

UNIVERZITET U BEOGRADU
FARMACEUTSKI FAKULTET

Ana N. Milanović

**OPTIMIZACIJA POSTUPKA OBLAGANJA
TOPLJENJEM U UREĐAJU TIPA FLUIDIZIRAJUĆEG
SISTEMA: IZRADA I KARAKTERIZACIJA GRANULA
SA MODIFIKOVANIM OSLOBAĐANJEM
PARACETAMOLA**

Doktorska disertacija

Beograd, 2021

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF PHARMACY

Ana N. Milanović

**OPTIMIZATION OF HOT-MELT COATING IN A
FLUIDIZED-BED APPARATUS: PREPARATION
AND CHARACTERIZATION OF MODIFIED
RELEASE PARACETAMOL GRANULES**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2021

Mentor

Dr sc. Sandra Cvijić, vanredni profesor,
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

Članovi komisije

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

Dr sc. Jelena Parojčić, redovni profesor,
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

Dr sc. Ivana Aleksić, docent,
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

Dr sc. Tatjana Kaluđerović Radoičić, redovni profesor,
Univerzitet u Beogradu – Tehnološko–metalurški fakultet

Datum odbrane _____

ZAHVALNICA

Najveću zahvalnost dugujem svom mentoru, prof. dr Sandri Cvijić, na izuzetnoj profesionalnosti, strpljenju, nesebičnoj podršci i motivaciji koja mi je često bila preko potrebna, posebno u trenucima kada su prepreke delovale nesavladivo. Zahvaljujem joj se na svim savetima, znanju i iskustvu koje je uvek nesebično delila, a neizmerno joj se zahvaljujem na svom trudu, radu i vremenu koje je posvetila ovom kandidatu, od prvog dana rada u laboratoriji, prvih seminara, objavljenih radova, do završnog rada.

Želim da se zahvalim članovima komisije koji su svojim savetima doprineli kvalitetu ove disertacije.

Zahvaljujem se i kolegama sa Katedre za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju na pruženoj pomoći i podršci.

Veliku zahvalnost dugujem svojim roditeljima koji su bili pokretačka sila u mom nastojanju da učinim ovakav iskorak i prihvatim izazov doktorskih studija.

Zahvaljujem se svim dragim ljudima u svom najbližem okruženju koji su imali razumevanja za moju povremenu odsutnost, nervozu i nedostatak slobodnog vremena.

I zahvaljujem se svom najboljem prijatelju i saputniku u godinama koje su pred nama, na ogromnoj podršci, dodatnoj motivaciji i svesrdnoj pomoći na koju sam uvek mogla da računam.

Optimizacija postupka oblaganja topljenjem u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema: izrada i karakterizacija granula sa modifikovanim oslobađanjem paracetamola

SAŽETAK

Oblaganje topljenjem je proces u kom se supstanca za oblaganje nanosi na supstrat u rastopljenom obliku i najčešće se sprovodi u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema. Zbog velikog broja procesnih parametara i kompleksnosti procesa, optimizacija postupka oblaganja topljenjem u ovakvim uređajima predstavlja poseban izazov. Cilj ovog rada je ispitivanje uticaja procesnih parametara na karakteristike granula obloženih topljenjem i optimizacija postupka oblaganja topljenjem u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema laboratorijskog kapaciteta. Na osnovu rezultata ispitivanja dobijenih primenom eksperimentalnog dizajna, uočene su dve oblasti koje definišu optimalne uslove procesa oblaganja topljenjem, odnosno, definisan je prostor za dizajn.

Komprimovanjem granula obloženih topljenjem mogu se izraditi tablete sa produženim oslobađanjem lekovite supstance. Ispitivanje tabletabilnih karakteristika materijala obloženog topljenjem do sada nije opisano u literaturi. Dobijeni rezultati su pokazali da obložene granule poseduju zadovoljavajuće karakteristike u smislu kompaktilnosti i pogodnosti za proizvodnju, a da farmaceutsko-tehnološke karakteristike izrađenih tableta odgovaraju zahtevima Ph. Eur. 10.0. Takođe, ispitivanja su pokazala da je brzina rastvaranja paracetamola iz tableta izrađenih od obloženih granula nezavisna do pritiska kompresije primenjenog u postupku izrade tableta.

Granule obložene topljenjem i tablete izrađene od obloženih granula predstavljaju pogodne farmaceutske oblike lekova za pedijatrijske pacijente, pre svega zbog primene bezbednih pomoćnih supstanci za oblaganje i mogućnosti maskiranja ukusa, a smanjena učestalost doziranja zbog produženog oslobađanja lekovite supstance može dodatno povećati komplijansu pacijenata. Rezultati *in silico* modelovanja i simulacija pokazali su da se primenom obloženih granula paracetamola i tableta izrađenih od obloženih granula, kod dece različitog uzrasta, može postići odgovarajuća sistemska raspoloživost uz istovremeno smanjenje učestalosti uzimanja leka.

Ključne reči: oblaganje topljenjem, uređaj tipa fluidizirajućeg sistema, glicerildistearat, granule, tablete, produženo oslobađanje, pedijatrijska populacija, *in silico* modelovanje, paracetamol

Naučna oblast: Farmacija

Uža naučna oblast: Farmaceutska tehnologija

Optimization of hot-melt coating in a fluidized-bed apparatus: preparation and characterization of modified release paracetamol granules

ABSTRACT

Hot-melt coating is a process in which the coating excipient is applied on a substrate in a molten state. Generally, fluidized-bed systems are preferred for hot-melt coating. Optimization of hot-melt coating in a fluidized-bed apparatus is often a challenge due to the numerous process parameters and the process complexity. The aim of this study was to evaluate the effects of process parameters on the coated granules characteristics and to optimize the hot-melt coating process in the laboratory-scale fluidized-bed apparatus. Based on the experimental design results, two discrete areas defining optimal values of the process parameters were observed i.e., design space was established.

Hot-melt coated granules can be compressed to yield prolonged-release tablets. Evaluation of hot-melt coated material tableting properties has not been described in literature so far. The results obtained in this study revealed that hot-melt coated paracetamol granules have suitable tableting properties, in terms of compactibility and manufacturability. In addition, pharmaceutical-technical properties of the tablets made of hot-melt coated granules are within the limits described in the Ph. Eur. 10.0. Dissolution testing showed that the applied range of compression loads during tableting process did not influence the drug dissolution rate from tablets made of hot-melt coated paracetamol granules.

Hot-melt coated granules and tablets made of hot-melt coated granules can be a suitable dosage forms for paediatric patients because the presence of the coat can provide taste masking, the coating excipients are generally recognized as safe, and prolonged drug release can reduce the dosing frequency, and consequently, improve patients compliance. *In silico* modelling and simulation results indicated that administration of hot-melt coated paracetamol granules or tablets made of hot-melt coated granules in different paediatric subgroups can provide suitable drug systemic availability with reduced daily dosing.

Key words: hot-melt coating, fluidized-bed apparatus, glycerol distearate, granules, tablets, prolonged drug release, paediatric population, *in silico* modelling, paracetamol

Scientific field: Pharmacy

Specific scientific field: Pharmaceutical technology

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Oblaganje čvrstih farmaceutskih oblika lekova	3
1.2. Oblaganje topljenjem	3
1.2.1. Pomoćne supstance za oblaganje topljenjem	4
1.2.2. Oblaganje topljenjem u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema	11
1.2.2.1. Fluidizacija	11
1.2.2.2. Supstrat za fluidizaciju	13
1.2.2.3. Vazduh za fluidizaciju	16
1.2.2.4. Raspršivanje sredstva za oblaganje	18
1.2.3. Optimizacija procesa koji se sprovode u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema	20
1.3. Komprimovanje materijala obloženog topljenjem	22
1.4. Formulacija lekova za pedijatrijski uzrast	26
1.4.1. Čvrsti farmaceutski oblici lekova za primenu u pedijatrijskoj populaciji	28
1.5. Primena <i>in silico</i> modelovanja i simulacija u razvoju lekova	29
1.5.1. Struktura i primena PBPK modela	31
1.5.2. Uloga PBPK modelovanja i simulacija u razvoju formulacija za pedijatrijsku populaciju	35
1.6. Paracetamol	38
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	41
3. EKSPERIMENTALNI DEO	45
3.1. Materijali	47
3.2. Metode	48
3.2.1. Priprema granula sa paracetamolom	48
3.2.2. Modifikacija uređaja tipa fluidizirajućeg sistema	48
3.2.3. Odabir pomoćne supstance za oblaganje i masenog udela obloge	49
3.2.4. Optimizacija procesa oblaganja granula paracetamola topljenjem sa Precirol®-om ATO 5	50
3.2.5. Ispitivanja granula paracetamola	52
3.2.5.1. Ispitivanje protočnosti	52
3.2.5.2. Određivanje sadržaja paracetamola i masenog udela lipidne obloge	53
3.2.5.3. <i>In vitro</i> ispitivanje brzine rastvaranja paracetamola iz granula	53
3.2.5.4. Termalna analiza	54
3.2.5.5. Skenirajuća elektronska mikroskopija	54

3.2.5.6. Distribucija veličine granula	54
3.2.6. Statistička analiza rezultata	54
3.2.7. Ispitivanje tabletabilnih karakteristika granula paracetamola obloženih topljenjem	55
3.2.7.1. Tabletiranje pri zadatom pritisku kompresije.....	55
3.2.7.2. Tabletiranje pri zadatoj debljini tablete.....	55
3.2.7.3. Ispitivanje debljine tableta.....	56
3.2.7.4. Ispitivanje otpornosti tableta na lomljenje (čvrstine tableta) i zatezne čvrstine.....	56
3.2.7.5. Ispitivanje tabletabilnih karakteristika materijala	56
3.2.8. Ispitivanje farmaceutsko-tehnoloških karakteristika tableta	57
3.2.8.1. Ujednačenost sadržaja paracetamola.....	57
3.2.8.2. Variranje mase.....	57
3.2.8.3. Friabilnost.....	57
3.2.8.4. Raspadljivost	58
3.2.8.5. <i>In vitro</i> ispitivanje brzine rastvaranja paracetamola iz tableta	58
3.2.9. Razvoj i validacija PBPK modela za predviđanje apsorpcije i raspodele paracetamola	59
3.2.9.1. Razvoj i validacija PBPK modela za predviđanje apsorpcije i raspodela paracetamola kod odraslih ispitanika.....	59
3.2.9.2. Razvoj i validacija PBPK modela za predviđanje apsorpcije i raspodela paracetamola u pedijatrijskoj populaciji.....	61
3.2.9.3. Primena PBPK modela za predviđanje apsorpcije i raspodele paracetamola u pedijatrijskoj populaciji.....	63
4. REZULTATI I DISKUSIJA	67
4.1. Oblaganje granula paracetamola topljenjem.....	69
4.1.1. Odabir sredstva (pomoćne supstance) za oblaganje.....	69
4.1.2. Odabir masenog udela obloge	74
4.1.3. Optimizacija postupka oblaganja topljenjem u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema.....	75
4.2. Funkcionalne karakteristike obloženih granula	78
4.2.1. Lipidna obloga, morfologija i raspodela veličine granula.....	80
4.2.2. Nasipna i tapkana gustina, <i>Hausner</i> -ov odnos, indeks kompresibilnosti i protočnost.....	82
4.3. Brzina rastvaranja paracetamola iz granula	87
4.4. Uspostavljanje prostora za dizajn.....	95
4.5. Tabletabilne karakteristike granula paracetamola obloženih topljenjem.....	99
4.5.1. Tabletiranje pri zadatom pritisku kompresije.....	99
4.5.2. Tabletiranje pri zadatoj debljini tablete.....	110

4.6. Farmaceutsko-tehnološke karakteristike tableta	114
4.7. <i>In silico</i> modeli za predviđanje apsorpcije i raspodele paracetamola	121
4.7.1. Razvoj i validacija PBPK modela za predviđanje apsorpcije i raspodele paracetamola kod odraslih ispitanika	121
4.7.2. Razvoj PBPK modela za predviđanje apsorpcije i raspodele paracetamola u pedijatrijskoj populaciji.....	130
4.7.3. Primena PBPK modela za predviđanje apsorpcije i raspodele paracetamola u pedijatrijskoj populaciji.....	138
4.7.3.1. Apsorpcija i raspodela leka nakon primene pojedinačne doze granula paracetamola ..	138
4.7.3.2. Apsorpcija i raspodela leka nakon ponovljene primene granula paracetamola	151
4.7.3.3. Apsorpcija i raspodela leka nakon primene pojedinačne doze tableta paracetamola....	159
4.7.3.4. Apsorpcija i raspodela leka nakon ponovljene primene tableta paracetamola.....	165
5. ZAKLJUČAK	173
6. LITERATURA.....	181
7. PRILOZI	197
7.1. Spisak radova i saopštenja koji čine deo doktorske disertacije.....	199
7.2. Biografija autora.....	201

Lista skraćenica

AAP	Pritisak vazduha za raspršivanje (engl. <i>Atomization Air Pressure</i>)
ACAT	Unapređeni prostorni model apsorpcije i transporta (engl. <i>Advanced Compartmental Absorption and Transit</i>)
ADME	Apsorpcija, distribucija, metabolizam, ekskrecija (engl. <i>Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion</i>)
ANOVA	Analiza varijanse
ASF	Faktor koji skalira regionalnu vrednost za permeabilnost (engl. <i>Absorption Scale Factor</i>)
BNFC	Britanski nacionalni formular za decu (engl. <i>British National Formulary for Children</i>)
BSK	Biofarmaceutski sistem klasifikacije
CADD	Upotreba kompjuterskih metoda u dizajniranju lekova (engl. <i>Computer-Aided Drug Design</i>)
CAT	Prostorni model apsorpcije i transporta (engl. <i>Compartmental Absorption and Transit</i>)
CDER	engl. <i>Center for Drug Evaluation and Research</i>
CHMP	engl. <i>Committee for Medicinal Products for Human Use</i>
CMA	Kritični atributi materijala (engl. <i>Critical Material Attributes</i>)
CQA	Kritični atributi kvaliteta (engl. <i>Critical Quality Attributes</i>)
CPP	Kritični parametri procesa (engl. <i>Critical Process Parameters</i>)
DSC	Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (engl. <i>Differential Scanning Calorimetry</i>)
EMA	Evropska agencija za lekove (engl. <i>European Medicines Agency</i>)
EU	Evropska Unija
FDA	Američka uprava za hranu i lekove (engl. <i>Food and Drug Administration</i>)
GI	Gastrointestinalni
GRAS	engl. <i>Generally Recognized as Safe</i>
HTS	Visoko-efikasni skrining (engl. <i>High Throughput Screening</i>)
ICH	Internacionalna konferencija za harmonizaciju tehničkih zahteva za izdavanje dozvole za lek (engl. <i>International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use</i>)
i.v.	Intravenski
IVIVK	<i>In vitro-in vivo</i> korelacija
MCC	Mikrokristalna celuloza
MCP	Pritisak mikrokline (engl. <i>Microclimate Pressure</i>)
MIDD	Modelom-podržan razvoj leka (engl. <i>Model-Informed Drug Development</i>)
NONMEM	Nelinearno modelovanje kombinovanih efekata (engl. <i>Nonlinear Mixed-Effects Modeling</i>)
PAT	Tehnologija analize procesa (engl. <i>Process Analytical Technology</i>)
PBBM	Fiziološki zasnovano biofarmaceutsko modelovanje (engl. <i>Physiologically-Based Biopharmaceutics Modeling</i>)

PBPK	Fiziološki zasnovan farmakokinetički model (engl. <i>Physiologically-Based Pharmacokinetic Model</i>)
PBPK-PD	Fiziološki zasnovan farmakokinetički-farmakodinamički model (engl. <i>Physiologically Based Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Model</i>)
PEAR Physiology	engl. <i>Population Estimates for Age-Related Physiology</i>
PEG	Polietilenglikol
Ph. Eur.	Evropska farmakopeja (engl. <i>European Pharmacopoeia</i>)
PIK	Površina ispod krive
PIP	Pedijatrijski istraživački plan (engl. <i>Paediatric Investigation Plan</i>)
pPIK	Parcijalna površina ispod krive
PSA	Analiza osjetljivosti izlaznih parametara na promene u vrednostima ulaznih faktora (engl. <i>Parameter Sensitivity Analysis</i>)
PVP	Polivinilpirolidon
QbD	Koncept dizajniranja kvaliteta (engl. <i>Quality by Design</i>)
QSAR	Kvantitativni odnos strukture i dejstva (engl. <i>Quantitative Structure-Activity Relationship</i>)
QSBR	Kvantitativni odnos strukture i biološke raspoloživosti (engl. <i>Quantitative Structure-Bioavailability Relationship</i>)
QSPR	Kvantitativni odnos strukture i osobina (engl. <i>Quantitative Structure-Property Relationship</i>)
RH	Relativna vlažnost
RSM	Metodologija površine odgovora (engl. <i>Response Surface Methodology</i>)
SAR	Odnos strukture i dejstva (engl. <i>Structure-Activity Relationship</i>)
SD	Standardna devijacija
SEM	Skenirajući elektronski mikroskop/skenirajuća elektronska mikroskopija
SmPC	Sažetak karakteristika leka (engl. <i>Summary of Product Characteristics</i>)
TGA	Termogravimetrija (engl. <i>Thermogravimetric Analysis</i>)
T_p	Tačka prelaza (engl. <i>Transition Point</i>)
USP	Farmakopeja Sjedinjenih Američkih Država (engl. <i>United States Pharmacopoeia</i>)
XRD	Difrakcija X-zraka (engl. <i>X-ray Diffraction</i>)

1. UVOD

1.1. Oblaganje čvrstih farmaceutskih oblika lekova

Čvrsti farmaceutski oblici za peroralnu primenu predstavljaju najzastupljenije farmaceutske oblike lekova i najšire su prihvaćeni od strane pacijenata. U novije vreme se intenzivno radi na razvoju novih ili unapređenju postojećih metoda izrade čvrstih farmaceutskih oblika lekova, kako bi se poboljšala biološka raspoloživost lekovite supstance, povećala komplijansa pacijenta ili unapredio proces proizvodnje u smislu ekonomičnosti, efikasnosti, bezbednosti i/ili ekološke prihvatljivosti. U proizvodnji čvrstih farmaceutskih oblika lekova često se primenjuje proces oblaganja. Ciljevi oblaganja mogu biti: maskiranje ukusa, povećanje stabilnosti lekovite supstance, odnosno farmaceutskog oblika leka, modifikacija oslobađanja lekovite supstance, kao i poboljšanje estetskih, odnosno, organoleptičkih osobina proizvoda (boja, tekstura itd). U farmaceutskoj industriji, najčešće primenjivana tehnika je oblaganje različitim polimerima u vidu filma, a polimerni ekscipijens se uglavnom nanosi u obliku disperzije u organskom ili vodenom rastvaraču. Izbor pogodnog rastvarača predstavlja veliki izazov kod konvencionalnog oblaganja. Organski rastvarači su skupi, toksični, zapaljivi, a sve su veća ograničenja njihove upotrebe iz ekoloških razloga. Osim rizika u vezi sa čuvanjem, upotrebom i odlaganjem, organski rastvarač nakon nanošenja polimera treba ukloniti uparavanjem, što dodatno povećava troškove i vreme trajanja procesa i nosi rizik od rezidualnih rastvarača u konačnom farmaceutskom preparatu. Sa druge strane, voda je pogodna sredina za mikrobiološku kontaminaciju, a za sušenje je potrebno više vremena i energije. Takođe, zaostala vlaga može uticati na smanjenje stabilnosti proizvoda i lekovite supstance. Kako bi se prevazišli navedeni nedostaci konvencionalnog oblaganja, razvijaju se nove, alternativne metode oblaganja bez upotrebe rastvarača, kao što su oblaganje topljenjem, oblaganje kompresijom, elektrostatičko oblaganje, sprej-oblaganje u superkritičnim tečnostima, oblaganje svetlosnom ili toplotnom polimerizacijom (Bose i Bogner, 2007; Dhuppe i sar., 2012; Jannin i Cuppok, 2013; Becker i sar., 2015).

1.2. Oblaganje topljenjem

Oblaganje topljenjem (engl. *hot-melt coating*) predstavlja jednu od alternativnih metoda oblaganja farmaceutskih oblika. Osnovna odlika ove metode je da se supstanca za oblaganje nanosi na supstrat (čestice lekovite supstance ili farmaceutski oblik) u rastopljenom stanju. Oblaganje topljenjem za sada nije našlo primenu u farmaceutskoj industriji, no očekuje se da će nova istraživanja i saznanja podstaći interes za primenom oblaganja topljenjem u proizvodnji čvrstih farmaceutskih oblika lekova.

Farmaceutski oblici koji su pogodni za oblaganje topljenjem su granule, pelete, sferoidi, mada to mogu biti i tablete ili kapsule, pa čak i praškovi. Pored toga što je proces oblaganja efikasniji i bezbedniji u odnosu na konvencionalne metode, za oblaganje topljenjem je obično dovoljna samo jedna pomoćna supstanca, što pojednostavljuje formulaciju i dodatno smanjuje troškove procesa. Takođe, za oblaganje topljenjem se najčešće koriste supstance lipidnog karaktera koje su bezbedne i pripadaju grupi označenoj kao GRAS (engl. *Generally Recognized as Safe*), manje ili više su podložne dejstvu lipaze, što pospešuje njihovu razgradnju u organizmu i komercijalno su dostupne (Jannin i Cuppok, 2013).

Oblaganje topljenjem može da se koristi u slučajevima kada je potrebno maskirati neprijatan ukus i/ili modifikovati oslobađanje lekovite supstance, a pored toga lipidna obloga štiti lekovitu

supstancu od potencijalne hidrolize (Chen i sar., 2010; Jannin i Cuppok, 2013; Becker i sar., 2015). Takođe, primenom oblaganja topljenjem moguće je formulisati i gastroretentivne farmaceutske oblike lekova, s obzirom na to da lipidna obloga može omogućiti flotaciju i duže zadržavanje leka u želucu (Chansanroj i sar., 2007; Sudke i Sakarkar, 2017). Osim toga, lipidni sloj se ponaša kao dobar lubrikans (Jannin i sar., 2003) i povećava kompresibilnost dobijenog međuproizvoda, što ima značaja u daljem procesu proizvodnje tableta.

Za oblaganje topljenjem se mogu koristiti uređaji tipa fluidizirajućeg sistema (fluidizovani sistem, uređaj sa fluidizovanim slojem, engl. *fluid-bed system*, *fluid-bed coater*) ili rotirajući bubanj (engl. *pan coater*) (Jannin i Cuppok, 2013; Becker i sar., 2015), mada su Rosiaux i saradnici (2018) pokazali da je lekovitu supstancu moguće obložiti topljenjem i u mikseru/granulatoru velike brzine (engl. *high shear mixer*). Pomoćna supstanca za oblaganje se najčešće nanosi tehnikom raspršivanja, odnosno sprej-tehnikom (engl. *fluid-bed spray-on*, *spray-pan*), a opisane su i druge metode poput *pan-pour* tehnike i *in-situ* oblaganja u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema (Becker i sar., 2015). Odabir uređaja i tehnike oblaganja topljenjem zavisi od više faktora, među kojima su od posebnog značaja karakteristike farmaceutskog oblika koji se oblaže (veličina čestica, gustina, protočnost, oblik i površina, osetljivost na toplotu), ali i veličina šarže, mogućnost implementacije tehnologija analize procesa (engl. *Process Analytical Technology*, PAT), mogućnost prenošenja procesa na uređaj većeg proizvodnog kapaciteta tzv. *scale-up* (uvećanje razmera procesa) (Becker i sar., 2015). S obzirom da standardni uređaji za oblaganje uglavnom ne poseduju elemente koji će omogućiti topljenje i transport otopljene pomoćne supstance, za potrebe oblaganja topljenjem neophodno je modifikovati ili adaptirati postojeću opremu, što zahteva dodatne resurse. Upravo ova činjenica se navodi kao mogući razlog što se oblaganje topljenjem i dalje ne primenjuje u farmaceutskoj industriji (Rosiaux i sar., 2018).

Metoda izbora za oblaganje topljenjem je najčešće oblaganje u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema, pre svega zbog efikasnog prenosa mase i toplote unutar sistema. Za razliku od oblaganja u rotacionom bubnju, u uređajima tipa fluidizirajućeg sistema mogu se oblagati čvrsti farmaceutski oblici manji od 600 µm, mogu se oblagati i neke termosenzitivne supstance jer ceo proces kraće traje, moguće je postići homogeno oblaganje sa manjim masenim udelom obloge, a hlađenje se sprovodi u istom uređaju. Ograničenja u primeni uređaja tipa fluidizirajućeg sistema se odnose na zahteve (ograničenja) u pogledu karakteristika čvrstog farmaceutskog oblika koji se oblaže, o čemu će kasnije biti reči, kao i veličinu šarže koja ne može biti manja od minimalnog kapaciteta opreme (problem u slučaju npr. skupih lekovitih supstanci), zatim cenu i dostupnost opreme (Becker i sar., 2015). Međutim, kao glavni nedostatak primene uređaja tipa fluidizirajućeg sistema, navodi se veliki broj procesnih parametara, kompleksnost procesa i visok nivo potrebnog znanja za optimizaciju i sprovođenje postupka (engl. *know-how*) (Becker i sar., 2015; Sudke i Sakarkar, 2017; Rosiaux i sar., 2018).

1.2.1. Pomoćne supstance za oblaganje topljenjem

Za oblaganje topljenjem se najčešće koriste pomoćne supstance koje u svojoj hemijskoj strukturi sadrže masne kiseline, tzv. lipidne pomoćne supstance (engl. *lipid-based excipients*) (Becker i sar., 2015). Veliki broj supstanci različitog sastava i osobina pripada ovoj grupi ekscipijenasa. Do sada su se za oblaganje topljenjem najčešće koristili estri masnih kiselina, pre svega različiti gliceridi, voskovi, hidrogenizovana biljna ulja i njihovi derivati, masne kiseline,

polioksigliceridi, a ređe masti životinjskog porekla (Jannin i Cuppok, 2013; Lopes i sar., 2017a). Lipidne pomoćne supstance mogu biti prirodnog, polusintetskog ili sintetskog porekla. Često su u pitanju sirovine heterogenog sastava koji može varirati između proizvodnih serija, posebno ukoliko je u pitanju supstanca prirodnog porekla (Lopes i sar., 2017a). U tom smislu, prednost imaju sirovine dobijene esterifikacijom masnih kiselina i glicerola, jer se postupkom kontrolisane sinteze može obezbediti da odnos mono-, di- i triglicerida u sastavu proizvoda odgovara specifikacijama (Rosiaux i sar., 2014). Pregled pomoćnih supstanci koje se mogu koristiti za oblaganje topljenjem dat je u tabeli 1 (Jannin i Cuppok, 2013; Rosiaux i sar., 2014).

Za oblaganje topljenjem se uglavnom koriste pomoćne supstance čija je temperatura topljenja (T_f) ispod 85 °C, a za maskiranje ukusa i produženo oslobađanje lekovite supstance potrebno je da lipidni ekscipijens ima T_f između 55 i 80 °C. Poznato je da sa povećanjem hidrosilnog broja i ili molekulske mase raste i T_f lipidne supstance, dok povećanjem broja nezasićenih veza opada. Za postizanje produženog oslobađanja lekovite supstance se koriste lipidne supstance sa većom T_f , jer oblaganje sa pomoćnom supstancom čija je T_f previše niska može da uzrokuje prerano oslobađanje lekovite supstance. Dodatno, ukoliko je lipidna pomoćna supstanca supstrat za pankreasnu lipazu, oslobađanje lekovite supstance će biti ubrzano nakon razgradnje lipidne obloge pod dejstvom ovog enzima. Sa druge strane, pomoćne supstance koje nisu svarljive omogućavaju odloženo i produženo oslobađanje, jer lekovita supstanca prolazi kroz lipidni omotač difuzijom (Bose i Bogner, 2007; Jannin i Cuppok, 2013).

Za oblaganje topljenjem, najviše se koriste estri palmitinske, stearinske i behenične kiseline, pri čemu je do sada glicerildibehenat našao najveću primenu. Komercijalno dostupan glicerildibehenat, koji se u istraživanjima najčešće koristi u formulaciji farmaceutskih preparata sa produženim oslobađanjem lekovite supstance, je zapravo smeša mono-, di- i triglicerida behenične kiseline. Iako se glicerildibehenat izdvaja u grupi lipidnih pomoćnih supstanci po svojoj polimorfnoj stabilnosti (Brubach i sar., 2007), kao i svaka lipidna supstanca, podložan je polimorfnom prelazu, a pokazano je da odnos mono-, di- i triglicerida behenične kiseline u sastavu sirovine značajno utiče na stabilnost proizvoda (Brubach i sar., 2007; Pivette i sar., 2014).

Polioksigliceridi predstavljaju heterogenu grupu pomoćnih supstanci čija upotreba za oblaganje topljenjem nije mnogo ispitivana. Jedno od ograničenja upotrebe polioksiglicerida za oblaganje topljenjem jeste nestabilnost dobijenog proizvoda, odnosno promene u mikrostrukturi omotača (odvajanje faza i polimorfni prelaz) koje nastaju tokom perioda čuvanja i skladištenja (Nguyen i sar., 2008; Becker i sar., 2015).

Tabela 1. Pomoćne supstance za oblaganje topljenjem

Pomoćne supstance	Sastav	T_f	Primeri
Voskovi	Estri masnih kiselina i alkohola dugog lanca	62-86 °C	Karnauba vosak, beli pčelinji vosak
Biljna ulja (derivati)	Smeše triglicerida, slobodnih masnih kiselina, fosfolipida i nesaponifikovanih komponenti	60-71 °C	Hidrogenizovano ulje semena pamuka, hidrogenizovano palmino, sojino, ricinusovo ulje
Gliceridi	Smeše mono-, di- i triglicerida	54-74 °C	Glicerildibehenat, glicerilmonostearat, glicerildistearat
Trigliceridi	Prosti (jednostavni) trigliceridi	46-73 °C	Gliceriltripalmitat, gliceriltristearat
Masne kiseline	Masne kiseline dugog lanca	60-90 °C	Stearinska, palmitinska, behenična kiselina
Masni alkoholi	Smeše masnih alkohola	48-60 °C	Cetilalkohol, cetostearilalkohol
Životinjske masti	Smeše triglicerida, slobodnih masnih kiselina, sterola i liposolubilnih vitamina	≈ 80 °C	Prečišćeni maslac (engl. <i>cow ghee</i>)
Polioksigliceridi	Smeše mono-, di- i triglicerida sa mono- i diestrima masnih kiselina i polietilenglikola (PEG)	≈ 50 °C	Stearoil polioksil-6 gliceridi, stearoil polioksil-32 gliceridi

Ukoliko se oblaganjem topljenjem želi postići produženo oslobađanje lekovite supstance, za formiranje lipidnog omotača najčešće je dovoljna jedna pomoćna supstanca. Međutim, kada je cilj oblaganja maskiranje ukusa, a treba obezbediti trenutno oslobađanje lekovite supstance (npr. manje od 10% rastvorene supstance za 5 min zbog maskiranja ukusa, uz najmanje 85% rastvorene supstance za 30 min što ukazuje na „trenutno oslobađanje“), tada se lipidnom ekscipijensu obično dodaju surfaktanti ili hidrofilne supstance za formiranje „pora” u lipidnom omotaču (engl. *pore-formers*). Ukoliko se u sastavu lipidnog omotača nalaze i ovakve supstance, omogućava se brže oslobađanje lekovite supstance usled boljeg kvašenja i bržeg prodora vodenog medijuma kroz hidrofilne kanale/pore (Lopes i sar., 2017b). Supstance za formiranje pora najčešće su hidrofilni molekuli, kao što su PEG različite molekulske mase ili surfaktanti, kao što su estri sorbitana i polisorbati (Lopes i sar., 2017a). PEG koji se koriste u ove svrhe imaju relativnu molekulsku masu od 1450 do 3350 i konzistenciju sličnu vosku, dok PEG veće molekulske mase imaju i veći viskozitet i nisu pogodni za oblaganje topljenjem. PEG se uglavnom primenjuju kao dodatak otopljenoj lipidnoj masi kako bi se ubrzalo oslobađanje lekovite supstance (Chen i sar., 2010), a u retkim slučajevima se koriste i kao (osnovno) sredstvo za oblaganje topljenjem (Khobragade i sar., 2014).

Lipidne pomoćne supstance koje se koriste za oblaganje topljenjem moraju da zadovolje određene fizičko-hemijske karakteristike. Pored T_f , osobine kao što su polimorfizam i ponašanje lipidne supstance na povišenoj temperaturi, viskozitet rastopljenog ekscipijensa, odnosno njegove reološke osobine, kontaktni ugao, osobine nakon hlađenja i kristalizacije, sorpcija vode, hemijski sastav i čistoća sirovine, značajni su parametri u procesu oblaganja.

Tokom procesa oblaganja topljenjem, lipidna pomoćna supstanca se zagreva na temperaturu 40-60 °C višu od njene T_f i na toj temperaturi se održava tokom raspršivanja. Ovo znači da odabrana pomoćna supstanca za oblaganje treba da poseduje odgovarajuću fizičko-hemijsku stabilnost na temperaturi 140-150 °C (Bose i Bogner, 2007; Jannin i Cuppok, 2013).

Karakteristika većine lipidnih ekscipijenasa je da postoji temperaturni opseg u kome ekscipijens prelazi u tečno stanje, kao i da postoji temperaturni opseg rekristalizacije. U zavisnosti od sastava i termalne istorije supstance, ovi temperaturni intervali mogu biti uži ili širi. Zapravo, u karakterizaciji lipidnih ekscipijenasa, temperaturni interval topljenja je mnogo važnija osobina nego T_f (Lopes i sar., 2017a). U literaturi se mogu naći podaci koji ukazuju da veći temperaturni opseg topljenja i rekristalizacije lipidne pomoćne supstance omogućavaju bolje širenje rastopa (npr. po površini supstrata) i veću robusnost procesa koji uključuju topljenje lipidnih supstanci (engl. *solvent-free melting techniques with lipid based excipients*), u poređenju sa čistim trigliceridima sa uskim temperaturnim intervalom rekristalizacije (Becker i sar., 2015). Iako se ovakve osobine mogu učiniti pogodnim i za oblaganje topljenjem, smatra se da odabrano sredstvo za oblaganje treba da poseduje što uži interval topljenja i rekristalizacije jer u suprotnom može doći do aglomeracije, odnosno lepljenja obloženog materijala. To je i jedan od razloga što se za oblaganje topljenjem uglavnom koristi jedna lipidna pomoćna supstanca. Naime, mešanjem više supstanci za oblaganje, povećava se temperaturni opseg topljenja. Kada se koriste sirovine biljnog ili životinjskog porekla, treba imati na umu da je njihov sastav često složen i ne mora biti uvek identičan, tako da se ponašanje pomoćne supstance pri zagrevanju mora unapred odrediti (Bose i Bogner, 2007; Jannin i Cuppok, 2013; Becker i sar., 2015).

