studies. *Mol Pharm.* 2023; 20(5): 2452-2464.
- Chiou WL, Riegelman S. Pharmaceutical applications of solid dispersion systems. *J Pharm Sci.* 1971; 60(9): 1281-1302.
- Collete SL, Bokkers RPH, Dierckx RAJO, van der Laan MJ, Zeebregts CJ, Uyttenboogaart M. Clinical importance of testing for clopidogrel resistance in patients undergoing carotid artery stenting- A systematic review. *Ann Transl Med.* 2021; 9(14): 1211.
- Cools L, Van den Mooter G. A comprehensive overview of the role of intermolecular interactions in amorphous solid dispersions. *Int J Pharm.* 2025; 674: 125441.
- Coons JC, Stevanson JM, Patel A, Smith AJC, Prebehalla L, Empey PE. Antiplatelet therapy and bleeding outcomes with CYP2C19 genotyping. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2022; 27: 10742484221143246.
- Correa Soto CE, Gao Y, Indulkar AS, Ueda K, Zhang GGZ, Taylor L. Impact of Surfactants on the Performance of Clopidogrel-Copovidone Amorphous Solid Dispersions: Increased Drug Loading and Stabilization of Nanodroplets. *Pharm Res.* 2022; 39(1): 167-188.
- Costa P, Sousa Lobo JM. Modeling and comparison of dissolution profiles. *Eur J Pharm Sci.* 2001; 13(2): 123-33.
- Coty JB, Martin C, Telò I, Spitzer D. Use of Spray Flash Evaporation (SFE) technology to improve dissolution of poorly soluble drugs: Case study on furosemide nanocrystals. *Int J Pharm.* 2020; 589: 119827.
- Crouter A., Briens L. The effect of moisture on the flowability of pharmaceutical excipients. *AAPS PharmSciTech.* 2014; 15: 65–74.
- Cushing DJ, Souney PF, Cooper WD, Mosher GL, Adams MP, Machatha S, Zhang B, Kowey PR. Pharmacokinetics and platelet aggregation inhibitory effects of a novel intravenous formulation of clopidogrel in humans. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2012; 39(1): 3-8.
- Cvetkovski A, Makreski P, Pejov L, Stojanovska Pecova M, Bertolasi V, Gilli P, MacGillivray LR. Polymorphism in S(+)-Clopidogrel-Picrate: Insights from X-ray Diffraction, Vibrational Spectroscopy, Thermal Analysis, and Quantum Chemistry. *Crystals.* 2024; 14(1): 10.
- Cvijić S, Ibrić S, Parojčić J, Đuriš J. An in vitro-in silico approach for the formulation and characterization of ranitidine gastroretentive delivery systems. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2018; 45: 1-10.
- Cvijić S, Ignjatović J, Parojčić J, Ibrić S. The emerging role of physiologically-based pharmacokinetic/biopharmaceutics modeling in formulation development. *Arh farm.* 2021; 71: 318 – 335.
- Damian F, Blaton N, Van den Mooter G. Physical stability of solid dispersions of the antiviral agent UC-781 with PEG 6000, Gelucire® 44/14 and PVP K30. *Int J Pharm.* 2002;244: 87-98.
- Dangre P, Shinde SB, Surana SJ, Jain PG, Chalikwar SS. Development and exploration on flowability of solid self-nanoemulsifying drug delivery system of morin hydrate. *Adv Powder Technol.* 2022; 33.
- Davis DA Jr, Thakkar R, Su Y, Williams RO 3rd, Maniruzzaman M. Selective Laser Sintering 3-Dimensional Printing as a Single Step Process to Prepare Amorphous Solid Dispersion Dosage Forms for Improved Solubility and Dissolution Rate. *J Pharm Sci.* 2021; 110(4): 1432-1443.

- Davis MT, Potter CB, Walker GM. Downstream processing of a ternary amorphous solid dispersion: The impacts of spray drying and hot melt extrusion on powder flow, compression and dissolution. *Int J Pharm.* 2018; 544(1): 242-253.
- De Araujo GL, Benmore CJ, Byrn SR. Local Structure of Ion Pair Interaction in Lapatinib Amorphous Dispersions characterized by Synchrotron X-Ray diffraction and Pair Distribution Function Analysis. *Sci Rep.* 2017; 7: 46367.
- de Assis JMC, Barbosa EJ, Bezzon VDN, Lourenço FR, Carvalho FMS, Matos JR, Bou-Chacra NA, Benmore CJ, Byrn SR, Costa FN, de Araujo GLB. Hot-melt extrudability of amorphous solid dispersions of flubendazole-copovidone: An exploratory study of the effect of drug loading and the balance of adjuvants on extrudability and dissolution. *Int J of Pharm.* 2022; 614: 121456.
- De Luca L, Capranzano P, Patti G, Parodi G. Switching of platelet P2Y₁₂ receptor inhibitors in patients with acute coronary syndromes undergoing percutaneous coronary intervention: Review of the literature and practical considerations. *Am Heart J.* 2016; 176: 44-52.
- De Mohac LM, Raimi-Abraham B, Caruana R, Gaetano G, Licciardi M. Multicomponent solid dispersion a new generation of solid dispersion produced by spray-drying. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2020; 57: 101750.
- Dereymaker A, Scurr DJ, Steer ED, Roberts CJ, Van den Mooter G. Controlling the Release of Indomethacin from Glass Solutions Layered with a Rate Controlling Membrane Using Fluid-Bed Processing. Part 1: Surface and Cross-Sectional Chemical Analysis. *Mol Pharm.* 2017; 14(4): 959-973.
- Dhiman A, Suhag R, Verma K, Thakur D, Kumar A, Upadhyay A, Singh A. Influence of microfluidization on physico-chemical, rheological, thermal properties and cholesterol level of cow ghee. *LWT.* 2022; 160: 113281.
- Di Martino RMC, Maxwell BD, Pirali T. Deuterium in drug discovery: progress, opportunities and challenges. *Nat Rev Drug Discov.* 2023; 22(7): 562-584.
- Dinunzio JC, Brough C, Hughey JR, Miller DA, Williams RO 3rd, McGinity JW. Fusion production of solid dispersions containing a heat-sensitive active ingredient by hot melt extrusion and Kinetisol dispersing. *Eur J Pharm Biopharm.* 2010; 74(2): 340-351.
- Divya S, Ganesh GNK. Characterization of Powder Flowability Using FT4 – Powder Rheometer. *J Pharm Sci Res.* 2019; 11(1): 25-29.
- Djebli N, Fabre D, Boulenc X, Fabre G, Sultan E, Hurbin F. Physiologically based pharmacokinetic modeling for sequential metabolism: effect of CYP2C19 genetic polymorphism on clopidogrel and clopidogrel active metabolite pharmacokinetics. *Drug Metab Dispos.* 2015; 43(4): 510-522.
- Ekdahl A, Mudie D, Malewski D, Amidon G, Goodwin A. Effect of Spray-Dried Particle Morphology on Mechanical and Flow Properties of Felodipine in PVP VA Amorphous Solid Dispersions. *J Pharm Sci.* 2019; 108(11): 3657 – 3666.
- El-Laithy HM, Badawi A, Abdelmalak NS, Elsayyad NME. Stabilizing excipients for engineered clopidogrel bisulfate procubosome derived in situ cubosomes for enhanced intestinal dissolution: Stability and bioavailability considerations. *Eur J Pharm Sci.* 2019; 136: 104954.
- Ellenberger DJ, Miller DA, Williams RO 3rd. Expanding the Application and Formulation Space of Amorphous Solid Dispersions with KinetiSol®: a Review. *AAPS PharmSciTech.* 2018; 19(5): 1933-1956.
- El-Sadek EM, Moustafa SM, Kadi OH, Al-Hakami AMA. Determination of Clopidogrel Carboxylic Acid in Human Plasma by LC-MS/MS. *Am J Anal Chem.* 2011; 2: 447-455.
- Essa M, Ross JS, Dhruva SS, Desai NR, Yeh RW, Faridi KF. Trends in Spending and Claims for P2Y₁₂ Inhibitors by Medicare and Medicaid From 2015 to 2020. *J Am Heart Assoc.* 2023; 12(8): e028869.
- European Medicines Agency. Guideline 3AQ11a - Specifications and Control Tests on the Finished Product. 1992. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/specifications-control-tests-finished-product_en.pdf (zadnji pristup sajtu 15.11.2024).