Termalne metode kojima se najčešće ispituju karakteristike pomoćne supstance ili dobijenog farmaceutskog proizvoda su diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (engl. *differential scanning calorimetry*, DSC) i kombinovane tehnike kao što su DSC i difrakcija X-zraka (engl. *X-ray diffraction*, XRD) ili DSC i termogravimetrija (engl. *thermogravimetric analysis*, TGA). DSC je brza i dostupna analitička metoda kojom se najčešće ispituje opseg T_f i rekristalizacije lipidne supstance i prisustvo različitih polimorfni oblika i/ili nečistoća u uzorku. Takođe, DSC može pokazati da li dolazi do interakcije između određenog lipidnog ekscipijensa i neke od komponenti formulacije ili interakcije između sastojaka mase za oblaganje, ako je odabrana smeša dve ili više pomoćnih supstanci. Kombinovanim metodama mogu se preciznije utvrditi polimorfna i hemijska stabilnost lipidne supstance, polimorfne promene nastale tokom zagrevanja, odnosno hlađenja supstance, ispitati kinetika polimorfni prelaza, predvideti stabilnost dobijenog proizvoda i proceniti optimalna temperatura za postupak oblaganja topljenjem (Becker i sar., 2015).

Jedan od glavnih izazova u primeni oblaganja topljenjem je stabilnost dobijenog proizvoda koja je u vezi sa polimorfizmom lipidnih ekscipijenasa. Polimorfizam je često prisutan kod supstanci lipidne prirode, mada polimorfno ponašanje pokazuju i PEG, bilo da se koriste sami ili u kombinaciji sa nekom lipidnom pomoćnom supstancom (Jannin i Cuppok, 2013). Tri najčešće prisutne kristalne strukture glicerida su α (heksagonalna), β' (ortorombična/ortogonalna) i β (triklinskična). Ove tri strukture se razlikuju po stabilnosti, temperaturi topljenja/očvršćavanja, brzini očvršćavanja, rastvorljivosti i kontaktnom uglu (u dodiru sa vodom), kao i mikrostrukтури. U postupku oblaganja topljenjem, proces formiranja lipidne obloge počinje nukleacijom najnestabilnijeg, α -polimorfni oblika. Prelaz u najstabilniju, β -formu, može se desiti tokom procesa oblaganja i/ili tokom čuvanja (Lopes i sar., 2017a). Kinetika polimorfni prelaza zavisi pre svega od sastava i termalne istorije lipidne pomoćne supstance. Polimorfni prelaz supstance koja je

u sastavu lipidnog omotača može dovesti do promena kvaliteta gotovog ili međuproizvoda, a odraziće se pre svega na brzinu rastvaranja lekovite supstance (Becker i sar., 2015).

U literaturi je do sada opisano više pristupa kojima se mogu kontrolisati polimorfni prelazi lipidnih supstanci, mada su samo neki primenjivi u postupku oblaganja topljenjem. Jedna od često korišćenih metoda je temperiranje (engl. *tempering*, *tempering treatment*, *thermal thawing*). Osnovna karakteristika temperiranja je da se proizvod, tokom određenog vremenskog perioda, drži na tačno definisanoj temperaturi, čime se ubrzava polimorfni prelaz u najstabilniji (β) oblik. Ovaj postupak se koristi i u prehrambenoj industriji za dobijanje željenog polimorfnog oblika lipidne supstance. Temperiranje se može sprovesti tokom procesa ili nakon procesa npr. oblaganja (tzv. sazrevanje nakon procesa, engl. *maturing*). Ukoliko se proizvod temperira tokom procesa, tada se temperatura održava u intervalu između T_i α - i T_i β -oblika, odnosno u oblasti u kojoj je direktna rekristalizacija stabilne β forme mnogo brža od rekristalizacije β' oblika (Sato i Ueno, 2014). U postupku oblaganja topljenjem, primena ovakvog pristupa bi bila rizična jer može dovesti do aglomeracije i nepotpunog očvršćavanja lipidnog omotača (Becker i sar., 2015). Međutim, „sazrevanje” nakon procesa oblaganja topljenjem podrazumeva da se dobijeni proizvod drži na temperaturi koja je blizu, odnosno malo ispod T_i manje stabilne kristalne forme (α), sve dok ona u potpunosti ne pređe u stabilnu β -formu. Postupak temperiranja (nakon procesa) se može primeniti na proizvod dobijen oblaganjem topljenjem. Pokazano je da se nakon 4 h čuvanja obloženih peleta na odgovarajućoj temperaturi, lipidna supstanca koji gradi omotač može prevesti u stabilnu β -formu, što značajno utiče na izgled lipidnog sloja i oslobađanje lekovite supstance (Chansanroj i Betz, 2008). O uticaju temperiranja na polimorfne promene lipidne supstance, kao i o optimalnim uslovima ovog procesa (npr. temperatura, vreme), postoje različiti i često suprotstavljeni podaci. Lipidne supstance imaju različit sastav i različite polimorfne osobine, tako da bi opseg za temperiranje trebalo uvek prvo eksperimentalno odrediti. Međutim, smatra se da i dalje nedostaju fundamentalna znanja o tačnom mehanizmu kojim promene u lipidnoj strukturi (npr. lipidnog omotača) utiču na brzinu rastvaranja lekovite supstance i stabilnost farmaceutskog proizvoda, a bez kojih je teško utvrditi pravu strategiju za postizanje stabilnosti proizvoda temperiranjem (Salar-Behzadi i sar., 2019). Upravo sa ciljem sticanja znanja o ovom fenomenu, Salar-Behzadi i saradnici (2019) su ispitivali mikrostrukturu lipidnog omotača čestica (kristala) lekovite supstance, primenom DSC, XRD i polarizacione svetlosne mikroskopije. Autori su utvrdili da promene u mikrostrukturi lipidnog omotača, kao što su npr. gustina i način pakovanja, usmerenost i oblik kristala, usmerenost i debljina lamelarnih struktura, postojanje oblasti sa strukturom koja je slična amorfnoj unutar lipidne obloge, dovode do promena u brzini rastvaranja obložene lekovite supstance tokom čuvanja.

Druga metoda za kontrolu polimorfnog prelaza lipidne supstance je dodavanje određene količine čvrstog β -kristalnog oblika (npr. 0,1-30,0%) otopljenoj supstanci, u formi suspenzije. Kristali stabilne β -strukture se tada ponašaju kao „strukturni motiv” i dovode do bržeg formiranja termodinamički stabilnijeg oblika supstance (Jannin i Cuppok, 2013). Međutim, ovakav pristup se, iz tehničkih razloga, teško može primeniti za oblaganje topljenjem. Dodatno, raspršivanje suspenzije pod pritiskom može dovesti do blokiranja mlaznice. Takođe, efikasnost ove metode i čistoća stabilne kristalne forme još uvek nisu dovoljno poznati (Becker i sar., 2015).

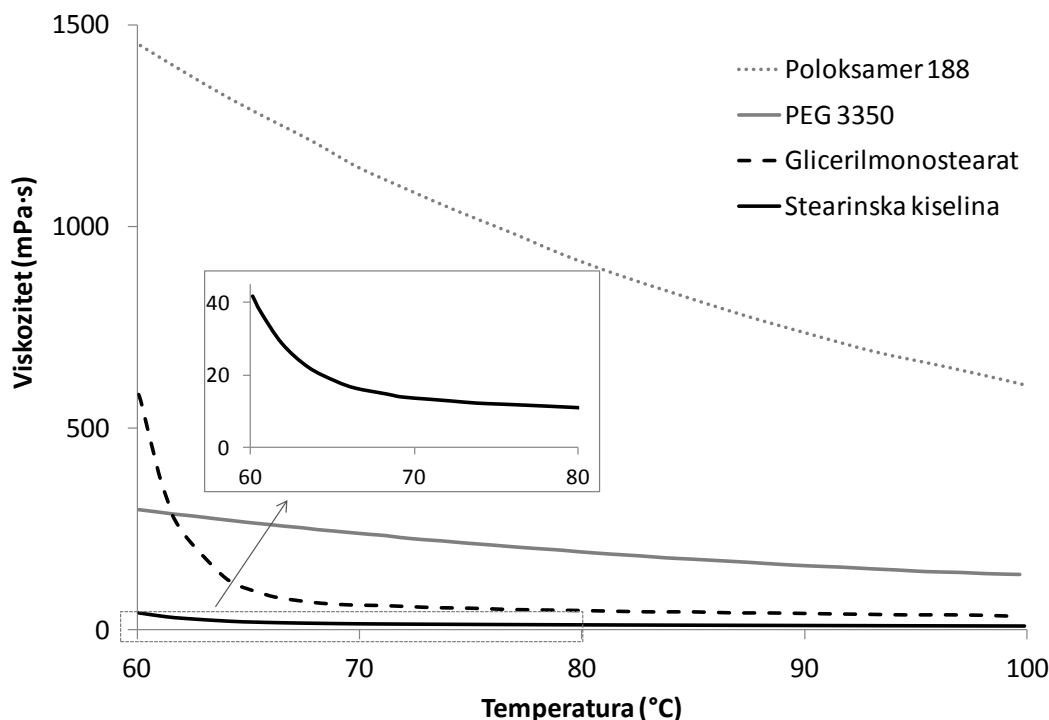
Mešanje lipidnog ekscipijensa sa emulgatorom, odnosno modifikatorom polimorfnih karakteristika supstance (engl. *polymorphic modifiers*), je još jedan od pristupa kojim se može uticati na polimorfnu stabilnost lipidne obloge i/ili dobijenog proizvoda. Pokazano je da određeni

emulgatori utiču na brzinu nukleacije, rast i morfologiju kristala i polimorfni prelaz lipidnih supstanci. Objavljen je veliki broj istraživanja sa ciljem stabilizacije α -kristalne forme lipidne supstance, dodavanjem emulgatora ili komercijalnih aditiva (supstance ili smeše supstanci, najčešće emulgatori, koje utiču na kristalizaciju jedinjenja lipidne strukture, dostupne kao gotovi proizvodi pod određenim trgovačkim imenom). Međutim, iako je pokazano da se na ovaj način stabilnost proizvoda može održati tokom određenog vremenskog perioda, rizik od rekristalizacije stabilne β -strukture je veliki. Pristup u kome se „ubrzava” prelaz iz α - u β -polimorfni oblik (stabilni oblik lipidne supstance) se zato smatra prihvatljivijim i poslednjih godina fokus istraživanja je upravo na postizanju bolje stabilnosti proizvoda uz pomoć odgovarajućeg emulgatora koji će „ubrzati” prelaz lipidne supstance iz manje stabilne u najstabilniju kristalnu formu (Becker i sar., 2015). Oblaganje topljenjem gde je lipidnom ekscipijensu dodat emulgator (polisorbitat ili estar sorbitana) opisano je u literaturi, a cilj istraživanja je, pored poboljšanja stabilnosti proizvoda, postizanje optimalne brzine rastvaranja lekovite supstance u formulacijama sa trenutnim oslobađanjem lekovite supstance (Hate, 2015; Becker i sar., 2016; Lopes i sar., 2016). Ključni faktori koji utiču na stabilnost i na profil brzine rastvaranja lekovite supstance su odabir emulgatora, njegova kompatibilnost sa lipidnom supstancom, maseni udeo emulgatora i maseni udeo obloge. Međutim, pokazano je da u ovakvim strukturama može da dođe do odvajanja faza i promena u mikrostrukтури omotača koje će negativno uticati na kvalitet proizvoda (Lopes i sar., 2017b).

Reološke osobine otopljene pomoćne supstance i uticaj temperature na njeno reološko ponašanje su od velikog značaja pri odabiru ekscipijensa za oblaganje topljenjem. Proticanje otopljene mase na povišenoj temperaturi kroz cevi uređaja i raspršivanje pod povišenim pritiskom su kritične faze pri oblaganju metodom topljenja. Ravnomeran protok i raspršivanje, kao i rad peristaltičkih pumpi uređaja, mogući su ukoliko je viskozitet otopljenog ekscipijensa manji od 300 mPa s na 80 °C (Bose i Bogner, 2007; Jannin i Cuppok, 2013). Viskoizitet rastopa na određenoj temperaturi može biti i jedan od presudnih parametara u odabiru pomoćne supstance za oblaganje. Takođe, viskoizitet otopljenog lipidnog ekscipijensa utiče i na karakteristike kapljice nastale njegovim raspršivanjem, o čemu će kasnije biti reči. Zavisnost viskoiziteta različitih ekscipijenasa od temperature ispitivali su Wong i saradnici (2016). Autori su utvrdili da se lipidna supstanca, ukoliko se otopi i zagreje na temperaturu 10 °C višu od njene T_i , pri daljem zagrevanju ponaša kao „njutnovska tečnost”. Dodatno, pokazano je da zagrevanjem ispitivanih lipidnih ekscipijenasa dolazi do naglog pada viskoiziteta sa povećanjem temperature, ali da nakon tzv. prelomne tačke temperatura više ne utiče značajno na promenu koeficijenta viskoiziteta (bifazno ponašanje) (slika 1). Potpuno drugačije ponašanje je utvrđeno za polimerne supstance, kao što su npr. PEG, polioksilgliceridi i poloksameri kod kojih se viskoizitet ravnomerno smanjuje sa povećanjem temperature (slika 1). Navedeni rezultati mogu biti od značaja za postupak oblaganja topljenjem i odabir pomoćne supstance za oblaganje. Već je navedeno da su za oblaganje topljenjem najpogodnije lipidne pomoćne supstance, a da se PEG i poloksameri uglavnom koriste kao hidrofилne supstance za formiranje kanala/pora. Na osnovu rezultata Wong-a i saradnika (2016), može se očekivati da bi osetljivost procesa oblaganja topljenjem (osetljivost parametara koji su u korelaciji sa viskoizitetom pomoćne supstance) na temperaturne promene bila manja ukoliko se koristi lipidna pomoćna supstanca, umesto polimera poput PEG ili poloksamera.

Treba dodati da su na osnovu prelomne tačke, u kojoj dolazi do promene zavisnosti viskoiziteta od temperature kada su u pitanju lipidne supstance, Wong i saradnici (2016) izveli parametar koji su nazvali „tačka prelaza” (engl. *transition point*, T_p), za koji su pokazali da bolje

opisuje reološke karakteristike lipidne supstance u poređenju sa konvencionalnim metodama određivanja viskoziteta pri zadatoj temperaturi. Dodatno, ovaj parametar su doveli u korelaciju sa veličinom kapljice nastale raspršivanjem otopljene supstance pod pritiskom, što može biti od značaja za optimizaciju oblaganja topljenjem tehnikom raspršivanja.



Slika 1. Zavisnost viskoziteta određenih lipidnih i polimernih supstanci od temperature (prilagođeno iz Wong i sar., 2016)

Ostale karakteristike lipidnih ekscipijenasa koje su od značaja pri odabiru pomoćne supstance za oblaganje topljenjem su HLB vrednost, karakteristike kvašenja i sorpcije vode i mehaničke karakteristike. Navedeni parametri će uticati pre svega na osobine farmaceutskog proizvoda dobijenog oblaganjem topljenjem (Lopes i sar., 2017a). Tako se merenjem kontaktnog ugla odabrane lipidne supstance u dodiru sa vodom može proceniti hidrofobnost, odnosno sposobnost kvašenja lipidnog omotača, koja značajno utiče na oslobađanje lekovite supstance. Naime, povećanjem hidrofobnosti omotača smanjuje se brzina rastvaranja lekovite supstance. Takođe, pokazatelj hidrofobnosti određene supstance je i HLB vrednost. Kada je cilj oblaganja lipidnim supstancama zaštita lekovite supstance od vode i razgradnje pod uticajem vlage, može se odrediti i kakva je sorpcija vode odabrane pomoćne supstance (Jannin i Cuppok, 2013). Tokom topljenja lipidne supstance pokazuju dilataciju, a tokom hlađenja i kristalizacije kontrakciju, odnosno, smanjenje zapremine. Nanošenjem lipidnog sloja i hlađenjem, kontrakcija lipidne supstance može da utiče na kvalitet omotača. Merenjem ove osobine dilatometrom, može se odrediti kakvo je ponašanje odabranog lipidnog ekscipijensa (Becker i sar., 2015).

1.2.2. Oblaganje topljenjem u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema

1.2.2.1. Fluidizacija

Suspendovanje čvrstih čestica/supstrata u struji fluida, pri čemu nastali sistem pokazuje određene osobine fluida, predstavlja tzv. fluidizaciju. Fluidizovan sistem čine dve faze: fluid (tečnost ili gas) i čvrsti materijal/supstrat koji treba prevesti u fluidizovano stanje. Usled otpora (trenja) koji postoji u sistemu, sa porastom brzine fluida (vertikalno strujanje) dolazi do porasta vrednosti pada pritiska (Δp) unutar sistema (slika 2). U trenutku kada se potisna sila fluida izjednači sa prividnom težinom čestica, čestice bivaju podignute, međusobno se razdvajaju i sloj postaje fluidizovan, a Δp je jednak prividnoj težini čestica po jedinici površine fluidizovanog sloja:

$$\Delta p = (\text{težina čestica} - \text{potisak}) / \text{površina poprečnog preseka fluidizovanog sloja} \quad (1)$$

Ako su: ρ_p - gustina čestica (prividna gustina), ρ_f - gustina fluida (npr. vazduha), H - visina (najveća visina koju čestica dostigne pre nego što počne da pada ka dnu komore uređaja), ε - poroznost i A - površina poprečnog preseka fluidizovanog sloja, onda je Δp jednako (Rhodes, 2008):

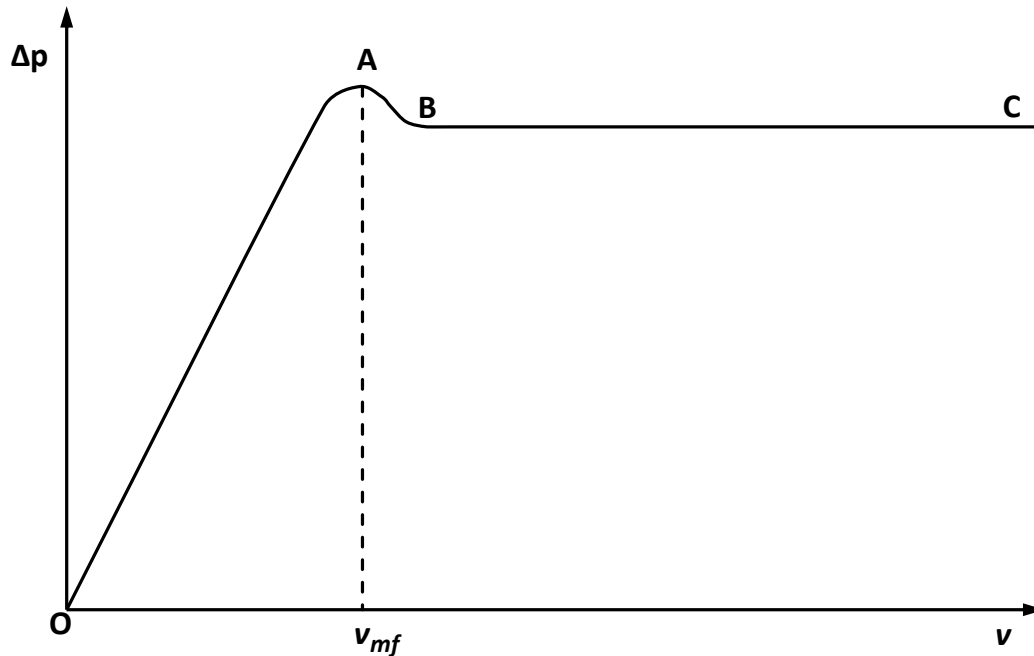
$$\Delta p = HA(1 - \varepsilon)(\rho_p - \rho_f)g / A = H(1 - \varepsilon)(\rho_p - \rho_f)g \quad (2)$$

Kako je $\varepsilon = (V_t - V_p) / V_t$, pri čemu su V_p i V_t , redom, zapremina koju zauzimaju čestice i zapremina fluidizovanog sloja, izraz $1 - \varepsilon$ u jednačini za Δp može se zameniti sa V_p / V_t i tada se dobija sledeći izraz u kom je m_p masa čestica (Dixit i Puthli, 2009):

$$\Delta p = m_p(\rho_p - \rho_f)g / \rho_p A \quad (3)$$

El Mafadi i saradnici (2003) su vrednost ρ_p izjednačili sa nasipnom gustinom čestica, a jednačinu (2) su dalje pojednostavili tako što su izostavili ρ_f , jer je gustina čestica/supstrata koji se oblaže uglavnom 500-1000 puta veća od gustine vazduha, tako da je:

$$\Delta p = (1 - \varepsilon)\rho_p g H \quad (4)$$



Slika 2. Zavisnost promene (pada) pritiska (Δp) od brzine fluida (v) u tzv. pakovanom sloju čestica (engl. *packed bed*) i u fluidizovanom sistemu (engl. *fluid bed*) (prilagođeno iz Rhodes, 2008)

Minimalna brzina fluida potrebna za postizanje stanja fluidizacije (v_{mf}) zavisi od osobina fluida i raste sa porastom veličine i gustine čestica (Rhodes, 2008). U teoriji, u sistemima gas-čestice pri v_{mf} fluidizovani sloj može biti tzv. sistem sa mehurima (engl. *bubbling bed*) ili sistem bez mehura (engl. *non-bubbling bed*), dok je pri povećanju brzine fluida uvek prisutan sistem sa mehurima. Fluidizacija bez mehura se još opisuje kao homogena ili čestična. U oblasti O-A (slika 2) još uvek nije došlo do fluidizacije i ovo je oblast „pakovanog sloja čestica” (engl. *packed bed region*). Navedene jednačine za Δp odnose se na oblast B-C.

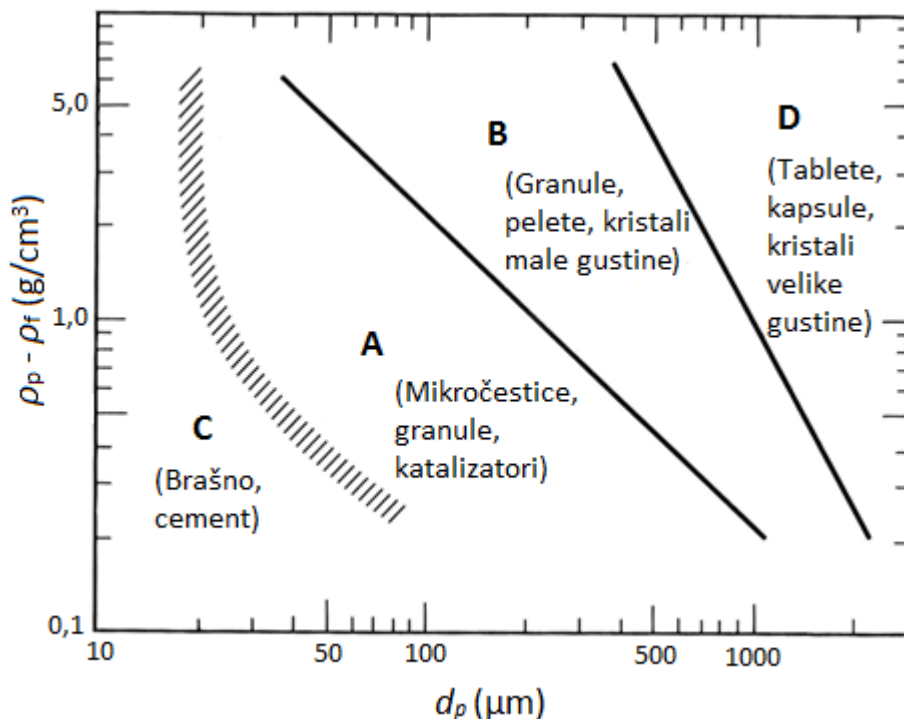
Jedna od najvažnijih karakteristika fluidizovanog sistema je dobro mešanje unutar fluidizovanog sloja, tako da postoji veoma efikasan prenos toplote između čvrstih čestica, gasa i unutrašnjih površina opreme. Na taj način se postiže ujednačena temperatura fluidizovanog sistema/sloja koja se može dobro kontrolisati. Uređaji tipa fluidizirajućeg sistema se najviše koriste za fizičke procese kao što su sušenje, mešanje, granulacija, oblaganje, hlađenje i grejanje, ali i za hemijske procese kod kojih se hemijska reakcija odvija između supstanci u čvrstom i gasovitom agregatnom stanju (npr. katalitičke reakcije pri kojima je katalizator u čvrstom stanju, a reakcija se odvija u gasovitoj fazi). Procesi koji se odvijaju u uređajima tipa fluidizirajućeg sistema su brzi, postiže se odlična homogenost u sistemu, a postoji i mogućnost kontinuiranog izvođenja procesa u uređajima koji su posebno dizajnirani za kontinuiranu proizvodnju.

Kada se govori o oblaganju, dobro mešanje unutar sistema i temperaturna ujednačenost su od presudnog značaja za formiranje ujednačene obloge. Ovo se posebno odnosi na postupak oblaganja topljenjem u kome faza oblaganja traje svega nekoliko minuta (npr. manje od 10 min na laboratorijskom nivou, odnosno, manje od 20 min na nivou pilot serije (Bose i Bogner, 2007)). Za oblaganje topljenjem u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema, ključni faktori za postizanje ujednačene i homogene obloge su optimalna fluidizacija materijala koji se oblaže i optimalno raspršivanje rastopa.

1.2.2.2. Supstrat za fluidizaciju

Procesi koji se zasnivaju na fluidizaciji našli su primenu u različitim oblastima, kao što su petrohemija, prehrambena industrija, procesi sagorevanja, procesi u hemijskim reaktorima. U farmaceutskoj industriji uređaji na bazi fluidizirajućeg sistema koriste se najviše za sušenje, granulaciju, peletizaciju i oblaganje. Fluid je najčešće vazduh, a čvrsti materijal/supstrat koji treba prevesti u fluidizovano stanje mogu činiti fino usitnjeni praškovi, granule, pelete, manje tablete ili kapsule. Osobine čvrstog materijala (engl. *substrate, solids*) značajno utiču na karakteristike fluidizacije/fluidizovanog sistema, što se često „zaboravlja” (Christensen i Bertelsen, 1997; Dixit i Puthli, 2009). Optimalni opseg vrednosti određenih procesnih parametara, a pre svega protoka vazduha za fluidizaciju (ulazni vazduh), zavisi upravo od osobina čestica čvrstog materijala/supstrata.

U oblastima kao što su tehnologija praškova (engl. *powder technology*) i fluidizacija gasovima, veliku primenu ima Geldartova klasifikacija praškova. Prema osobinama fluidizovanog sloja pri ambijentalnim uslovima, Geldart (1973) je praškove podelio u 4 grupe: A, B, C i D. Klasa (grupa) praška/materijala može se odrediti na osnovu gustine i veličine čestica, tačnije razlike u gustini čvrstih čestica i fluida (vazduha) i srednje vrednosti prečnika čestica (slika 3).



Slika 3. Grafik Geldartove klasifikacije praškova (prilagođeno iz Geldart, 1973)

Treba naglasiti da se ova klasifikacija zasniva na osobinama čestica materijala pod ambijentalnim uslovima, a da pri radnom pritisku i temperaturi klasifikacija može da bude drugačija, pre svega zbog promena u osobinama gasa. U tabeli 2 date su osobine čestica različitih klasa prema Geldartu, značajne za fluidizaciju (Mörl i sar., 2007; Rhodes, 2008). Najbolja fluidizacija se postiže sa česticama grupe A, opisuje se kao „mirna” (engl. *smooth*), a mešanje unutar sistema je u ovom slučaju odlično. Fluidizacijom čestica grupa B i D dolazi do fluktuacija u

d_p , odnosno do lošije fluidizacije (Rhodes, 2008). Smatra se da čvrsti farmaceutski oblici najčešće pripadaju klasama B ili D (slika 3) (Christensen i Bertelsen, 1997). Međutim, granule koje su metodom topljenja oblagali Knežević i saradnici (2009) pripadale su grupi A Geldartove raspodele.

Tabela 2. Karakteristike čestica i procesa fluidizacije, prema Geldartu (1973)

	Grupa C	Grupa A	Grupa B	Grupa D
Osobine	Kohezivne čestice, teško se fluidizuju	Idealne čestice za fluidizaciju, fluidizacija bez mehura	Fluidizacija sa mehurima	Grube čestice (krupne)
Veličina čestica*	< 30 μm	30-200 μm	40-1000 μm	> 1000 μm
Gustina čestica*	/	0,5-1,5 kg/m^3	1,4-4,0 kg/m^3	/
Mešanje	Veoma slabo (engl. <i>very low</i>)	Odlično (engl. <i>high</i>)	Dobro (engl. <i>medium</i>)	Slabo (engl. <i>low</i>)

*većina tipičnih primera su u datom opsegu

Prema Geldartu, u obzir se uzima srednja veličina čestica, što bi u slučaju čestica koje nisu sfernog oblika (npr. granule, tablete) trebalo preciznije definisati. Hidrodinamički dijаметar (prečnik sfere jednake zapremine) najbolje opisuje veličinu čestice kada se govori o interakciji čestica-fluid. U praksi se za određivanje hidrodinamičkog dijametra čestica najčešće koristi metoda prosejavanja, a veličina sfernih ili približno sfernih čestica se izražava kao veličina sita (x_p), dok se za čestice drugačijeg oblika računa približna vrednost kao $1,13x_p$ (Rhodes, 2008). Međutim, ukoliko se veličina čestica koje nisu idealnog sfernog oblika meri metodom difrakcije laserske svetlosti, dobijena vrednost d predstavlja prečnik sfere jednake zapremine, odnosno hidrodinamički dijаметar. Tada vrednost d_{50} predstavlja medijanu na osnovu koje se (uz podatak o gustini čestice) može izvršiti klasifikacija praška prema Geldartu.

Gustina čestica koja se uzima u obzir (najbolje opisuje fluidizaciju) je njihova prividna gustina koja je jednaka količniku mase čestice i njene hidrodinamičke zapremine, a ne stvarna gustina (Rhodes, 2008). Farmaceutski oblici se mogu grupisati prema Geldartovoj podeli na osnovu d_{50} i nasipne gustine (Knežević i sar., 2009). U tabeli 3 su prikazane karakteristike različitih čvrstih materijala/farmaceutskih oblika koje utiču na fluidizaciju.

Tabela 3. Primeri različitih čvrstih materijala i njihove osobine važne za fluidizaciju (prilagođeno iz Christensen i Bertelsen, 1997)

Materijal	Prečnik* (mm)	Zapremina** (mm ³)	Nasipna gustina (g/cm ³)
Tablete	8,0	500,00	0,7
Kapsule	6,6	580,00	0,4
Kristali velike gustine	0,8	0,51	1,2
Kristali male gustine	0,5	0,13	0,8
Pelete	0,6	0,11	0,8
Granule	0,3	0,014	0,5

*prečnik određen metodom prosejavanja

**zapremina najpribližnijeg geometrijskog oblika (npr. cilindar, sfera, kocka)

Za postupak oblaganja u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema od značaja je i raspodela veličine čestica materijala koji se oblaže. Po prirodi fluidizacija je segregacioni proces (Dixit i Puthli, 2009). Put koji pređe čestica tokom jednog ciklusa zavisi od njene veličine. Takođe, od veličine čestice zavisi i vreme koje protekne između dva uzastopna nanošenja sloja obloge (engl. *coating cycle*). Jedan ciklus mora biti dovoljan za formiranje i očvršćavanje obloge. Distribucija veličine čestica treba da bude što uža, jer se na taj način sprečava adhezija manjih čestica na veće. Takođe, da bi se podigle teže čestice potrebna je veća potisna sila, odnosno veći protok vazduha. Ukoliko je raspodela veličine čestica široka, to može dovesti do gubitka fino usitnjenih praškova i smanjene efikasnosti procesa. Drugim rečima, od veličine čestica zavisi i v_{mf} . Smatra se da je fluidizacija stabilna do vrednosti koje su 2 – 3 puta veće od v_{mf} (Dixit i Puthli, 2009). Metode kojima se meri distribucija veličine čestica, kao što su sejanje, difrakcija laserske svetlosti ili druge metode, primenjuju se pre procesa oblaganja (Jannin i Cuppok, 2013). Pokazano je da veličina čestica, odnosno, granula ima značajan uticaj na kvalitet lipidnog sloja i oslobađanje lekovite supstance (Faham i sar., 2000).

Osim raspodele veličine čestica i njihove gustine, friabilnost materijala, osobine površine i oblik čestica se, takođe, moraju uzeti u obzir. Idealne čestice za oblaganje bi trebalo da budu sfernog oblika i glatke površine, posebno ako je cilj oblaganja postizanje produženog oslobađanja lekovite supstance. Na taj način se dobija omotač homogene debljine. Prethodna granulacija, peletizacija ili oblaganje kuglica (engl. *beads*) lekovitom supstancom su neke od metoda za dobijanje čestica poželjnih osobina. Igličast oblik čestica je npr. nepoželjan zbog većeg trenja tokom procesa. Liu i saradnici (2008) su ispitivali uticaj oblika čestica na njihovu fluidizaciju i zaključili da Δp , v_{mf} i osobine fluidizovanog sloja zavise od morfologije, a pre svega od sferičnosti čestica (npr. uočena je tendencija čestica koje nisu sferične da zaostaju u fluidizovanom sloju). Međutim, treba naglasiti da su dimenzije analiziranih čvrstih materijala u ovom istraživanju bile nekoliko puta veće od dimenzija supstrata koji se obično fluidizuju u farmaceutskoj industriji, tako da je pitanje da li se i na farmaceutske oblike lekova mogu primeniti dobijeni rezultati, odnosno zaključci.

Čestice fluidizovanog sistema su izložene velikom mehaničkom stresu, što može dovesti do promena u njihovoj veličini (npr. menja se raspodela veličine granula). Brzina fluidizacije i visina fluidizovanog sloja moraju biti minimalni ukoliko se radi o materijalu koji pokazuje veliku friabilnost (Christensen i Bertelsen, 1997). Izgled/stanje površine čestice ne utiče značajno na samu fluidizaciju, ali je važan faktor u fazi oblaganja. Ukupna površina čestica će odrediti količinu materijala potrebnog za oblaganje, a morfologija i izgled površine čestica uticaće na kvalitet obloge i krajnjeg proizvoda (Christensen i Bertelsen, 1997).

Iz jednačina za Δp (jednačine 1 i 3) jasno je da će pri povećanju mase čestica (npr. veća šarža, povećanje mase tokom granulacije ili oblaganja) doći i do većeg pada pritiska. Veličina šarže u postupcima koji uključuju fluidizaciju zavisi od kapaciteta uređaja. Proizvođači uglavnom propisuju minimalnu i maksimalnu masu čvrstog materijala u odnosu na mogućnost uređaja da postigne optimalnu fluidizaciju čestica. Čak i u uslovima „dobre” fluidizacije, veličina šarže će uticati na efikasnost oblaganja. Tako je, na primeru oblaganja u *Wurster*-ovoj komori, pokazano da je povećanjem veličine šarže sa 20% na 50% maksimalnog kapaciteta uređaja, efikasnost oblaganja povećana sa 63% na 98%, pod istim uslovima (El Mafadi i sar., 2003). Zapravo, efikasnost oblaganja će biti veća ukoliko su kapljice raspršenog sredstva za oblaganje okružene sa dovoljno čvrstih fluidizovanih čestica koje će sprečiti da se kapljice sudare sa zidom suda ili da očvrstnu (u

slučaju oblaganja topljenjem) pre kontakta sa materijalom koji se oblaže. Optimalna količina fluidizovanih čestica materijala koji se oblaže u zapremini komore za oblaganje može se izraziti preko poroznosti fluidizovanog sloja (ε).

Optimalna fluidizacija se može postići merenjem i kontrolom, odnosno, definisanjem odgovarajućeg opsega vrednosti procesnih parametara (prostor za dizajn, engl. *design space*) za određene parametre, kao što su H i ε , a merenjem vrednosti Δp može se odrediti oblast u kojoj je fluidizacija najstabilnija (može se odrediti npr. optimalan interval protoka vazduha za date uslove ispitivanja). Upravo praćenjem Δp , H i ε , Knežević i saradnici (2009) su pokušali da optimizuju i kontrolišu proces oblaganja granula metodom topljenja u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema. Kontrola procesa postignuta je održavanjem vrednosti H konstantnom, a ε u uskim granicama. Uređaj za fluidizaciju je bio dodatno opremljen mernim instrumentima za praćenje navedenih fizičkih veličina tokom procesa oblaganja. Na taj način, u sistem je uvedena PAT kojom je omogućena kontrola procesnih parametara (protok vazduha). Takođe, El Mafadi i saradnici (2003) su zaključili da se praćenjem minimalne i maksimalne vrednosti Δp ili srednje vrednosti Δp u određenom vremenskom intervalu, može definisati optimalni opseg protoka vazduha, opisati stanje fluidizacije i stabilnost sistema. Ovakav pristup svakako doprinosi boljem razumevanju i kontroli fluidizovanog stanja, ali zahteva dodatne merne instrumente sa dovoljnom preciznošću, kojima standardni laboratorijski uređaji često nisu opremljeni. Takođe, ukoliko se govori o procesu oblaganja topljenjem, brojni faktori koji se odnose na raspršivanje sredstva za oblaganje i kontrolu temperature (ulaznog vazduha, u komori uređaja, sredstva za oblaganje itd), moraju se uzeti u obzir, što svakako zahteva dodatna istraživanja sa ciljem optimizacije procesa.

1.2.2.3. Vazduh za fluidizaciju

Jedan od važnih parametara procesa oblaganja topljenjem u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema je temperatura sistema, odnosno fluidizovanog sloja. U većini uređaja ovaj parametar se kontroliše zagrevanjem/hlađenjem vazduha za fluidizaciju, tako da je, pored protoka vazduha za fluidizaciju, temperatura ulaznog vazduha jedan od značajnih parametara procesa.

Temperatura sistema i vazduha određeni su uglavnom temperaturnim intervalom topljenja lipidne supstance, odnosno sredstva za oblaganje. Vazduh za fluidizaciju ne sme dovesti do ponovnog otapanja obloge, tako da je njegova temperatura određena početnom tačkom u intervalu topljenja materijala.

U idealnim uslovima, lipidna kapljica bi nakon sudara sa čvrstom česticom trebalo prvo da se proširi po površini čestice (što zavisi i od površinskog napona lipidne supstance), a potom da očvrsne. Aglomeracija ili lepljenje čestica za zidove suda ukazuju da je temperatura unutar sistema iznad optimalne vrednosti. Pri temperaturama koje su niže od optimalne, lipidna kapljica može suviše brzo da očvrsne na površini čestice supstrata (ili čak pre kontakta, što će se odraziti na umanjen prinos) i dobijena obloga će biti neujednačena i nehomogena. U tom slučaju prinos može biti dobar, ali karakteristike krajnjeg proizvoda najverovatnije neće biti u granicama specifikacije.

Iz navedenog se može zaključiti da je optimalan temperaturni interval fluidizovanog sloja u uskim granicama, a da bi idealna (optimalna) temperatura trebalo da bude malo niža od vrednosti na kojoj dolazi do aglomeracije. Do sličnog zaključka su došli i Jozwiakowski i saradnici (1990) koji su tokom preliminarnih eksperimenata vezanih za oblaganje granula delimično hidrogenizovanim uljem pamuka (interval T : 64–67 °C) uočili naglo povećanje veličine čestica na 58 °C. Kako na 50

°C i 54 °C nije došlo do aglomeracije, za dalja ispitivanja je odabrana temperatura od 54 °C, jer su smatrali da će se na višoj temperaturi dobiti homogeniji lipidni omotač (Jozwiakowski i sar., 1990).

Tokom oblaganja topljenjem temperatura fluidizovanog sloja se uglavnom održava u opsegu 40-60 °C, a kao sredstvo za fluidizaciju se najčešće koristi vazduh (kako se u ovom postupku ne koriste organski rastvarači, nema rizika od eksplozije). Praćenjem temperature unutar fluidizovanog sistema, kao i izlazne temperature fluida, može se definisati optimalni interval temperature (ulaznog) vazduha za fluidizaciju u skladu sa konceptom dizajniranja kvaliteta (engl. *Quality by Design*, QbD). Tokom faze oblaganja, raspršivanje otopljenog lipidnog ekscipijensa u struji zagrejanog vazduha pod pritiskom (temperature vazduha za raspršivanje i sredstva za oblaganje su iste i najčešće preko 100 °C) može dovesti do porasta temperature sistema izvan optimalnog intervala, što ukazuje na potrebu za dodatnim instrumentima koji će obezbediti kontrolu temperature tokom procesa.

Lekovita, kao i pomoćne supstance u sastavu međuproizvoda koji se oblaže topljenjem treba da budu termostabilne na radnoj temperaturi procesa oblaganja (najviše 80 °C (Jannin i Cuppok, 2013)). Problemi koji se mogu javiti usled nestabilnosti određenih supstanci na povišenoj temperaturi mogu biti promena kristalnog oblika, topljenje, raspadanje ili isparavanje, odnosno, gubitak vlage kod granula (Jannin i Cuppok, 2013). Mada, pokazano je da se termosenzitivne lekovite supstance mogu obložiti topljenjem pri temperaturama fluidizovanog sistema 25-35 °C, što je znatno niže od preporučenih vrednosti (10–15 °C ispod tačke topljenja lipidne supstance (Bose i Bogner, 2007; Jannin i Cuppok, 2013)). Tako su oblaganjem cefuroksim-aksetila dobijeni zadovoljavajući prinos i raspodela veličine čestica, mada druge karakteristike obloženog proizvoda nisu analizirane (Kulah i Kaya, 2011). Takođe, kristali N-acetilcisteina su uspešno obloženi metodom topljenja (radna temperatura procesa 25–35 °C) i optimizacijom procesa pokazano je da se može dobiti proizvod željenih karakteristika, pri čemu su kao ključni parametri koji su uticali na efikasnost oblaganja identifikovani sastav (odnos emulgatora i lipidne supstance) i maseni udeo obloge (Becker i sar., 2016; Lopes i sar., 2016). Dodatno, Bannow i saradnici (2020) su obložili karvedilol (amorfna supstanca) metodom topljenja pri temperaturi vazduha za fluidizaciju od 25 °C, a sa ciljem ispitivanja stabilnosti dobijenog proizvoda i *in vitro* profila brzine rastvaranja lekovite supstance (optimizacija procesa nije bila cilj istraživanja).

Sadržaj vlage u vazduhu za fluidizaciju je značajan parametar u procesima kao što su granulacija, sušenje ili oblaganje disperzijom polimera. U postupku oblaganja topljenjem ne postoji faza sušenja, tako da u tom smislu sadržaj vlage nema velikog značaja. Sa druge strane, od početka pripreme faze (zagrevanje sistema), pa sve do konačnog formiranja lipidne obloge, materijal koji se oblaže može primiti ili otpustiti određenu količinu vlage, zavisno od karakteristika materijala i vlažnosti vazduha u komori. Kako lipidna obloga nije propustljiva za vodu, konačna (zadržana, odnosno, primljena) količina vlage će biti zadržana unutar materijala koji je obložen. Sadržaj vlage u obloženom materijalu može uticati na kvalitet proizvoda, ali i na grešku u proceni efikasnosti oblaganja na osnovu prinosa (razlika u masi neće odražavati količinu nanete obloge).

Većina uređaja koristi spoljašnji vazduh za fluidizaciju, a kako se vlažnost vazduha menja sa promenom vremenskih uslova i godišnjih doba, bilo bi poželjno da se sadržaj vodene pare može izmeriti i kontrolisati (npr. uređaji sa tzv. jedinicama za kontrolu vlažnosti vazduha, engl. *dehumidification unit*, *adsorption dehumidification systems*). Pri tome treba obratiti pažnju da li se meri apsolutna ili relativna vlažnost vazduha. Apsolutna vlažnost ili gustina vodene pare u atmosferi izračunava se kao količnik mase vodene pare i zapremine vazduha i izražava kao g/m³.

Relativna vlažnost (RH) je odnos apsolutne vlažnosti na određenoj temperaturi i maksimalne vlažnosti (najveće količine vodene pare u istoj zapremini u stanju zasićenja na istoj temperaturi) i izražava se u procentima. Relativna vlažnost je obrnuto srazmerna sa temperaturom. Tokom oblaganja topljenjem vazduh za fluidizaciju je zagrejan, pa je vrednost RH smanjena u odnosu na vlažnost vazduha u okolnoj sredini i, u izvesnim slučajevima, ova pojava može dovesti do dodatnog gubitka vlage iz čvrstog materijala.

Ispitivanjem uticaja vlažnosti ulaznog vazduha na kvalitet proizvoda može se odrediti dozvoljeni interval RH vrednosti vazduha unutar komore za oblaganje, a instrumentima/uređajima za kontrolu/podešavanje ovih vrednosti može se održavati unutar predviđenih granica.

Poslednja faza oblaganja topljenjem u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema je hlađenje. Vreme hlađenja i brzina snižavanja temperature (kontrolisana temperaturom ulaznog vazduha) su jedini procesni parametri ove faze. Hlađenje ne sme trajati suviše dugo kako ne bi došlo do mehaničkog oštećenja dobijenog proizvoda (usled habanja). Bez obzira što obloženi farmaceutski oblik pokazuje manju friabilnost od neobloženog, preparat se u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema izlaže velikom mehaničkom stresu. Sa druge strane, brzina hlađenja ne sme biti suviše velika. Naglo hlađenje može prouzrokovati pucanje lipidne obloge usled kontrakcije lipidne supstance. Takođe, brzina hlađenja će uticati i na polimorfne karakteristike i mikrostrukturu lipidne obloge (Jannin i Cuppok, 2013; Salar-Behzadi, 2019).

1.2.2.4. Raspršivanje sredstva za oblaganje

Otopljena pomoćna supstanca za oblaganje najčešće se nanosi sprej-tehnikom, odnosno raspršivanjem. U zavisnosti od pozicije raspršivača u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema, postoje tri osnovna tipa aparature: uređaji sa raspršivanjem odozgo (engl. *top-spray*), uređaji sa raspršivanjem odozdo (engl. *bottom-spray*) i uređaji sa tangencijalnim raspršivanjem (engl. *tangential-spray*). Pored navedenih, mogu se koristiti i tzv. *turbo-jet* uređaji i *Wurster*-ova komora, koja predstavlja modifikovani uređaj sa raspršivanjem odozdo (Jannin i Cuppok, 2013).

U tabeli 4 su prikazani parametri procesa raspršivanja sredstva za oblaganje. Navedeni parametri utiču pre svega na veličinu i raspodelu/uniformnost veličine kapljica raspršenog sredstva za oblaganje, njihovu brzinu, ali i na gustinu i oblik formiranog mlaza. Osobine mlaza zavise i od tehničkih karakteristika i vrsta raspršivača/mlaznice (npr. dvokomponentni, trokomponentni, raspršivač sa kupastom mlaznicom, ravnom mlaznicom itd).

Tabela 4. Parametri koji utiču na postupak raspršivanja sredstva za oblaganje topljenjem

Parametar	Jedinica
Pritisak (vazduha) za raspršivanje (engl. <i>atomization air pressure</i> , AAP)	bar
Pritisak mikroklima* (engl. <i>microclimate pressure</i> , MCP)	bar
Protok sredstva za oblaganje	g/min
Temperatura sredstva za oblaganje	°C
Temperatura vazduha za raspršivanje	°C
Temperatura vazduha mikroklima (trokomponentni raspršivač)	°C
Prečnik raspršivača	mm
Ugao raspršivanja	°

*Mikroklima – vazduh koji okružuje mlaz trokomponentnog raspršivača (mlaz čine sredstvo za oblaganje i vazduh za raspršivanje)

Veličina kapljica raspršenog sredstva za oblaganje se smatra jednim od ključnih faktora koje treba kontrolisati u toku faze oblaganja (Bose i Bogner, 2007; Jannin i Cuppok, 2013). Jednačina kojom bi se mogla izračunati veličina formirane kapljice (d), a koju je predložio Masters (1979) veoma je složena, a da bi se mogla primeniti potrebno je poznavati dodatne fizičke veličine koje opisuju sredstvo za oblaganje (površinski napon (σ), gustina (ρ), viskozitet (μ)), kao i protok vazduha za raspršivanje (Q_a), relativnu brzinu kapljice u odnosu na vazduh za raspršivanje (U) i protok sredstva za oblaganje (Q_u) što dalje komplikuje ispitivanje:

$$d = \left(585 \times 10^{33} \sqrt{\sigma} / (U \sqrt{\rho}) \right) + 597 \left(\mu / (\sqrt{\sigma} \rho) \right)^{0,45} \times 1000 Q_u / Q_a^{1,5} \quad (5)$$

Takođe, na osnovu izračunate veličine kapljice ne može se predvideti „sudbina” kapljice u komori (npr. da li će se dalje podeliti ili će doći do sudara sa drugom kapljicom, zidom suda itd). Međutim, navedeni matematički izraz ukazuje da postoji korelacija između veličine formirane kapljice i sledećih procesnih parametara:

- protoka sredstva za oblaganje (koje se raspršuje)
- AAP (srazmeran protoku vazduha za raspršivanje)
- temperature rastopa, odnosno vazduha za raspršivanje.

Veličina kapljice je srazmerna protoku sredstva za oblaganje, a obrnuto srazmerna protoku vazduha za raspršivanje. U većini uređaja, raspršivanje se kontroliše podešavanjem AAP, a ne brzine vazduha za raspršivanje. Međutim, protok vazduha za raspršivanje je srazmeran sa AAP, a izraz kojim se opisuje ova zavisnost, uslovljen je tehničkim karakteristikama sistema. Temperatura rastopa ima indirektan uticaj na veličinu formirane kapljice, jer utiče na fizičke karakteristike sredstva za oblaganje (površinski napon, gustinu, viskozitet). Kao što je ranije navedeno, u postupku oblaganja topljenjem, supstanca za oblaganje se zagreva na temperaturu 40-60 °C višu od svoje T_t . Promene određenih fizičko-hemijskih karakteristika rastopa, kao što su gustina i viskozitet, u tom temperaturnom opsegu (najčešće preko 100 °C) su veoma male i ne može se očekivati da značajno utiču na veličinu raspršene lipidne kapljice, mada se u literaturi ističe efekat viskoziteta (sredstva za oblaganje) (Jannin i Cuppok, 2013; Becker i sar., 2015; Lopes i sar., 2017a). Zavisnost viskoziteta lipidnih supstanci od temperature ispitivali su Wong i saradnici (2016). Kao što je ranije

objašnjeno, za lipidne supstance je karakteristično bifazno ponašanje (slika 1). Druga faza, u kojoj sa porastom temperature dolazi do veoma male promene viskoziteta, je upravo temperaturna oblast na kojoj se odvija postupak oblaganja topljenjem. Može se zaključiti da su ključni parametri u fazi raspršivanja, pre svega, protok sredstva za oblaganje/stopa raspršivanja i AAP. Izračunavanje veličine i raspodele veličine kapljica u mlazu zahtevaju dodatno poznavanje sistema (najverovatnije i dodatne merne instrumente), ali mogu biti od značaja za npr. modelovanje procesa oblaganja topljenjem i *scale-up* (Kulah i Kaya, 2011). Za optimizaciju oblaganja topljenjem i preliminarna ispitivanja u laboratorijskim uslovima dovoljno je ispitati uticaj protoka rastopa i AAP (Jozwiakowski i sar., 1990, Bose i Bogner, 2007; Kulah i Kaya, 2011; Jannin i Cuppok, 2013; Hate, 2015).

Analiza uticaja procesnih parametara u postupcima kao što su oblaganje i granulacija u uređajima tipa fluidizirajućeg sistema uvek obuhvata ispitivanje najmanje jednog od parametara koji opisuje postupak raspršivanja. Najčešće se ispituje uticaj AAP na efikasnost procesa i karakteristike proizvoda i u mnogim istraživanjima se pokazalo da na karakteristike proizvoda najveći uticaj ima upravo ovaj parametar (Jozwiakowski i sar., 1990; Barthélémy i sar., 1999; Hate, 2015).

U literaturi se navodi da je kvalitet lipidnog omotača bolji ukoliko je protok sredstva za oblaganje niži. Pri takvim uslovima manja je verovatnoća da dođe do aglomeracije čestica supstrata unutar fluidizovanog sloja, jer lipidni sloj ima više vremena da očvrzne pre sledećeg ciklusa i formiranja novog sloja, a nanošenje materijala za oblaganje će biti ravnomernije (Jozwiakowski i sar., 1990; Bose i Bogner, 2007; Jannin i Cuppok, 2013). Takođe, za oblaganje manjih čestica su potrebne i manje kapljice sredstva za oblaganje, kako bi se sprečila aglomeracija. Povećanjem AAP, dobijene kapljice će biti manje, ako ostali uslovi ostanu nepromenjeni. U ispitivanjima na uređajima laboratorijskog kapaciteta poseban izazov može biti održavanje materijala u otopljenom stanju tokom transporta do raspršivača, ukoliko je protok rastopa veoma nizak, npr. 2 g/min. (Jannin i Cuppok, 2013). U literaturi se navodi da je taj problem prisutan i u uređajima koji se koriste za proizvodnju pilot serije, jer je protok od npr. 20-30 g/min i dalje veoma nizak za ovakve sisteme (Bose i Bogner, 2007). Generalno, protok pri raspršivanju je u procesu oblaganja topljenjem mnogo niži nego kod oblaganja rastvorima i suspenzijama polimera. Ali, kako se ovde radi o „nerazblaženom” ekscipijensu, koji nakon nanošenja treba samo da se ohladi i očvrzne, stopa nanošenja (engl. *application rate*) je veća (Jozwiakowski i sar., 1990; Jannin i Cuppok, 2013). Samim tim je i vreme procesa oblaganja kraće.

1.2.3. Optimizacija procesa koji se sprovode u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema

Iako se procesi oblaganja, aglomeracije (granulacije) i sušenja u uređajima tipa fluidizirajućeg sistema poslednjih decenija sve više primenjuju u farmaceutskoj industriji, optimizacija procesa se često zasniva na metodi probe i greške (engl. *trial and error*), a „dobra fluidizacija” se postiže na osnovu iskustva i vizuelnih zapažanja. Smatra se da su nedovoljno razumevanje fizičkih karakteristika fluidizacije, kao i veliki broj parametara koji utiču na procese koji se obavljaju u ovakvim uređajima, razlozi ograničene primene ovog veoma efikasnog uređaja/sistema u farmaceutskoj industriji (Dixit i Puthli, 2009; Knežević i sar., 2009; Kulah i Kaya, 2011).

Pored činjenice da na proces fluidizacije utiče veliki broj parametara, brojne interakcije između različitih parametara čine rad u uređajima tipa fluidizirajućeg sistema veoma složenim (Faure i sar., 2001; Becker i sar., 2015). U dosadašnjim istraživanjima na temu oblaganja topljenjem u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema, fokus je uglavnom bio na određivanju karakteristika dobijenog proizvoda, a pre svega na ispitivanju profila brzine rastvaranja lekovite supstance, pri čemu je u većini radova variran i udeo i/ili sastav lipidne obloge (Griffin i Niebergale, 1999; Barthélémy i sar., 1999; Faham i sar., 2000; Sinchaipanid i sar., 2004; Padsalgi i sar., 2008; Chen i sar., 2010; Knežević i sar., 2009; Hate, 2015; Wankhade i Sakarkar, 2015; Becker i sar., 2016; Lopes i sar., 2016). Iako je uočeno da nepotpuno i nehomogeno oblaganje značajno utiče na kvalitet i osobine dobijenog proizvoda, što pre svega zavisi od eksperimentalnih uslova pod kojima je vršeno oblaganje, u malom broju radova istraživači su ispitivali uticaj procesnih parametara, definisali tzv. prostor za dizajn¹ i optimizovali proces oblaganja topljenjem (Jozwiakowski i sar., 1990; Becker i sar., 2016; Lopes i sar., 2016).

Definisanje prostora za dizajn, optimizacija, praćenje i kontrolisanje kritičnih parametara formulacije, kako bi se osigurao kvalitet krajnjeg proizvoda, osnova je QbD koncepta (ICH Q8(R2), 2009). Na ovakav način se stiče bolje razumevanje procesa, što olakšava *scale-up*, kao i uvođenje izmena koje su u okviru opisanog prostora za dizajn (npr. u sastavu formulacije, delu procesne opreme). Savremeni QbD pristup u razvoju formulacije farmaceutskih preparata se zasniva na primeni različitih alata i tehnika (npr. različite analitičke metode, matematičko modelovanje i eksperimentalni dizajn) za analizu uticaja faktora formulacije i procesa proizvodnje na karakteristike kvaliteta gotovog proizvoda, kao i za definisanje prostora za dizajn formulacije. Primena ovakvog pristupa za optimizaciju postupka oblaganja topljenjem je opisana u svega nekoliko naučnih radova (Jozwiakowski i sar., 1990; Barthélémy i sar., 1999; Knežević i sar., 2009; Kulah i Kaya, 2011; Becker i sar., 2016; Lopes i sar., 2016; Stocker i sar., 2017).

Da bi se QbD pristup implementirao u postupak oblaganja topljenjem u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema, potrebno je razumeti fizičke pojave i veličine koje opisuju dva ključna procesa koji se dešavaju u toku oblaganja topljenjem, a to su fluidizacija materijala koji treba obložiti i raspršivanje rastopljenog sredstva za oblaganje.

Prema ICH Q8(R2), ključni elementi QbD su kritični atributi (karakteristike) kvaliteta (engl. *critical quality attributes*, CQA) i kritični parametri procesa (engl. *critical process parameters*, CPP). CQA predstavljaju fizičke, hemijske, biološke, mikrobiološke ili druge karakteristike lekovite supstance, pomoćne supstance, međuproizvoda ili gotovog proizvoda, sa utvrđenim granicama prihvatljivosti kojima je definisan kvalitet proizvoda. Sa druge strane, CPP su promenljive (varijable) koje imaju značajan efekat na CQA. Variranjem CPP unutar prostora za dizajn, dobijeni proizvod će uvek ispunjavati unapred utvrđene zahteve kvaliteta. Takođe, treba dodati da, iako kritični atributi materijala (engl. *critical material attributes*, CMA) nisu definisani ICH Q8(R2) smernicom, identifikacija i kontrola karakteristika materijala koji imaju efekat na CQA predstavlja integralni deo QbD pristupa i kontrolne strategije razvoja formulacije, zajedno sa identifikacijom, praćenjem i kontrolom CPP (ICH Q8(R2), 2009). U tabeli 5 su navedene

¹ Prostor za dizajn predstavlja multidimenzionalnu kombinaciju, koja ilustruje interakcije između ulaznih varijabli (npr. atributi materijala) i parametara procesa, za koju je dokazano da će obezbediti zadovoljavajući kvalitet proizvoda (ICH Q8(R2), 2009).

promenljive koje su od značaja za proces oblaganja topljenjem, tehnikom raspršivanja sredstva za oblaganje u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema.

Tabela 5. Parametri procesa i karakteristike materijala, značajni za oblaganje topljenjem u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema

Parametri procesa	Karakteristike materijala koji se oblaže	Karakteristike sredstva za oblaganje
Protok vazduha za fluidizaciju	Srednja veličina čestica	T_t , interval T_t
Temperatura vazduha za fluidizaciju	Nasipna (privedna) gustina	Polimorfne karakteristike
Temperatura u komori uređaja	Raspodela veličine čestica	Viskozitet
Temperatura izlaznog vazduha	Friabilnost	Površinski napon
AAP*	Površina i oblik čestica	Kontaktni ugao
Temperatura vazduha za raspršivanje*	Termostabilnost**	HLB
Protok sredstva za oblaganje		Termostabilnost**
Temperatura sredstva za oblaganje		
Veličina šarže		
Temperatura vazduha za hlađenje		
Trajanje hlađenja		

*uključujući i MCP, ukoliko se koristi trokomponentni raspršivač

**u temperaturnom opsegu procesa

1.3. Komprimovanje materijala obloženog topljenjem

Materijal (npr. granule) obložen topljenjem se može koristiti i kao međuproizvod u izradi tableta sa produženim oslobađanjem lekovite supstance. Međutim, da bi se dobio gotov proizvod zadovoljavajućeg kvaliteta, neophodno je ispitati uticaj lipidne obloge na tabletabilna svojstva materijala (granula) obloženog topljenjem, kao i na karakteristike dobijenih tableta. Ovakav pristup formulaciji tableta do sada nije opisan u literaturi, niti su ispitivana tabletabilna svojstva granula obloženih topljenjem. Pri tome ispitivanje tabletabilnih svojstava materijala predstavlja izazov, jer veći broj parametara definiše ova svojstva (kompresibilnost, kompaktilnost, pogodnost za proizvodnju/odvajanje od matrice), a način njihovog određivanja nije ujednačen.

Kompresibilnost se definiše kao sposobnost materijala da pod dejstvom sile (pritiska kompresije) smanji svoju zapreminu. Pri komprimovanju dolazi do povećanja gustine materijala (smanjenja poroznosti) koje zavisi od primenjenog pritiska. Kompresibilnost materijala se najčešće izražava kao zavisnost poroznosti ili čvrste frakcije od pritiska kompresije. Brojni matematički modeli opisuju kompresibilnost materijala. U farmaceutskoj industriji se najčešće koristi Hekelova jednačina (Heckel, 1961) prema kojoj se smanjenje zapremine/poroznosti materijala odvija kinetikom prvog reda:

$$\ln\left(\frac{1}{1-D}\right) = K\sigma d + A \quad (6)$$

gde su: D relativna gustina kompakta u matrici pri pritisku kompresije σ_d , K nagib i A odsečak linearnog dela krive koja je data jednačinom (6). Hekelovom jednačinom se može opisati

mehanizam deformacije materijala i odrediti prinosni pritisak (K je recipročna vrednost srednjeg prinosnog pritiska). Međutim, eksperimentalni podaci se često ne uklapaju u predloženi matematički model/jednačinu, tako da je primena Hekelove jednačine ograničena. Zato su razvijeni i drugi matematički modeli za opisivanje kompresibilnosti materijala, ali ih je često teško protumačiti i dati im fizički smisao (Paronen i Ilkka, 1996; Armstrong, 2007b; Armstrong, 2008; Picker-Freyer, 2008).

Kompresibilnost materijala zavisi od mehanizma deformacije kojem materijal podleže pri komprimovanju i od fizičkih svojstava materijala kao što su veličina i oblik čestica, nasipna, tapkana i stvarna gustina, elektrostatičko naelektrisanje, kristalni oblik, sadržaj vlage. Pod dejstvom sile kompresije dolazi do preraspodele i konsolidacije čestica. Dva osnovna mehanizma konsolidacije su fragmentacija i deformacija, pri čemu deformacija može biti plastična i elastična. Za razliku od fragmentacije koja je brz (trenutni) proces, deformacija je vremenski zavisna. Iako su oba navedena mehanizma prisutna kod većine materijala, važno je utvrditi glavni mehanizam konsolidacije, jer je to karakteristika koja bitno utiče na tabletabilna svojstva materijala (Armstrong, 2007a). Udeo elastičnih i plastičnih karakteristika materijala može se utvrditi analizom krive zavisnosti položaja klipa kojim se vrši komprimovanje od sile (pritiska) komprimovanja (engl. *force-displacement curve*) (slika 4a). U slučaju kada bi materijal bio podložan isključivo plastičnoj deformaciji, nakon dostignute maksimalne sile kompresije (tačka B), klip bi se odvojio od kompakta, a sila u klipu bi istog trenutka dostigla nultu vrednost (vertikalno bi se spustila na x-osu). Međutim, kako većina materijala poseduje i svojstva elastične deformacije, po prestanku kompresije ne dolazi do trenutnog odvajanja klipa, već formirani kompakt usled elastičnog širenja deluje određenom silom na klip (kriva BC). Segment CBD, odnosno kriva BC, odnosi se na fazu dekompresije. Ukupan rad kompresije jednak je površini ispod krive AB (površina ABD), pri čemu je površina ispod krive BC (površina CBD), jednaka radu/energiji elastične deformacije. Razlika ove dve površine jednaka je neto radu kompresije koji se još naziva i rad plastične deformacije.

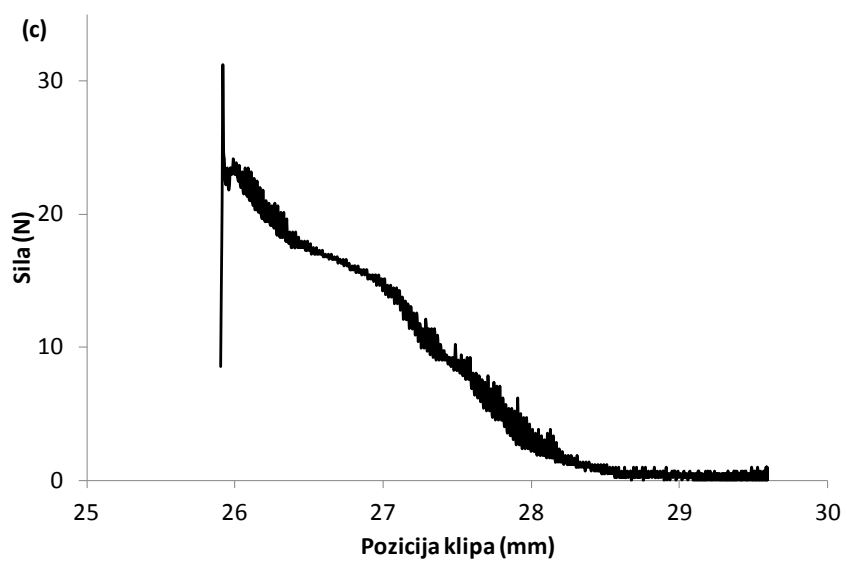
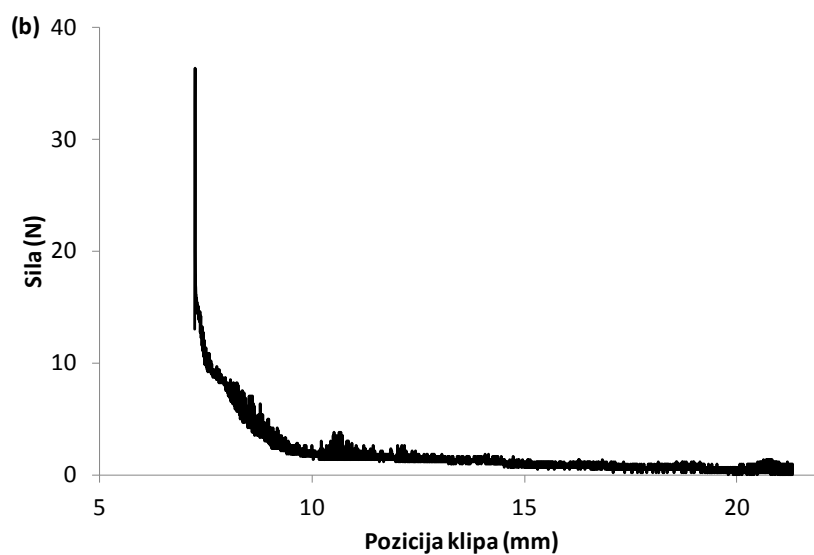
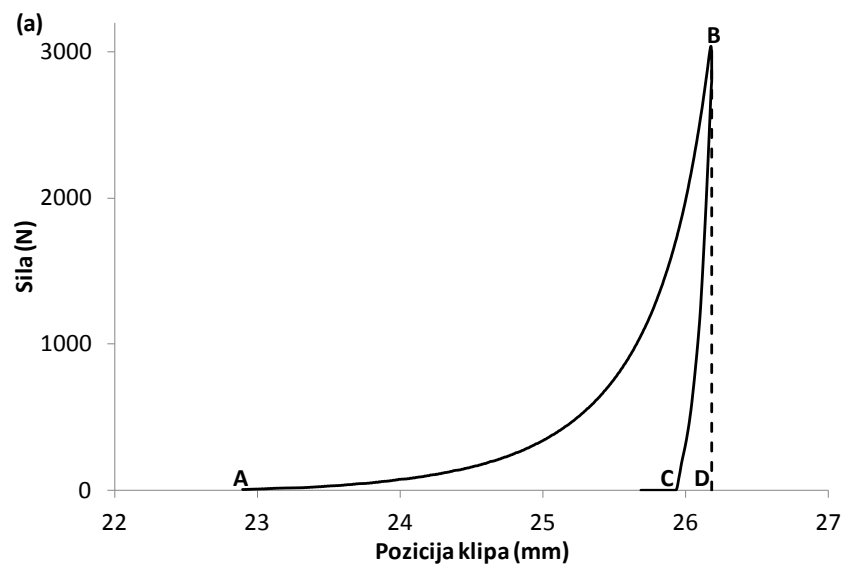
Pod dejstvom pritiska kompresije, čestice materijala se dovode u bliži kontakt, pri čemu se formiraju jače međučestične veze/kohezivne sile. Ukoliko su dovoljno jake, ove privlačne sile mogu dovesti do stvaranja kompakta postojanog i nakon prestanka dejstva pritiska (Holman, 1991; Führer, 1996). Kompaktibilnost je srazmerna plastičnoj deformaciji materijala, jer se plastičnom deformacijom povećava dodirna površinu između čestica (Ilić i sar., 2009). Čvrstina tablete ili otpornost na lomljenje (N) je fizička veličina kojom se najčešće izražava/meri kompaktibilnost materijala (David i Augsburg, 1977). Međutim, radi poređenja tableta različitih dimenzija i oblika, pogodnije je koristiti parametar poput zatezne čvrstine (MPa). Kompaktibilnost se definiše kao zavisnost zatezne čvrstine tablete od udela čvrste frakcije (Amidon i sar., 2009). Takođe, može se izraziti i kao zavisnost zatezne čvrstine tablete od pritiska kompresije (Osamura i sar., 2016; Qu i sar., 2017; Osamura i sar., 2018), što se u literaturi opisuje i kao tabletabilnost (Tye i sar., 2005; Amidon i sar., 2009).