- European Medicines Agency. Guideline on Reporting of physiologically based pharmacokinetics (PBPK) modeling and simulation. 2018. <https://www.ema.europa.eu/en/reporting-physiologically-based-pharmacokinetics-pbpbk-modelling-simulation> (zadnji pristup sajtu: 10.06.2024.)
- European Medicines Agency. ICH Topic Q1A (R2)—Stability Testing of new Drug Substances and Products. 2003. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-1-r2-stability-testing-new-drug-substances-products-step-5_en.pdf (zadnji pristup sajtu 12.11.2024.).
- European pharmacopoeia, 11th ed. Strasbourg: Council of Europe, 2023.
- Febriyenti F, Rahmi S, Halim A. Study of Gliclazide Solid Dispersion Systems Using PVP K-30 and PEG 6000 by Solvent Method. *J Pharm Bioallied Sci.* 2019; 11(3): 262-267.
- Ferlini M, Musumeci G, Grieco NB, Rossini R, de Servi S, Mafrić A, Sponzilli C, Demarchi A, Assanelli EM, Camisasca P, Chizzola G, Corrada E, Farina A, Pedrinazzi C, Lettieri, C., & Oltrona Visconti, L. The paradox of clopidogrel use in patients with acute coronary syndromes and diabetes: insight from the Diabetes and Acute Coronary Syndrome Registry. *Coron Artery Dis.* 2018; 29: 309–315.
- Fița AC, Secăreanu AA, Musuc AM, Ozon EA, Sarbu I, Atkinson I, Rusu A, Mati E, Anuta V, Pop AL. The Influence of the Polymer Type on the Quality of Newly Developed Oral Immediate-Release Tablets Containing Amiodarone Solid Dispersions Obtained by Hot-Melt Extrusion. *Molecules.* 2022; 27(19): 6600.
- Fitriani L, Afriyanti I, M.Farm A, Ismed F, Zaini E. Solid Dispersion of Usnic acid–HPMC 2910 Prepared by Spray drying and Freeze drying Techniques. *Orient J Chem.* 2018; 34: 2083-2088.
- Food and Drug Administration, 2009. NDA dossier 20-389/S-044 for the innovator clopidogrel product (Plavix) https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/020839s044lbl.pdf (zadnji pristup sajtu: 15.09.2024.)
- Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). 2018. Physiologically Based Pharmacokinetic Analyses — Format and Content Guidance for industry. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/physiologically-based-pharmacokinetic-analyses-format-and-content-guidance-industry> (zadnji pristup sajtu: 13.06.2024.)
- Food and Drug Administration, Dissolution methods database. 2022. https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_getallData.cfm; (zadnji pristup sajtu: 06.04.2025. godine)
- Food and Drug Administration. ICH International Council for harmonization. Q3C impurities: residual solvents R6. 2019.
- Food and Drug Administration. NDA dossier 20-389/S-044 for the innovator clopidogrel product (Plavix), 2009. Dostupno na: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/020839s044lbl.pdf (zadnji pristup sajtu: 15.09.2024.).
- Frank DS, Nie H, Chandra A, Coelho A, Dalton C, Dvorak H, Elkhazab A, Fahy M, Ormes J, Parker A, Punia A, Rowe J, Schenck L, Smith D, Strotman NA, Wang M, Wareham L. High Bulk-Density Amorphous Dispersions to Enable Direct Compression of Reduced Tablet Size Amorphous Dosage Units. *J Pharm Sci.* 2023; 112(8): 2037-2045.
- Frank DS, Prasad P, Iuzzolino L, Schenck L. Dissolution Behavior of Weakly Basic Pharmaceuticals from Amorphous Dispersions Stabilized by a Poly(dimethylaminoethyl Methacrylate) Copolymer. *Mol Pharm.* 2022; 19(9): 3304-3313.
- Freeman RE. The Flowability of Powder-an Empirical Approach. In *Powder to Bulk/International Conference on Powder and Bulk Solids Handling International Conference on Powder and Bulk Solids Handling*; Wiley: New York, NY, USA, 2000; pp. 545–556.
- Freeman T, Brockbank K, Sabathier J. Characterising powder flow properties – the need for a multivariate approach. *EPJ Web of Conferences.* 2017; 140: 03008.

- Fülöp I, Gyéresi Á, Kiss L, Deli MA, Croitoru MD, Szabó-Révész P, Aigner Z. Preparation and investigation of mefenamic acid - polyethylene glycol - sucrose ester solid dispersions. *Acta Pharm.* 2015; 65(4): 453-462.
- Garcia-Rodriguez JJ, de la Torre-Iglesias PM, Vegas-Sánchez MC, Torrado-Durán S, Bolás-Fernández F, Torrado-Santiago S. Changed crystallinity of mebendazole solid dispersion: improved anthelmintic activity. *Int J Pharm.* 2011; 403(1-2): 23-28.
- Gimbel M, Qaderdan K, Willemsen L, Hermanides R, Bergmeijer T, de Vrey E, Heestermans T, Tjon Joe Gin M, Waalewijn R, Hofma S, den Hartog F, Jukema W, von Birgelen C, Voskuil M, Kelder J, Deneer V, Ten Berg J. Clopidogrel versus ticagrelor or prasugrel in patients aged 70 years or older with non-ST-elevation acute coronary syndrome (POPular AGE): the randomised, open-label, non-inferiority trial. *Lancet.* 2020; 395(10233): 1374-1381.
- Greeshmika C, Kavya P, Sarah SS, Hemalatha B, Padmalatha K. Solid dispersion: strategy to enhance solubility. *Indo Am J Pharm Sci.* 2021; 8(11): 1812-1824.
- Gui Y, McCann EC, Yao X, Li Y, Jones KJ, Yu L. Amorphous Drug-Polymer Salt with High Stability under Tropical Conditions and Fast Dissolution: The Case of Clofazimine and Poly(acrylic acid). *Mol Pharm.* 2021; 18(3): 1364-1372.
- Hakeem EA, El-Mahrouk GM, Abdelbary G, Teaima MH. Freeze-Dried Clopidogrel Loaded Lyotropic Liquid Crystal: Box-Behnken Optimization, In-Vitro and In-Vivo Evaluation. *Curr Drug Deliv.* 2020; 17(3): 207-217.
- Han M, Xu J, Lin Y. Approaches of formulation bridging in support of orally administered drug product development. *Int J Pharm.* 2022; 629: 122380.
- Han YR, Lee PI. Effect of Extent of Supersaturation on the Evolution of Kinetic Solubility Profiles. *Mol Pharm.* 2017; 14(1): 206-220.
- Hartmanshenn C, Scherholz M, Androulakis IP. Physiologically-based pharmacokinetic models: approaches for enabling personalized medicine. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2016; 43(5): 481-504.
- Haser A, Zhang F. New Strategies for Improving the Development and Performance of Amorphous Solid Dispersions. *AAPS PharmSciTech.* 2018; 19(3): 978-990.
- He Y, Ho C. Amorphous Solid Dispersion: utilization and Challenges in Drug Discovery and Development. *J Pharm Sci.* 2015; 104: 3237-3258.
- Heimbach T, Kesisoglou F, Novakovic J, Tistaert C, Mueller-Zsigmondy M, Kollipara S, Ahmed T, Mitra A, Suarez-Sharp S. Establishing the Bioequivalence Safe Space for Immediate-Release Oral Dosage Forms using Physiologically Based Biopharmaceutics Modeling (PBBM): Case Studies. *J Pharm Sci.* 2021; 110(12): 3896-3906.
- Heimbach T, Lin W, Hourcade-Potelleret F, Tian X, Combes FP, Horvath N, He H. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling to Supplement Nilotinib Pharmacokinetics and Confirm Dose Selection in Pediatric Patients. *J Pharm Sci.* 2019; 108(6): 2191-2198.
- Higuchi T. Mechanism of sustained-action medication. theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *J Pharm Sci.* 1963; 52: 1145-1149.
- Hixson AW, Crowell JH. Dependence of reaction velocity upon surface and agitation: I-Theoretical consideration. *Ind Eng Chem.* 1931; 23: 1160-1168.
- Horenstein RB, Madabushi R, Zineh I, Yerges-Armstrong LM, Peer CJ, Schuck RN, Figg WD, Shuldiner AR, Pacanowski MA. Effectiveness of clopidogrel dose escalation to normalize active metabolite exposure and antiplatelet effects in CYP2C19 poor metabolizers. *J Clin Pharmacol.* 2014; 54(8): 865-873.
- Hrishikesh M, Pushpadass HA, Franklin MEE, Ambrose RPK, Ghoroi C, Battula SN. Influence of moisture content on the flow properties of basundi mix. *Powder Tech.* 2017; 312: 133-143.
- Hu C, Yan Q, Zhang Y, Yan H. Influence Mechanism of Drug-Polymer Compatibility on Humidity Stability of Crystalline Solid Dispersion. *Pharmaceuticals (Basel).* 2023; 16(12): 1640.

- Huang Y, Xu L, Zhang F, Liu Y, Wang Y, Meng F, Li S, Cheng X, Bi Y. Preparation and pharmacokinetics in vivo of linarin solid dispersion and liposome. *Chin Herb Med*. 2022; 14(2): 310-316.
- Hughey JR, Keen JM, Miller DA, Brough C, McGinity JW. Preparation and characterization of fusion processed solid dispersions containing a viscous thermally labile polymeric carrier. *Int J Pharm*. 2012; 438(1-2): 11-19.
- Huynh-Ba K, Dong M. Stability Studies and Testing of Pharmaceuticals: An Overview. *Lc Gc North America*. 2020; 38(6): 325-336.
- Huong PT, Nguyen LT, Nguyen XB, Lee SK, Bach DH. The Role of Platelets in the Tumor-Microenvironment and the Drug Resistance of Cancer Cells. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(2): 240.
- Indulkar AS, Waters JE, Mo H, Gao Y, Raina SA, Zhang GGZ, Taylor LS. Origin of Nanodroplet Formation Upon Dissolution of an Amorphous Solid Dispersion: A Mechanistic Isotope Scrambling Study. *J Pharm Sci*. 2017; 106(8): 1998-2008.
- Infanger S, Haemmerli A, Iliev S, Baier A, Stoyanov E, Quodbach J. Powder bed 3D-printing of highly loaded drug delivery devices with hydroxypropyl cellulose as solid binder. *Int J Pharm*. 2019; 555: 198-206.
- Introduction to powder rheology, Anton Paar, 2023. Dostupno na: <https://www.anton-paar.com/corp-en/services-support/document-finder/application-reports/introduction-to-powder-rheology/> (zadnji pristup sajtu: 05.04.2025.)
- Irshad S, Khan IU, Khalid SH, Asghar S, Irfan M, Khalid I, Sabir N, Ali A, Khan AN, Yousaf AM, Hussain T, Shahzad Y. Probing the effect of various lipids and polymer blends on clopidogrel encapsulated floating microcarriers. *Daru*. 2019; 27(2): 571-582.
- Iyer R, Petrovska Jovanovska V, Berginc K, Jaklič M, Fabiani F, Harlacher C, Huzjak T, Sanchez-Felix MV. Amorphous Solid Dispersions (ASDs): The Influence of Material Properties, Manufacturing Processes and Analytical Technologies in Drug Product Development. *Pharmaceutics*. 2021, 13(10): 1682.
- Janssen PHM, Berardi A, Kok JH, Thornton AW, Dickhoff BHJ. The impact of lactose type on disintegration: An integral study on porosity and polymorphism. *Eur J Pharm Biopharm*. 2022; 180: 251-259.
- Janssen PHM, Depaifve S, Neveu A, Francqui F, Dickhoff BHJ. Impact of Powder Properties on the Rheological Behavior of Excipients. *Pharmaceutics*. 2021; 13(8): 1198.
- Jantsch MH, Doleski PH, Viana AR, da Silva JLG, Passos DF, Cabral FL, Manzoni AG, Ebone RDS, Soares ABU, de Andrade CM, Schetinger MRC, Leal DBR. Effects of clopidogrel bisulfate on B16-F10 cells and tumor development in a murine model of melanoma. *Biochem Cell Biol*. 2023; 101(5): 443-455.
- Jassim ZE, Hussein AA. Dissolution method development and enhancement of solubility of clopidogrel bisulfate. *Int Res J Pharm*. 2017, 8(6): 25-29.
- Jassim ZE, Hussein AA. Formulation and evaluation of Clopidogrel tablet incorporating during nanoparticles. *Int J Pharm Sci*. 2014;6: 838-851.
- Jereb R, Opara J, Legen I, Petek B, Bajc Al, Žakelj S. PBPK Absorption Modeling of Food Effect and Bioequivalence in Fed State for Two Formulations with Crystalline and Amorphous Forms of BCS 2 Class Drug in Generic Drug Development. *AAPS PharmSciTech*. 2019, 20(2): 59.
- Jiang XL, Samant S, Lesko LJ, Schmidt S. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of clopidogrel. *Clin Pharmacokinet*. 2015, 54(2): 147-166.
- Jiangui J, Zhicheng AH, Xiangping T, inventors. Clopidogrel hydrogensulfate enteric-coated sustained-release tablet and preparation thereof. *Ci Biological Medicine Technology Co Ltd*. CN patent 1 016 069 18A, 2008.
- Jin G, Ngo HV, Cui JH, Wang J, Park C, Lee BJ. Role of Surfactant Micellization for Enhanced Dissolution of Poorly Water-Soluble Cilostazol Using Poloxamer 407-Based Solid Dispersion via the Anti-Solvent Method. *Pharmaceutics*. 2021; 13(5): 662.
- Jones HM, Rowland-Yeo K. Basic concepts in physiologically based pharmacokinetic modeling in drug discovery and development. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. 2013; 2(8): 1-12.