Nakon dekompresije, tableta se izbacuje iz matrice dejstvom ejskacione sile (sila izbacivanja, sila u fazi izbacivanja) koja treba da nadvlada rezidualni radijalni pritisak zidova matrice (javlja se kao posledica kompresije) i trenje između zidova matrice i površine tablete koja je u kontaktu sa zidovima matrice. Ejskaciona sila zavisi od karakteristika materijala (npr. adhezivnost), pritiska kompresije i veličine tablete (Pitt i sar., 2015). Za poređenje tableta različitih oblika i dimenzija, pogodnije je izračunati ejskacioni stres (napon u fazi izbacivanja, pritisak izbacivanja). Ejskacioni stres se izračunava na osnovu maksimalne sile ejskacije i najčešće raste sa povećanjem pritiska

kompresije (Wang i sar., 2004). Na osnovu ejectionog stresa može se ispitati adhezivnost materijala/formulacije pod datim uslovima, proceniti potreba za dodavanjem lubrikansa formulaciji ili ispitati njegova efikasnost. Poželjno je da ejectioni stres bude što niži, kako bi se smanjio rizik od oštećenja i laminacije tablete u fazi izbacivanja tablete iz matrice. Pored kompresibilnosti i kompaktilnosti, jedna od tabletabilnih karakteristika materijala je i tzv. pogodnost materijala za proizvodnju (engl. *manufacturability*) koja je srazmerna trenju između tablete i površina/zidova matrice. Osamura i saradnici (2016; 2018) su pogodnost materijala za proizvodnju opisali merenjem ejectionog stresa na različitim pritiscima kompresije.

Kvantitativna procena tabletabilnih svojstva materijala često predstavlja izazov. Razvojem laboratorijskog dinamičkog analizatora kompakcije (engl. *dynamic powder compaction analyzer*) *Gamlen D series* (Gamlen Tableting Limited, Velika Britanija), značajno je olakšano merenje kompresibilnosti, kompaktilnosti i pogodnosti materijala za proizvodnju. Naime, ovaj uređaj u svim fazama tabletiranja (kompakcija, odvajanje i izbacivanje tablete/kompakta) meri silu i položaj klipa. Na osnovu dobijenih podataka mogu se konstruisati krive zavisnosti sile od položaja klipa i izračunati energije deformacije u fazama kompresije i dekompresije (slika 4a). Takođe, na osnovu maksimalne sile postignute u fazi komprimovanja (tačka B), izračunava se pritisak kompresije (MPa). Na sličan način, na osnovu maksimalne sile postignute pri odvajanju tablete od baze matrice (slika 4b) i pri izbacivanju tablete (slika 4c), može se izračunati stres (napon, pritisak) (MPa) pri odvajanju tablete od baze matrice i ejectioni stres (MPa).

Odabir materijala zadovoljavajućih tabletabilnih karakteristika je važan korak u formulaciji tableta. Nakon što se kompresibilnost, kompaktilnost i pogodnost materijala za proizvodnju precizno opišu, definisanje optimalnih procesnih uslova je olakšano, jer je već poznat opseg procesnih parametara koji se može razmatrati tokom dalje optimizacije procesa. Cilj optimizacije postupka izrade tableta je proizvodnja tableta odgovarajućih farmaceutsko-tehnoloških karakteristika. Izrađene tablete moraju ispunjavati zahteve za kvalitet proizvoda, propisane pre svega u odgovarajućoj farmakopeji, kao što su Evropska farmakopeja (engl. *European Pharmacopoeia*, Ph. Eur.) ili Farmakopeja Sjedinjenih Američkih Država (engl. *United States Pharmacopoeia*, USP). U okviru farmaceutsko-tehnoloških ispitivanja, Ph. Eur. i USP propisuju metode i/ili zahteve za ispitivanje variranja mase tableta, ujednačenosti sadržaja lekovite supstance, raspadljivosti, friabilnosti, otpornosti tableta na lomljenje, kao i za ispitivanje brzine rastvaranja lekovite supstance iz tableta različitim metodama.



Slika 4. Kriva zavisnosti položaja klipa od sile: u fazi kompresije (a); u fazi odvajanja tablete od baze matrice (b); u fazi izbacivanja tablete iz matrice (c)

1.4. Formulacija lekova za pedijatrijski uzrast

Formulacija lekova za pedijatrijsku populaciju, posebno za decu uzrasta do dve godine, predstavlja veliki izazov za farmaceute. Obezbediti kvalitetne, bezbedne i efikasne lekove za pedijatrijsku populaciju, koji će biti prihvatljivi za decu i tačno dozirani za određeni pedijatrijski uzrast, imperativ je za farmaceutsku zajednicu i regulatorna tela. Prema smernici ICH E11(R1) (2017), pedijatrijski uzrast obuhvata pet starosnih grupa:

- nedonoščad (novorođenčad rođena pre termina)
- novorođenčad (rođena u terminu, 0-27 dana)
- odojčad i mala deca (28 dana-23 meseca)
- deca uzrasta 2-11 godina (predškolska deca 2-6 godina; školski uzrast 7-11 godina)
- adolescenti (12-16 ili 18 godina, zavisno od zemlje).

Mnogi lekovi nisu dostupni u odgovarajućem farmaceutskom obliku za pedijatrijski uzrast. Stoga su lekari često primorani da propisuju lekove na način koji nije predviđen sažetkom karakteristika leka (engl. *summary of product characteristics*, SmPC), odnosno pristupaju tzv. neodobrenoj (engl. *off-label*) upotrebi leka (EMA/CHMP, 2006). Ne retko, farmaceuti, medicinsko osoblje, ali i roditelji, različitim postupcima „modifikuju” farmaceutski oblik leka za odrasle kako bi ga prilagodili za primenu detetu (npr. deljenje tablete, mešanje sadržaja kapsule sa hranom, sečenje supozitorije ili transdermalnog flastera). Neodobrenom primenom leka povećava se rizik od pojave neželjenih efekata/predoziranja, izostanka efekta leka/subdoziranja, primene neodgovarajuće formulacije i/ili narušavanja stabilnosti preparata (EMA, 2007).

Ovaj problem je uočen i prepoznat i na nivou regulatornih tela, kao i zdravstvene zajednice. Kao rezultat težnji da se isprave uočeni nedostaci po pitanju dostupnosti lekova za decu, januara 2007. godine je na nivou Evropske Unije (EU) stupila na snagu regulativa koja se odnosi na lekove namenjene pedijatrijskom uzrastu (*Regulation (EC) n. 1901/2006 of the European Parliament and of the Council of 12 December 2006 on medicinal products for paediatric use*) (u daljem tekstu Regulativa). Glavni ciljevi Regulative (European Parliament, Council of the European Union, 2006) su:

- da se olakša razvoj i dostupnost odobrenih lekova za pedijatrijski uzrast
- da lekovi koji su namenjeni pedijatrijskom uzrastu budu podvrgnuti visoko kvalitetnim etičkim ispitivanjima
- da informacije o upotrebi leka u različitim pedijatrijskim grupama budu dostupne (SmPC i uputstvo za upotrebu leka)
- da se ovi ciljevi postignu bez podvrgavanja dece nepotrebним kliničkim ispitivanjima
- da zbog ispunjavanja zahteva Regulative ne dođe do kašnjenja/odlaganja odobravanja leka namenjenog ostaloj populaciji.

Jedan od ključnih instrumenata u ostvarivanju ciljeva Regulative je obaveza podnošenja tzv. Pedijatrijskog istraživačkog plana (engl. *Paediatric Investigation Plan*, PIP) od strane nosioca dozvole za lek, odnosno podnosioca zahteva za odobrenje leka. Drugim rečima, zahteva se da razvoj formulacije za pedijatrijski uzrast teče paralelno sa razvojem leka za odraslu populaciju. PIP treba da sadrži predlog svih mera kojima bi se procenili kvalitet, bezbednost i efikasnost leka, za svaku pedijatrijsku grupu definisanu smernicom ICH E11(R1) (2017). Takođe, treba da se opišu sve

mere kojima bi se formulacija učinila prihvatljivijom, jednostavnijom za upotrebu i sigurnijom i/ili efikasnijom za različite pedijatrijske grupe.

Pri formulaciji farmaceutskih preparata za pedijatrijsku populaciju neophodno je odabrati odgovarajući farmaceutski oblik za svaki pedijatrijski uzrast (može biti i jedan oblik za sve uzraste), pomoćne supstance koje se smeju koristiti, razmotriti upotrebu odgovarajućeg nosača za isporuku leka i ispitati palatabilnost formulacije (Breitkreutz, 2008). Strategija razvoja leka, koja je deo PIP-a, najverovatnije će obuhvatati više različitih formulacija kako bi bili „pokriveni” svi uzrasti. Takođe, zahteva se da lek bude prilagođen uzrastu (engl. *age-appropriate*) i sa jasnim indikacijama, a da osim kliničkih treba razmotriti i prilagoditi i pretklinička ispitivanja leka (npr. pri odabiru životinja) (Mentzer, 2014). „Lek prilagođen uzrastu” treba da bude prihvatljiv od strane pacijenta i dovoljno jednostavan za primenu od strane roditelja ili medicinskog osoblja. Pri tome koncept „leka prilagođenog uzrastu” mora da objedini i uskladi specifične zahteve koji se odnose na:

- formulaciju/način isporuke leka
- lekovitu supstancu
- pedijatrijski uzrast i stanje pacijenta.

Uzimajući u obzir navedene zahteve, pri formulaciji „leka prilagođenog uzrastu” treba razmotriti sledeće:

- put primene leka
- zahteve u pogledu osobina lekovite supstance
- izbor pomoćnih supstanci (bezbednost, funkcija)
- odnos lekovite i pomoćnih supstanci
- preciznost i fleksibilnost doziranja
- veličinu i disperzibilnost farmaceutskog preparata (kada je u pitanju (per)oralna primena)
- ukus tj. mogućnost maskiranja ukusa
- način doziranja/upotrebu aplikatora
- jednostavnost, lakoću primene i komplikansu pacijenta.

Osobine lekovite supstance koje je potrebno razmotriti pri formulaciji farmaceutskog preparata za primenu kod dece su:

- rastvorljivost
- permeabilnost
- doza i terapijska širina
- farmakokinetički i farmakodinamički profil kod dece različitog uzrasta
- fizička, hemijska i mikrobiološka stabilnost
- ukus.

Ukoliko je moguće, lekovi za decu bi trebalo da budu *ready-to-use*, odnosno spremni za upotrebu bez prethodne pripreme (npr. rekonstitucije). Takođe, upotreba pomoćnih supstanci bi trebalo da bude strogo kontrolisana, a princip „što manje ekscipijenasa i u što nižoj koncentraciji” treba da bude vodič pri formulaciji leka za decu (Abdel-Rahman i sar., 2012).

Pri izboru odgovarajućeg puta primene, vrste farmaceutskog oblika leka i sastava preparata potrebno je, pored karakteristika lekovite supstance, razmotriti i specifične fiziološke karakteristike dece različitog uzrasta, kao što su:

- metabolički kapacitet

- barijerne funkcije (npr. krv-moždana barijera, transport kroz epitel tankog creva, transport kroz kožu)
- razvijenost i funkcije gastrointestinalnog (GI) trakta (pH vrednosti i vreme zadržavanja u različitim regionima, motilitet, ekspresija enzima i transportera)
- sposobnost gutanja
- senzorne funkcije (ukus, bol).

Osim toga što se ove karakteristike menjaju sa rastom i razvojem deteta, treba uzeti u obzir da se fiziološki uslovi kojima lek podleže u organizmu menjaju i pod uticajem hrane, što je značajno razmotriti prilikom razvoja farmaceutskih preparata za (per)oralnu upotrebu. Dodatno, prilikom razvoja farmaceutskih oblika lekova za decu treba uzeti u obzir indikacije i stanje pacijenta, odnosno da li se leči hronično ili akutno stanje, kakva je klinička slika, da li postoje specifični zahtevi u pogledu farmakokinetike i farmakodinamike leka, koje je mesto delovanja leka itd. (EMA, 2011).

Iz navedenog se vidi da formulacija preparata za pedijatrijsku populaciju zahteva složen pristup koji podrazumeva razmatranje velikog broja faktora (karakteristike lekovite i pomoćnih supstanci, farmaceutskog oblika leka i fiziološke karakteristike), kao i njihovih međusobnih interakcija.

1.4.1. Čvrsti farmaceutski oblici lekova za primenu u pedijatrijskoj populaciji

U skladu sa savremenim trendovima razvoja „lekova prilagođenih uzrastu”, Evropska agencija za lekove (engl. *European Medicines Agency*, EMA) je 2006. godine objavila vodič o prihvatljivosti različitih farmaceutskih oblika lekova za pedijatrijsku populaciju (engl. *Formulations of choice for the paediatric population*). Ovaj dokument je poslužio kao osnova za dalja razmatranja stručnjaka koji se bave razvojem i ispitivanjem lekova za decu (Stoltenberg i sar., 2011; Lopez, 2017). Ono što se u pomenutim dokumentima posebno ističe je da (ne)prihvatljivost leka od strane deteta, posebno u smislu zapremine, dimenzija, oblika i ukusa leka, može dovesti do slabe komplijanse pacijenta i izostanka terapijskog efekta leka. Neke od preporuka pri formulaciji leka za pedijatrijski uzrast su i da učestalost doziranja treba da bude što manja, da ukoliko je moguće jedan isti farmaceutski oblik leka treba da bude prilagođen svim uzrastima (u rasponu doza), da primena leka što manje ometa normalan život deteta, da se upotrebi najmanja količina pomoćnih supstanci, da su pomoćne supstance netoksične, da primena leka bude pogodna, laka i pouzdana, da proizvodnja bude jednostavna, a preparat stabilan i dostupan (EMA/CHMP, 2006).

Oralni put primene leka je uobičajen za pedijatrijsku populaciju svih uzrasta, zbog čega je dostupan veliki broj tečnih i čvrstih farmaceutskih oblika lekova za (per)oralnu primenu, kao što su: rastvori, sirupi, suspenzije, praškovi, granule, efervescentne tablete, oralno-disperzibilne tablete, tablete za žvakanje, mini-tablete, konvencionalne tablete i kapsule sa trenutnim oslobađanjem, kao i kapsule i tablete sa modifikovanim oslobađanjem.

Neke od prednosti tableta i kapsula u odnosu na tečne farmaceutske oblike su veća stabilnost, preciznije doziranje, ali i jednostavniji transport. Neprijatan ukus leka se može maskirati oblaganjem, tako da se ne zahtevaju dodatne arome i zaslađivači ili je njihova koncentracija znatno manja u odnosu na tečne farmaceutske oblike lekova. Čvrsti farmaceutski oblici lekova se lako mogu proizvesti u širokom rasponu doza, što odgovara potrebama dece različitih uzrasta. Ono što je

prepoznato kao najveći nedostatak čvrstih farmaceutskih oblika je otežano gutanje preparata poput konvencionalnih tableta i kapsula kod nekih pacijenata. Ovaj nedostatak se može prevazići primenom višestrukih sistema, kao što su npr. granule ili mini-tablete. Pojedinačne čestice kod višestrukih sistema su lakše za gutanje i omogućavaju prilagođavanje doze (van Riet-Nales i sar., 2016; Martínez-Terán i sar., 2017; Trofimiuk i sar., 2019), te se smatraju pogodnim farmaceutskim oblikom leka za specifične populacije pacijenata (npr. pedijatrijska, gerijatrijska) i/ili u slučajevima kada je potrebno individualno prilagođavanje doze leka. Veća specifična površina višestrukih oblika može omogućiti brže/efikasnije rastvaranje lekovite supstance, mada će u slučaju oblaganja biti potrebna veća količina pomoćnih supstanci za oblaganje, što treba razmotriti kao mogući rizik (sa bezbednosnog i biofarmaceutskog aspekta). Ukoliko se višestruki farmaceutski oblik leka uzima sa hranom (čvrsta/meka) ili tečnošću, treba ispitati i kakav je uticaj ovakvog načina primene na biološku raspoloživost leka, a po potrebi i definisati vrstu hrane/tečnosti sa kojom se lek može primeniti (EMA/CHMP, 2006).

Farmaceutski preparati tipa višestrukih sistema (npr. granula) obloženih topljenjem poseduju brojne prednosti zbog kojih se mogu smatrati pogodnim za primenu kod dece (Becker i sar., 2016). Zbog mogućnosti maskiranja neprijatnog ukusa, može se dodatno povećati komplikacija pacijenata. Takođe, zbog primene bezbednih GRAS pomoćnih supstanci za oblaganje, ovakve granule bi bile pogodne za primenu u pedijatrijskoj populaciji (Walsh i sar., 2014). Istovremeno, oblaganjem topljenjem može se postići i produženo oslobađanje lekovite supstance, a time i smanjiti učestalost doziranja, što je velika prednost za primenu lekova kod dece. Međutim, mogućnost primene oblaganja topljenjem u razvoju formulacija lekova za pedijatrijsku populaciju do sada nije istraživana.

1.5. Primena *in silico* modelovanja i simulacija u razvoju lekova

Kako bi se smanjili troškovi i ubrzao razvoj leka, sve veću primenu u karakterizaciji lekovitih supstanci/farmaceutskih preparata imaju računarski podržane (*in silico*) metode. Primena *in silico* modelovanja i simulacija ima za cilj predviđanje/procenu fizičko-hemijskih, biofarmaceutskih, farmakokinetičkih i/ili farmakodinamskih svojstava leka. Razvoj leka uz primenu metoda modelovanja i simulacija, opisuje se kao tzv. modelom-podržan razvoj leka (engl. *model-informed drug development*, MIDD), a ovakav pristup prihvaćen je i od strane regulatornih tela (Coppola, 2019; Madabushi i sar., 2019; Wang, 2019). Neke od metoda koje se zasnivaju na predviđanju karakteristika (potencijalnih) lekovitih supstanci na osnovu hemijske strukture i molekulskih deskriptora, su *in silico* HTS (engl. *high throughput screening*), SAR (engl. *structure-activity relationship*), QSPR (engl. *quantitative structure-property relationship*), QSAR (engl. *quantitative structure-activity relationship*), QSBR (engl. *quantitative structure-bioavailability relationship*) i CADD (engl. *computer-aided drug design*). Primena datih metoda pruža mogućnost odabira lekovite supstance kandidata (engl. *drug discovery*) u fazi koja prethodi razvoju formulacije i može usmeriti strategiju razvoja leka. Za predviđanje ponašanja leka u organizmu, u današnje vreme se sve više koriste fiziološki zasnovani modeli, koji povezuju fizičko-hemijske karakteristike lekovite supstance, faktore formulacije i fiziološke faktore značajne za ADME (engl. *Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion*) lekovite supstance. Jedan od prvih fiziološki zasnovanih modela koji je razvijen za predviđanje brzine i stepena apsorpcije lekovite supstance nakon peroralne primene je tzv. CAT model (engl. *Compartmental Absorption and Transit*), koji je

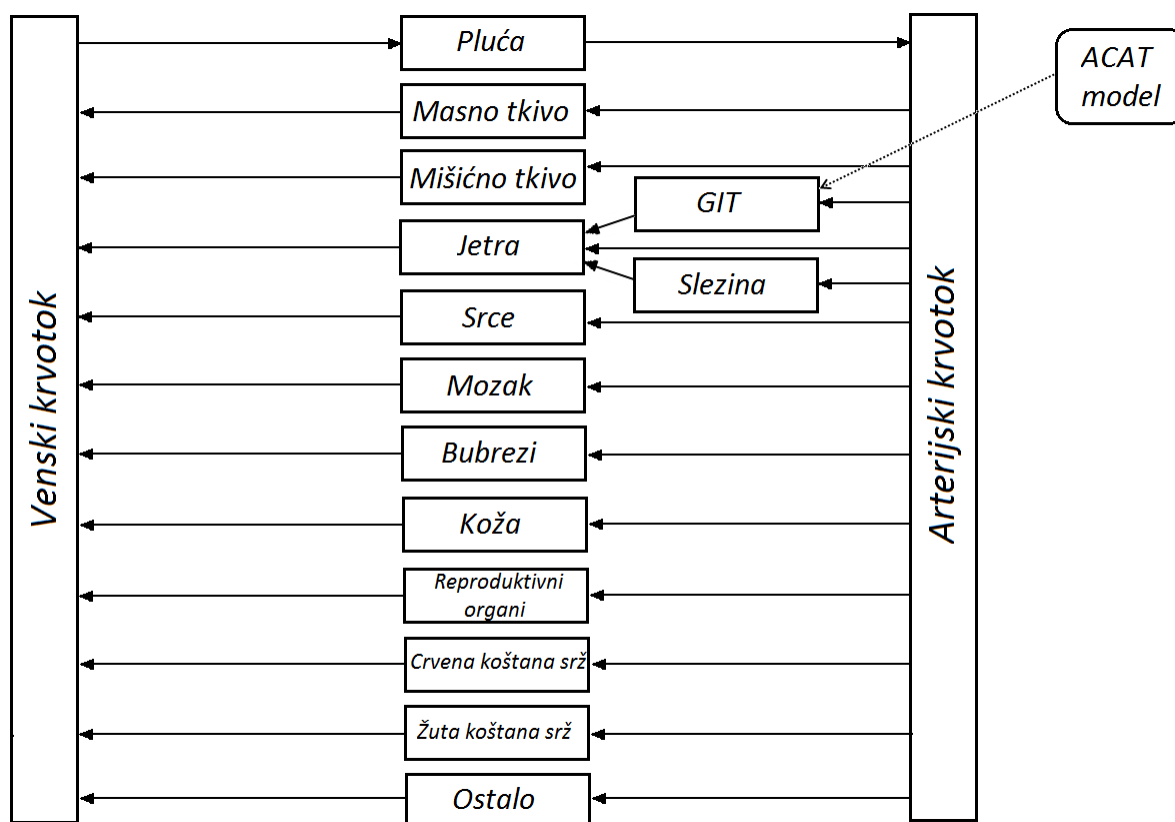
razvijen od strane Yu-a i saradnika (1996). U datom modelu, koji obuhvata želudac, tanko crevo i kolon, lek prolazi kroz GI trakt (tranzit), a apsorpcija leka se predviđa samo u tankom crevu, dok je želudac važan u smislu vremena zadržavanja/prolaska leka. Prema ovom modelu, tanko crevo je podeljeno na sedam regiona/segmenata koji se razlikuju prema dužini i volumenu i nisu u vezi sa anatomskim celinama, a vreme prolaska leka kroz svaki segment je jednako. Rastvorena lekovita supstanca može biti apsorbovana u određenom segmentu tankog creva ili transportovana u naredni, a svi procesi kojima lek podleže unutar CAT modela, opisani su diferencijalnim jednačinama. S obzirom da je u jednačinama vreme jedan od činilaca, CAT model se opisuje kao dinamički (SimulationPlus, Inc., 2019). Unapređenjem CAT modela, nastao je tzv. ACAT model (engl. *Advanced CAT*) (Agoram i sar., 2001; Lin i Wong, 2017), koji za razliku od CAT modela, uzima u obzir brzinu rastvaranja lekovite supstance, pH zavisnu rastvorljivost, degradaciju i precipitaciju lekovite supstance u lumenu GI trakta, apsorpciju u želucu (opciono) i kolonu, mogućnost modifikovanog oslobađanja lekovite supstance, presistemički metabolizam u zidu creva i jetri, razlike u apsorpcionoj površini između različitih segmenata GI trakta, kao i prisustvo transportera i efluks proteina. GI trakt u ACAT modelu je predstavljen u vidu devet regiona (želudac, sedam regiona tankog creva i kolon) kojima je dodato devet regiona koji se odnose na enterocite. Dodatno, ACAT model uzima u obzir šest oblika u kojima može biti lekovita supstanca: neoslobodena, oslobođena nerastvorena, rastvorena, degradirana, metabolizovana i apsorbovana. Neoslobodena lekovita supstanca se uzima u obzir ukoliko je u pitanju modifikovano oslobađanje. U zavisnosti od svojih fizičko-hemijskih karakteristika i uslova u GI traktu, oslobođena nerastvorena lekovita supstanca može biti rastvorena ili transportovana u naredni region GI trakta, a samo rastvorena lekovita supstanca podleže apsorpciji ili degradaciji unutar GI trakta. Apсорpcija lekovite supstance u enterocite može se odvijati mehanizmom pasivne difuzije, paracelularno ili posredstvom transportera (inluks i efluks proteini). Prema ACAT modelu, brzina promene koncentracije rastvorene lekovite supstance u pojedinačnim regionima GI trakta zavisi od deset procesa koji se opisuju diferencijalnim jednačinama: (1) ulazak lekovite supstance u određeni region, (2) izlazak lekovite supstance iz regiona, (3) oslobađanje lekovite supstance iz preparata u lumen datog regiona, (4) rastvaranje lekovite supstance, (5) precipitacija lekovite supstance, (6) luminalna degradacija lekovite supstance, (7) apсорpcija lekovite supstance u enterocite, (8) ekskrecija (efluks) lekovite supstance iz enterocita u lumen, (9) apсорpcija lekovite supstance u portalnu venu paracelularnim putem i (10) ekskrecija lekovite supstance iz portalne vene paracelularnim putem. Svi ovi procesi nisu obavezno uključeni u model, odnosno, korisnik može da proceni koje procese treba simulirati. Izuzev brzine rastvaranja lekovite supstance, transporta posredovanog nosačima i metabolizma (presistemički i sistemski), svi ostali procesi su opisani kao linearni, odnosno, opisuju se jednačinama prvog reda. Koeficijent (konstanta) brzine apсорpcije lekovite supstance za svaki region GI trakta izračunava se množenjem efektivne permeabilnosti (P_{eff}) lekovite supstance i faktora koji skalira regionalnu vrednost za permeabilnost (engl. *Absorption Scale Factor, ASF*) regiona. Vrednosti *ASF* zavise od fizioloških karakteristika regiona GI trakta kao što su apсорpciona površina, pH, ekspresija inluks i efluks transportera.

Da bi se predvideli farmakokinetički parametri kao što su volumen distribucije (V_d), klirens (CL) i poluvreme eliminacije ($t_{1/2}$), na ACAT model treba nadovezati jednodimenzionalni, dvodimenzionalni ili trodimenzionalni farmakokinetički model, ili se može izgraditi tzv. kompletan fiziološki zasnovan farmakokinetički model (engl. *full/whole body physiologically-based pharmacokinetic model, PBPK*). Ukoliko se, umesto prostornog, koristi kompletan PBPK model, broj jednačina i složenost

sistema se znatno uvećavaju. Međutim, PBPK model detaljnije opisuje fiziološke karakteristike odabrane populacije ili vrste u odnosu na prostorne farmakokinetičke modele, te omogućava potpunije mehanističko razumevanje ponašanja leka *in vivo*. Takođe, osim predviđanja koncentracije leka u plazmi tokom vremena, PBPK modelom moguće je predvideti izloženost različitih tkiva ili organa leku. Dodatno, promenom parametara fiziološkog sistema, lek-specifični PBPK model izgrađen za jednu ispitivanu populaciju, može se ekstrapolirati na drugu ciljnu populaciju (Jones i Rowland-Yeo, 2013; Maharaj i Edginton, 2014).

1.5.1. Struktura i primena PBPK modela

PBPK model se sastoji od međusobno povezanih regiona/odeljaka (engl. *compartments*) koji predstavljaju pojedinačne organe (npr. pluća, srce, jetra, slezina, bubrezi, koža, reproduktivni organi) ili tkiva (npr. adipozno, mišićno). Svaki organ ili tkivo opisan je odgovarajućim parametrima kao što su sastav, veličina, masa, prokrvljenost, ekspresija transportera, metabolička aktivnost tkiva i dr. Različiti organi i tkiva su u PBPK modelu međusobno povezani „regionima” koji predstavljaju arterijski i venski krvotok (slika 5).



Slika 5. Shematski prikaz PBPK modela

Nakon apsorpcije, količina lekovite supstance koja je izbegla presistemske metabolizam u enterocitima i jetri, prelazi u sistemske cirkulaciju, odakle se raspodeljuje po odeljcima/regionima PBPK modela. Raspodela i eliminacija leka u PBPK modelu se odvijaju kroz sva tkiva i organe koji su obuhvaćeni modelom, a nelinearnom kinetikom se mogu opisati procesi koji podležu saturaciji,

kao što su nosačem-posredovani transportni mehanizmi i metaboličke reakcije u bilo kom tkivu ili organu.

Raspodela lekovite supstance u određenom tkivu/organu može biti ograničena protokom krvi kroz tkivo/organ (perfuzijom) ili permeabilnošću lekovite supstance. Prolazak lekovite supstance iz arterijske cirkulacije u tkiva i organe zavisi od particionog koeficijenta plazma-tkivo (K_p). K_p vrednosti lekovite supstance izračunavaju se na osnovu sastava tkiva/organa (udeo lipida, proteina i vode), koncentracije slobodne frakcije leka u plazmi, vezivanja lekovite supstance za proteine tkiva/organa i fizičko-hemijskih karakteristika lekovite supstance ($\log P$, pKa).

Eliminacija lekovite supstance putem metabolizma i ekskrecije u PBPK modelu može se definisati za bilo koje tkivo ili organ, a najčešće podrazumeva unošenje vrednosti klirensa jetre (C_H) i klirensa bubrega (C_R).

Strategija PBPK modelovanja obuhvata tri osnovna koraka: izgradnju, validaciju i primenu modela. Ključna faza izgradnje PBPK modela je prikupljanje podataka: eksperimentalnih (*in vitro*, pretkliničkih i kliničkih) i/ili *in silico* predviđenih. Svi ulazni podaci za PBPK modelovanje mogu se podeliti u dve grupe: lek-specifične podatke (engl. *drug-specific input parameters*) i sistem-specifične podatke (engl. *system-related input parameters*, „*system*” *specific parameters*) (Jones i Rowland-Yeo, 2013). Lek-specifični podaci neophodni za izgradnju PBPK modela mogu biti eksperimentalno dobijeni (*in vitro*, pretklinička ispitivanja) ili *in silico* generisani (tabela 6). Ukoliko je primena lekovite supstance već ispitana i na humanoj populaciji, farmakokinetički podaci mogu poticati i od rezultata kliničkih ispitivanja. Većina programskih paketa nudi opciju *in silico* predviđanja odgovarajućih karakteristika lekovite supstance na osnovu njene strukture. Ovakvi programi mogu biti od koristi ukoliko nisu poznati svi podaci neophodni za izgradnju modela ili dostupni podaci (npr. literaturni) nisu dovoljno pouzdani.

Tabela 6. Ulazni podaci potrebni za izgradnju PBPK modela

Vrsta podataka	Parametri
Fizičko-hemijske karakteristike lekovite supstance	Molekulska masa Rastvorljivost (pH zavisna) pKa Particioni koeficijent ($\log P$, $\log D$)
Pretklinički podaci	Permeabilnost (npr. Caco-2 ćelije, PAMPA test) Frakcija slobodnog leka u plazmi (f_u) Odnos koncentracije leka u krvi/plazmi V_{max} , K_m metaboličkih enzima V_{max} , K_m transportera/nosača
Klinički podaci	CL , V_d , $t_{1/2}$ (nakon i.v. i/ili peroralne primene)

Sistem-specifični podaci obuhvataju sve fiziološke (patofiziološke) karakteristike i demografske deskriptore ispitivane populacije. PBPK model se može izgraditi za različite životinjske vrste ili za humane ispitanike. Komercijalni softverski paketi uglavnom nude mogućnost odabira između različitih životinjskih vrsta, dok se za humanu populaciju najčešće mogu odabrati etnička pripadnost i fiziološki parametri ispitanika poput telesne mase, pola i uzrasta. Nakon odabira ispitivane populacije, ostali fiziološki parametri se obično automatski očitavaju (*default* vrednosti koje su deo programskog paketa) ili izračunavaju (jednačine za konverziju su deo programskog

paketa), ali se mogu i menjati (npr. protok krvi kroz tkivo, ekspresija transportera). Baze podataka koje su već integrisane u softverski paket, kao što je *PEAR Physiology*[™] (engl. *Population Estimates for Age-Related (PEAR) Physiology*) programa GastroPlus[™], generisane su na osnovu literaturnih podataka o prosečnim vrednostima fizioloških parametara odabrane populacije. Dodatno, PBPK modelom se mogu simulirati uslovi određenih patofizioloških stanja koja utiču na ADME leka, kao što su oboljenja bubrega ili jetre. Poslednjih godina, nova saznanja u vezi fiziologije posebnih populacija, kao što je pedijatrijska, ili stanja kao što je trudnoća, doprinela su bržem razvoju softvera (modula, softverskih dodataka) i proširenju softverskih baza podataka sa prosečnim vrednostima fizioloških parametara namenjenih PBPK modelovanju za tzv. posebne populacije (pedijatrijska populacija, gerijatrijska populacija, trudnice).

Pored lek-specifičnih i sistem-specifičnih podataka, za primenu PBPK modela neophodno je uneti odabrane podatke koji se odnose na karakteristike ispitivane formulacije (npr. profil brzine rastvaranja lekovite supstance iz farmaceutskog preparata, farmaceutski oblik, veličina čestica, gustina čestica), dozu i režim doziranja leka (npr. vreme trajanja infuzije, zapremina tečnosti uzeta sa lekom za peroralnu primenu, primena leka u stanju „na gladno” ili u stanju sitosti).

Tačnost i pouzdanost predviđanja na osnovu izgrađenog PBPK modela proverava se validacijom. Postupak validacije PBPK modela podrazumeva poređenje simuliranih vrednosti sa rezultatima dobijenim u *in vivo* studiji (klinička ispitivanja), najbolje na ispitanicima istih demografskih karakteristika (pol, uzrast, telesna masa, etnička pripadnost). Najčešće se poredi profili koncentracije leka u plazmi tokom vremena i farmakokinetički parametri, kao što su maksimalna koncentracija leka u plazmi (C_{max}), vreme postizanja C_{max} (t_{max}) i vrednosti „površine ispod krive” (*PIK*). Takođe, mogu se porediti predviđeni i *in vivo* profili koncentracije leka u drugom tkivu, ukoliko su dostupni odgovarajući klinički podaci, ili profili koncentracije metabolita u plazmi ili urinu. Slaganje između simuliranog/predviđenog ponašanja leka u organizmu i rezultata dobijenih u kliničkim ispitivanjima zavisi od kvaliteta i dostupnosti ulaznih parametara modela. Poređenjem vrednosti dobijenih simulacijom sa *in vivo* vrednostima, mogu se evaluirati ulazni parametri, a mogu se evaluirati i metode kojima su generisani ulazni podaci. Tako se npr. može proceniti/preispitati biorelevantnost odabranih uslova ispitivanja brzine rastvaranja lekovite supstance, izbor životinjske vrste u pretkliničkim ispitivanjima, metode za ekstrapolaciju podataka *in vitro* ispitivanja metabolizma ili permeabilnosti lekovite supstance itd. Evaluacija može ukazati da je određene pretpostavke/parametre potrebno korigovati, odnosno, optimizovati (npr. ekspresija enzima koji su uključeni u presistemski metabolizam), kako bi se rezultati simulacije što bolje slagali sa vrednostima dobijenim u *in vivo* studiji. Optimizacija ulaznih parametara treba da bude naučno opravdana (npr. parametar sa velikom varijabilnošću, pretpostavljena vrednost parametra je nepouzdana usled nedostatka validnih podataka) i uvek u granicama koje su realne za odabrani fiziološki sistem. Parametri PBPK modela se mogu optimizovati i na osnovu rezultata analize osetljivosti izlaznih parametara na promene u vrednostima ulaznih faktora (engl. *Parameter Sensitivity Analysis*, PSA). Pored optimizacije PBPK modela, primena PSA je značajna u svim postupcima kada je potrebno utvrditi da li i u kojoj meri promene vrednosti određenog ulaznog faktora utiču na vrednosti izlaznih parametara. U tom smislu, PSA se može primeniti u optimizaciji formulacije farmaceutskog preparata, za određivanje specifikacija i graničnih vrednosti ulaznih parametara, može doprineti analizi rizika i unaprediti razvoj farmaceutskog preparata. Takođe, moguće je ispitati osetljivost modela na fiziološke i patofiziološke promene u ispitivanoj populaciji.

Uz pomoć PBPK modela mogu se predvideti ADME karakteristike lekovitih supstanci u različitim farmaceutskim oblicima i za različite puteve primene. Međutim, najveću primenu PBPK modelovanje ima u ispitivanju lekova za peroralnu primenu. Ukoliko se validirani PBPK model modifikuje, npr. za drugi put primene leka, govori se o proširenju PBPK modela. Tako se lek-specifični PBPK model za peroralni put primene, najčešće dobija proširenjem modela za i.v. primenu leka. Validirani PBPK model za i.v. put primene omogućava procenu/predviđanje raspodele i eliminacije leka. Proširenjem na peroralni put primene leka, u model se uključuju i brojni faktori/parametri koji utiču na apsorpciju leka.

Ukoliko izgrađeni PBPK model treba proširiti na drugu populaciju (npr. na pacijente obolele od bubrežne insuficijencije ili ciroze jetre, ukoliko je model validiran na zdravim dobrovoljcima) ili subpopulaciju (npr. različite pedijatrijske grupe), neophodno je izvršiti ekstrapolaciju lek-specifičnog PBPK modela, odnosno izmeniti (modifikovati) ulazne parametre PBPK modela koji opisuju karakteristike ciljne populacije (sistem-specifični parametri) (Jones i Rowland-Yeo, 2013; Maharaj i Edginton, 2014).

Uopšteno, primenom PBPK modelovanja i simulacija mogu se predvideti farmakokinetički parametri leka i proceniti:

- uticaji formulacije na ADME leka
- optimalni režim doziranja
- doza leka u kliničkom ispitivanju (npr. prvo ispitivanje na ljudima engl. *first-in-human* ili prvo kliničko ispitivanje na deci određenog uzrasta)
- uticaj interakcije lekova
- izloženost ciljnog organa/tkiva leku
- uticaji patofizioloških promena na ADME leka
- uticaji hrane na apsorpciju lekovite supstance
- biorelevantnost *in vitro* ispitivanja brzine rastvaranja lekovite supstance.

Dodatno, PBPK modelovanje i simulacije se mogu primeniti kao podrška zahtevu za *biowaiver*, za uspostavljanje *in vitro-in vivo* korelacije (IVIVK), sprovođenje virtuelnih studija biološke raspoloživosti i biološke ekvivalencije, kao i za analizu rizika i identifikovanje kritičnih parametara koji utiču na vrednosti izlaznih parametara (npr. obim i brzinu apsorpcije lekovite supstance).

Značaj primene PBPK modela u razvoju lekova prepoznale su i regulatorne Agencije, poput EMA i Američke uprave za hranu i lekove (engl. *Food and Drug Administration*, FDA), koje poslednjih godina beleže porast zahteva koji sadrže i PBPK modelovanje i simulacije. Prema podacima FDA (Grimstein i sar., 2019; Wang, 2019), najčešća primena PBPK modelovanja i simulacija u zahtevima za odobrenje novog leka, odnosi se na predviđanje lek-lek interakcija (oko 60% od ukupnog broja zahteva sa primenom PBPK modelovanja i simulacija, tokom 2008-2019. godine), dok je sledeća po zastupljenosti primena PBPK modela u razvoju lekova za pedijatrijsku populaciju (15% tokom 2008-2017. i 9% tokom 2018-2019. godine). Treba napomenuti i da je tokom 2019. godine, od ukupnog broja odobrenja za novi lek, izdatih od strane FDA, čak 50% sadržalo PBPK modelovanje i simulacije. EMA takođe beleži da se PBPK modelovanje i simulacije najčešće primenjuju u cilju predviđanja lek-lek interakcija, čak 75% od ukupnog broja zahteva koji uključuju ovakav pristup (Coppola, 2019). Poslednjih godina regulatorna tela su izdala i prve vodiče za industriju, kojima se definišu sadržaj, format i drugi zahtevi u vezi podataka generisanih

primenom PBPK modela, a koji su deo dokumentacije za lek (FDA/CDER, 2018; EMA/CHMP, 2018; FDA/CDER, 2020, Pepin i sar., 2021). EMA u svom vodiču ističe primenu PBPK modela za kvantitativnu procenu lek-lek interakcija, za procenu prve doze u kliničkim ispitivanjima na pedijatrijskoj populaciji i u kliničkim ispitivanjima prve primene leka na ljudima. FDA navodi da se rezultati PBPK modelovanja i simulacija mogu primeniti u okviru bilo koje vrste zahteva (FDA/CDER, 2018), ali u novije vreme se ističe primena u proceni biološke raspoloživosti i biološke ekvivalencije (FDA/CDER, 2020).

Poslednjih godina se intenzivno radi na unapređenju koncepta PBPK modelovanja i simulacija. Naime, jedan od nedostataka PBPK modela jeste nedovoljna osetljivost modela na promene sastava formulacije ili parametara proizvodnje leka. Ulazni parametri PBPK modela poput rastvorljivosti i brzine rastvaranja lekovite supstance, najčešće su dobijeni standardnim metodama *in vitro* ispitivanja leka koje nisu dovoljno biorelevantne, te se na osnovu rezultata ispitivanja često ne mogu predvideti uticaji izmena u formulaciji na ponašanje leka *in vivo* (Kostewicz i sar., 2014; Kaur i sar., 2018). Stoga se ističe da je, zajedno sa razvojem PBPK modela, neophodno raditi na razvoju *in vitro* testova (npr. ispitivanje rastvorljivosti i brzine rastvaranja lekovite supstance), odnosno uslova ispitivanja, kako bi se omogućilo dobijanje biorelevantnih podataka o svojstvima lekovite supstance/farmaceutskog preparata. Neki od termina kojima se označava PBPK modelovanje u svrhe predviđanja biofarmaceutskih svojstava lekovite supstance/preparata jesu tzv. fiziološki zasnovano biofarmaceutsko modelovanje (engl. *physiologically-based biopharmaceutics modeling*, PBBM) ili PBPK analiza/modelovanje za biofarmaceutsku primenu (engl. *PBPK analyses/modeling for biopharmaceutics applications*) (Pepin i sar., 2021). Očekuje se da primena ovakvog pristupa u budućnosti omogući predviđanje uticaja varijacija CMA, CPP ili CQA na ponašanje leka *in vivo*, čime bi se smanjila potreba za studijama biološke ekvivalencije, a na osnovu rezultata virtuelnih studija biološke ekvivalencije bilo bi moguće utvrditi granice tzv. „sigurnog prostora”² (engl. *safe space*) (Pepin i sar., 2021).

1.5.2. Uloga PBPK modelovanja i simulacija u razvoju formulacija za pedijatrijsku populaciju

Za *in silico* modelovanje ADME procesa leka dostupno je više komercijalnih softvera, kao što su GastroPlus[™], Simcyp[®] i PK-Sim[®]. Takođe, neke farmaceutske kompanije imaju softvere za internu upotrebu (*in house*), koji mogu biti izgrađeni uz pomoć odgovarajućih programa za modelovanje kao što su MATLAB[®], STELLA[®] ili MoBi[®] platforma (Kostewicz i sar., 2014). Implementacijom Regulative u EU, proizvođači lekova i regulatorna tela prepoznali su modelovanje i simulacije kao korisno sredstvo u razvoju lekova za pedijatrijsku populaciju, što je dovelo do bržeg razvoja PBPK modela i šire primene modelovanja za predviđanje kliničkih ishoda primene lekova kod dece, razvoja softverske podrške i multidisciplinarnog pristupa ovoj oblasti, te su u okviru komercijalnih softverskih paketa nedavno razvijeni i moduli za pedijatrijski uzrast. U skladu sa ovim trendom, primena PBPK modelovanja u razvoju formulacije farmaceutskih preparata za pedijatrijski uzrast prihvaćena je od strane FDA 2012. godine (Maharaj i Edginton,

² Siguran prostor predstavlja opseg vrednosti *in vitro* parametra ili CQA leka, za koji se očekuje da obezbedi biološki ekvivalentne lekove ukoliko su varijacije unutar datog opsega.

2014), od kada se beleži i povećan broj zahteva za odobrenje leka od strane FDA koji sadrže PBPK modelovanje, kao i povećan broj publikacija na temu PBPK modelovanja za pedijatrijsku populaciju. Pretragom *PubMed* baze podataka prema ključnim rečima „PBPK” i „child”, „pediatric” ili „paediatric”, može se naći 260 radova objavljenih u periodu 2011 – 2021. god. (PubMed, 14. mart 2021), od čega je 187 (više od 70% ukupnog broja) objavljeno u toku poslednjih pet godina.

Primena PBPK modelovanja i simulacija u razvoju lekova za pedijatrijsku populaciju može imati različite ciljeve, kao što su predviđanje ADME leka i koncentracije lekovite supstance u određenom (npr. ciljnom) tkivu ili organu, kod dece različitog uzrasta. Takođe, daljom nadogradnjom PBPK model se može proširiti i na predviđanje efikasnosti, odnosno, relacije između koncentracije leka i terapijskog odgovora. Razvoj takvog modela, PBPK-PD (engl. *physiologically based pharmacokinetic-pharmacodynamic model*), pruža mogućnost ispitivanja uticaja npr. faktora formulacije ili ontogeneze metaboličkih enzima na terapijski ishod kod dece. Međutim, izgradnja PBPK-PD modela podrazumeva poznavanje dodatnih ulaznih parametara, kao što su ekspresija receptora, koncentracija leka na mestu delovanja, signalni putevi, tok bolesti, patofiziološke promene, farmakoterapijski odgovor itd, te je složenost takvog modela poseban izazov (Verscheijden i sar., 2020). Poslednjih godina u razvoju su moduli za primenu PBPK modelovanja u trudnoći koji će omogućiti predviđanje prenatalne ekspozicije leku (u tkivu fetusa), kao i ekspozicije novorođenčeta leku putem majčinog mleka (Liu i Ward, 2019).

Sa regulatornog aspekta, PBPK modelovanje i simulacije za pedijatrijsku populaciju najveću primenu imaju u izboru doze kod dece različitog uzrasta i optimizaciji dizajna kliničkog ispitivanja (EMA/CHMP, 2018; Templeton i sar, 2018; Bi i sar., 2019). Pedijatrijska populacija predstavlja osetljivu grupu pacijenata gde etički i praktični aspekti u kliničkim ispitivanjima predstavljaju poseban izazov. Stoga je potrebno primeniti optimalan dizajn kliničkog ispitivanja koji će omogućiti dobijanje neophodnih podataka o primeni leka na osnovu kojih se mogu doneti naučno zasnovani zaključci, a da broj ispitanika i broj intervencija na ispitanicima u studiji bude što manji (ali dovoljan). PBPK modelovanje je prepoznato kao metoda izbora u utvrđivanju početne doze leka i režima doziranja u kliničkom ispitivanju, posebno za novorođenčad i odojčad, kao i za planiranje režima uzorkovanja tokom kliničkog ispitivanja na ovoj osetljivoj grupi pacijenata (Barrett i sar., 2012). Takođe, simuliranje kliničkog ispitivanja (sprovođenje virtuelne kliničke studije) u pedijatrijskoj populaciji, uključujući i simuliranje lek-lek interakcija, postaje sve značajnija oblast primene PBPK modelovanja, a jedan od ciljeva ovakvog pristupa je i smanjenje neuspešnosti kliničkih ispitivanja sprovedenih kod dece sa 20% (2007-2016. godina) na manje od 10% (Liu i Ward, 2019).

PBPK model za određeni pedijatrijski uzrast najčešće se formira ekstrapolacijom/modifikovanjem prethodno validiranog PBPK modela za odraslu populaciju. Ekstrapolacija osnovnog PBPK modela podrazumeva da se promene samo sistem-specifični podaci, a da lek-specifični podaci ostanu nepromenjeni. Takođe, dozu leka i zapreminu tečnosti sa kojom se uzima lek (peroralni put primene) treba prilagoditi svakom uzrastu, a odabrani farmaceutski oblik se može razlikovati unutar pedijatrijske populacije (npr. granule za decu mlađu od dve godine, tablete za adolescente). Ukoliko se PBPK modelom simulira uticaj hrane na apsorpciju leka, treba uzeti u obzir vrstu, sastav i količinu obroka, kao i učestalost uzimanja obroka, kao dodatne parametre koji se značajno razlikuju unutar pedijatrijske populacije. Smatra se da bi zapremina tečnosti sa kojom se uzima lek, koja se primenjuje kod odraslih ispitanika (250 mL) mogla biti

prihvaćena za adolescente, dok bi 25 mL više odgovaralo uzrastu do dve godine (Abdel-Rahman i sar., 2012). Jedan od načina izračunavanja zapremine tečnosti sa kojom se uzima lek, jeste skaliranje na osnovu telesne mase ili zapremine želuca ispitanika:

$$\text{Zapremina tečnosti uzeta sa lekom (mL)} = \frac{\text{telesna masa ispitanika (kg)}}{70 \text{ kg}} \times 250 \text{ mL} \quad (7)$$

$$\text{Zapremina tečnosti uzeta sa lekom (mL)} = \frac{\text{zapremina želuca ispitanika}}{\text{zapremina želuca odrasle osobe}} \times 250 \text{ mL} \quad (8)$$

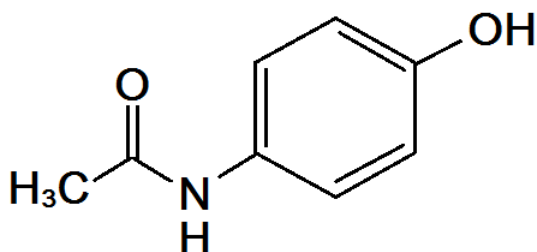
Prema jednačini (7), za dete telesne mase 34 kg (npr. dete od 10 godina), bilo bi potrebno oko 120 mL tečnosti, dok bi za dete od 10 kg (npr. dete od 1 godine) to bilo oko 35 mL. Do sličnih vrednosti se može doći i primenom jednačine (8), uzimajući u obzir da zapremina želuca iznosi 0,56 mL/kg bez obzira na uzrast ispitanika, a da je prosečna vrednost za odrasle osobe oko 40 mL (Batchelor, 2014).

Osnovni preduslov za formiranje PBPK modela za pedijatrijski uzrast su validni sistem-specifični parametri koji treba kvantitativno da opišu anatomske i biohemijske promene koje prate rast i razvoj deteta, značajne za ADME leka. Komercijalno dostupni programski paketi, koji podržavaju PBPK modelovanje za pedijatrijsku populaciju, već sadrže baze podataka sa prosečnim vrednostima ispitanika određenog uzrasta. Pri odabiru odgovarajuće populacije (uzrast, pol, etnička pripadnost), fiziološki parametri kao što su npr. visina, telesna masa, masa pojedinačnih organa, prokrvljenost, minutni volumen srca, automatski se učitaju iz baze, a većina parametara se može korigovati ili dopuniti (npr. vreme zadržavanja leka u određenom segmentu GI trakta). Fiziološki parametri GI trakta (veličina, prokrvljenost, pH vrednost, sastav GI tečnosti, motilitet, transportni i metabolički mehanizmi) kod dece i odraslih, kao i između različitih pedijatrijskih grupa, značajno se razlikuju i mogu uticati na oslobađanje, rastvaranje i apsorpciju lekovite supstance. pH vrednost i brzina pražnjenja želuca se navode kao ključni faktori koji utiču na apsorpciju leka, pri čemu se oba parametra značajno menjaju tokom rasta i razvoja deteta, posebno tokom prvih 6 meseci života (Stillhart i sar., 2020). Zato je veoma važno da ulazne vrednosti koje opisuju fiziološko/patofiziološko stanje GI trakta budu što približnije realnim vrednostima. Literaturni podaci o vrednostima fizioloških parametara kod dece mogu se značajno razlikovati. Broj ispitanika u istraživanjima je uglavnom mali, podaci su često nepotpuni (npr. nedostaje precizan podatak o uzrastu ispitanika), dobijeni kod pacijenata sa određenim patofiziološkim promenama koje mogu uticati na rezultate ispitivanja itd. Takođe, zbog nedovoljno pouzdanih podataka dobijenih u kliničkim studijama, evaluacija PBPK modela za pedijatrijsku populaciju može predstavljati izazov. Velika varijabilnost podataka dobijenih u kliničkim studijama koje se sprovode na deci često je posledica malog broja ispitanika, heterogenosti u okviru iste grupe ispitanika (telesna masa, uzrast, pol), uticaja stanja ispitanika (bolesti) i prateće terapije. Međutim, nova saznanja iz oblasti fiziologije i ontogeneze metaboličkih enzima i transportnih proteina, doprinose kvalitetu vrednosti ulaznih parametara modela, što povećava pouzdanost modela i dobijenih rezultata. Na taj način, primena PBPK modelovanja i simulacija postaje sve značajnija u razvoju lekova, kako za odraslu populaciju, tako i za posebne populacije poput pedijatrijske. Dodatno, uz dovoljno poznavanje (pato)fizioloških parametara, kao i demografskih, genotipskih i fenotipskih karakteristika (parametara) pacijenta, primena PBPK modela može doprineti razvoju personalizovane terapije i

predviđanju terapijskog ishoda kod određenog pacijenta ili grupe pacijenata (Verscheijden i sar., 2020).

1.6. Paracetamol

Paracetamol (acetaminofen) je hemijski N-(4-hidroksi-fenil)-acetamid (slika 6). Paracetamol je lekovita supstanca sa antipiretičkim i analgetičkim dejstvom i slabom antiinflamatornom aktivnošću. Primenu ima u terapiji povišene temperature i slabih do umerenih bolova. Na tržištu je prisutan veliki broj preparata paracetamola za peroralnu primenu, kao i lekova koji sadrže paracetamol u kombinaciji sa drugim lekovitim supstancama (Martindale: The Complete Drug Reference 39, 2017; Nacionalni registar lekova 2020). Tablete sa trenutnim oslobađanjem lekovite supstance, efervescentne tablete, granule i praškovi za oralni rastvor, rastvori, sirupi, suspenzije i supozitorije, predstavljaju najčešće farmaceutske oblike lekova koji sadrže paracetamol. Za decu stariju od 6 godina i odrasle, na tržištu su najviše zastupljene tablete za peroralnu primenu (jačine 500 mg), dok za mlađe uzraste najveći broj registrovanih lekova predstavljaju suspenzije i sirupi (jačine 120 mg/5 mL) (Nacionalni registar lekova 2020).



Slika 6. Strukturna formula paracetamola

Paracetamol je lekovita supstanca izrazito gorkog ukusa, što ga čini pogodnom model supstancom za ispitivanje primene oblaganja topljenjem u formulacijama namenjenim pedijatrijskoj populaciji, gde su od posebne važnosti maskiranje gorkog ukusa i odabir farmaceutskog oblika leka, odnosno, formulacije preparata. Naime, oblaganjem topljenjem može se postići maskiranje ukusa lekovite supstance, a istovremeno se može uticati i na oslobađanje lekovite supstance (može biti trenutno ili produženo, u zavisnosti od udela i sastava obloge). Dodatno, paracetamol karakterišu veoma loše mehaničke karakteristike, koje su od značaja u izradi tableta kompresijom. Naime, zbog izuzetno loše kompresibilnosti i loše protočnosti, tablete paracetamola imaju sklonost ka laminaciji, posebno ako su izrađene direktnom kompresijom (Garr i Rubinstein, 1991., Joiris i sar., 1998; Govedarica i sar., 2011). Različiti pristupi za poboljšanje tabletabilnih svojstava paracetamola opisani su u literaturi, kao što su promena kristalnog oblika, koprecipitacija, koekstruzija, odabir pogodnih pomoćnih supstanci, a prethodna granulacija je često neophodna kako bi se omogućilo efikasno tabletiranje (Fachaux i sar., 1993; Govedarica i sar., 2011). Navedene osobine čine paracetamol pogodnom model supstancom za ispitivanje uticaja lipidne obloge na protočnost i kompresibilnost granula paracetamola i mogućnosti izrade tableta od granula obloženih topljenjem.

Prema biofarmaceutskom sistemu klasifikacije (BSK), paracetamol pripada klasi III zbog visoke rastvorljivosti u fiziološkom rasponu pH vrednosti i niske permeabilnosti. Rezultati *in vivo*

ispitivanja permeabilnosti kroz humano tanko crevo, pokazali su da je P_{eff} paracetamola $4,8 \times 10^{-4}$ cm/s ($P_{eff\ jejunum}$) i $7,1 \times 10^{-4}$ cm/s ($P_{eff\ ileum}$) (Lennernäs, 2014), odnosno $4,0 \times 10^{-4}$ cm/s (proksimalni deo tankog creva) i $7,0 \times 10^{-4}$ cm/s (distalni deo tankog creva) (Gramatte i Richter, 1994). Permeabilnost paracetamola dobijena *in vitro* (Ussing komora), kao i *in situ* na pacovima, iznosi manje od $1,0 \times 10^{-4}$ cm/s, odnosno nalazi se ispod granice za visoko permeabilne lekovite supstance prema BSK ($2-4 \times 10^{-4}$ cm/s (Amidon i sar., 1995)). Međutim, data ispitivanja nisu sprovedena korišćenjem internog standarda (metoprolol) tako da se na osnovu *in vitro* podataka ne može dovoljno precizno utvrditi BSK klasa paracetamola (Kalantzi i sar., 2006). Međutim, podaci iz kliničkih studija ukazuju na to da je biološka raspoloživost paracetamola nakon peroralne primene oko 80% (Ji i sar., 2012), što je prema BSK ispod granične vrednosti za visoko permeabilne lekovite supstance (85% od primenjene doze leka (FDA/CDER, 2017; EMA/CHMP/ICH, 2020)). Prema nekim autorima, paracetamol se svrstava u tzv. granične lekovite supstance između BSK klasa I i III, jer biološka raspoloživost nakon peroralne primene u stanju „na gladno” kod odraslih ispitanika varira između 62 i 89% (Kalantzi i sar., 2006). Nakon peroralne primene, paracetamol se iz GI trakta (proksimalni deo tankog creva) apsorbuje pasivnom difuzijom. Ne podleže presistemskom metabolizmu u enterocitima i nije supstrat za efluks transportere. Smanjena biološka raspoloživost paracetamola posledica je metabolizma prvog prolaza u jetri (oko 20%). Ispitivanje koje su sproveli Rawlins i saradnici (1977) na zdravim odraslim dobrovoljcima, ukazuje da je metabolizam prvog prolaza paracetamola dozno-zavisano (u rasponu doza 500-2000 mg).

Nakon apsorpcije, paracetamol se raspodeljuje kroz sva tkiva/organe i telesne tečnosti, pri čemu je raspodela leka po tkivima/organima ograničena perfuzijom krvi. Paracetamol se metaboliše u jetri do neaktivnih metabolita, a oko 5% se izlučuje nepromenjeno putem bubrega. Vrednosti farmakokinetičkih parametara paracetamola i odgovarajuće reference prikazani su u tabeli 7.

Tabela 7. Farmakokinetički parametri paracetamola

Parametar	Vrednost	Referenca
<i>CL</i>	21,0 L/h (300 mL/h/kg)	Rawlins i sar., 1977; Forrest i sar., 1982; Obach i sar., 2008; Strougo i sar., 2012
	19,7 L/h	Jiang i sar., 2013
	20,0 L/h	Depre i sar., 1992
	19,4 L/h (muškarci) (275 mL/h/kg)	Abernethy i sar., 1982
	13,6 L/h (žene) (248 mL/h/kg)	Abernethy i sar., 1982
	11,8 – 22,3 L/h	Kalantzi i sar., 2006
	<i>V_d</i>	1,00 L/kg
1,27 L/kg		Depre i sar., 1992
1,09 L/kg (muškarci)		Abernethy i sar., 1982
0,95 L/kg (žene)		Abernethy i sar., 1982
0,90 L/kg		Prescott, 1980
0,96 L/kg		Perucca i Richens, 1979
0,69 – 1,36 L/kg		Kalantzi i sar., 2006
<i>t_{1/2}</i>	2,5 h (intravenska (i.v.) primena)	Rawlins i sar., 1977; Perucca i Richens, 1979; Obach i sar., 2008
	3,6 h (i.v. primena)	Depre i sar., 1992
	3,2 h (peroralna primena)	Depre i sar., 1992
	2,5 h (stanje gladovanja)	Souliman i sar., 2006
	2,6 h (stanje sitosti)	Souliman i sar., 2006
	2,0 h	Prescott, 1980
	1,9–2,5 h	Forrest i sar., 1982
	1,9–4,6 h	Kalantzi i sar., 2006
Odnos koncentracije leka u krvi/plazmi	1,20	Prescott, 1980
	1,18	Perucca i Richens, 1979
	1,58	Jiang i sar., 2013
	1,04	Paixao i sar., 2012
	1,00–1,25	Forrest i sar., 1982
	1,11–1,25	Kalantzi i sar., 2006
<i>f_u</i>	0,82	Strougo i sar., 2012
	0,80	Paixao i sar., 2012
	0,88	Villiger i sar., 2016
	0,52	Obach i sar., 2008
	0,75–0,80	Kalantzi i sar., 2006

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Ciljevi ovog rada obuhvataju optimizaciju postupka oblaganja topljenjem u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema laboratorijskog kapaciteta, karakterizaciju i ispitivanje tabletabilnih svojstava obloženih granula paracetamola, karakterizaciju tableta dobijenih komprimovanjem obloženih granula, kao i predviđanje apsorpcije i raspodele paracetamola nakon peroralne primene ispitivanih formulacija (granula obloženih topljenjem i tableta izrađenih od obloženih granula) primenom *in silico* modela za pedijatrijske pacijente različitog uzrasta. Eksperimentalni rad je podeljen u 4 faze, sa sledećim ciljevima:

1. Modifikacija laboratorijskog uređaja tipa fluidizirajućeg sistema za oblaganje supstrata (granula paracetamola dobijenih vlažnom granulacijom) topljenjem i odabir pomoćne supstance za oblaganje.
2. Optimizacija postupka oblaganja granula paracetamola topljenjem primenom eksperimentalnog dizajna i analizom uticaja parametara procesa na karakteristike obloženih granula.
3. Ispitivanje tabletabilnih svojstava granula paracetamola i karakterizacija izrađenih tableta radi procene mogućnosti primene granula obloženih topljenjem kao međuproizvoda u izradi tableta.
4. Identifikacija optimalne doze, farmaceutskog oblika leka (granule obložene topljenjem ili tablete dobijene komprimovanjem obloženih granula) i načina primene preparata paracetamola (bez ili sa hranom) kod pedijatrijskih pacijenata različitog uzrasta primenom fiziološki-zasnovanog *in silico* modelovanja.

3. EKSPERIMENTALNI DEO

3.1. Materijali

Za pripremu granula sa paracetamolom korišćeni su paracetamol (ACROS Organics, Belgija), α -laktoza monohidrat (Sigma-Aldrich, Nemačka), mikrokristalna celuloza (MCC) Emcocel[®] 50 M (JRS Pharma, SAD) i polivinilpirolidon (PVP) K25 (Sigma-Aldrich, Nemačka).

U okviru prve faze eksperimentalnog rada, kao sredstva za oblaganje topljenjem korišćeni su hidrogenizovano palmino ulje (Dynasan[®] P 60), gliceriltripalmitat (Dynasan[®] 116) i gliceriltristearat (Dynasan[®] 118) (poklon od IOI Oleo GmbH, Nemačka), kao i glicerildistearat (tip I) Ph. Eur. (Precirol[®] ATO 5) proizvođača Gattefossé SAS, Francuska koji je korišćen u svim fazama eksperimentalnog rada.

Dynasan[®] P 60 je derivat biljnog ulja i prema sastavu predstavlja smešu mono-, di- i triglicerida. Namenjen je upotrebi u prehrambenoj industriji i ima status GRAS supstance. Dynasan[®] P 60 je beli prašak, T_f 58-62 °C. U farmaceutskoj industriji se koristi najčešće u formulacijama preparata za primenu na koži. Može se koristiti i u formulacijama za peroralni put primene, za maskiranje ukusa i modifikovanje oslobađanja lekovite supstance.

Dynasan[®] 116 pripada grupi triglicerida i prema hemijskom sastavu je estar glicerola i palmitinske kiseline. Dostupan je u vidu belih ili skoro belih, masnih ljuspica, T_f 63-68 °C. Dynasan[®] 116 se može koristiti u formulacijama za peroralni put primene, i to kao lubrikans, sredstvo za formiranje lipidnog matriksa u cilju postizanja modifikovanog oslobađanja lekovite supstance i kao sredstvo za maskiranje ukusa. Koristi se i u formulacijama preparata za primenu na koži. Nakon peroralne primene, u organizmu podleže dejstvu lipaze. Pripada grupi GRAS supstanci.

Dynasan[®] 118 je estar glicerola i stearinske kiseline i takođe pripada grupi triglicerida. Dostupan je u vidu belog, finog praška, T_f 69-73 °C. Najčešće se koristi u formulacijama preparata za peroralni put primene i za primenu na koži. U formulacijama za peroralnu primenu, koristi se kao lubrikans, sredstvo za modifikovanje oslobađanja i maskiranje ukusa lekovite supstance. Ima status GRAS supstance i u organizmu podleže dejstvu lipaze.

Precirol[®] ATO 5 prema Ph. Eur. 10.0 predstavlja glicerildistearat tip I, a može se naći i pod nazivom glicerilpalmitostearat (Rowe i sar., 2006). Precirol[®] ATO 5 se sastoji od mono-, di- i triglicerida palmitinske i stearinske kiseline, pri čemu digliceridi imaju najveći udeo (40-60%), trigliceridi čine 25-35%, a monogliceridi 8-22%. Ukupan udeo palmitinske i stearinske kiseline je najmanje 90% (40-60% palmitinske i 40-60% stearinske kiseline). Precirol[®] ATO 5 je fini prašak (d_{50} 35-65 μ m), bele boje i slabog mirisa, T_f oko 60 °C i HLB vrednosti 2 (Gattefossé SAS, 2012). U farmaciji se koristi u formulacijama preparata za različite puteve primene (peroralnu, vaginalnu, rektalnu, primenu na koži). Glavne funkcionalne uloge Precirol[®]-a ATO 5 su: sredstvo za oblaganje kada je potrebno postići maskiranje ukusa, lubrikans, sredstvo za poboljšanje protočnosti pri punjenju kapsula praškom, sredstvo za formiranje matriksa tableta koji omogućava modifikovano oslobađanje lekovite supstance. Precirol[®] ATO 5 ima status GRAS supstance i može se razgraditi dejstvom lipaze.

3.2. Metode

3.2.1. Priprema granula sa paracetamolom

Granule sa paracetamolom pripremljene su metodom vlažne granulacije, u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema *Mycrolab fluid bed system* (Hüttlin, Nemačka). Parametri vlažne granulacije navedeni su u tabeli 8. Odmereni praškovi paracetamol, α -laktoza monohidrat i MCC su izmešani u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema. Kao sredstvo za vezivanje pripremljen je 10% (*m/m*) vodeni rastvor PVP K25. Rastvor sredstva za vezivanje nanet je metodom raspršivanja odozdo. Nakon utroška ukupne količine rastvora sredstva za vezivanje, granule su sušene do postizanja konstantne izlazne temperature. Kvantitativni i kvalitativni sastav dobijenih granula prikazan je u tabeli 9.