- Jørgensen JR, Mohr W, Rischer M, Sauer A, Mistry S, Rades T, Müllertz A. In vitro-in vivo relationship for amorphous solid dispersions using a double membrane dissolution-permeation setup. *Eur J Pharm Biopharm.* 2023; 188: 26-32.
- Jourdi G, Godier A, Lordkipanidze M, Marquis-Gravel G, Gaussem P. Antiplatelet therapy for atherothrombotic disease in 2022- From population to patient-centered approaches. *Front Cardiovasc Med.* 2022; 9: 805525.
- Jovani M, Chan AT. Do Aspirin and Clopidogrel Follow the Same Road Toward Prevention of Colorectal Cancer? *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2019; 17(10): 1945–1947.
- Kaialy W. On the effect of blending, physicochemical properties, and their interactions on the performance of carrier-based dry powder for inhalation- a review. *Adv colloid interface Sci.* 2016; 235: 70-89.
- Kamranian Marnani A, Bück A, Antonyuk S, van Wachem B, Thévenin D, Tomas J. The Effect of the Presence of Very Cohesive Geldart C Ultra-Fine Particles on the Fluidization of Geldart A Fine Particle Beds. *Processes.* 2019; 7(1): 35.
- Karaźniewicz-Łada M, Danielak D, Burchardt P, Kruszyna L, Komosa A, Lesiak M, Głowska F. Clinical pharmacokinetics of clopidogrel and its metabolites in patients with cardiovascular diseases. *Clin Pharmacokinet.* 2014, 53(2): 155-164.
- Karthikeyan M, Deepa MK, Bassim E, Rahna, CS, Raj KRS. Investigation of kinetic drug release characteristics and in vitro evaluation of sustained-release matrix tablets of a selective COX-2 inhibitor for rheumatic diseases. *J Pharm Innov.* 2021, 16: 551–557.
- Kauppinen A, Broekhuis J, Grasmeijer N, Tonnis W, Ketolainen J, Frijlink HW, Hinrichs WLJ. Efficient production of solid dispersions by spray drying solutions of high solid content using a 3-fluid nozzle. *Eur J Pharm Biopharm.* 2018; 123: 50-58.
- Kaushal AM, Gupta P, Bansal AK. Amorphous drug delivery systems: molecular aspects, design, and performance. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* 2004; 21(3): 133-193.
- Kawasaki T, Ludovic B. Discontinuous shear-thickening in Brownian suspensions. *Phys Rev E.* 2018; 98: 012609.
- Kesisoglou F, Mitra A. Application of Absorption Modeling in Rational Design of Drug Product Under Quality-by-Design Paradigm. *AAPS J.* 2015; 17: 1224–1236.
- Khalaf NEA, El Banna FM, Youssef MY, Mosaad YM, Daba MY, Ashour RH. Clopidogrel combats neuroinflammation and enhances learning behavior and memory in a rat model of Alzheimer's disease. *Pharmacol Biochem Behav.* 2020; 195: 172956.
- Kher JD, Sorathia K. Bioavailability Enhancement of BCS Class II Raloxifene Hydrochloride by Inclusion Complex and Solid Dispersion Techniques. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi.* 2024; 40: e20240002.
- Kim BH, Kim JR, Lim KS, Shin HS, Yoon SH, Cho JY, Jang IJ, Shin SG, Yu KS. Comparative pharmacokinetics/pharmacodynamics of clopidogrel besylate and clopidogrel bisulfate in healthy Korean subjects. *Clin Drug Investig.* 2012, 32(12): 817-826.
- Kokott M, Breitzkreutz J, Wiedey R. The interplay of poorly soluble drugs in dissolution from amorphous solid dispersions. *Int J Pharm X.* 2024; 7: 100243.
- Kolašinac N, Kachrimanis K, Homšek I, Grujić B, Đurić Z, Ibrić S. Solubility enhancement of desloratadine by solid dispersion in poloxamers, *Int J Pharm.* 2012; 436: 161–170.
- Kolipara S, Martins FS, Jereb R, Krajcar D, Ahmed T. Advancing Virtual Bioequivalence for Orally Administered Drug Products: Methodology, Real-World Applications and Future Outlook. *Pharmaceuticals (Basel).* 2024; 17(7): 876.
- Konno H, Taylor LS. Ability of different polymers to inhibit the crystallization of amorphous felodipine in the presence of moisture. *Pharm Res.* 2008; 25(4): 969-978.

- Koradia V, Chawla G, Bansal AK. Qualitative and quantitative analysis of clopidogrel bisulfate polymorphs. *Acta Pharm.* 2004;54: 193–204.
- Kothari K, Ragoonanan V, Suryanarayanan R. The role of drug-polymer hydrogen bonding interactions on the molecular mobility and physical stability of nifedipine solid dispersions. *Mol Pharm.* 2015; 12(1): 162-170.
- Krishnamoorthy V, Suchandrasen, Prasad VP. Olanzapine-PEG 6000 binary systems: in vitro dissolution behavior, physicochemical characterization and mathematical modeling. *Acta Pol Pharm.* 2015; 72(5): 999-1013.
- Krstić M, Manić L, Martić N, Vasiljević D, Mračević ĐS, Vukmirović S, Rašković A. Binary polymeric amorphous carvedilol solid dispersions: In vitro and in vivo characterization. *Eur J Pharm Sci.* 2020; 150: 105343.
- Kuan YC, Huang KW, Lin CL, Luo JC, Kao CH. Effects of Aspirin or Clopidogrel on Colorectal Cancer Chemoprevention in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Cancers.* 2019; 11(10): 1468.
- Kuepfer L, Niederalt C, Wendl T, Schlender JF, Willmann S, Lippert J, Block M, Eissing T, Teutonico D. Applied Concepts in PBPK Modeling: How to Build a PBPK/PD Model. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* 2016; 5(10): 516-531.
- Kumar S, Kesharwani SS, Mathur H, Tyagi M, Bhat GJ, Tummala H. Molecular complexation of curcumin with pH sensitive cationic copolymer enhances the aqueous solubility, stability and bioavailability of curcumin. *Eur J Pharm Sci.* 2016; 82: 86-96.
- Kushwah V, Succhielli C, Saraf I, Paudel A. Amorphous Solid Dispersions: Implication of Method of Preparation and Physicochemical Properties of API and Excipients. *Pharmaceutics.* 2024; 2; 16(8): 1035.
- Kuszynski DS, Lauver DA. Pleiotropic effects of clopidogrel. *Purinergic Signal.* 2022; 18(3): 253-265.
- LaFountaine JS, Jermain SV, Prasad LK, Brough C, Miller DA, Lubda D, McGinity JW, Williams RO 3rd. Enabling thermal processing of ritonavir-polyvinyl alcohol amorphous solid dispersions by KinetiSol® Dispersing. *Eur J Pharm Biopharm.* 2016;101: 72-81.
- Laisney M, Heimbach T, Mueller-Zsigmondy M, Blumenstein L, Costa R, Ji Y. Physiologically Based Biopharmaceutics Modeling to Demonstrate Virtual Bioequivalence and Bioequivalence Safe-space for Ribociclib which has Permeation Rate-controlled Absorption. *J Pharm Sci.* 2022; 111(1): 274-284.
- Lalge R, Kumar NSK, Suryanarayanan R. Implications of Drug-Polymer Interactions on Time-Temperature-Transformation: A Tool to Assess the Crystallization Propensity in Amorphous Solid Dispersions. *Mol Pharm.* 2023; 20(3): 1806-1817.
- Lamm MS, Simpson A, McNevin M, Frankenfeld C, Nay R, Variankaval N. Probing the effect of drug loading and humidity on the mechanical properties of solid dispersions with nanoindentation: antiplasticization of a polymer by a drug molecule. *Mol Pharm.* 2012; 9(11): 3396–3402.
- Larfors G, Andersson P, Jesson G, Liljebris C, Brisander M, Lennernäs H, Stenke L. Despite warnings, co-medication with proton pump inhibitors and dasatinib is common in chronic myeloid leukemia, but XS004, a novel oral dasatinib formulation, provides reduced pH-dependence, minimizing undesirable drug-drug interactions. *Eur J Haematol.* 2023; 111(4): 644-654.
- Leader A, Zelikson-Saporta R, Pereg D, Spectre G, Rozovski U, Raanani P, Hermoni D, Lishner M. The Effect of Combined Aspirin and Clopidogrel Treatment on Cancer Incidence. *The Am J Med.* 2017; 130(7): 826-832.
- Leader A, Zelikson-Saporta R, Rozovski U, Pereg D, Raanani P, Spectre G, Lishner M, Hermoni D. Clopidogrel Treatment Is Associated with a Decrease in Cancer Incidence. *Blood.* 2015; 126(23): 1124.
- Lee CR, Luzum JA, Sangkuhl K, Gammal RS, Sabatine MS, Stein CM, Kisor DF, Limdi NA, Lee YM, Scott SA, Hulot JS, Roden DM, Gaedigk A, Caudle KE, Klein TE, Johnson JA, Shuldiner AR. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline for CYP2C19 Genotype and Clopidogrel Therapy: 2022 Update. *Clin Pharmacol Ther.* 2022; 112(5): 959-967.

- Lee JH, Jeong HS, Jeong JW, Koo TS, Kim DK, Cho YH, Lee GW. The development and optimization of hot-melt extruded amorphous solid dispersions containing rivaroxaban in combination with polymers. *Pharmaceutics*. 2021; 13(3): 344.
- Lestari MLAD, Suciati, Indrayanto G, Brittain HG. Clopidogrel bisulfate. In: Brittain HG, editor. *Profiles of drug substances, excipients, and related methodology*. New York: Elsevier Inc; 2010; pp. 71-115.
- Li B, Konecke S, Harich K, Wegiel L, Taylor LS, Edgar KJ. Solid dispersion of quercetin in cellulose derivative matrices influences both solubility and stability. *Carbohydr Polym*. 2013; 92(2): 2033-2040.
- Li C, Yu DG, Williams GR, Wang ZH. Fast-dissolving core-shell composite microparticles of quercetin fabricated using a coaxial electrospray process. *PLoS One*. 2014; 9(3): e92106.
- Liang C, Jia Z, Chen R. An Automated Particle Size Analysis Method for SEM Images of Powder Coating Particles. *Coatings*. 2023; 13(9): 1547.
- Lim RTY, Ong CK, Cheng S, Ng WK. Amorphization of crystalline active pharmaceutical ingredients via formulation technologies. *Powder Technol*. 2017; 311: 175-184.
- Lin L, Wong H. Predicting Oral Drug Absorption: Mini Review on Physiologically-Based Pharmacokinetic Models. *Pharmaceutics*. 2017; 9(4): 41.
- Lu AT, Frisella ME, Johnson KC. Dissolution modeling: factors affecting the dissolution rates of polydisperse powders. *Pharm Res*. 1993; 10(9): 1308-1314.
- Lu H, Bian Y, Wang Z, Guo X, Liu H, Cao J, Qu K. Characterization of non-Newtonian rheological behaviors of powders. *Powder Technol*. 2023; 417: 118281.
- Lu T, ten Hagen TLM. A novel kinetic model to describe the ultra-fast triggered release of thermosensitive liposomal drug delivery systems. *J Control Release*. 2020; 324: 669-679.
- Lubach JW, Hau J. Solid-State NMR Investigation of Drug-Excipient Interactions and Phase Behavior in Indomethacin-Eudragit E Amorphous Solid Dispersions. *Pharm Res*. 2018; 35(3): 65.
- Luo M, Heng W, Dai J, Wei Y, Gao Y, Zhang J. Crystallization of amorphous drugs and inhibiting strategies. *Prog Chem*. 2021; 33(11): 2116-2127.
- Ma X, Williams RO III. Characterization of amorphous solid dispersions: An update. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2019; 50: 113-124.
- Macho O, Gabrišová L, Brokešová J, Svačinová P, Mužíková J, Galbavá P, Blaško J, Šklubalová Z. Systematic study of paracetamol powder mixtures and granules tabletability: Key role of rheological properties and dynamic image analysis. *Int J Pharm*. 2021; 608: 121110.
- Mackie C, Arora S, Seo P, Moody R, Rege B, pepin X, Heimbach T, Tannergren C, Mitra A, Suarez-Sharp S, Borges LN, Kijima S, Kotzagiorgis E, Malamataris M, Veerasingham S, Polli JE, Rullo G. Physiologically Based Biopharmaceutics Modeling (PBBM): Best Practices for Drug Product Quality, Regulatory and Industry Perspectives: 2023 Workshop Summary Report. *Mol Pharmaceutics*. 2024; 21(5): 2065–2080.
- Madarász L., Nagy Z.K., Hoffer I., Szabó B., Csontos I., Pataki H., Démuth B., Szabó B., Csorba K., Marosi G. Real-Time Feedback Control of Twin-Screw Wet Granulation based on Image Analysis. *Int. J. Pharm*. 2018; 547: 360–367.
- Maincent J, Williams RO 3rd. Sustained-release amorphous solid dispersions. *Drug Deliv Transl Res*. 2018; 8(6): 1714-1725.
- Malkawi R, Malkawi WI, Al-Mahmoud Y, Tawalbeh J. Current Trends on Solid Dispersions: Past, Present, and Future. *Adv Pharmacol Pharm Sci*. 2022; 22: 5916013.
- Maniruzzaman M, Boateng JS, Snowden MJ, Douroumis D. A review of hot-melt extrusion: process technology to pharmaceutical products. *ISRN Pharm*. 2012; 2012: 436763.
- Maniruzzaman M, Morgan DJ, Mendham AP, Pang J, Snowden MJ, Douroumis D. Drug-polymer intermolecular interactions in hot-melt extruded solid dispersions. *Int J Pharm*. 2013; 443(1-2): 199-208.

- Mansour A, Bachelot-Loza C, Nessler N, Gaussem P, Gouin-Thibault I. P2Y₁₂ Inhibition beyond Thrombosis: Effects on Inflammation. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(4): 1391.
- Mariano M. General aspects of powder rheology applied to pharmaceutical formulations. *Drug Discov Today.* 2024; 29(5): 103976.
- Marx S, Xiao Y, Baschin M, Splittstöhser M, Altmann R, Moritz E, Jedlitschky G, Bien-Möller S, Schroeder HWS, Rauch BH. The Role of Platelets in Cancer Pathophysiology: Focus on Malignant Glioma. *Cancers (Basel).* 2019; 11(4): 569.
- Mateo-Ortiz D, Muzzio FJ, Mendes R. Particle size segregation promoted by powder flow in confined space: the die filling process case. *Powder Technol.* 2014; 262: 215-222.
- McGuire C, Siliveru K, Ambrose K, Alavi S. Food Powder Flow in Extrusion: Role of Particle Size and Composition. *Processes* 2022; 10: 178.
- McKelvey CA, Kesisoglou F. Enabling an HCV Treatment Revolution and the Frontiers of Solid Solution Formulation. *J Pharm Sci.* 2019; 108(1): 50-57.
- Medarević D, Cvijić S, Dobričić V, Mitrić M, Djuriš J, Ibrić S. Assessing the potential of solid dispersions to improve dissolution rate and bioavailability of valsartan: In vitro-in silico approach. *Eur J Pharm Sci.* 2018; 124: 188-198.
- Medarević D, Djuriš J, Barmapalexis P, Kachrimanis K, Ibrić S. Analytical and computational methods for the estimation of drug-polymer solubility and miscibility in solid dispersions development. *Pharmaceutics.* 2019; 11: 1–33.
- Mehatha AK, Suryadevara V, Lankapalli SL, Deshmukh AM, Sambath SL. Formulation and Optimization of Ezetimibe Containing Solid Dispersions Using Kollidon VA64. *Turk J Pharm Sci.* 2014;11 (2): 113-126.
- Meng F, Ferreira RC, Zhang F. Effect of surfactant level on properties of celecoxib amorphous solid dispersions. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2019; 49: 301-307.
- Mennella JA, Reed DR, Roberts KM, Mathew PS, Mansfield CJ. Age-Related Differences in Bitter Taste and Efficacy of Bitter Blockers. *PLoS ONE.* 2014; 9(7): e103107.
- Micklewright JJ, Layhadi JA, Fountain SJ. P2Y₁₂ receptor modulation of ADP-evoked intracellular Ca²⁺ signalling in THP-1 human monocytic cells. *Br J Pharmacol.* 2018; 175(12): 2483-2491.
- Mohapatra SK, Samanta S, Kothari K, Mistry P, Suryanarayanan R. Effect of Polymer Molecular Weight on the Crystallization Behavior of Indomethacin Amorphous Solid Dispersions. *Cryst Growth Des.* 2017; 17: 3142-3150.
- Moravkar KK, Shah DS, Magar AG, Bhairav BA, Korde SD, Ranch KM, Chalikwar SS. Assessment of pharmaceutical powders flowability and comparative evaluation of lubricants on development of gastro retentive tablets: an application of powder flow tester. *J Drug Delivery Sci. Technol.* 2022; 71.
- Moseson DE, Taylor LS. The application of temperature-composition phase diagrams for hot melt extrusion processing of amorphous solid dispersions to prevent residual crystallinity. *Int J Pharm.* 2018; 553(1-2): 454-466.
- Moseson DE, Tran TB, Karunakaran B, Ambardekar R, Hiew TN. Trends in amorphous solid dispersion drug products approved by the U.S. Food and Drug Administration between 2012 and 2023. *Int J Pharm X.* 2024; 7: 100259.
- Mosquera-Giraldo LI, Borca CH, Parker AS, Dong Y, Edgar KJ, Beaudoin SP, Slipchenko LV, Taylor LS. Crystallization Inhibition Properties of Cellulose Esters and Ethers for a Group of Chemically Diverse Drugs: Experimental and Computational Insight. *Biomacromolecules.* 2018; 19(12): 4593-4606.
- Mudge SJ, Hayes D, Lukas S. Itraconazole compositions and dosage forms, and methods of using the same. U.S. Patent 9 272 046, 2016.