Tabela 8. Parametri vlažne granulacije

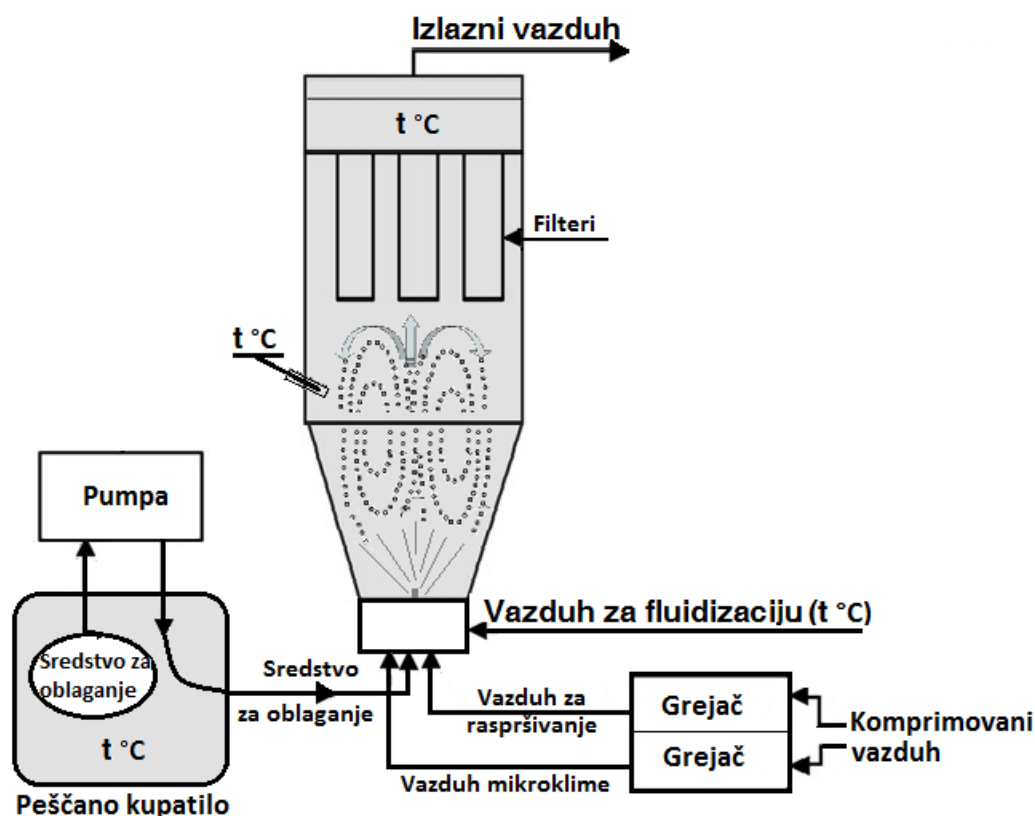
Parametar	Vrednost
Veličina šarže	500 g
Protok vazduha za fluidizaciju	20 m ³ /h
AAP	1,0 bar
MCP	0,5 bar
Temperatura vazduha za fluidizaciju	55 °C
Protok sredstva za vezivanje	10 g/min

Tabela 9. Sastav granula

Supstanca	% (<i>m/m</i>)
Paracetamol	20
α -laktoza monohidrat	65
MCC	10
PVP K25	5

3.2.2. Modifikacija uređaja tipa fluidizirajućeg sistema

Oblaganje topljenjem je sprovedeno u modifikovanom uređaju tipa fluidizirajućeg sistema *Mycrolab fluid bed system* (Hüttlin, Nemačka), metodom raspršivanja odozdo. Za potrebe oblaganja topljenjem, uređaju su dodati spoljašnji elementi neophodni za topljenje i održavanje lipidne supstance za oblaganje u otopljenom stanju tokom procesa oblaganja. Takođe, dodate su i komponente neophodne za sprovođenje rastopa lipidne pomoćne supstance do uređaja. Ključni dodatni elementi modifikovanog uređaja tipa fluidizirajućeg sistema su obuhvatili: pešćano kupatilo PK-350 (VIMS-elektrik, Republika Srbija), peristaltičku pumpu 323S/D (Watson-Marlow, Velika Britanija) i grejač vazduha za raspršivanje i vazduha za mikroklimu (Mašić i sar., 2014). Otopljena lipidna supstanca je od pešćanog kupatila do uređaja transportovana kroz silikonsko crevo. Shema modifikovanog sistema za oblaganje metodom topljenja je prikazana na slici 7.



Slika 7. Shema laboratorijskog uređaja tipa fluidizirajućeg sistema, modifikovanog za potrebe oblaganja topljenjem

3.2.3. Odabir pomoćne supstance za oblaganje i masenog udela obloge

U ovoj fazi eksperimentalnog rada ispitana je mogućnost oblaganja topljenjem sa četiri različite pomoćne supstance (Dynasan[®] P 60, Dynasan[®] 116, Dynasan[®] 118 i Precirol[®] ATO 5), sa ciljem odabira supstance za oblaganje koja će se koristiti u svim narednim fazama eksperimentalnog rada. Takođe, procenjene su prednosti i nedostaci oblaganja topljenjem u modifikovanom uređaju tipa fluidizirajućeg sistema.

Parametri oblaganja topljenjem navedeni su u tabeli 10. Temperatura u komori za oblaganje je bila 15 °C niža u odnosu na T_i pomoćne supstance za oblaganje (utvrđena DSC analizom), a kontrolisana je podešavanjem temperature vazduha za fluidizaciju. Razlika od 15 °C je određena na osnovu preporuka iz literature (Jannin i Cuppok, 2013). Temperature vazduha za raspršivanje i vazduha mikroklimе su takođe podešene prema T_i supstance za oblaganje (oko 60 °C iznad T_i). U svim eksperimentima je korišćen raspršivač prečnika 0,6 mm.

Tabela 10. Parametri procesa oblaganja topljenjem

Parametar	Vrednost
Veličina šarže*	212 g
Protok vazduha za fluidizaciju	25 m ³ /h
AAP	1,2 bar
MCP	0,5 bar
Temperatura u komori (oblaganje)**	43-56 °C
Temperatura vazduha za raspršivanje**	120-130 °C
Temperatura vazduha mikroklima**	120-130 °C
Protok rastopa sredstva za oblaganje	2 g/min
Temperatura u komori (hlađenje)	35 °C
Vreme hlađenja	10 min

*200 g neobloženih granula i 12 g supstance za oblaganje

**Temperatura zavisi od T_t sredstva za oblaganje

Karakterizacija granula obloženih topljenjem u okviru ove faze istraživanja obuhvatila je ispitivanje brzine proticanja granula (g/s), ispitivanje brzine rastvaranja paracetamola, kao i ispitivanje nasipne i tapkane gustine na osnovu kojih su izračunati *Hausner*-ov odnos i indeks kompresibilnosti (*Carr*-ov index). Pomoćne supstance za oblaganje su analizirane metodom DSC kako bi se utvrdili T_t i temperaturni interval topljenja ispitivanih pomoćnih supstanci i ispitalo prisustvo dodatnih pikova na DSC termogramima, koji bi ukazali na zastupljenost različitih polimorfni oblika u polaznoj sirovini. Dodatno, DSC analiza je sprovedena u cilju ispitivanja polimorfni prelaza i detekcije različitih polimorfni oblika Precirol[®]-a ATO 5. Ispitivanja su sprovedena prema metodama opisanim u poglavlju 3.2.5.

Nakon analize dobijenih rezultata, sprovedeni su dodatni eksperimenti oblaganja granula paracetamola topljenjem, sa različitim masenim udelima odabrane pomoćne supstance za oblaganje (Precirol[®] ATO 5). Parametri oblaganja su bili isti kao u prethodnim eksperimentima (tabela 10), izuzev vremena oblaganja koje je zavisilo od upotrebene mase lipidne supstance. Sprovedena su 3 eksperimenta sa 15, 20 i 30 g Precirol[®]-a ATO 5, što je odgovaralo vremenima oblaganja od 7,5, 10 i 15 min. Na osnovu rezultata ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz obloženih granula, utvrđen je najmanji maseni udeo lipidne supstance u formulaciji koji dovodi do produženog oslobađanja lekovite supstance.

3.2.4. Optimizacija procesa oblaganja granula paracetamola topljenjem sa Precirol[®]-om ATO 5

U cilju ispitivanja uticaja tri procesna parametra (protok vazduha za fluidizaciju, AAP i protok sredstva za oblaganje) na karakteristike obloženih granula paracetamola i optimizacije postupka oblaganja granula paracetamola topljenjem sa Precirol[®]-om ATO 5, u modifikovanom uređaju tipa fluidizirajućeg sistema, sprovedeno je 15 eksperimenata prema *Box–Behnken* eksperimentalnom dizajnu. Protok vazduha za fluidizaciju, AAP i protok sredstva za oblaganje varirani su na tri nivoa (tabela 11). Kompletan plan eksperimentalnog dizajna i kodirani nivoi ispitivanih parametara prikazani su u tabeli 12. Eksperimenti su sprovedeni prema nasumičnom (randomizovanom) redosledu. MCP je podešen prema vrednosti AAP i iznosio je 50% AAP, u

skladu sa preporukama proizvođača uređaja (Oystar Hüttlin GmbH, 2004a). Eksperimentalni opseg ispitivanih procesnih parametara je određen u odnosu na rezultate preliminarnih eksperimenata i tehničke specifikacije opreme (Oystar Hüttlin GmbH, 2004b). *Box–Behnken* eksperimentalni dizajn je odabran kako bi se smanjio ukupan broj neophodnih eksperimenata i kako bi se smanjio broj eksperimenata pod uslovima koji bi mogli biti neuspešni (Mason i sar., 2003), a odnose se na kombinaciju više faktora na graničnim nivoima (npr. minimalni AAP i maksimalni protok sredstva za oblaganje). Odabrani eksperimentalni dizajn omogućava procenu koeficijenata prvog i drugog stepena za pojedinačne parametre čiji se efekat ispituje, kao i procenu koeficijenata interakcije parametara. Kao krajnji rezultat, može se identifikovati prostor za dizajn i optimalni procesni uslovi.

Tabela 11. Vrednosti procesnih parametara za *Box–Behnken* eksperimentalni dizajn

Procesni parametar	Simbol	Kodirana oznaka		
		-1	0	+1
Protok vazduha za fluidizaciju (m ³ /h)	X_1	10	15	20
AAP (bar)	X_2	0,8	1,0	1,2
Protok sredstva za oblaganje (g/min)	X_3	2,0	2,5	3,0

Tabela 12. *Box–Behnken* eksperimentalni dizajn

Oznaka eksperimenta	Redni broj eksperimenta	Kodirana oznaka procesnog parametra		
		X_1	X_2	X_3
Exp 1	5	+1	-1	0
Exp 2	10	-1	-1	0
Exp 3	4	+1	+1	0
Exp 4	13	-1	+1	0
Exp 5	2	+1	0	-1
Exp 6	3	-1	0	-1
Exp 7	11	+1	0	+1
Exp 8	8	-1	0	+1
Exp 9	6	0	-1	-1
Exp 10	12	0	+1	-1
Exp 11	15	0	-1	+1
Exp 12	7	0	+1	+1
Exp 13	1	0	0	0
Exp 14	9	0	0	0
Exp 15	14	0	0	0

Ostali parametri procesa oblaganja topljenjem sa Precirol[®]-om ATO, u modifikovanom uređaju tipa fluidizirajućeg sistema, zadržani su na istim vrednostima u svim eksperimentima (tabela 13). U zavisnosti od protoka sredstva za oblaganje, proces oblaganja topljenjem je trajao od 8 do 12,5 min. Nakon oblaganja, temperatura vazduha za fluidizaciju je podešena na 25 °C i fluidizacija je nastavljena sve dok se temperatura vazduha za fluidizaciju nije smanjila na 40-41 °C (oko 5 min). Temperatura unutar komore za oblaganje i izlazna temperatura su zabeležene u tri

vremenske tačke tokom procesa oblaganja: neposredno pre, na polovini procesa i na kraju oblaganja (neposredno pre faze hlađenja).

Tabela 13. Parametri procesa oblaganja topljenjem sa Precirol®-om ATO 5

Parametar	Vrednost
Veličina šarže	275 g*
Temperatura pešćanog kupatila	120 °C
Temperatura vazduha za fluidizaciju	51 °C
Temperatura vazduha za raspršivanje	100 °C
Temperatura vazduha mikrokline	100 °C
Prečnik raspršivača	0,6 mm

*250 g neobloženih granula i 25 g Precirol®-a ATO 5

3.2.5. Ispitivanja granula paracetamola

3.2.5.1. Ispitivanje protočnosti

Nasipna i tapkana gustina

Nasipna i tapkana gustina neobloženih i granula obloženih topljenjem ispitane su u cilju opisivanja njihovih protočnih karakteristika. Razlika između nasipne i tapkane gustine je manja ukoliko su međučestične interakcije u uzorku materijala slabije. Takav materijal će biti bolje protočnosti u odnosu na materijal kod kog je razlika između nasipne i tapkane gustine veća. Za ispitivanje nasipne i tapkane gustine korišćen je uređaj za tapkanje *Stampfvolumeter STAV2003* (J. Engelsmann AG, Nemačka). Uzorak tačno odmerene mase (oko 15 g) je prenet u menzuru od 50 mL i, pomoću skale na menzuri, očitana je zapremina koju zauzima. Nasipna gustina je izračunata kao odnos mase i zapremine uzorka. Tapkana gustina je izračunata kao odnos mase i zapremine uzorka nakon 500 udaraca (do postizanja konstantne zapremine).

Hausner-ov odnos

Hausner-ov odnos je izračunat u cilju procene protočnih karakteristika granula, prema propisu Ph. Eur. 10.0:

$$\text{Hausner – ov odnos} = \text{tapkana gustina} / \text{nasipna gustina} \quad (9)$$

Indeks kompresibilnosti

Indeks kompresibilnosti (*CI*) je, slično *Hausner-ovom* odnosu, izračunat sa ciljem opisivanja protočnih karakteristika granula. Prema Ph. Eur. 10.0, *CI* je parametar koji zavisi od nasipne gustine, veličine, oblika i površine čestica/granula, sadržaja vlage i kohezivnosti, a izračunava se prema jednačini:

$$CI (\%) = 100 \times (\text{tapkana gustina} - \text{nasipna gustina}) / \text{tapkana gustina} \quad (10)$$

U skladu sa klasifikacijom u Ph. Eur. 10.0, na osnovu vrednosti *Hausner*-ovog odnosa i *CI*, protočnost materijala se opisuje kao:

- odlična (*Hausner*-ov odnos 1,00-1,11; *CI* 1-10%)
- dobra (*Hausner*-ov odnos 1,12-1,18; *CI* 11-15%)
- prosečna (*Hausner*-ov odnos 1,19-1,25; *CI* 16-20%)
- prihvatljiva (*Hausner*-ov odnos 1,26-1,34; *CI* 21-25%)
- loša (*Hausner*-ov odnos 1,35-1,45; *CI* 26-31%)
- jako loša (*Hausner*-ov odnos 1,46-1,59; *CI* 32-37%)
- izuzetno loša (*Hausner*-ov odnos > 1,60; *CI* > 38%)

Brzina proticanja kroz otvor

Za ispitivanje brzine proticanja granula kroz otvor, 20 g uzorka je preneto u uređaj za ispitivanje protočnosti *Flow meter GDT* (Erweka GmbH, Nemačka). Izmereno je vreme (s) potrebno da ceo uzorak prođe kroz otvor uređaja. Svaki uzorak je ispitan u triplikatu. Brzina proticanja (g/s) je izračunata kao odnos mase uzorka i srednje vrednosti vremena proticanja.

3.2.5.2. Određivanje sadržaja paracetamola i masenog udela lipidne obloge

Tačno odmereni uzorci granula, koji sadrže oko 20 mg paracetamola, rastvoreni su u 100 mL prečišćene vode, uz primenu ultrazvučnog kupatila *Sonorex Super* (BANDELIN electronic GmbH & Co. KG, Nemačka) u trajanju od 15 min. Dobijeni rastvori su profiltrirani kroz filter papir i razblaženi prečišćenom vodom u odnosu 1:25. Koncentracija paracetamola u dobijenom rastvoru je određena spektrofotometrijski, pomoću UV-Vis spektrofotometra *Evolution 300* (Thermo Scientific, SAD). Merenja su vršena na talasnoj dužini maksimuma apsorpcije paracetamola (244 nm). Svi uzorci su analizirani u triplikatu, a rezultati su prikazani kao srednja vrednost sadržaja paracetamola ± standardna devijacija (*SD*). Na osnovu eksperimentalno određenog sadržaja paracetamola izračunat je maseni udeo lipidne obloge u obloženim granulama (%).

3.2.5.3. *In vitro* ispitivanje brzine rastvaranja paracetamola iz granula

Brzina rastvaranja paracetamola iz neobloženih i obloženih granula, ispitana je u aparaturi sa protočnom ćelijom (engl. *USP Apparatus 4 Flow Through Cell Dissolution Tester*) (Sotax, Švajcarska). Primenjen je zatvoren sistem, sa 900 mL prečišćene vode kao medijuma, zagrejane na 37 °C. Protok medijuma je podešen na 4 mL/min. U ispitivanjima prve faze eksperimentalnog rada (odabir pomoćne supstance za oblaganje i masenog udela obloge), masa uzoraka granula je iznosila 500 mg. Masa uzorka je u narednoj fazi istraživanja (faza eksperimentalnog dizajna) smanjena na 200 mg. Pri ispitivanju uzoraka za odabir pomoćne supstance za oblaganje, u svaku ćeliju je postavljen membranski filter veličina pora 0,45 µm (Watman, Velika Britanija), dok je u analizama svih ostalih uzoraka (odabir masenog udela lipidne obloge i uzoraka dobijenih u okviru eksperimentalnog dizajna), umesto membranskog filtera korišćen filter papir. Svaki uzorak je analiziran u triplikatu. Uzorkovanje je sprovedeno nakon: 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150 i 180 min. Količina rastvorenog paracetamola je određena UV spektrofotometrijski (244 nm) na uređaju *Evolution 300* (Thermo Scientific, SAD). Za izračunavanje procenta rastvorenog

paracetamola korišćena je teorijska vrednost sadržaja paracetamola u obloženim granulama (18,2 mg/g). Na osnovu dobijenih rezultata, izračunate su vrednosti parcijalne i ukupne površine ispod krive brzine rastvaranja paracetamola (*pPIK*_{0-5 min} i *PIK*_{0-180 min}, redom), uz pomoć DDSolver softvera (Zhang i sar., 2010), dodatka Microsoft Excel programa.

3.2.5.4. Termalna analiza

DSC ispitivanja su sprovedena na uređaju *DSC 1 device* (Mettler-Toledo AG, Švajcarska). Analizirani su uzorci pomoćnih supstanci za oblaganje (Dynasan® P 60, Dynasan® 116, Dynasan® 118), uzorci Precirol®-a ATO 5 (netretiran), Precirol®-a ATO 5 prethodno zagrejanog do 120 °C i ohlađenog do sobne temperature (tretiran), neobloženih granula i obloženih granula. Odmereni uzorci (1-5 mg) su ispitani u aluminijumskim nosačima zapremine 50 µl, u struji azota (50 mL/min), pri brzini skeniranja od 10 °C/min.

3.2.5.5. Skenirajuća elektronska mikroskopija

Oblik, morfologija i izgled površine neobloženih i obloženih granula ispitani su skenirajućim elektronskim mikroskopom (SEM) *JEOL JSM-6390LV* (JEOL Ltd., Japan). Uzorci su pripremljeni naparavanjem zlatom pomoću uređaja *BAL-TEC SCD 005 Sputter Coater* (BAL-TEC AG, Lihtenštajn). Mikrografije su snimljene pri naponu od 15 kV.

3.2.5.6. Distribucija veličine granula

Distribucija (raspodela) veličine neobloženih i obloženih granula je određena metodom difrakcije laserske svetlosti, na uređaju *Mastersizer 2000* (Malvern Instruments Ltd., Velika Britanija), u rasponu 0,02-2000 µm. Granule su dispergovane pod pritiskom vazduha od 2 bar, na uređaju *Malvern Scirocco 2000 dry powder feeder* (Malvern Instruments Ltd., Velika Britanija). Rezultati su predstavljeni kao *d*₅₀ (µm) (medijana zapreminske raspodele, 50% čestica u uzorku su manje od te vrednosti), *d*₉₀ (µm) (90% čestica u uzorku su manje od te vrednosti) i span (engl. *span*). Span izražava širinu distribucije (raspodele) veličine čestica/granula između desetog i devedesetog percentila, normalizovanu u odnosu na vrednost *d*₅₀ (µm):

$$\text{span} = (d_{90} - d_{10})/d_{50} \quad (11)$$

3.2.6. Statistička analiza rezultata

Statistička obrada eksperimentalnih rezultata je sprovedena uz pomoć programa *Design-Expert® Software Version 7.0* (Stat-Ease Inc., SAD). Analizom su obuhvaćeni rezultati ispitivanja: distribucije veličine granula, nasipne i tapkane gustine, brzine proticanja (g/s), *Hausner*-ovog odnosa, *CI*, *PIK*_{0-180 min} i *pPIK*_{0-5 min}. Metodologija površine odgovora (engl. *Response Surface Methodology*, RSM) je primenjena kako bi se utvrdili odnosi između ulaznih i izlaznih parametara i definisali matematički modeli za predviđanje vrednosti izlaznih parametara. Regresioni koeficijenti (β_1 , β_2 , β_3) u matematičkom modelu odgovaraju efektima ispitivanih procesnih parametara (X_1 , X_2 , X_3). Sposobnost predviđanja modela utvrđena je na osnovu koeficijenta determinacije/korelacije

(R^2). Analizom varijanse (ANOVA) utvrđena je statistička značajnost uticaja pojedinačnih faktora, odnosno njihovih regresionih koeficijenata ($\beta_1, \beta_2, \beta_3$), regresionih koeficijenata interakcije parametara ($\beta_{12}, \beta_{23}, \beta_{13}$) i regresionih koeficijenata kvadratnog efekta svakog procesnog parametra (β_i^2) (model drugog reda/kvadratni matematički model), na ispitivane karakteristike obloženih granula. Granica nivoa značajnosti je iznosila 5% ($p < 0,05$). Dodatno, na osnovu izračunatih p vrednosti utvrđene su statističke značajnosti dobijenih matematičkih modela i greške predviđanja modela (mera neusaglašenosti, engl. *lack of fit*). Takođe, RSM je primenjena u postupku optimizacije procesa oblaganja topljenjem, odnosno identifikovanja prostora za dizajn.

3.2.7. Ispitivanje tabletabilnih karakteristika granula paracetamola obloženih topljenjem

U cilju ispitivanja tabletabilnih karakteristika granula paracetamola obloženih topljenjem, u ovoj fazi eksperimentalnog rada izrađene su tablete od različitih polaznih materijala, a potom ispitane njihove tabletabilne karakteristike i karakteristike izrađenih tableta. Materijali korišćeni za izradu tableta su: neobložene granule, granule obložene topljenjem, smeša praškova koja odgovara sastavu obloženih granula, paracetamol, α -laktoza monohidrat i MCC. Svi eksperimenti (izrada tableta/komprimata) su sprovedeni na laboratorijskom dinamičkom analizatoru kompakcije (engl. *dynamic powder compaction analyzer*) *Gamlen D series* (Gamlen Tableting Limited, Velika Britanija). Ovaj uređaj može da radi u dva režima: podešavanjem sile kompakcije/kompresije (zadaje se opterećenje u kg) ili podešavanjem debljine tablete/kompakta. U skladu sa opisanim mogućnostima uređaja za tabletiranje, eksperimenti su sprovedeni u dva seta: tabletiranje pri zadatom pritisku kompresije i tabletiranje pri zadatoj debljini tablete. U svim eksperimentima je korišćena matrica prečnika 6 mm, masa uzorka je iznosila 100 mg, brzina kompresije 60 mm/min, a u uzorke materijala za tabletiranje nije dodat lubrikans.

3.2.7.1. Tabletiranje pri zadatom pritisku kompresije

Ispitivani materijali su komprimovani pod opterećenjima: 100, 200, 300, 400 i 500 kg, koji odgovaraju pritiscima kompresije: 35, 69, 104, 139 i 173 MPa. Svi uzorci su analizirani u triplikatu. U svim fazama komprimovanja (kompresija, odvajanje tablete od baze matrice i ejakcija (izbacivanje)) softver uređaja za tabletiranje je beležio podatke na osnovu kojih su generisane krive zavisnosti sile (kompresije, odvajanja, ejakcije) od položaja/pomeranja klipa. Na osnovu dobijenih podataka izračunati su sledeći parametri: ukupan i neto rad kompresije, elastični oporavak, stres pri odvajanju tablete od baze matrice i ejakcioni stres.

3.2.7.2. Tabletiranje pri zadatoj debljini tablete

Ispitivani materijali su komprimovani do zadate debljine tablete od 3 mm. Uzorci su analizirani u triplikatu. Na osnovu softverski generisanih podataka izračunati su pritisak kompresije, ukupan i neto rad kompresije, elastični oporavak, stres pri odvajanju tablete od baze matrice i ejakcioni stres.

3.2.7.3. Ispitivanje debljine tableta

Debljina svake tablete neposredno nakon izbacivanja iz matrice je izmerena nonijusom preciznosti $\pm 0,05$ mm. Uzorci tableta od različitih materijala su analizirani u triplikatu, a vrednosti su predstavljene kao srednja vrednost (mm) i *SD*.

3.2.7.4. Ispitivanje otpornosti tableta na lomljenje (čvrstine tableta) i zatezne čvrstine

Otpornost tableta na lomljenje (čvrstina tableta) izmerena je na uređaju za ispitivanje čvrstine tableta *Erweka TBH 125D* (Erweka GmbH, Nemačka) i izražena je kao srednja vrednost (N) i *SD* tri uzastopna merenja. Uređaj u isto vreme meri i prečnik tablete *d* (mm) i dobijene vrednosti su korišćene za izračunavanje zatezne čvrstine, na osnovu jednačine (12), pri čemu *h* označava debljinu tablete neposredno nakon izbacivanja iz matrice (mm):

$$\text{Zatezna čvrstina (MPa)} = \text{Čvrstina tablete (N)} / d\pi h \quad (12)$$

Dvofaktorskom ANOVA-om je ispitana statistička značajnost uticaja vrste materijala za tabletiranje i pritiska kompresije na čvrstinu (N) i zateznu čvrstinu tableta (MPa).

3.2.7.5. Ispitivanje tabletabilnih karakteristika materijala

Neto rad kompresije je izračunat kao razlika ukupnog rada koji je uložen prilikom kompresije i rada elastične deformacije. Ukupni rad je jednak površini ispod krive zavisnosti sile kompresije od položaja klipa, koja je dobijena u fazi kompresije, i izračunat je metodom trapeza. Rad elastične deformacije predstavlja površinu ispod krive u toku elastičnog oporavka (slika 4a).

Elastični oporavak je izračunat na osnovu sledeće jednačine:

$$\text{Elastični oporavak (\%)} = \frac{\text{rad elastične deformacije}}{\text{ukupan rad prilikom kompresije}} \times 100 \quad (13)$$

Pritisak kompresije je izračunat na osnovu maksimalne postignute sile kompresije *F* (N) i prečnika tablete *d* (mm):

$$\text{Pritisak kompresije (MPa)} = 4F / d^2\pi \quad (14)$$

Stres pri odvajanju tablete od baze matrice je izračunat na osnovu maksimalne sile izmerene u ovoj fazi tabletiranja *D* (N):

$$\text{Stres pri odvajanju tablete od baze matrice (MPa)} = 4D / d^2\pi \quad (15)$$

Ejkcioni stres je izračunat na osnovu maksimalne sile izmerene u fazi ejkcije tablete *P* (N) i debljine tablete *h* (mm):

$$Ejkcioni\ stres\ (MPa) = P/d\pi h \quad (16)$$

Kako je prečnik tablete u svim fazama tabletiranja jednak prečniku matrice, pri izračunavanju parametara na osnovu jednačina (13) – (16) vrednost d je iznosila 6 mm. Svi izračunati parametri su izraženi kao srednja vrednost i SD za tri uzastopna merenja. Dvofaktorska ANOVA je korišćena za ispitivanje statističke značajnosti uticaja vrste materijala za tabletiranje i pritiska kompresije na navedene parametre.

3.2.8. Ispitivanje farmaceutsko-tehnoloških karakteristika tableta

U ovom setu eksperimenata izrađene su tablete od neobloženih granula, obloženih granula (Exp 12, tabela 12) i smeše praškova, komprimovanjem pod pritiskom od 104 MPa. Dodatno, od obloženih granula (Exp 12, tabela 12) su izrađene tablete pri pritiscima kompresije od 69 MPa i 173 MPa. Svi eksperimenti su sprovedeni pri brzini kompresije od 60 mm/min, koristeći matricu prečnika 6 mm.

3.2.8.1. Ujednačenost sadržaja paracetamola

Ujednačenost sadržaja paracetamola (%) je izračunata na osnovu sadržaja paracetamola određenog u pojedinačnim tabletama. Svaka od 10 ispitivanih tableta je stavljena u normalni sud zapremine 100 mL i sud je dopunjen prečišćenom vodom, nakon čega je postavljen u ultrazvučno kupatilo *Sonorex Super* (BANDELIN electronic GmbH & Co. KG, Nemačka) u toku 15 min, kako bi se rastvorila celokupna količina paracetamola iz uzoraka. Nakon toga, uzorci su profiltrirani, razblaženi prečišćenom vodom u odnosu 1:25 i koncentracija paracetamola u dobijenom rastvoru je određena UV spektrofotometrijski (*Evolution 300*, Thermo Scientific, SAD) na talasnoj dužini maksimuma apsorpcije paracetamola (244 nm).

Ista procedura je sprovedena i sa uzorkom materijala za tabletiranje, pri čemu je odmereno oko 100 mg uzorka.

Sadržaj paracetamola u svakoj tableti (mg) je izračunat na osnovu kalibracione krive i izražen je kao procenat (%) u odnosu na *teorijsku* vrednost sadržaja paracetamola (sadržaj u materijalu za tabletiranje). Rezultati su prikazani kao srednja vrednost (%) i SD .

3.2.8.2. Variranje mase

20 tableta je pojedinačno odmereno na analitičkoj vagi *BP201 D* (Sartorius AG, Nemačka). Na osnovu dobijenih rezultata izračunate su srednja vrednost mase tableta (mg), SD i maksimalna devijacija u odnosu na srednju vrednost (%).

3.2.8.3. Friabilnost

Ispitivanje friabilnosti tableta je sprovedeno u skladu sa zahtevima Ph. Eur. 10.0. 20 tableta je otprašeno i izmerena im je ukupna masa (analitička vaga *BP201 D*, Sartorius AG, Nemačka). Tablete su postavljene u uređaj za ispitivanje friabilnosti tableta *Erweka AR 400* (Erweka GmbH,

Nemačka), podešen na brzinu okretanja od 25 o/min. Posle 100 rotacija (4 min), tablete su ponovo otprašene i izmerene. Friabilnost je izražena kao relativni gubitak mase tableta (%):

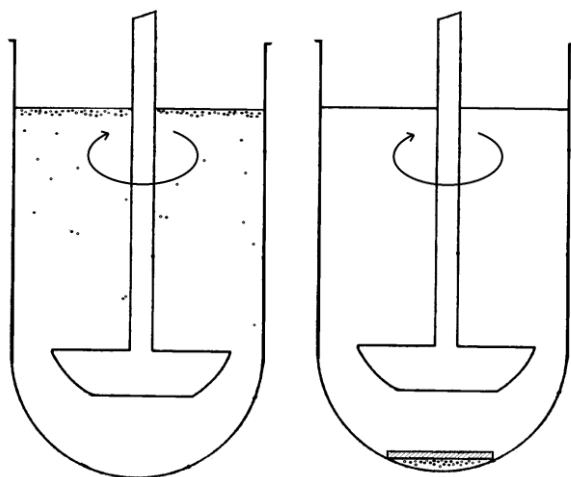
$$\text{Friabilnost (\%)} = \frac{\text{masa tableta pre testa} - \text{masa tableta nakon testa}}{\text{masa tableta pre testa}} \times 100 \quad (17)$$

3.2.8.4. Raspadljivost

Ispitivanje raspadljivosti tableta je sprovedeno u skladu sa zahtevima Ph. Eur. 10.0, u uređaju za ispitivanje raspadljivosti *Erweka ZT 52 Disintegration Tester* (Erweka GmbH, Nemačka). Ispitivane tablete su pojedinačno postavljene u svaki od 6 cilindara sa mrežastim dnom i preko svake tablete je postavljen disk. Kao medijum je korišćeno 800 mL prečišćene vode zagrejane na 37 °C. Izmereno je vreme (min) potrebno za raspadanje svake od 6 tableta. Na osnovu dobijenih rezultata je izračunato srednje vreme raspadanja za 6 uzoraka i *SD*.

3.2.8.5. *In vitro* ispitivanje brzine rastvaranja paracetamola iz tableta

Ispitivanje brzine rastvaranja paracetamola iz tableta je sprovedeno u aparaturi sa lopaticama *Dissolution Tester Erweka DT 70* (Erweka GmbH, Nemačka). Kao medijum za ispitivanje korišćeno je 900 mL prečišćene vode, zagrejane na 37 °C. Primenjene su različite brzine okretanja lopatica: 50, 75, 100 i 150 o/min, kako bi se procenio uticaj hidrodinamičkih uslova na profil brzine rastvaranja paracetamola iz tableta dobijenih komprimovanjem obloženih granula. Tablete dobijene komprimovanjem neobloženih granula i tablete izrađene od smeše praškova su ispitane pri brzini okretanja lopatica od 50 o/min. Dodatno, uzorci nekomprimovanih neobloženih i obloženih granula su ispitani pod istim uslovima (50 o/min), uz dodatak diska sa mrežicom koji je postavljen iznad uzorka kako bi se sprečilo flotiranje i rasipanje granula (slika 8).