- Mudie DM, Buchanan S, Stewart AM, Smith A, Shepard KB, Biswas N, Marshall D, Ekdahl A, Pluntze A, Craig CD, Morgen MM, Baumann JM, Vodak DT. A novel architecture for achieving high drug loading in amorphous spray dried dispersion tablets. *Int J Pharm X*. 2020a; 2: 100042.
- Mudie DM, Stewart AM, Biswas N, Brodeur TJ, Shepard KB, Smith A, Morgen MM, Baumann JM, Vodak DT. Novel High-Drug-Loaded Amorphous Dispersion Tablets of Posaconazole; In Vivo and In Vitro Assessment. *Mol Pharm*. 2020b; 17(12): 4463-4472.
- Nair AR, Lakshman YD, Anand VSK, Sree KSN, Bhat K, Dengale SJ. Overview of Extensively Employed Polymeric Carriers in Solid Dispersion Technology. *AAPS PharmSciTech*. 2020; 21(8): 309.
- Navnit S, Harpreet S, Choi DS, Chokshi H, Malick AW. Overview of Amorphous Solid Dispersion Technologies. In: *Amorphous solid dispersions theory and practice*. New York City, US: Springer; 2014; pp. 91-122.
- Neumann FJ, Sousa-Uva M. 'Ten commandments' for the 2018 ESC/EACTS Guidelines on Myocardial Revascularization. *Eur Heart J*. 2019; 40(2): 79-80.
- Nie H, Mo H, Zhang M, Song Y, Fang K, Taylor LS, Li T, Byrn SR. Investigating the Interaction Pattern and Structural Elements of a Drug-Polymer Complex at the Molecular Level. *Mol Pharm*. 2015; 12(7): 2459-2468.
- Norizan MN, Rizal MAM, Rayung M, Norrrahim F, Shazleen, Siti SS, Rani MSA, Rafiqah S, Aisyah H, Mohd Radzi M, Sabaruddin F, R.A. I, Zainudin ES, Abdan K. Thermogravimetric Analysis Properties of Cellulosic Natural Fiber Polymer Composites: A Review on Influence of Chemical Treatments. *Polymers*. 2021; 13: 1-33.
- Nupur MA, Rahman MM, Akter K, Hanif KB, Sharna JF, Sarker MS, Ibne Wahed MI. Preparation and characterization of naproxen solid dispersion using different hydrophilic carriers and in-vivo evaluation of its analgesic activity in mice. *Heliyon*. 2023; 9(5): e15432.
- Nyamba I, Sombié CB, Yabré M, Zimé-Diawara H, Yaméogo J, Ouédraogo S, Lechanteur A, Semdé R, Evrard B. Pharmaceutical approaches for enhancing solubility and oral bioavailability of poorly soluble drugs. *Eur J Pharm Biopharm*. 2024; 204: 114513.
- Obaidat RM, AlTaani B, Ailabouni A. Effect of different polymeric dispersions on in-vivo dissolution rate and stability of celecoxib class II drug. *J Polym Res*. 2017; 24(4): 58.
- Olivares-Morales A, Ghosh A, Aarons L, Rostami-Hodjegan A. Development of a Novel Simplified PBPK Absorption Model to Explain the Higher Relative Bioavailability of the OROS® Formulation of Oxybutynin. *AAPS J*. 2016;18(6): 1532-1549.
- Oliveira VDS, de Almeida AS, Albuquerque IDS, Duarte FÍC, Queiroz BCSH, Converti A, Lima ÁAN. Therapeutic Applications of Solid Dispersions for Drugs and New Molecules: In Vitro and In Vivo Activities. *Pharmaceutics*. 2020; 12(10): 933.
- Orr-Burks N, Murray J, Todd KV, Bakre A, Tripp RA. Drug repositioning of clopidogrel or triamterene to inhibit influenza virus replication in vitro. *PLoS ONE*. 2021; 16: e0259129.
- Özalp Y, Onayo MM, Jiwa N. Evaluation of Lactose-Based Direct Tableting Agents' Compressibility Behavior Using a Compaction Simulator. *Turk J Pharm Sci*. 2020;17(4): 367-371.
- Pacult J, Rams-Baron M, Chrzęszcz B, Jachowicz R, Paluch M. Effect of Polymer Chain Length on the Physical Stability of Amorphous Drug-Polymer Blends at Ambient Pressure. *Mol Pharm*. 2018; 15(7): 2807-2815.
- Palacios-Acedo AL, Mezouar S, Mège D, Crescence L, Dubois C and Panicot-Dubois L. P2RY12-Inhibitors Reduce Cancer-Associated Thrombosis and Tumor Growth in Pancreatic Cancers. *Front. Oncol*. 2021; 11: 704945.
- Pan D, Rong X, Li H, Deng Z, Wang J, Liu X, He L, Xu Y, Tang Y. Anti-platelet Therapy Is Associated With Lower Risk of Dementia in Patients With Cerebral Small Vessel Disease. *Front Aging Neurosci*. 2022; 14: 788407.

- Pandi P, Bulusu R, Kommineni N, Khan W, Singh M. Amorphous solid dispersions: An update for preparation, characterization, mechanism on bioavailability, stability, regulatory considerations and marketed products. *Int J Pharm.* 2020; 586: 119560.
- Parekh BV, Saddik JS, Patel DB, Dave RH. Evaluating the effect of glidants on tablet sticking propensity of ketoprofen using powder rheology. *Int J Pharm.* 2023; 635: 122710.
- Park JB, Park C, Piao ZZ, Amin H. pH-independent controlled release tablets containing nanonizing valsartan solid dispersions for less variable bioavailability in humans. *J Drug Del Sci and Tech.* 2018; 46: 365-377.
- Park MH, Shin SH, Byeon JJ, Lee GH, Yu BY, Shin YG. Prediction of pharmacokinetics and drug-drug interaction potential using physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling approach: A case study of caffeine and ciprofloxacin. *Korean J Physiol Pharmacol.* 2017, 21(1): 107-115.
- Patel K, Shah S, Patel J. Solid dispersion technology as a formulation strategy for the fabrication of modified release dosage forms: A comprehensive review. *Daru.* 2022; 30(1): 165-189.
- Patel M, Tekade A, Gattani S, Surana S. Solubility enhancement of lovastatin by modified locust bean gum using solid dispersion techniques. *AAPS Pharm Sci Tech.* 2008; 9: 1262-1269.
- Patel NG, Banella S, Serajuddin ATM. Moisture Sorption by Polymeric Excipients Commonly Used in Amorphous Solid Dispersions and its Effect on Glass Transition Temperature: II. Cellulosic Polymers. *J Pharm Sci.* 2022; 111(11): 3114-3129.
- Patel P, Mahajan A, Thakor N. Enhancement of Solubility and Dissolution of Clopidogrel Bisulfate by Solid Dispersion in Combination with Surface Adsorbent. *Pharmacophore.* 2020; 5.
- Patel PR, Roy SB, Kothari JS, inventors. Modified release clopidogrel formulation. Cadilla Healthcare Limited. W02007/113857 A2, 2007.
- Patil H, Tiwari RV, Repka MA. Hot-Melt Extrusion: from Theory to Application in Pharmaceutical Formulation. *AAPS PharmSciTech.* 2016;17 (1): 20-42.
- Patti G, Micieli G, Cimminiello C, Bolognese L. The Role of Clopidogrel in 2020: A Reappraisal. *Cardiovasc Ther.* 2020; 2020: 8703627.
- Pavlovic N, Rani B, Gerwins P, Heindryckx F. Platelets as Key Factors in Hepatocellular Carcinoma. *Cancers (Basel).* 2019; 11(7): 1022.
- Pisay M, Padya S, Mutalik S, Koteshwara KB. Stability Challenges of Amorphous Solid Dispersions of Drugs: A Critical Review on Mechanistic Aspects. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* 2024; 41(3): 45-94.
- Poka MS, Milne M, Wessels A, Aucamp M. Sugars and Polyols of Natural Origin as Carriers for Solubility and Dissolution Enhancement. *Pharmaceutics.* 2023; 15(11): 2557.
- Porat D, Dukhno O, Vainer E, Cvijić S, Dahan A. Antiallergic Treatment of Bariatric Patients: Potentially Hampered Solubility/Dissolution and Bioavailability of Loratadine, but Not Desloratadine, Post-Bariatric Surgery. *Mol Pharm.* 2022, 19(8): 2922-2936.
- Porshneva K, Papiernik D, Psurski M, Nowak M, Matkowski R, Ekiert M, Milczarek M, Banach J, Jarosz J, Wietrzyk J. Combination Therapy with DETA/NO and Clopidogrel Inhibits Metastasis in Murine Mammary Gland Cancer Models via Improved Vasoprotection. *Mol Pharm.* 2018; 15(11): 5277-5290.
- Qiu C, Zhang Y, Fan Y, Li S, Gao J, He X, Zhao X. Solid Dispersions of Genistein via Solvent Rotary Evaporation for Improving Solubility, Bioavailability, and Amelioration Effect in HFD-Induced Obesity Mice. *Pharmaceutics.* 2024; 16(3): 306.
- Que C, Deac A, Zemlyanov DY, Qi Q, Indulkar AS, Gao Y, Zhang GGZ, Taylor LS. Impact of Drug-Polymer Intermolecular Interactions on Dissolution Performance of Copovidone-Based Amorphous Solid Dispersions. *Mol Pharm.* 2021, 18(9): 3496-3508.
- Que C, Lou X, Zemlyanov DY, Mo H, Indulkar AS, Gao Y, Zhang GGZ, Taylor LS. Insights into the Dissolution Behavior of Ledipasvir-Copovidone Amorphous Solid Dispersions: Role of Drug Loading and Intermolecular Interactions. *Mol Pharm.* 2019, 16(12): 5054-5067.

- Qureshi MJ, Phin FF, Patro S. Enhanced Solubility and Dissolution Rate of Clopidogrel by Nanosuspension: Formulation via High Pressure Homogenization Technique and Optimization Using Box Behnken Design Response Surface Methodology. *J Appl Pharm Sci*. 2017; 7(02): 106-113.
- Rao KR, Lakshmi KR. Design, development and evaluation of clopidogrel bisulfate floating tablets. *Int J Pharm Investig*. 2014; 4(1): 19-26.
- Rauseo AM, Mazi P, Lewis P, Burnett B, Mudge S, Spec A. Bioavailability of Single-Dose SUBA-Itraconazole Compared to Conventional Itraconazole under Fasted and Fed Conditions. *Antimicrob Agents Chemother*. 2021; 65(8): e0013421.
- Renuka S, Subhash D, Kailash B. Preparation and characterization of clopidogrel bisulfate solid dispersion using *Vigna radiata* extract as a natural drug carrier. *Asian J Pharm*. 2016; 10(2): 108-112.
- Rhee T-M, Bae J-W, MD, Park KW, Rha S-W Rha, Kang J, Lee H, Yang H-M; Kwak S-H, Chae I-H, Shin W-Y, Kim D-K, Oh JH, Jeong MH, Kim YH, Lee NH, Hur SH, Yoon J, Han J-K, Shin E-S, Koo B-K, Kim H-S, HOST-EXAM Investigators. Aspirin vs Clopidogrel for Long-term Maintenance After Coronary Stenting in Patients With Diabetes: A Post Hoc Analysis of the HOST-EXAM Trial. *JAMA Cardiol*. 2023; 8(6): 535-544.
- Rodríguez-Miguel A, García-Rodríguez LA, Gil M, Montoya H, Rodríguez-Martín S, de Abajo FJ. Clopidogrel and Low-Dose Aspirin, Alone or Together, Reduce Risk of Colorectal Cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2019; 17(10): 2024-2033.e2.
- Saboo S, Mugheirbi NA, Zemlyanov DY, Kestur US, Taylor LS. Congruent release of drug and polymer: A "sweet spot" in the dissolution of amorphous solid dispersions. *J Control Release*. 2019; 298: 68-82.
- Saha SK, Joshi A, Singh R, Dubey K. Review of industrially recognized polymers and manufacturing processes for amorphous solid dispersion based formulation. *Pharm Dev Technol*. 2023; 28(7): 678-696.
- Saharan VA, Kukkar V, Kataria M, Gera M, Choudhury PK. Dissolution Enhancement of Drugs Part II: Effect of Carriers. *Int J Health Res*. 2009; 2: 207-223.
- Samsoen S, Dudognon É, Le Fer G, Fournier D, Woisel P, Affouard F. Impact of the polymer dispersity on the properties of curcumin/polyvinylpyrrolidone amorphous solid dispersions. *Int J Pharm*. 2024; 653: 123895.
- Samsuzzaman M, Sayeed A, Saha A. Reentrant melting of lanes of rough circular disks. *Physical Review E*. 2022; 105.
- Sandhu H, Shah N, Chokshi H, Malick AW. Overview of amorphous solid dispersion technologies. In: Shah N, Sandhu H, Choi DS, Chokshi H, Malick AW, editors. *Amorphous solid dispersions*. New York City, US: Springer; 2014; pp. 91-122.
- Sanofi-Aventis. Plavix product monograph including patient medication information. Date of revision: October 13, 2020. Dostupno na: https://pdf.hres.ca/dpd_pm/00058294.PDF (zadnji pristup sajtu 23.09.2024.).
- Schittny A, Huwyler J, Puchkov M. Mechanisms of increased bioavailability through amorphous solid dispersions: a review. *Drug Deliv*. 2020; 27(1): 110-127.
- Schönfeld BV, Westedt U, Wagner KG. Compression of amorphous solid dispersions prepared by hot-melt extrusion, spray drying and vacuum drum drying. *Int J Pharm X*. 2021; 3: 100102.
- Shah DS, Moravkar KK, Jha DK, Lonkar V, Amin PD, Chalikwar SS. A concise summary of powder processing methodologies for flow enhancement. *Heliyon*. 2023; 9(6): e16498.
- Shah V, Patel D, Mane S, Upadhyay U. Solubility and dissolution rate enhancement of licofelone by using modified guar gum. *Int J PharmTech Res*. 2010; 2: 1847-1854.
- Shahidulla SM, Amtul H, Azeed SA. Granulation techniques: an overview. *World J Pharm Pharm Sci*. 2019; 8(5): 525-546.
- Sharma U, Joshi A, Vyas N, Malviya S, Kharia A. Solubility enhancement of clopidogrel bisulfate by solid dispersion technique using carboxymethylcellulose sodium and xanthan gum. *J Drug Delivery ther*. 2017; 7(7): 35-37.

- Shekunov BY, Chattopadhyay P, Tong HHY, Chow AHL. Particle Size Analysis in Pharmaceuticals: Principles, Methods and Applications. *Pharm Res.* 2007; 24(2): 203-227.
- Shepard KB, Dower AM, Ekdahl AM, Morgen MM, Baumann JM, Vodak DT. Solvent-Assisted Secondary Drying of Spray-Dried Polymers. *Pharm Res.* 2020; 37(8): 156.
- Sherman BC. Clopidogrel bisulfate tablet formulation. US Patent 6 914 141 B2, 2002.
- Sheskey PJ, Cook GW, Cable CG, eds. Handbook of Pharmaceutical Excipients. Eight ed. Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association, London, Chicago, 2017.
- Shi C, Li L, Zhang GGZ, Borchardt BT. Direct Visualization of Drug–Polymer Phase Separation in Ritonavir–Copolydione Amorphous Solid Dispersions Using in situ Synchrotron X-ray Fluorescence Imaging of Thin Films. *Mol Pharm.* 2019; 16(11): 4751-4754.
- Shi Ch, Ignjatović J, Liu T, Han M, Cun D, Đuriš J, Yang M, Cvijić S. *In vitro-in vivo-in silico* approach in the development of inhaled drug products: Nanocrystal-based formulations with budesonide as a model drug. *Asian J Pharm Sci.* 2021; 16(3): 350-362.
- Shi H, Mohanty R, Chakravarty S, Cabiscol R, Morgeneier M, Zetzener H, Jooi JY, Kwade A, Luding S, Magnanimo V. Effect of Particle Size and Cohesion on Powder Yielding and Flow. *KONA Powder Part J.* 2018; 35: 226-250.
- Shi Q, Chen H, Wang Y, Wang R, Xu J, Zhang C. Amorphous Solid Dispersions: Role of the Polymer and Its Importance in Physical Stability and In Vitro Performance. *Pharmaceutics.* 2022; 14(8): 1747.
- Shimada Y, Hatano S, Matsusaka S. A new method for evaluating powder flowability using constant-volume shear tester. *Adv Powder Technol.* 2018; 29: 3577–3583.
- Sibbing D, Aradi D, Jacobshagen C, Gross L, Trenk D, Geisler T, Orban M, Hadamitzky M, Merkely B, Kiss RG, Komócsi A, Dézsi CA, Holdt L, Felix SB, Parma R, Klopotoski M, Schwinger RHG, Rieber J, Huber K, Neumann FJ, Koltowski L, Mehili J, Huczek Z, Massberg S; TROPICAL-ACS Investigators. Guided de-escalation of antiplatelet treatment in patients with acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention (TROPICAL-ACS): a randomised, open-label, multicentre trial. *Lancet.* 2017; 390(10104): 1747-1757.
- Siepmann J, Peppas NA. Higuchi equation: derivation, applications, use and misuse. *Int J Pharm.* 2011, 418(1): 6-12.
- Simonazzi A, Davies C, Cid AG, Gonzo E, Parada L, Bermúdez JM. Preparation and Characterization of Poloxamer 407 Solid Dispersions as an Alternative Strategy to Improve Benznidazole Bioperformance. *J Pharm Sci.* 2018; 107(11): 2829-2836.
- SimulationPlus, Inc., GastroPlus™ version 9.8 Manual, Lancaster, CA, USA, 2020.
- Singh A, Sharma R, Chaudhary S, Rana V. Preparation and Characterization of Clopidogrel Bisulfate-hydroxypropyl-β-Cyclodextrin Mixed Inclusion Complex for Improved Intestinal Solubility and Anti-Thrombotic Efficacy. *J Pharm Sci.* 2023; 112(1): 166-181.
- Singh ANK, Sindhu, Reddy N. Formulation and Evaluation of Clopidogrel Bisulfate Immediate Release Tablets. *Int J Life Sci Res,* 2013; 1(1): 11-18.
- Singh SK, Som S, Shankhwar U. Formulation and optimization of solid dispersion of Clopidogrel with PEG 6000. *J Appl Pharm Sci.* 2011; 01(08): 217-226.
- Smeda M, Kieronska A, Proniewski B, Jasztal A, Selmi A, Wandzel K, Zakrzewska A, Wojcik T, Przyborowski K, Derszniak K, Stojak M, Kaczor D, Buczek E, Watala C, Wietrzyk J, Chlopicki S. Dual antiplatelet therapy with clopidogrel and aspirin increases mortality in 4T1 metastatic breast cancer-bearing mice by inducing vascular mimicry in primary tumour. *Oncotarget.* 2018; 9(25): 17810-17824.
- Smeets A, Koekoekx R, Clasen C, Van den Mooter G. Amorphous solid dispersions of darunavir: comparison between spray drying and electrospraying. *Eur J Pharm Biopharm.* 2018; 130: 96-107.

- Sokač K, Miloloža M, Kučić Grgić D, Žižek K. Polymeric Amorphous Solid Dispersions of Dasatinib: Formulation and Ecotoxicological Assessment. *Pharmaceutics*. 2024; 16(4): 551.
- Song Y, Wang L, Yang P, Wenslow Jr RM, Tan B, Zhang H, et al. Physicochemical Characterization of Felodipine-Kollidon VA64 Amorphous Solid Dispersions Prepared by Hot-Melt Extrusion. *J Pharm Sci*. 2013;102 (6): 1915-1923.
- Sravani SK, Anand KM, Garigeyi P. Formulation and optimization of clopidogrel bisulfate immediate release tablet. *Int J Pharm Chem Biol Sci*. 2012; 2(1): 38-51.
- Srivastava A, Mishra S, Tandon P, Patel S, Ayala AP, Bansal AK, et al. Molecular structure and vibrational spectroscopic analysis of an antiplatelet drug; clopidogrel hydrogen bisulfate (form 2)- A combined experimental and quantum chemical aproach. *J Mol Struc*. 2010; 964: 88-96.
- Suhag R, Kellil A, Razem M. Factors Influencing Food Powder Flowability. *Powders*. 2024; 3: 65-76.
- Sun DD, Lee PI. Crosslinked hydrogels-a promising class of insoluble solid molecular dispersion carriers for enhancing the delivery of poorly soluble drugs. *Acta Pharm Sin B*. 2014; 4(1): 26-36.
- Sun DD, Lee PI. Probing the mechanisms of drug release from amorphous solid dispersions in medium-soluble and medium-insoluble carriers. *J Control Release*. 2015; 211: 85-93.
- Szabó E, Démuth B, Galata DL, Vass P, Hirsch E, Csontos I, Marosi G, Nagy ZK. Continuous Formulation Approaches of Amorphous Solid Dispersions: Significance of Powder Flow Properties and Feeding Performance. *Pharmaceutics*. 2019;11(12): 654.
- Szafraniec J, Antosic A, Knapik-Kowalczyk J, Chmiel K, Kurek M, Gawlak K, Paluch M, Jachowicz R. Enhanced dissolution of solid dispersions containing bicalutamide subjected to mechanical stress. *Int J of Pharm*. 2018, 542(1-2): 18-26.
- Tamari S. Optimum design of the constant-volume gas pycnometer for determining the volume of solid particles. *Meas Sci Technol*. 2004; 15(3): 549.
- Tambe S, Jain D, Meruva SK, Rongala G, Juluri A, Nihalani G, Mamidi HK, Nukala PK, Bolla PK. Recent Advances in Amorphous Solid Dispersions: Preformulation, Formulation Strategies, Technological Advancements and Characterization. *Pharmaceutics*. 2022; 14(10): 2203.
- Tan C, Degim İT. Development of sustained release formulation of an antithrombotic drug and application of Fuzzy logic. *Pharm Dev Technol*. 2012, 17(2): 242-250.
- Tan DK, Davis DA Jr, Miller DA, Williams RO 3rd, Nokhodchi A. Innovations in Thermal Processing: Hot-Melt Extrusion and KinetiSol® Dispersing. *AAPS PharmSciTech*. 2020; 21(8): 312.
- Taubert D, von Beckerath N, Grimberg G, Lazar A, Jung N, Goesser T, et al. Impact of P-glycoprotein on clopidogrel absorption. *Clin Pharmacol Ther*. 2006; 80(5): 486–501.
- The Field Guide to Pharmaceutical Powder Characterization, Anton Paar, e-book, 2023. Dostupno na: <https://www.anton-paar.com/corp-en/services-support/document-finder/application-reports/e-book-field-guide-to-pharmaceutical-powder-characterization/> (zadnji pristup sajtu: 07.04.2025)
- The United States Pharmacopeia 47-National Formulary 42 (USP 47-NF 42). The United States Pharmacopeial Convention, Rockville, SAD, 2024.
- Tian Y, Jones DS, Donnelly C, Brannigan T, Li S, Andrews GP. A New Method of Constructing a Drug-Polymer Temperature-Composition Phase Diagram Using Hot-Melt Extrusion. *Mol Pharm*. 2018; 15(4): 1379-1391.
- Tran P, Pyo Y, Kim D, Lee S, Kim J, Park J. Overview of the Manufacturing Methods of Solid Dispersion Technology for Improving the Solubility of Poorly Water-Soluble Drugs and Application to Anticancer Drugs. *Pharmaceutics*. 2019; 11.
- Tran PH, Tran TT, Piao ZZ, Vo TV, Park JB, Lim J, Oh KT, Rhee YS, Lee BJ. Physical properties and in vivo bioavailability in human volunteers of isradipine using controlled release matrix tablet containing self-emulsifying solid dispersion. *Int J Pharm*. 2013; 450(1-2): 79-86.