Slika 8. Shematski prikaz ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola iz granula, u aparaturi sa lopaticama bez diska (levo) i sa diskom (desno)

Uzorkovanje je sprovedeno u unapred definisanim vremenskim intervalima (nakon 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150 i 180 min). Sadržaj paracetamola je određen na UV-Vis spektrofotometru *Evolution 300* (Thermo Scientific, SAD), na talasnoj dužini apsorpcionog

maksimuma paracetamola (244 nm). Svaki uzorak je analiziran u triplikatu. Na osnovu dobijenih podataka, radi poređenja profila brzine rastvaranja paracetamola iz različitih uzoraka, izračunat je faktor sličnosti (f_2) primenom softvera DDSolver (Zhang i sar., 2010), a prema jednačini:

$$f_2 = 50 \log \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (R_i - T_i)^2 \right]^{-0,5} \times 100 \right\} \quad (18)$$

gde su: n – broj uzorkovanja, R_i i T_i - procenat rastvorene lekovite supstance nakon vremena t u slučaju referentnog i test uzorka. Ukoliko je vrednost $f_2 \geq 50$, smatra se da nema značajne razlike u profilu brzine rastvaranja lekovite supstance između referentnog i test uzorka (EMA/CHMP, 2010; FDA/CDER, 2017).

3.2.9. Razvoj i validacija PBPK modela za predviđanje apsorpcije i raspodele paracetamola

3.2.9.1. Razvoj i validacija PBPK modela za predviđanje apsorpcije i raspodela paracetamola kod odraslih ispitanika

Za razvoj PBPK modela za predviđanje apsorpcije i raspodele paracetamola korišćen je GastroPlus™ programski paket (verzija 9.7.0007, SimulationPlus Inc., SAD) koji se zasniva na primeni ACAT modela GI trakta. Prema ACAT modelu, koji je integrisan u okviru pomenutog programskog paketa, tanko crevo je podeljeno na šest segmenata (duodenum, jejunum 1, jejunum 2, ileum 1, ileum 2, ileum 3), a kolon je podeljen na cekum i ascedentni kolon (SimulationPlus, Inc., 2019). Svaki od devet segmenata GI trakta u ACAT modelu softvera GastroPlus™ podeljen je na četiri podsegmenta, koji se odnose na stanje u kom se nalazi lekovita supstanca (neoslobođena, oslobođena nerastvorena, rastvorena, u enterocitima). ACAT model je povezan sa PBPK modelom sistema tkiva i organa. Za izgradnju paracetamol-specifičnog PBPK modela korišćeni su literaturni podaci, kao i eksperimentalno i *in silico* dobijene vrednosti koje se odnose na fizičko-hemijske i farmakokinetičke karakteristike paracetamola (tabela 14). Model je podešen tako da se raspodela paracetamola u svim tkivima/organima ograniči perfuzijom krvi (engl. *perfusion limited*). Vrednosti K_p su izračunate pomoću Lukacova (Rodgers-Single) matematičkog modela (Lukacova i sar., 2008), a potom optimizovane/skalirane (faktor skaliranja za sva tkiva/organe je isti i iznosi 2) kako bi se softverski predviđene vrednosti V_d i $t_{1/2}$ slagale sa literaturnim podacima navedenim u tabeli 7. Pri tome su kao referentne *in vivo* vrednosti za V_d i $t_{1/2}$ uzete, redom, 1,0 L/kg i 2,5 h (tabela 7). Za procenu greške predviđanja parametara V_d i $t_{1/2}$ korišćen je izraz:

$$PE (\%) = \frac{A-B}{A} \times 100 \quad (19)$$

gde su: PE (%) - greška predviđanja, A - eksperimentalno dobijena vrednost (*in vivo*), B - predviđena/simulirana vrednost.

Tabela 14. Ulazni parametri PBPK modela paracetamola za odraslu populaciju

Parametar	Vrednost	Referenca
Molekulska masa	151,17 g/mol	/
$\log P$	0,46	Poulin i Theil, 2002
pK_a	9,50	Kalantzi i sar., 2006
$P_{eff\ jejunum}$	$4,80 \times 10^{-4}$ cm/s	Lennernäs, 2014
Rastvorljivost u vodi	14,30 mg/mL	Garekani i sar., 2003
Srednje vreme precipitacije	900 s	GastroPlus™ vrednost
Difuzioni koeficijent	$1,11 \times 10^{-5}$ cm ² /s	GastroPlus™ procenjena vrednost (na osnovu molekulske mase)
Gustina čestica leka	1,20 g/mL	GastroPlus™ vrednost
Poluprečnik čestice leka	30 μm	GastroPlus™ vrednost
Odnos koncentracije leka u krvi/plazmi	1,20	Kalantzi i sar., 2006
f_u	80%	Kalantzi i sar., 2006
CL	275,00 mL/h/kg	Abernethy i sar., 1982
C_R	13,75 mL/h/kg	Kalantzi i sar., 2006
Vreme simulacije	24 h	/

U prvom koraku, formiran je PBPK model za odraslu populaciju koji je validiran poređenjem sa farmakokinetičkim podacima dobijenim nakon i.v. primene paracetamola kod odraslih ispitanika (tabela 15). Podaci o doziranju (doza i trajanje infuzije), kao i podaci o telesnoj masi, polu, uzrastu i etničkoj pripadnosti ispitanika su odabrani prema karakteristikama ispitanika u kliničkim ispitivanjima koja su korišćena za validaciju modela (tabela 15). Programski paket GastroPlus™ sadrži *PEAR Physiology*™ bazu podataka sa prosečnim vrednostima fizioloških parametara za američku (zapadnu) populaciju, kao i populaciju Japanaca i Kineza, oba pola i uzrasta od 0 do 85 godina. Ulazni parametri PBPK modela za odraslu populaciju, preuzeti su iz ove baze, bez naknadnih modifikacija.

U sledećem koraku izgrađeni PBPK model proširen je na peroralni put primene, a rezultati simulacija su upoređeni sa vrednostima iz kliničkih studija navedenim u tabeli 15. Farmaceutski oblik, doza i zapremina tečnosti koja se uzima sa lekom podešeni su prema podacima iz referentnih kliničkih ispitivanja. Vreme zadržavanja leka u želucu je zadržano na softverskim (*default*) vrednostima: 0,1 h za efervescentne tablete primenjene u obliku rastvora (*IR: Solution*) u stanju „na gladno”, 0,25 h za tablete sa trenutnim oslobađanjem (*IR: Tablet*) u stanju „na gladno” i 1,23 h za tablete sa trenutnim oslobađanjem u stanju sitosti. Za simulacije u stanju sitosti odabrana je opcija obroka sa povećanim udelom masti (*default: 55%* masti) i niske kalorijske vrednosti (*default: 300* kcal), s obzirom da je u referentnoj studiji (Stillings i sar., 2000) obrok opisan kao *high fat* (kalorijska vrednost obroka nije navedena).

Za procenu greške predviđanja farmakokinetičkih parametara (C_{max} , t_{max} i PIK) korišćena je jednačina (19). Grafički podaci o koncentracijama leka u plazmi u toku vremena, preuzeti iz literature, očitani su pomoću DigIt™ programa (verzija 1.0.4, SimulationPlus Inc., SAD).

Tabela 15. Podaci iz *in vivo* studija korišćeni za validaciju PBPK modela paracetamola za odraslu populaciju

Farmaceutski oblik leka	Doza	Ostali podaci	Referenca
i.v. infuzija	500 mg	Trajanje infuzije 15 min, rastvor koncentracije 4 mg/mL, prosečna telesna masa 73 kg, prosečni uzrast 23 godine, 12 ispitanika, stanje „na gladno”	Depre i sar., 1992
i.v. infuzija	1000 mg	Trajanje infuzije 5 min, rastvor koncentracije 20 mg/mL, prosečna telesna masa 68,5 kg, 6 ispitanika, stanje „na gladno” *	Rawlins i sar., 1977
Efervescentne tablete	1000 mg	Uzeto sa 75 mL vode, prosečni uzrast 30 godina, 6 ispitanika, stanje „na gladno” **	Perucca i Richens, 1979
Tablete sa trenutnim oslobađanjem	500 mg	Prosečna telesna masa 73 kg, prosečni uzrast 23 godine, 12 ispitanika, stanje „na gladno” ***	Depre i sar., 1992
Tablete sa trenutnim oslobađanjem	1000 mg	Prosečna telesna masa 70 kg, prosečni uzrast 25 godina, 16 ispitanika, stanje „na gladno” i stanje sitosti (obrok sa povećanim sadržajem masti)***	Stillings i sar., 2000

*Kada u opisu studije nije naveden podatak o prosečnom uzrastu ispitanika, korišćena je vrednost od 30 godina.

**Kada u opisu studije nije naveden podatak o prosečnoj telesnoj masi ispitanika, korišćena je vrednost od 70 kg.

***Kada u opisu studije nije naveden podatak o zapremini tečnosti uzetoj sa lekom, korišćena je zapremina od 200 mL.

3.2.9.2. Razvoj i validacija PBPK modela za predviđanje apsorpcije i raspodela paracetamola u pedijatrijskoj populaciji

PBPK modeli za pedijatrijsku populaciju izgrađeni su ekstrapolacijom validiranog PBPK modela paracetamola za populaciju odraslih ispitanika. Ekstrapolacija je podrazumevala izmene fizioloških parametara ispitivane populacije (sistem-specifični parametri) i podešavanje CL vrednosti. Za pedijatrijsku populaciju formirano je pet PBPK modela, prema uzrastu ispitanika u skladu sa smernicom ICH E11(R1) (2017) (tabela 16). Vrednosti CL su podešene prema podacima iz literature, a na osnovu uzrasta deteta (Jiang i sar., 2013). Ulazni parametri PBPK modela za različite pedijatrijske uzraste, koji opisuju fiziološke karakteristike ispitanika, odabrani su na osnovu telesne mase i uzrasta ispitanika, korišćenjem softverskih vrednosti (*PEAR Physiology*TM) ili preuzimanjem podataka iz literature. pH vrednosti u različitim segmentima GI trakta, kao i ostali parametri ACAT modela, zadržani su na *default* vrednostima, osim vremena zadržavanja leka u različitim segmentima GI trakta, koje je podešeno na osnovu podataka iz literature (Kaye, 2011) (tabela 17). Vreme zadržavanja leka u želucu u stanju „na gladno” podešeno je u zavisnosti od farmaceutskog oblika leka i uzrasta deteta (tabela 18). S obzirom da je vreme zadržavanja u želucu u literaturi predstavljeno kao opseg vrednosti (Kaye, 2011), za tačne farmaceutske oblike leka korišćena je donja granica opsega, dok je za čvrste farmaceutske oblike leka zadržana *default* vrednost softvera (jednaka *default* vrednosti odrasle osobe). Vrednosti K_p za pojedinačna tkiva/organe dobijene su na isti način kao za PBPK model za odraslu populaciju, a potom dodatno optimizovane množenjem sa faktorom skaliranja: 0,8 za novorođenčad i 0,9 za odojčad i decu. K_p vrednosti PBPK modela za adolescente nisu dodatno optimizovane.

Tabela 16. Pedijatrijske grupe za paracetamol-specifične PBPK modele i *CL* paracetamola

	Pol*	Uzrast	Telesna masa (kg)	<i>CL</i> (L/h)
Novorođenčad	Muški	12 dana	3,3	0,82
Odojčad	Muški	18 nedelja	4,3	1,50
Deca	Muški	2 godine	10,9	3,25
Deca	Ženski	6 godina	23,8	5,95
Adolescenti	Ženski	12 godina	36,5	11,90

*Pol je izabran na osnovu podataka iz referentnih studija koje su korišćene za validaciju modela.

Tabela 17. Srednje vrednosti vremena zadržavanja u različitim segmentima GI trakta u zavisnosti od uzrasta deteta

Segment GI trakta	Srednje vreme zadržavanja (h)			
	Novorođenčad	Odojčad	Deca	Adolescenti
Želudac	1,13	0,68	0,68	0,68
Duodenum	0,32	0,32	0,42	0,42
Jejunum 1	1,16	1,16	1,52	1,52
Jejunum 2	0,92	0,92	1,21	1,21
Ileum 1	0,72	0,72	0,95	0,95
Ileum 2	0,52	0,52	0,68	0,68
Ileum 3	0,36	0,36	0,47	0,47
Cekum	7,01	8,01	6,39	6,39
Ascedentni kolon	20,99	23,99	19,11	19,11

Tabela 18. Vreme zadržavanja leka u želucu kod dece različitog uzrasta u stanju „na gladno”

Uzrast	Vreme zadržavanja leka u želucu (h)	
	Tečni farmaceutski oblik	Čvrsti farmaceutski oblik
Novorođenčad	0,9	/
Odojčad	0,2	/
Deca (2 godine)	0,2	/
Deca (6 godina)	0,2	0,25
Adolescenti	0,2	0,25

Validacija PBPK modela paracetamola za različite pedijatrijske uzraste sprovedena je poređenjem vrednosti farmakokinetičkih parametara dobijenih u simulacijama sa vrednostima iz kliničkih studija i izračunavanjem *PE* (%) na osnovu jednačine (19). Doza i farmaceutski oblik leka odabrani su u skladu sa podacima iz kliničkih ispitivanja (tabela 19). Kliničke studije koje su korišćene za validaciju sprovedene su u stanju „na gladno”. Za simulacije nakon primene oralne suspenzije, u GastroPlus™ programu odabrana je opcija *IR: Suspension*, a za tablete sa trenutnim oslobađanjem lekovite supstance *IR: Tablet*. Precizan podatak o uzrastu ispitanika nije bilo moguće uneti u GastroPlus™ program u obliku koji je naveden u odgovarajućoj referenci (tabela 19), osim za uzraste od 12 dana i 12 godina, te su vrednosti zaokružene na najbliži broj nedelja za odojčad i najbliži broj godina za decu (tabela 16). Za validaciju PBPK modela za novorođenčad, vreme zadržavanja leka u želucu je smanjeno na 0,68 h, u skladu sa preporukama iz literature (Bonner i sar., 2015), s obzirom na to da je u kliničkom ispitivanju za aplikaciju leka korišćena nazogastrična

sonda. Dodatno, za validaciju PBPK modela za odojčad, decu uzrasta 2 godine i adolescente, kao vreme zadržavanja leka u želucu korišćene su vrednosti navedene u tabeli 17. Za validaciju paracetamol-specifičnog PBPK modela za decu uzrasta 6 godina korišćena je vrednost navedena u tabeli 18 za tačne farmaceutske oblike. S obzirom da zapremine tečnosti uzete sa lekom nisu navedene u opisu referentnih studija (tabela 19), u slučaju suspenzija ovaj parametar je izračunat na osnovu primenjene doze (mg) i jačine leka (mg/mL), a u slučaju tableta (adolescenti) korišćena je vrednost od 120 mL koja je izračunata na osnovu prosečne telesne mase ove starosne grupe (Batchelor, 2014).

Tabela 19. Podaci iz *in vivo* studija korišćeni za validaciju PBPK modela paracetamola za pedijatrijsku populaciju

Farmaceutski oblik i jačina leka	Doza (srednja vrednost)	Pedijatrijska grupa (srednje vrednosti uzrasta i telesne mase, broj ispitanika)	Referenca
Oralna suspenzija (120 mg/5 mL)	52,5 mg	novorođenčad (12 dana, 3,3 kg, 3 ispitanika)	Hopkins i sar., 1990
Oralna suspenzija (120 mg/5 mL)	84,3 mg	odojčad (4,2 meseca, 4,3 kg, 5 ispitanika)	Hopkins i sar., 1990
Oralna suspenzija (120 mg/5 mL)	158,0 mg	deca (2,3 godine, 10,9 kg, 5 ispitanika)	Hopkins i sar., 1990
Oralna suspenzija (160 mg/5 mL)	276,2 mg	deca (5,9 godina, 23,8 kg, 16 ispitanika)	Kelley i sar., 1992
Tablete sa trenutnim oslobađanjem	821,2 mg/kg	adolescenti (12 godina*, 36,5 kg, 10 ispitanika)	Romsing i sar., 2001

*ispitanici pripadaju populaciji uzrasta 7-13 godina (obuhvata decu i adolescente)

3.2.9.3. Primena PBPK modela za predviđanje apsorpcije i raspodele paracetamola u pedijatrijskoj populaciji

U ovoj fazi ispitivanja, validirani PBPK modeli za različite pedijatrijske uzraste su primenjeni za predviđanje brzine i obima apsorpcije i raspodele paracetamola nakon peroralne primene obloženih granula i tableta izrađenih od obloženih granula, u stanju „na gladno” i u stanju sitosti, nakon primene jedne doze leka i u slučaju ponovljenog doziranja (u stanju ravnoteže). Simulacije su sprovedene za reprezentativne uzorke formulacija: za obložene granule označene kao Exp 12 (tabela 12) i za tablete izrađene od iste serije obloženih granula pri pritisku kompresije od 104 MPa. Radi poređenja, simulacije su sprovedene i za sledeće formulacije: neobložene granule, tablete izrađene od neobloženih granula i tablete izrađene od smeše praškova. Profili brzine rastvaranja paracetamola iz ispitivanih formulacija, koji su korišćeni kao ulazni podaci za simulacije, dobijeni su ispitivanjem prema metodi opisanoj u poglavlju 3.2.8.5. pri brzini okretanja lopatica od 50 o/min. Za simulacije primene ispitivanih formulacija odabrane su opcije farmaceutskog oblika sa kontrolisanim oslobađanjem (engl. *controlled release*, CR) kako bi se omogućio unos profila *in vitro* brzine rastvaranja paracetamola, kao ulaznih podataka, u GastroPlus™ program. Za predviđanje apsorpcije i raspodele paracetamola nakon primene granula (neobloženih i obloženih) i tableta izrađenih od neobloženih granula korišćena je opcija

CR: Dispersed (simulira ponašanje farmaceutskog oblika leka koji se raspada u GI traktu), a za simulacije primene tableta izrađenih od smeše praškova i tableta izrađenih od obloženih granula korišćena je opcija *CR: Integral Tablet* (simulira ponašanje tableta koje se inicijalno ne raspadaju, već zadržavaju prvobitni oblik ili se postepeno stanjuju, oslobađajući lekovitu supstancu).

Doza paracetamola i zapremina tečnosti uzeta sa lekom, za sve simulacije (primena jedne doze leka i ponovljeno doziranje, u stanju „na gladno” i u stanju sitosti), kod dece naznačenog uzrasta, navedeni su u tabeli 20. Pol, uzrast i telesna masa deteta, za svaku pedijatrijsku grupu, zadržani su na vrednostima navedenim u tabeli 16. Simulacije nakon primene tableta su sprovedene samo za decu uzrasta 6 godina i adolescente, s obzirom da se tablete za peroralnu primenu, prečnika većeg od 5 mm, smatraju neprihvatljivim farmaceutskim oblikom leka za decu mlađu od 6 godina (Zajicek i sar., 2013; Thabet i sar., 2018). U simulacijama primene ispitivanih formulacija sa trenutnim oslobađanjem lekovite supstance (neobložene granule, tablete izrađene od neobloženih granula i tableta izrađene od smeše praškova), doza paracetamola i interval doziranja za svaki pedijatrijski uzrast predstavljaju preporučeni režim doziranja konvencionalnih farmaceutskih oblika leka, propisan u navedenim referencama (tabela 20). U slučaju ponovljenog doziranja, ukupna dnevna doza paracetamola, za sve ispitivane formulacije ne prelazi maksimalne dozvoljene dnevne doze (BNFC 2020-21, Ji i sar., 2012).

Zapremina tečnosti uzeta sa granulama paracetamola odgovara zapremini pojedinačne doze suspenzije jačine 120 mg/5 mL, koliko iznosi jačina većine komercijalnih oralnih suspenzija paracetamola za decu (BNFC 2020-21; Nacionalni registar lekova 2020). Zapremine tečnosti uzete sa tabletama određene su na osnovu telesne mase deteta i predstavljaju vrednosti dobijene prema jednačini (20) (Batchelor, 2014) zaokružene na najbliže „realne” vrednosti u mL:

$$\text{Zapremina tečnosti uzeta sa lekom (mL)} = 0,56 \left(\frac{\text{mL}}{\text{kg}} \right) \times \frac{\text{telesna masa deteta (kg)}}{37,1} \times 250 \quad (20)$$

Vremena zadržavanja leka u želucu u stanju „na gladno” navedena su u tabeli 18, pri čemu je za granule korišćeno vreme zadržavanja tečnog farmaceutskog oblika. Vremena zadržavanja leka u ostalim regionima GI trakta navedena su u tabeli 17.

Dodatni ulazni parametri za simulaciju apsorpcije i raspodele paracetamola kod dece različitog uzrasta u stanju sitosti navedeni su u tabeli 21. Vreme zadržavanja u želucu podešeno je u zavisnosti od vrste (konzistencije) obroka, nezavisno od uzrasta ispitanika (Bonner i sar., 2015). Odgovarajuće opcije za izbor obroka tipičnih za pedijatrijsku populaciju nisu dostupne u GastroPlus™ programskom paketu. Korišćenjem opcije *User defined*, vrsta obroka za svaki uzrast definisana je podešavanjem sadržaja masti, osim za „čvrstu hranu” kada je korišćena *default* vrednost softvera od 30%. Kalorijska vrednost obroka je podešena na prosečnu vrednost za svaki uzrast, integrisanu u okviru softvera. Koncentracija žučnih soli u različitim segmentima GI trakta je zadržana na *default* softverskim vrednostima koje zavise od udela masti u obroku.

Tabela 20. Parametri simulacija apsorpcije i raspodele paracetamola nakon peroralne primene ispitivanih formulacija

	Doza paracetamola/zapremina tečnosti uzeta sa lekom	Interval doziranja	Referenca	Doza paracetamola/zapremina tečnosti uzeta sa lekom	Interval doziranja
	Neobložene granule			Obložene granule	
Novorođenčad	60 mg (prva doza)/2,5 mL 48 mg/2,0 mL	8 h	BNFC 2020-21*	84 mg/3,5 mL	12 h
Odojčad	60 mg/2,5 mL	6 h	BNFC 2020-21	84 mg/3,5 mL	8 h
Deca (2 godine)	180 mg/7,5 mL	6 h	BNFC 2020-21	240 mg/10,0 mL	8 h
Deca (6 godina)	324 mg/13,5 mL	6 h	Ji i sar., 2012	432 mg/18,0 mL	8 h
Adolescenti	540 mg/22,5 mL	6 h	BNFC 2020-21	720 mg/30,0 mL	8 h
	Tablete izrađene od neobloženih granula i tablete izrađene od smeše praškova			Tablete izrađene od obloženih granula	
Deca (6 godina)	325 mg/80 mL	6 h	Ji i sar., 2012	650 mg/80 mL	12 h
Adolescenti	500 mg/120 mL	6 h	BNFC 2020-21	1000 mg/120 mL	12 h

* engl. *British National Formulary for Children 2020-2021* (BNFC 2020-21)

Tabela 21. Ulazni podaci za procenu apsorpcije i raspodele paracetamola kod dece različitog uzrasta u stanju sitosti

	Majčino mleko	Mlečna formula	Tečnost (npr. sok)	Polučvrsta hrana	Čvrsta hrana	Energetska vrednost (kcal)
Sadržaj masti (%)	3,8	3,5	0	5	30	
Vreme zadržavanja u želucu (h)	0,95	1,07	0,75	1,45	1,63	
Novorođenčad	√	√	√	/	/	39,25
Odojčad	√	√	√	√	/	59,05
Deca (2 godine)	/	/	√	√	√	110,35
Deca (6 godina)	/	/	√	√	√	155,09
Adolescenti	/	/	√	√	√	163,18

Uticaj hrane na apsorpciju paracetamola nakon primene ispitivanih formulacija (različitih vrsta granula i tableta) procenjen je izračunavanjem stepena efekta hrane na predviđene farmakokinetičke parametre, na osnovu sledeće jednačine:

$$\text{Stepen efekta hrane} = \frac{\text{vrednost farmakokinetičkog parametra u stanju sitosti}}{\text{vrednost farmakokinetičkog parametra u stanju „na gladno”}} \quad (21)$$

PSA je sprovedena sa ciljem ispitivanja uticaja fizioloških parametara (vreme zadržavanja u želucu, pH i zapremina želuca) na farmakokinetičke parametre paracetamola (t_{max} , C_{max} , PIK i biološka raspoloživost), nakon primene različitih ispitivanih formulacija (neobložene granule, obložene granule, tablete izrađene od neobloženih granula, tablete izrađene od smeše praškova i tablete izrađene od obloženih granula). U tabeli 22 navedeni su intervali variranja ulaznih parametara za različite pedijatrijske grupe.

Tabela 22. Intervali ulaznih parametara za PSA

	Vreme zadržavanja u želucu (h)	pH želuca	Zapremina želuca (mL)
Novorođenčad	0,45–3		1–5
Odojčad			1–5
Deca (2 godine)		0,5–8,0	3–15
Deca (6 godina)	0,10–2		5–30
Adolescenti			10–40

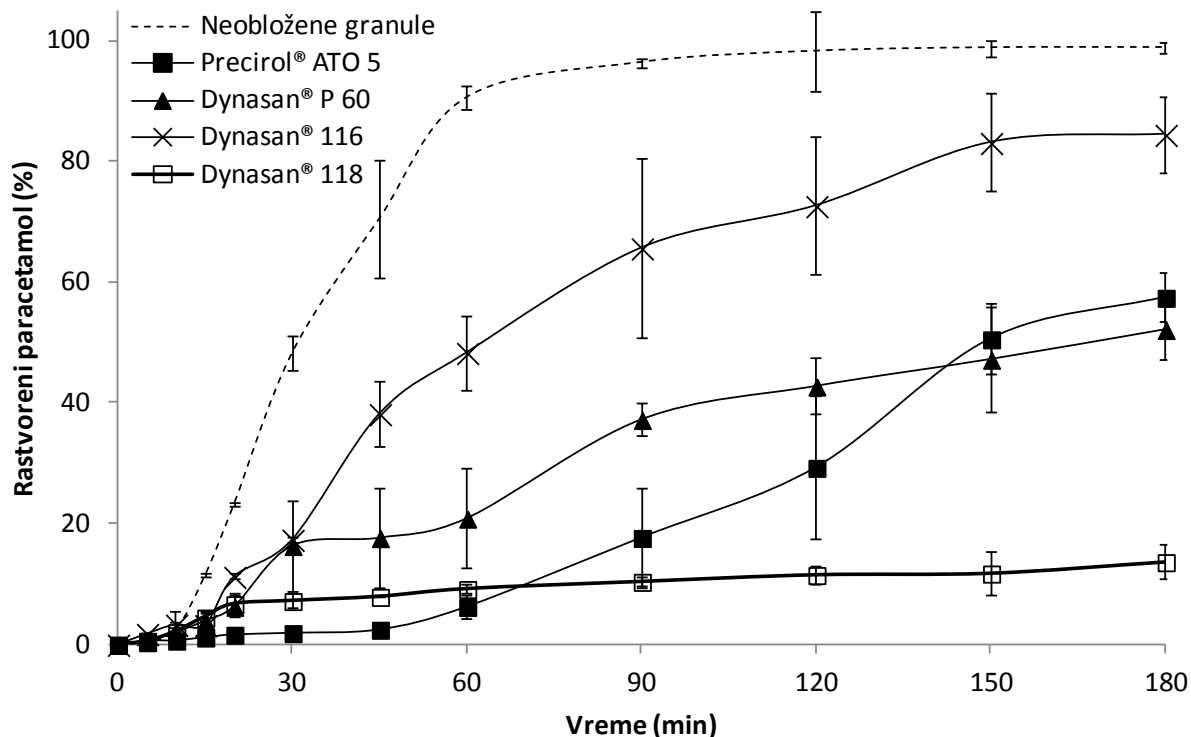
4. REZULTATI I DISKUSIJA

4.1. Oblaganje granula paracetamola topljenjem

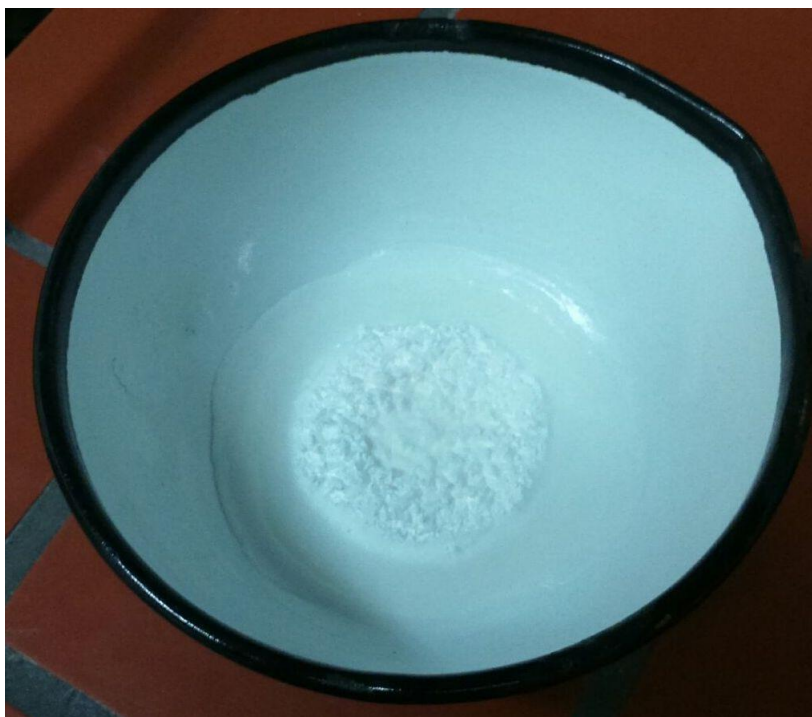
4.1.1. Odabir sredstva (pomoćne supstance) za oblaganje

U prvoj fazi eksperimentalnog rada granule paracetamola su obložene sa četiri različite pomoćne supstance lipidnog karaktera. Pokazano je da se, uz pomoć modifikovanog uređaja tipa fluidizirajućeg sistema, granule paracetamola mogu obložiti metodom topljenja. Elementima koji su dodati za potrebe oblaganja topljenjem uspešno su kontrolisani temperatura i protok rastopljene lipidne supstance, kao i temperature vazduha za raspršivanje i vazduha mikrokline. Analizom svojstava granula obloženih različitim ekscipijensima, procenjena je pogodnost primene izabranih lipidnih supstanci za oblaganje topljenjem i izabrana je supstanca sa željenim karakteristikama, koja je korišćena u svim daljim ispitivanjima. Ispitivanja obloženih granula su obuhvatala ispitivanje brzine rastvaranja paracetamola iz granula, ispitivanje protočnih karakteristika obloženih granula i DSC analizu pomoćnih supstanci (kandidata) za oblaganje topljenjem.

Ispitivanjem brzine rastvaranja paracetamola iz obloženih granula pokazano je produženo oslobađanje paracetamola iz svih granula obloženih topljenjem, u poređenju sa profilom dobijenim ispitivanjem neobloženih granula (slika 9). Poređenjem rezultata dobijenih ispitivanjem granula obloženih Precirol[®]-om ATO i Dynasan[®]-om P 60, uočeno je da se ukupne količine rastvorenog paracetamola nakon 180 min ne razlikuju znatno, ali da je tokom prvih 30 min rastvaranje paracetamola brže iz granula obloženih Dynasan[®]-om P 60. Znatno brže rastvaranje paracetamola tokom celokupnog vremena ispitivanja (180 min) zapaženo je u slučaju oblaganja granula Dynasan[®]-om 116, u odnosu na granule obložene drugim ispitivanim pomoćnim supstancama. Takođe, količina rastvorenog paracetamola na kraju ispitivanja je bila najveća za granule obložene Dynasan[®]-om 116. Ovakav rezultat je donekle neočekivan jer je Dynasan[®] 116 po hemijskom sastavu triglicerid palmitinske kiseline (C16) sa izrazitim hidrofobnim osobinama i višom T_f u odnosu na Precirol[®] ATO i Dynasan[®] P 60 (tabela 23). Međutim, nakon topljenja Dynasan[®]-a 116 u postupku oblaganja granula, i naknadnog očvršćavanja preostale supstance u pateni, uočena je promena u izgledu sirovine (slika 10). Ovakva pojava je najverovatnije posledica polimorfnog prelaza lipidne supstance. Fenomen koji se u literaturi opisuje kao „cvetanje“ (engl. *blooming*), zbog karakterističnog izgleda površine čestica snimljenih SEM-om, predstavlja morfološku promenu koja je posledica polimorfnog prelaza lipidne supstance. Dodatno, uočeno je da takva promena utiče i na brzinu rastvaranja lekovite supstance. Naime, smatra se da *blooming* narušava fizički integritet lipidne strukture, što dovodi do bržeg oslobađanja lekovite supstance (Khan i Craig, 2004). Dynasan[®] 116 podleže navedenoj transformaciji (Kienberger, 2014), a promene lipidne strukture kao posledica *blooming-a* najverovatnije su dovele do bržeg oslobađanja paracetamola iz granula obloženih Dynasan[®]-om 116 u odnosu na druga ispitivana sredstva za oblaganje (slika 9).