- Tran PH-L, Tran TT-D, Park J-B, Min DH, Choi H-G, Han H-K. Investigation of physicochemical factors affecting the stability of a pH-modulated solid dispersion and a tablet during storage. *Int J Pharm.* 2011; 414(1-2): 48-55.
- Trasi NS, Bhujbal J, Zhou QT, Taylor LS. Amorphous solid dispersion formation via solvent granulation – A case study with ritonavir and lopinavir. *Int J Pharm: X.* 2019; 1: 100035.
- Trenfield SJ, Goyanes A, Telford R, Wilsdon D, Rowland M, Gaisford S, Basit AW. 3D printed drug products: Non-destructive dose verification using a rapid point-and-shoot approach. *Int J Pharm.* 2018; 549(1-2): 283-292.
- Tres F, Posada MM, Hall SD, Mohutsky M, Taylor LS. Mechanistic understanding of the phase behavior of supersaturated solutions of poorly water-soluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 2018. 543: 29–37.
- Tres F, Treacher K, Booth J, Hughes LP, Wren SA, Aylott JW, Burley JC. Real time Raman imaging to understand dissolution performance of amorphous solid dispersions. *J Control Release.* 2014; 188: 53-60.
- Trivedi MK, Sethi KK, Panda P, Jana S. A comprehensive physicochemical, thermal, and spectroscopic characterization of zinc (II) chloride using X-ray diffraction, particle size distribution, differential scanning calorimetry, thermogravimetric analysis/differential thermogravimetric analysis, ultraviolet-visible, and Fourier transform-infrared spectroscopy. *Int J Pharm Investig.* 2017; 7(1): 33-40.
- Tscharre M, Egger F, Machata M, Rohla M, Michael N, Neumayr M, Zweiker R, Hajos J, Adlbrecht C, Suppan M, Helmreich W, Eber B, Huber K, Weiss TW. Contemporary use of P2Y12-inhibitors in patients with acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention in Austria: A prospective, multi-centre registry. *PLoS One.* 2017; 12(6): e0179349.
- Tsoumani ME, Ntalas IV, Goudevenos JA, Tselepis AD. Evaluating the bioequivalence of clopidogrel generic formulations. *Curr Med Res Opin.* 2015; 31(5): 861-864.
- van den Broek WWA, van Paassen JG, Gimbel ME, Deneer VHM, Ten Berg JM, Vreman RA. Cost-effectiveness of clopidogrel vs. ticagrelor in patients of 70 years or older with non-ST-elevation acute coronary syndrome. *Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother.* 2022; 9(1): 76-84.
- Vasconcelos T, Prezotti F, Araújo F, Lopes C, Loureiro A, Marques S, Sarmiento B. Third-generation solid dispersion combining Soluplus and poloxamer 407 enhances the oral bioavailability of resveratrol. *Int J Pharm.* 2021; 595: 120245.
- Verma S, Rudraraju VS. A systematic approach to design and prepare solid dispersions of poorly water-soluble drug. *AAPS PharmSciTech.* 2014; 15(3): 641-657.
- Veronez IP, Daniel JSP, Junior CEC, Garcia JS, Trevisan MG. Development, characterization, and stability studies of ethinyl estradiol solid dispersion. *J Therm Anal Calorim.* 2014; 120: 573–581.
- Vithani K, Goyanes A, Jannin V, Basit AW, Gaisford S, Boyd BJ. An Overview of 3D Printing Technologies for Soft Materials and Potential Opportunities for Lipid-based Drug Delivery Systems. *Pharm Res.* 2019; 36(1): 4.
- Vyas V, Sancheti P, Karekar P, Shah M, Pore Y. Physicochemical characterization of solid dispersion systems of tadalafil with poloxamer 407. *Acta Pharm.* 2009; 59(4): 453-461.
- Wang S, Liu C, Chen Y, Zhang Z, Zhu A, Qian F. A high-sensitivity HPLC-ELSD method for HPMC-AS quantification and its application in elucidating the release mechanism of HPMC-AS based amorphous solid dispersions. *Eur J Pharm Sci.* 2018; 122: 303-310.
- Wang XL, Deng HF, Li T, Miao SY, Xiao ZH, Liu MD, Liu K, Xiao XZ. Clopidogrel reduces lipopolysaccharide-induced inflammation and neutrophil-platelet aggregates in an experimental endotoxemic model. *J Biochem Mol Toxicol.* 2019; 33(4): e22279.
- Wang Y, Ouyang Y, Liu B, Ma X, Ding R. Platelet activation and antiplatelet therapy in sepsis: A narrative review. *Thromb Res.* 2018; 166: 28-36.

- Wendelboe J, Knopp MM, Khan F, Chourak N, Rades T, Holm R. Importance of in vitro dissolution conditions for the in vivo predictability of an amorphous solid dispersion containing a pH-sensitive carrier. *Int J Pharm.* 2017; 531(1): 324-331.
- Wertz CF, Chen T, inventors. Nanocopoeia, LLC, assignee, 2022 May 10. Amorphous solid dispersions of dasatinib and uses thereof. US patent 11,324,745 B2.
- Wilke SK, Benmore CJ, Menon V, Smith D, Byrn SR, Weber R. Molecular structure of ketoprofen-polyvinylpyrrolidone solid dispersions prepared by different amorphization methods. *RSC Pharm.* 2024; 1: 121-131.
- Wilkinson M, Diaz L, Vassileiou A, Armstrong J, Brown C, Castro DB, Florence A. Predicting Pharmaceutical Powder Flow From Microscopy Images Using Deep Learning. *Digit Discov.* 2023; 2: 459-470.
- Wolk O, Agbaria R, Dahan A. Provisional in-silico biopharmaceutics classification (BCS) to guide oral drug product development. *Drug Des Devel Ther.* 2014, 8: 1563-1575.
- Wu D, Li M. Current State and Challenges of Physiologically Based Biopharmaceutics Modeling (PBBM) in Oral Drug Product Development. *Pharm Res.* 2023; 40(2): 321-336.
- Wu D, Liu J, Paragas EM, Yadav J, Aliwarga T, Heimbach T, Escotet-Espinoza MS. Assessing and mitigating pH-mediated DDI risks in drug development - formulation approaches and clinical considerations. *Drug Metab Rev.* 2024; 3: 1-20.
- Wu D, Sanghavi M, Kollipara S, Ahmed T, Saini AK, Heimbach T. Physiologically Based Pharmacokinetics Modeling in Biopharmaceutics: Case Studies for Establishing the Bioequivalence Safe Space for Innovator and Generic Drugs. *Pharm Res.* 2023; 40: 337-357.
- Wu F, Cristofolletti R, Zhao L, Rostami-Hodjegan A. Scientific considerations to move towards biowaiver for biopharmaceutical classification system class III drugs: How modeling and simulation can help. *Biopharm Drug Dispos.* 2021; 42: 118-127.
- Wu K, Kamphorst R, Bakker A, Ford J, Wagner EC, Ochkin-Koenig O, Franck M, Weis D, Meesters GMH, van Ommen JR. Stirrer design for improving fluidization of cohesive powder: A time-resolved X-ray study. *Chem Eng Sci.* 2024; 294: 120069.
- Wünsch I, Finke JH, John E, Juhnke M, Kwade A. A Mathematical Approach to Consider Solid Compressibility in the Compression of Pharmaceutical Powders. *Pharmaceutics.* 2019; 11(3): 121.
- Xie T, Taylor LS. Improved release of celecoxib from high drug loading amorphous solid dispersions formulated with polyacrylic acid and cellulose derivatives. *Mol Pharm.* 2016; 13(3): 873–884.
- Xiong X, Zhang M, Hou Q, Tang P, Suo Z, Zhu Y, Li H. Solid dispersions of telaprevir with improved solubility prepared by co-milling: formulation, physicochemical characterization, and cytotoxicity evaluation. *Mater Sci Eng C.* 2019; 105: 110012.
- Xu L, Wei T, Zhou J, Cao Z. Modified Landweber algorithm for robust particle sizing by using Fraunhofer diffraction. *Appl Opt.* 2014; 53(27): 6185-6193.
- Yan T, Zhang Y, Ji M, Wang Z, Yan T. Preparation of irbesartan composite microparticles by supercritical aerosol solvent extraction system for dissolution enhancement. *J Supercrit Fluids.* 2019; 153: 104594.
- Yang F, Su Y, Zhang J, DiNunzio J, Leone A, Huang C, Brown CD. Pheology guided rational selection of processing temperature to prepare copovidone-nifedipine amorphous solid dispersions via hot melt extrusion (HME). *Mol Pharm.* 2016; 13(10): 3494-3505.
- Yang G, Zhao Y, Feng N, Zhang Y, Liu Y, Dang B. Improved dissolution and bioavailability of silymarin delivered by a solid dispersion prepared using supercritical fluids. *Asian J Pharm Sci.* 2015; 10: 194-202.
- Yani Y, Kanaujia P, Chow PS, Tan RBH. Effect of API-Polymer Miscibility and Interaction on the Stabilization of Amorphous Solid Dispersion: A Molecular Simulation Study. *Ind Eng Chem Res.* 2017; 56 (44): 12698-12707.

- Yao X, Huang C, Benson EG, Shi C, Zhang GGZ, Yu L. Effect of Polymers on Crystallization in Glass-Forming Molecular Liquids: Equal Suppression of Nucleation and Growth and Master Curve for Prediction. *Cryst. Growth Des.* 2019; 20: 237–244.
- Yin XZ, Wu L, Li Y, Guo T, Li HY, Xiao TQ, York P, Nangia AN, Gui SY, Zhang JW. Visualization and quantification of deformation behavior of clopidogrel bisulfate polymorphs during tableting. *Sci Rep.* 2016; 6: 21770.
- Yu D, Hoag SW. The impact of diluents on the compaction, dissolution, and physical stability of amorphous solid dispersion tablets. *Int J Pharm.* 2024; 654: 123924.
- Yun T, Lee S, Yun S, Cho D, Bang K, Kim K. Investigation of Stabilized Amorphous Solid Dispersions to Improve Oral Olaparib Absorption. *Pharmaceutics.* 2024; 16(7): 958.
- Yusuf H, Meidy Nurintan Savitri O, Primaharinastiti R, Agus Syamsur Rijal M. A lyophilized surfactant-based rutin formulation with improved physical characteristics and dissolution for oral delivery. *Saudi Pharm J.* 2023; 31(6): 1077-1083.
- Zaid AN, Al Ramahi R, Bustami R, Mousa A, Khasawneh S. Comparative fasting bioavailability of two clopidogrel formulations in healthy Mediterranean volunteers: an in vitro-in vivo correlation. *Drug Des Devel Ther.* 2015, 9: 2359-2365.
- Zema L, Melocchi A, Maroni A, Gazzaniga A. Three-Dimensional Printing of Medicinal Products and the Challenge of Personalized Therapy. *J Pharm Sci.* 2017; 106(7): 1697-1705.
- Zhang J, Guo M, Luo M, Cai T. Advances in the development of amorphous solid dispersions: The role of polymeric carriers. *Asian J Pharm Sci.* 2023; 18(4): 100834.
- Zhang J, Shi Q, Hu Y, Li X. Silibinin augments the effect of clopidogrel on atherosclerosis in diabetic ApoE deficiency mice. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2022; 80(4): 353-361.
- Zhang Q, Song X, Song X. Contents in tumor-educated platelets as the novel biosource for cancer diagnostics. *Front Oncol.* 2023; 13: 1165600.
- Zhang T, Heimbach T, Lin W, Zhang J, He H. Prospective Predictions of Human Pharmacokinetics for Eighteen Compounds. *J Pharm Sci.* 2015, 104(9): 2795-2806.
- Zhang Z, Cui C, Wei F, Lv H. Improved solubility and oral bioavailability of apigenin via Soluplus/Pluronic F127 binary mixed micelles system. *Drug Dev Ind Pharm.* 2017; 43(8):1276-1282.
- Zhao M. Clopidogrel sulfate tablet and preparation process thereof. CN Patent 104 173 309 A, 2014.
- Zhao Z, Katai H, Higashi K, Ueda K, Kawakami K, Moribe K. Cryo-TEM and AFM Observation of the Time-Dependent Evolution of Amorphous Probucol Nanoparticles Formed by the Aqueous Dispersion of Ternary Solid Dispersions. *Molecular pharmaceutics,* 2019; 16 (5): 2184-2198.
- Zheng K, Lin Z, Capece M, Kunnath K, Chen L, Davé R. Effect of Particle Size and Polymer Loading on Dissolution Behavior of Amorphous Griseofulvin Powder. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2018; 108.
- Zocca P, van der Heijden LC, Kok MM, Löwik MM, Hartmann M, Stoel MG, Louwerenburg JW, de Man FHAF, Linssen GCM, Knottnerus IL, Doggen CJM, van Houwelingen KG, von Birgelen C. Clopidogrel or ticagrelor in acute coronary syndrome patients treated with newer-generation drug-eluting stents: CHANGE DAPT. *EuroIntervention.* 2017; 13(10): 1168-1176.
- Zupančič V, Smrkolj M, Benkič P, Simonič I, Plevnik M, Ritlop G, Kristl A, Vrečer F. Preformulation investigation of some clopidogrel addition salts. *Acta Chim Slov.* 2010; 57(2): 376–385.

OBJAVLJENI I SAOPŠTENI REZULTATI KOJI ČINE DEO DISERTACIJE

Radovi u istaknutim međunarodnim časopisima (M22)

1. **Osmanović Omerdić E**, Cvijić S, Ignjatović J, Ivković B, Vasiljević D. In vitro-in silico approach in the development of clopidogrel solid dispersion formulations. *Bioengineering* 2025; 12, 357., doi.org/10.3390/bioengineering12040357 (IF2023 3,8; Engineering, Biomedical 40/98)
2. **Osmanović Omerdić E**, Alagić-Džambić L, Krstić M, Pašić-Kulenović M, Medarević Đ, Ivković B, Vasiljević D. Long-term stability of clopidogrel solid dispersions - Importance of in vitro dissolution test. *PLoS One*. 2022; 17(4): e0266237., doi.org/10.1371/journal.pone.0266237 (IF2022 3,7; Multidisciplinary Sciences 27/73)
3. **Osmanović Omerdić E**, Alagić-Džambić L, Krstić M, Pašić-Kulenović M, Odović J, Vasiljević D. In Vitro dissolution study of acetylsalicylic acid and clopidogrel bisulfate solid dispersions: Validation of the RP-HPLC method for simultaneous analysis. *Appl. Sci.* 2020; 10(14): 4792., doi: 10.3390/app10144792 (IF2020 2,679; Chemistry, Multidisciplinary 101/178)

Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u celini (M33)

1. **Osmanović Omerdić E**, Alagić-Džambić L, Pašić-Kulenović M, Jahić N, Krstić M, Vasiljević D. Solid dispersions of clopidogrel bisulfate: the influence of hydrophilic polymer type on dissolution rate. 12th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology, Szeged, Hungary, 20 – 22 September 2018. *Acta Pharm Hung.* 2018; 88: 196-197.

Saopštenje sa skupa nacionalnog značaja štampano u izvodu (M64)

1. **Osmanović Omerdić E**, Alagić-Džambić L, Pašić-Kulenović M, Jahić N, Vasiljević D. Poboljšanje brzine rastvaranja klopidogrel-bisulfata primenom čvrstih disperzija. VII Kongres farmaceuta Srbije sa međunarodnim učešćem, Beograd, 10-14. oktobar 2018, *Arh farm.* 2018; 68: 592-593.

Biografija autora

Ehlimana Osmanović Omerdić je rođena 19.01.1987. godine u Tuzli, Bosna i Hercegovina. Nakon završetka osnovne škole i gimnazije, upisala je Farmaceutski fakultet Univerziteta u Tuzli (školske 2005/06.), a stekla zvanje magistar farmacije oktobra 2010. godine, sa prosečnom ocenom 8,70 i ocenom 10,0 na diplomskom ispitu. Odlukom Univerziteta u Tuzli, novembra 2010. godine joj je dodeljeno posebno priznanje „Srebrna plaketa“ za postignuti uspeh tokom studija.

U toku 2010/2011. godine obavila je pripravnički staž u apoteci i položila stručni državni ispit za magistre farmacije.

U novembru 2010. godine zaposlila se u veletrgovini Tuzlafarm iz Tuzle, gde je obavljala poslove odgovorne osobe za kontrolu kvaliteta uvezenih serija lekova, kao i stručnog saradnika za marketing.

U periodu 2010-2014. bila je u zvanju asistenta, spoljnog saradnika na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Tuzli, gde je učestvovala u izvođenju praktične nastave iz predmeta: Farmaceutska tehnologija I, Farmaceutska tehnologija II i Farmakokinetika sa biofarmacijom.

Od februara 2012. godine je zaposlena u kompaniji Bosnalijek d.d., prvo kao stručni saradnik za marketing, a od marta 2016. na poslovima razvojnog tehnologa. Od juna 2025. obavlja poslove korporativnog portfolio menadžera.

Doktorske akademske studije, modul Farmaceutska tehnologija, na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu upisala je školske 2011/12. godine.

Udata je i majka jednog deteta.

Образац 5.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Ехлимана Османовић Омердић

Број индекса 22/11

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Утицај врсте и удела хидрофилних полимера на фармацеутско-технолошке и биофармацеутске
карактеристике чврстих дисперзија са клопидогрел-хидрогенсулфатом

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 29.04.2025.



Образац 6.

**Изјава о истоветности штампане и електронске
верзије докторског рада**

Име и презиме аутора Ехлимана Османовић Омердић

Број индекса 22/11

Студијски програм Фармација

Наслов рада Утицај врсте и удела хидрофилних полимера на фармацеутско-технолошке

и биофармацеутске карактеристике чврстих дисперзија са клопидогрел-хидрогенсулфатом
Ментор Др сц. Драгана Васиљевић, редовни професор

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањена у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 29.04.2025.



Образац 7.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Утицај врсте и удела хидрофилних полимера на фармацеутско-технолошке и биофармацеутске
карактеристике чврстих дисперзија са клопидогрел-хидрогенсулфатом

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
- ☒ 3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 29.04.2025.



1. **Ауторство.** Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.