Slika 9. Profili brzine rastvaranja paracetamola iz neobloženih granula i granula obloženih topljenjem sa različitim lipidnim pomoćnim supstancama (srednje vrednosti i *SD*)

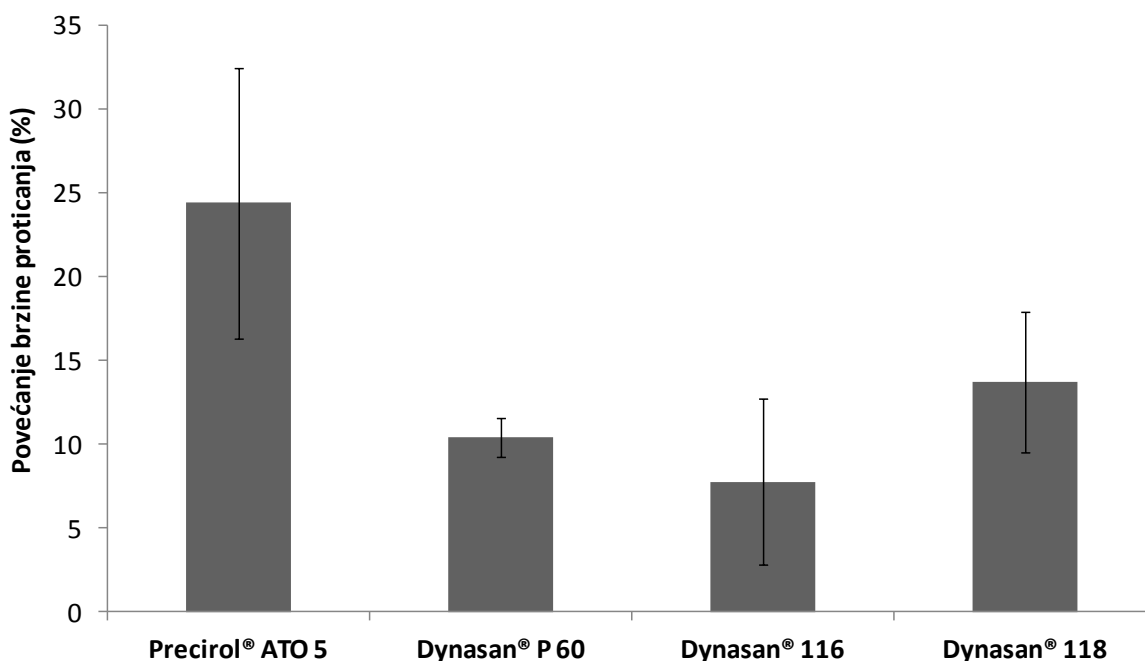


Slika 10. Izgled Dynasan®-a 116 nakon očvršćavanja otopljenog ekscipijensa

Oblaganjem Dynasan®-om 118 postignuto je izrazito sporo oslobađanje paracetamola iz granula (manje od 15% rastvorenog paracetamola za 180 min, sa profilom koji pokazuje plato nakon 90 min). Ovakav rezultat je očekivan, jer Dynasan® 118 predstavlja triglicerid stearinske kiseline (C18) i poseduje najizraženije hidrofobne osobine u odnosu na sve ispitivane lipidne supstance i najvišu T_f . Takođe, treba napomenuti da je oblaganje topljenjem Dynasan®-om 116, a

posebno Dynasan®-om 118, bilo povezano sa većim rizikom od preranog očvršćavanja lipidne supstance (tokom transporta do komore za oblaganje) u odnosu na preostale dve ispitivane supstance, zbog više T_f ovih ekscipijenasa (tabela 23). Ovaj rizik je posebno izražen pri protoku od 2 g/min, tako da je bilo potrebno primeniti dodatne mere opreza i dogrevanja (dopunski grejač) rastopljene lipidne supstance tokom transporta od peščanog kupatila do uređaja za oblaganje.

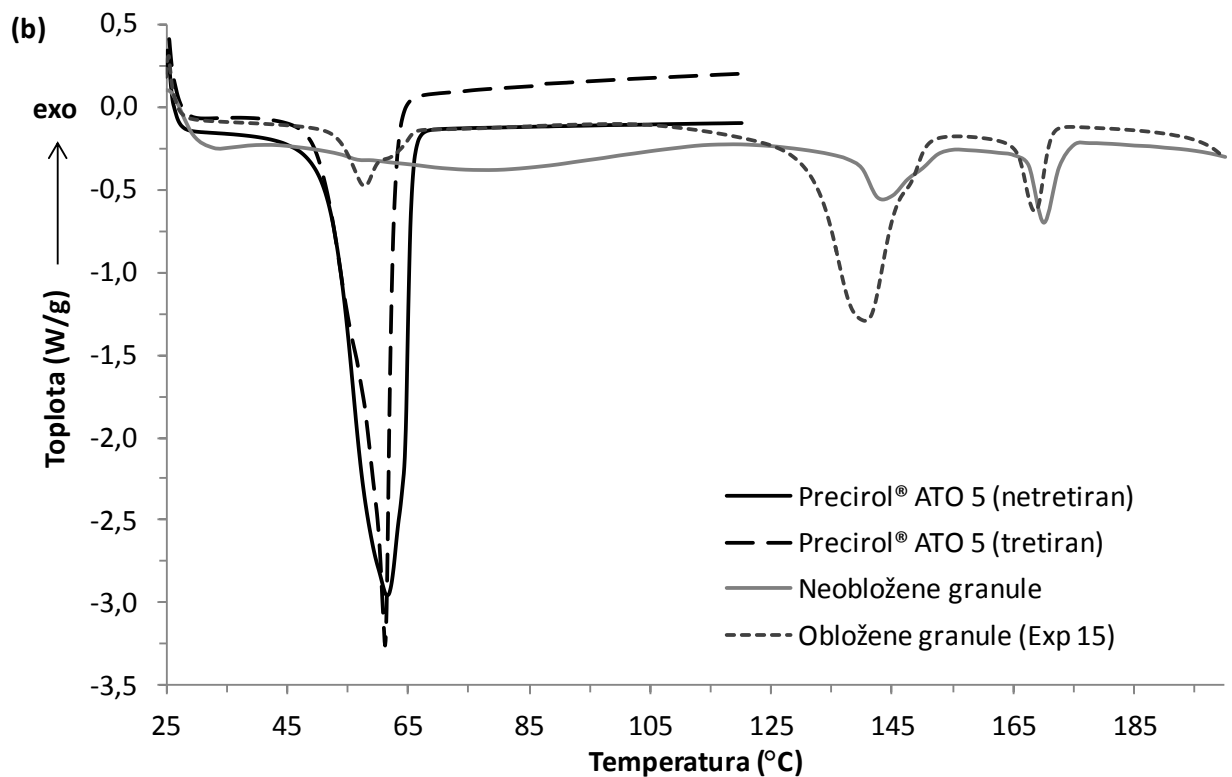
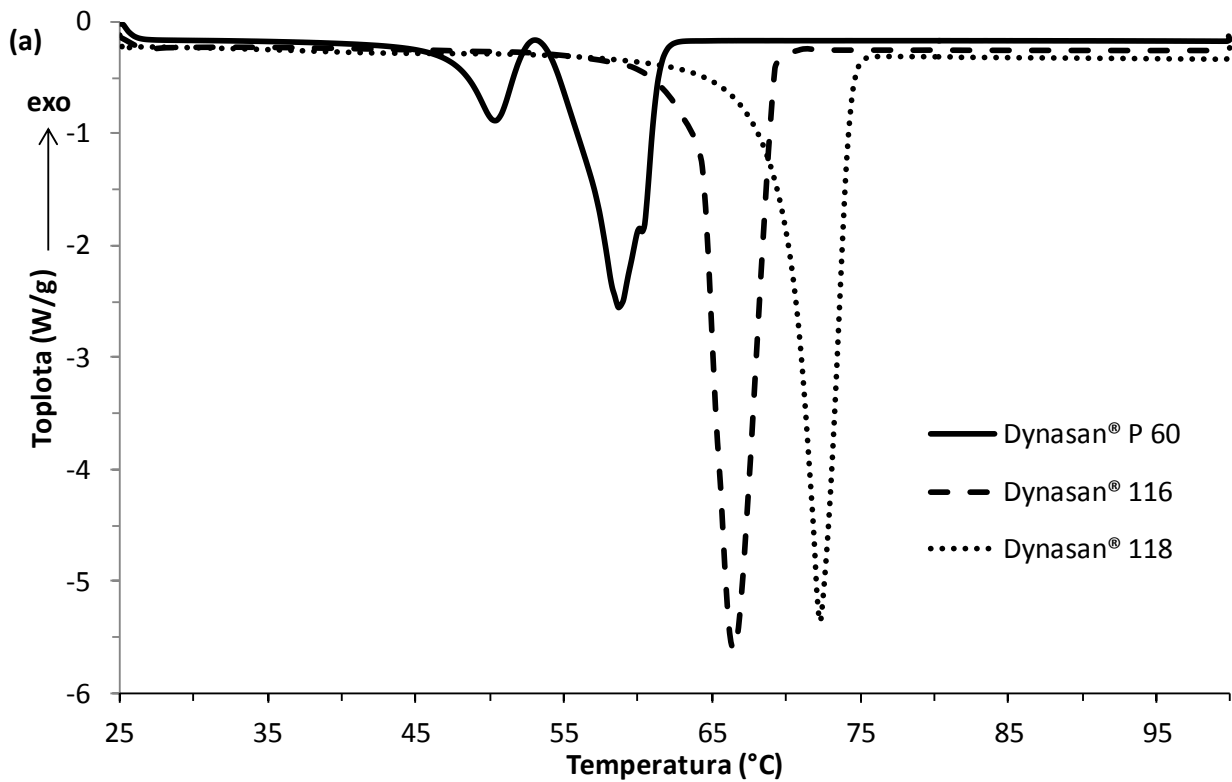
Ispitivanjem brzine proticanja različitih uzoraka granula izmereno je vreme proticanja i izračunato povećanje brzine proticanja obloženih granula u odnosu na neobložene (%). Dobijeni rezultati su prikazani na slici 11. Najveće povećanje (poboljšanje) brzine proticanja granula postignuto je oblaganjem Precirol®-om ATO 5.



Slika 11. Povećanje brzine proticanja granula obloženih topljenjem sa različitim pomoćnim supstancama, u odnosu na brzinu proticanja neobloženih granula

Dodatno, na osnovu izračunatih vrednosti *Hausner*-ovog odnosa i *CI*, protočnost svih uzoraka obloženih granula opisana je u skladu sa klasifikacijom u Ph. Eur. 10.0. Prema dobijenim rezultatima, protočnost granula obloženih Precirol®-om ATO 5 opisana je kao dobra, dok su sve ostale obložene granule pripadale kategoriji materijala sa prosečnim protočnim osobinama. Dobre protočne karakteristike obloženih granula su preduslov za ujednačeno punjenje tvrdih kapsula ili matrica za proizvodnju tableta ukoliko se obložene granule koriste kao međuproizvod u izradi tvrdih kapsula ili tableta. Takođe, od protočnosti granula zavisi ujednačenost punjenja pakovanja granula, odnosno tačnost i ujednačenost doziranja, kada su granule obložene topljenjem konačan farmaceutski oblik leka.

DSC analizom dobijeni su termogrami prikazani na slici 12 i utvrđene su T_f svake pomoćne supstance, kao i temperaturni interval topljenja (tabela 23).



Slika 12. DSC profili: Dynasan® P 60, Dynasan® 116 i Dynasan® 118 (a); Precirol® ATO 5 (netretiran), Precirol® ATO 5 prethodno zagrejan do 120 °C, a zatim ohlađen do sobne temperature (tretiran), neobložene granule i obložene granule (b)

Tabela 23. Temperature topljenja (T_f) i intervali T_f ispitivanih lipidnih pomoćnih supstanci za oblaganje

Sredstvo za oblaganje	T_f (°C)	Interval T_f (°C)
Precirol [®] ATO 5	61	50 – 65
Dynasan [®] P 60	59	53 – 63*
Dynasan [®] 116	66	60 – 71
Dynasan [®] 118	72	65 – 75

*glavni pik

Na termogramu Dynasan[®]-a P 60 uočen je dodatni, manji endotermni pik (slika 12a). Sličan DSC termogram opisali su i Nassu i Gonçalves (1999), analizirajući hidrogenizovano palmino ulje. Autori su konstatovali da pikovi potiču od α i β polimorfni oblika lipidne supstance. Dodatno, u literaturi se navodi da temperaturni interval topljenja i oblik DSC termograma hidrogenizovanih biljnih ulja zavise od sastava (vrsta masnih kiselina), polimorfni oblika i termalne istorije supstance (Kaisersberger, 1989; Khatkar i Devi, 2017). Na osnovu dobijenog termograma i navedenih literaturnih podataka, može se očekivati da Dynasan[®] P 60 pokazuje nestabilnost u smislu polimorfni prelaza, posebno nakon zagrevanja i hlađenja kojima bi bio izložen u postupku oblaganja topljenjem. Dodatno, prisustvo dva endotermna pika proširuje temperaturni interval topljenja/očvršćavanja supstance, što bi tokom oblaganja moglo da uspori formiranje lipidnog omotača i dovede do aglomeracije čestica/granula. Iako je dobijeno produženo oslobađanje paracetamola iz granula obloženih sa Dynasan[®] P 60 (slika 9), na osnovu DSC termograma se može zaključiti da ova pomoćna supstanca nije pogodna za oblaganje topljenjem, pre svega zbog moguće nestabilnosti dobijenog farmaceutskog proizvoda, ali i zbog većeg rizika od slepljivanja i agregacije čestica u fazi oblaganja.

Analizom DSC termograma Precirol[®]-a ATO 5 pokazano je da topljenje počinje na 50 °C, dok je maksimum postignut na 61 °C, a dodatni pikovi nisu uočeni (slika 12b). Međutim, termogram granula obloženih Precirol[®]-om ATO 5 pokazuje promenu u obliku pika/proširenje (engl. *peak shoulder*), koja najverovatnije potiče od Precirol[®]-a ATO 5. Sličan termogram su dobili i Evrard i saradnici (1999) nakon zagrevanja Precirol[®]-a ATO 5 do 80 °C i 10 dana čuvanja na 40 °C. Proširenje pika ili dodatni pik nisu uočeni na termogramu Precirol[®]-a ATO 5 prethodno zagrejanog do 120 °C i ohlađenog do sobne temperature, ali se ne može odbaciti mogućnost da je ovaj fenomen bio „maskiran” širokim glavnim pikom Precirol[®]-a ATO 5 (slika 12b). Stabilnost Precirol[®]-a ATO 5 i njegovi polimorfni oblici opisani su u literaturi (Evrard i sar., 1999; Hamdani i sar., 2003; Kasongo, 2010) gde se navodi prisustvo manjeg endotermnog pika (niže temperature topljenja) na 45-50 °C, koji pripada α polimorfnom obliku (manje stabilnom obliku), i glavnog pika na 50-60 °C, koji potiče od stabilnog β polimorfni oblika. Takođe, primećeno je da se pik α polimorfni oblika može uočiti samo kod sveže otopljenih i ohlađenih uzoraka, a da se stajanjem/čuvanjem uzorka gubi. Na termogramu dobijenom analizom obloženih granula, prikazanom na slici 12b, ne može se uočiti pik koji potiče od α polimorfni oblika, najverovatnije zbog vremenskog intervala koji je protekao između oblaganja i DSC analize (tri nedelje). Glavni pik na dobijenom termogramu pripada stabilnom β polimorfni obliku.

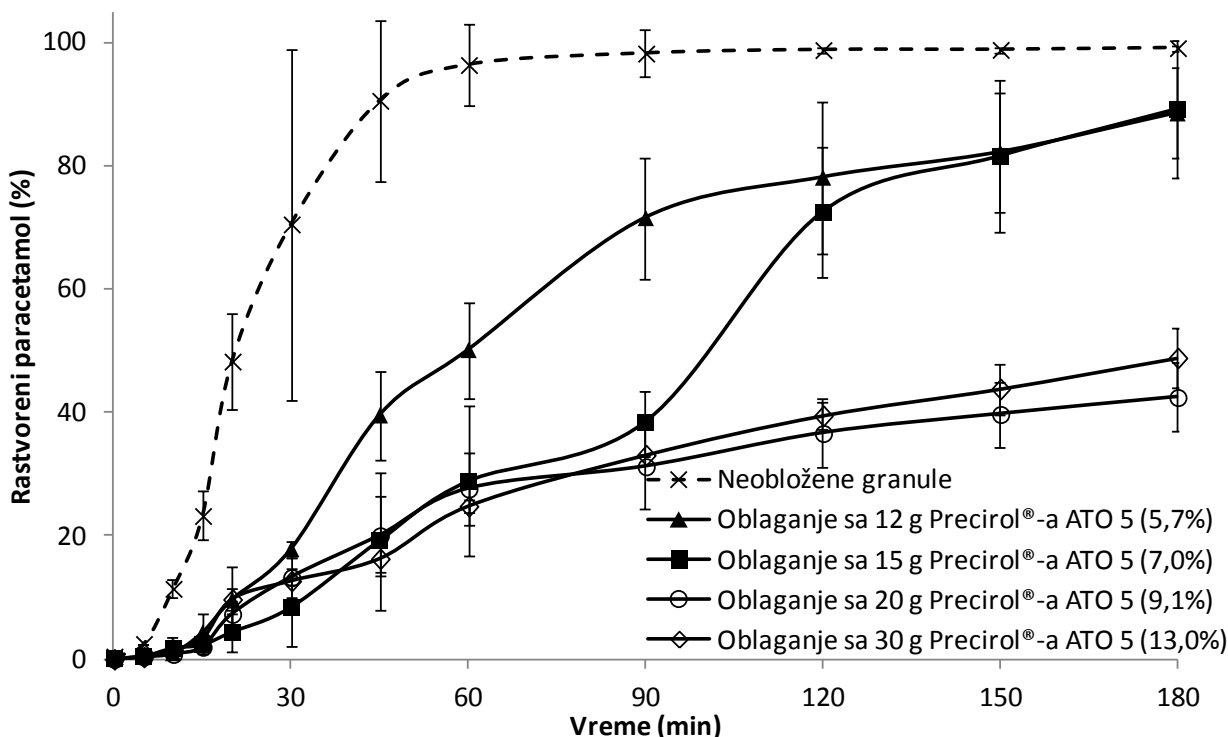
Oblaganje topljenjem svim ispitivanim lipidnim supstancama zahteva dodatna istraživanja u smislu polimorfni prelaza lipidnih pomoćni supstanci i stabilnosti gotovog proizvoda.

Polimorfizam Dynasan[®] 116 i Dynasan[®] 118 je do sada opisan u literaturi (Kienberger, 2014; Hate, 2015; Becker i sar., 2016; Lopes i sar., 2017a), kao i polimorfizam lipidnih supstanci istog hemijskog sastava (Sato i Kuroda, 1987; Kellens i sar., 1990a; Kellens i sar., 1990b; Kellens i sar., 1992; Kellens i Reynaers, 1992; MacNaughtan i sar., 2006). Na termogramima dobijenim analizom Dynasan[®]-a 116 i Dynasan[®]-a 118 nisu uočeni dodatni pikovi (slika 12a), međutim promene u izgledu Dynasan[®]-a 116 koje su ranije opisane (slika 10) ukazuju na polimorfnu nestabilnost ovog ekscipijensa.

Na osnovu analiziranih rezultata ove faze istraživanja, može se zaključiti da su granule paracetamola obložene Precirol[®]-om ATO 5 pokazale najbolju protočnost, u odnosu na ostale ispitivane obložene granule, uz sposobnost produženog oslobađanja lekovite supstance. DSC analizom je pokazano da Dynasan[®] P 60 nije odgovarajuća supstanca za oblaganje topljenjem, a Dynasan[®] 116 je pokazao nestabilnost nakon hlađenja/ponovnog očvršćavanja. Sa druge strane, oblaganje Dynasan[®]-om 118 zahteva visoku temperaturu peščanog kupatila kako bi se sprečilo očvršćavanje lipidne supstance pri prolasku rastopa kroz peristaltičku pumpu i u delu između peščanog kupatila i uređaja za fluidizaciju, pri čemu postoji dodatni rizik od lokalnog pregrevanja lipidne supstance unutar peščanog kupatila i oštećenja silikonskog creva. U skladu sa navedenim, za oblaganje topljenjem u narednim fazama eksperimentalnog rada odabran je Precirol[®] ATO 5.

4.1.2. Odabir masenog udela obloge

Nakon odabira sredstva za oblaganje topljenjem, sprovedeni su eksperimenti sa različitim udelom lipidne obloge, kako bi se utvrdio najmanji udeo lipidne supstance koji dovodi do produženog oslobađanja paracetamola. Naime, iako je oblaganje sa 12 g (5,7% (*m/m*)) lipidne supstance dovelo do produženog oslobađanja paracetamola (slika 9), uočeno je da je nakupljanje obloženih granula na filteru protočne ćelije negativno uticalo na dobijene vrednosti brzine rastvaranja paracetamola, koje su bile niže od realnih. Izmenom vrste filtera (umesto membranskog filtera 0,45 μm, korišćen je filter papir) dobijen je profil koji ukazuje na znatno veću brzinu rastvaranja paracetamola iz granula obloženih sa 12 g (5,7% (*m/m*)) Precirol[®]-a ATO 5 (slika 13). Ovakvo zapažanje je ukazalo na potrebu da se granule oblože većim masenim udelom lipidne obloge od Precirol[®]-a ATO 5, kako bi se efikasno usporila brzina rastvaranja paracetamola. Na slici 13 su prikazani profili brzine rastvaranja paracetamola iz granula obloženih sa različitim masenim udelima Precirol[®]-a ATO 5 (7,0%, 9,1% i 13,0% (*m/m*)).



Slika 13. Profili brzine rastvaranja paracetamola iz granula obloženih topljenjem sa različitim količinama Precirol®-a ATO 5

S obzirom na to da povećanje masenog udela lipidne supstance od 9,1% do 13% nije dodatno umanjilo brzinu rastvaranja paracetamola (slika 13), kao ciljani maseni udeo Precirol®-a ATO 5 u formulaciji izabrana je vrednost od 9,1%, koja je korišćena u svim daljnim eksperimentima.

4.1.3. Optimizacija postupka oblaganja topljenjem u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema

Za ispitivanje uticaja parametara procesa oblaganja topljenjem u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema na karakteristike dobijenih granula paracetamola, odabrana su tri procesna parametra: protok vazduha za fluidizaciju, AAP i protok sredstva za oblaganje. Kako na oblaganje topljenjem u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema utiče veliki broj procesnih parametara, parametri i eksperimentalni opseg za svaki parametar su odabrani na osnovu rezultata preliminarnih eksperimenata i u skladu sa tehničkim mogućnostima/specifikacijama opreme. Naime, u okviru preliminarnih eksperimenata utvrđena su i ograničenja ovakvog sistema, pre svega u smislu minimalnog protoka vazduha za fluidizaciju i minimalnog protoka sredstva za oblaganje. Uočena ograničenja su uzeta u obzir pri određivanju opsega eksperimentalnog dizajna.

Preliminarni eksperimenti su pokazali da se značajna količina materijala (granula) gubi kroz donji disk komore uređaja ukoliko je protok vazduha za fluidizaciju $\leq 5 \text{ m}^3/\text{h}$. Uzimajući u obzir i dodatnu činjenicu da protok vazduha za fluidizaciju može varirati u toku izvođenja eksperimenta (oko $\pm 10\%$), u okviru eksperimentalnog dizajna donja granica ovog procesnog parametra je postavljena na vrednost od $10 \text{ m}^3/\text{h}$. Pri navedenom protoku vazduha nije primećen gubitak granula i prinos (izražen u %) dobijen u svim eksperimentima je iznosio 95,9-99,5%.

Opseg AAP je određen prema tehničkim specifikacijama i mogućnostima opreme (uređaja tipa fluidizirajućeg sistema). Preporučeni opseg u postupku konvencionalnog oblaganja, prema

uputstvu proizvođača, je 0,3-1,0 bar, sa tim što se navodi da AAP ne sme biti veći od 1,5 bar. Vrednosti MCP su podešene prema AAP, kao 50% vrednosti AAP (preporuka proizvođača navedena u uputstvu za upotrebu uređaja (Oystar Hüttlin GmbH, 2004a)). S obzirom na to da su granule paracetamola veoma sitne ($d_{50} < 100 \mu\text{m}$; videti poglavlje 4.2), pretpostavlja se da će oblaganje biti uspešnije ukoliko se raspršivanjem postignu što sitnije kapljice sredstva za oblaganje, a to je moguće ostvariti pri uslovima povišenog AAP, kao što je opisano u poglavlju 1.2.2.4. U skladu sa navedenim, za eksperimentalni dizajn je odabran opseg oko gornje granice preporučene vrednosti AAP, ali ispod maksimalne dozvoljene vrednosti.

Najmanji protok sredstva za oblaganje koji je postignut u okviru preliminarnih eksperimenata je bio 2 g/min. Na nižim vrednostima dolazi do očvršćavanja Precirol[®]-a ATO 5, čak i kada je temperatura peščanog kupatila mnogo veća od T_f Precirol[®]-a ATO 5 (npr. 140 °C, što je 80 °C više od T_f datog ekscipijensa). Dodatno, pri protoku sredstva za oblaganje od 4-5 g/min (preliminarni eksperimenti), oblaganje nije bilo uspešno i došlo je do aglomeracije granula, mada treba naglasiti da je mogući uzrok tome i neujednačen protok sredstva za oblaganje do kog dolazi pri datim uslovima. U okviru eksperimentalnog dizajna, protok sredstva za oblaganje od 2 g/min je zadržan kao donja granica ovog parametra, dok je gornja granica postavljena na 3 g/min. Vizuelnim praćenjem proticanja lipidne supstance nisu uočene fluktuacije u protoku, a vreme trajanja oblaganja je bilo u skladu sa predviđenim.

Pored tri navedena parametra procesa, važan parametar oblaganja topljenjem predstavlja i temperatura pod kojom se proces izvodi. Tokom oblaganja topljenjem, temperatura je bila podešena, praćena i kontrolisana na više nivoa: temperatura vazduha za fluidizaciju, temperatura peščanog kupatila, temperature vazduha za raspršivanje i vazduha mikroklimе. Dodatno, praćena je temperatura unutar komore za oblaganje, kao i temperatura izlaznog vazduha. Za uspešno oblaganje topljenjem, temperatura vazduha za fluidizaciju treba da bude dovoljno visoka kako bi se lipidna kapljica pri sudaru sa čvrstom česticom (granulom) raširila po površini čestice, a potom očvrstela i to pre sudara sa drugom česticom ili zidom uređaja. Ovaj zahtev je posebno važan kada je količina obloge (%) relativno mala (defekti obloge se teže pokrivaju sa manjom količinom sredstva za oblaganje). Odabrana količina lipidne supstance za oblaganje u ovom istraživanju je nekoliko puta manja u odnosu na neke ranije studije (Jozwiakowski i sar., 1990; Sinchaipanid i sar., 2004; Kulah i Kaya, 2011; Hate, 2015; Becker i sar., 2016; Lopes i sar., 2016), tako da je bilo neophodno održavati temperaturu unutar komore dovoljno visokom kako bi se formirao uniformni lipidni omotač. Sa druge strane, previsoka temperatura unutar komore za oblaganje će dovesti do aglomeracije, slepljivanja granula i lipidne supstance za površine unutar uređaja (pre svega za donji disk i deo oko raspršivača). Naime, ulazni vazduh direktno zagreva metalni disk na dnu komore, što pri povišenim temperaturama može dovesti do slepljivanja materijala za disk i ometanja fluidizacije. Tokom preliminarnih eksperimenata je utvrđeno da ulazni vazduh zagrejan na 51 °C neće dovesti do ponovnog otapanja lipidne supstance i nakupljanja/lepljenja mase oko raspršivača i za dno komore za oblaganje. Temperature veće od 51 °C su u nekim eksperimentima dovele do manjeg nakupljanja slepljenog materijala oko raspršivača, što nije dovelo do značajnijih gubitaka tokom oblaganja. Kako uređaj kontroliše temperaturu vazduha u rasponu $\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, vrednost od 51 °C je uzeta kao gornja granica i odabrana temperatura ulaznog vazduha tokom svih narednih eksperimenata. Tokom procesa oblaganja postignute su sledeće temperature unutar komore za oblaganje:

- $47,7 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ neposredno pre početka oblaganja

- $48,2 \pm 1,2$ °C tokom oblaganja (polovina ukupnog vremena oblaganja)
- $48,6 \pm 1,6$ °C na kraju oblaganja

Temperature izlaznog vazduha, zabeležene u istim vremenskim tačkama su bile:

- $38,1 \pm 1,2$ °C neposredno pre početka oblaganja
- $39,8 \pm 1,3$ °C tokom oblaganja (polovina ukupnog vremena oblaganja)
- $40,6 \pm 1,7$ °C na kraju oblaganja

Iz navedenog se može zaključiti da je kontrola temperature tokom procesa oblaganja bila zadovoljavajuća. Ovo je posebno važno jer temperatura unutar komore, pri kojoj se odvija proces oblaganja, ne zavisi samo od temperature vazduha za fluidizaciju, već i od temperature i protoka vazduha raspršivača. U trenutku kada oblaganje počne, vazduh za atomizaciju i vazduh mikrokline, zagrejani na 100 °C, pod pritiskom ulaze u komoru i dovode do dodatnog povećanja temperature. Količina zagrejanog vazduha raspršivača koja u jedinici vremena ulazi u komoru (protok) srazmerna je pritisku i poprečnom preseku raspršivača. Temperaturu povećava i sredstvo za oblaganje koje se pod pritiskom raspršuje u fine kapljice. Koliko će se temperatura unutar komore dodatno povećati zavisi od temperature vazduha raspršivača i lipidne supstance, od količine lipidne supstance, odnosno trajanja oblaganja, ali i od protoka vazduha raspršivača i geometrije i veličine komore za oblaganje, odnosno specifikacija uređaja. Zato je važno unapred utvrditi optimalnu temperaturu za oblaganje topljenjem koja se, u datom uređaju, može održavati u okviru prihvatljivih granica tokom celog postupka. Takođe, pri opisivanju procesnih uslova oblaganja topljenjem mnogo je važnije pratiti temperaturu unutar komore za oblaganje, nego temperaturu vazduha za fluidizaciju. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da je optimalna temperatura za oblaganje topljenjem Precirol[®]-om ATO 5 bila oko 48 °C. Do istog zaključka, da je upravo temperatura od 48 °C optimalna za oblaganje topljenjem Precirol[®]-om ATO 5, su drugačijim pristupom (na osnovu DSC analize), došli i Morin i Rosiaux (2018) i Rosiaux i saradnici (2018). Naime, pomenuti autori smatraju da je optimalna temperatura za oblaganje topljenjem ona na kojoj je 15% supstance za oblaganje u otopljenom stanju (48 °C za Precirol[®] ATO 5), a da pri višoj temperaturi može doći do slepljivanja i agregacije zbog većeg udela otopljene frakcije lipidne supstance.

Kako bi se sprečilo prevremeno očvršćavanje lipidne supstance, vazduh za raspršivanje i vazduh mikrokline su zagrejani na 100 °C. Otapanje i održavanje lipidne supstance u otopljenom stanju tokom transporta do uređaja, omogućeno je podešavanjem temperature peščanog kupatila na 120 °C. Navedene temperature su u skladu sa preporukama iz literature, gde se navodi da temperatura raspršivača/otopljene supstance za oblaganje treba da bude 40-60 °C iznad njene T_i , ali ne veća od 150 °C (Jannin i Cuppok, 2013). Iz ovoga se može zaključiti da temperature peščanog kupatila i vazduha raspršivanja mogu da se variraju od 100 do 120 °C, kada je za oblaganje topljenjem odabran Precirol[®] ATO 5. Promene temperature peščanog kupatila i vazduha raspršivanja će uticati pre svega na viskozitet otopljene lipidne supstance, a viskozitet ima direktan uticaj na karakteristike formirane lipidne kapljice, kao što je objašnjeno u poglavlju 1.2.2.4. Međutim, imajući u vidu sastav Precirol[®]-a ATO 5, u navedenom opsegu (100-120 °C) se ne može očekivati značajna promena viskoziteta otopljene supstance (prelomna tačka lipidne supstance kao što je Precirol[®] ATO 5 znatno je niža od 100 °C (Wong i sar., 2016)), a posledično ni do promena u osobinama kapljice raspršene lipidne supstance. Na ovaj način se može objasniti i rezultat istraživanja Jozwiakowsk-og i saradnika (1990), koji ukazuje na to da variranje temperature

otopljenog ekscipijensa (delimično hidrogenizovano ulje semena pamuka, T_f 64 °C) i vazduha za raspršivanje u opsegu 80-120 °C nije imalo značajan uticaj na ispitane karakteristike obloženih granula.

4.2. Funkcionalne karakteristike obloženih granula

Rezultati ispitivanja funkcionalnih karakteristika granula paracetamola obloženih topljenjem prikazani su u tabeli 24. Radi poređenja, sva ispitivanja su sprovedena i sa neobloženim granulama. Analiza rezultata eksperimentalnih ispitivanja sprovedena je primenom RSM i ANOVA-e, a dobijeni rezultati su prikazani u tabeli 25.

Tabela 24. Karakteristike obloženih i neobloženih granula

Oznaka eksperimenta	Udeo obloge (%)	d_{50} (μm) /span	d_{90} (μm)	Nasipna/tapkana gustina (g/mL)	Hausner-ov odnos	CI (%)	Protočnost prema Ph. Eur. 10.0	Brzina proticanja (g/s)
Exp 1	9,59	89,90/1,74	185,84	0,52/0,61	1,17	14,60	<i>Dobra</i>	4,94
Exp 2	9,34	99,25/1,95	228,51	0,48/0,57	1,17	14,29	<i>Dobra</i>	5,18
Exp 3	9,27	87,99/1,84	186,37	0,50/0,59	1,18	15,51	<i>Dobra/prosečna*</i>	5,40
Exp 4	8,92	91,65/1,89	202,47	0,49/0,60	1,22	18,21	<i>Prosečna</i>	4,88
Exp 5	9,36	97,57/1,76	202,94	0,49/0,59	1,20	16,92	<i>Prosečna</i>	5,63
Exp 6	9,02	96,26/1,79	203,61	0,48/0,58	1,19	15,94	<i>Prosečna</i>	5,27
Exp 7	9,01	92,79/1,87	204,16	0,49/0,59	1,20	16,91	<i>Prosečna</i>	5,08
Exp 8	9,34	104,38/2,04	249,11	0,48/0,56	1,17	14,29	<i>Dobra</i>	5,36
Exp 9	8,85	95,57/1,74	199,59	0,50/0,60	1,20	16,82	<i>Prosečna</i>	5,41
Exp 10	9,02	94,97/1,79	200,29	0,50/0,59	1,19	15,76	<i>Prosečna</i>	5,26
Exp 11	9,17	95,24/1,75	200,97	0,48/0,57	1,19	16,14	<i>Prosečna</i>	5,04
Exp 12	9,29	92,41/1,79	193,45	0,49/0,58	1,19	16,15	<i>Prosečna</i>	5,55
Exp 13	9,19	97,69/1,75	203,18	0,48/0,57	1,18	15,58	<i>Dobra/prosečna*</i>	5,05
Exp 14	9,06	95,99/1,79	204,29	0,50/0,60	1,19	15,76	<i>Prosečna</i>	5,06
Exp 15	8,96	97,09/1,85	203,80	0,49/0,58	1,19	15,60	<i>Prosečna</i>	5,06
Neobložene granule	/	83,35/1,97	187,06	0,48/0,57	1,20	16,62	<i>Prosečna</i>	5,18

*granična vrednost

Tabela 25. Koeficijenti regresije i statistička značajnost uticaja ispitivanih parametara na karakteristike obloženih granula

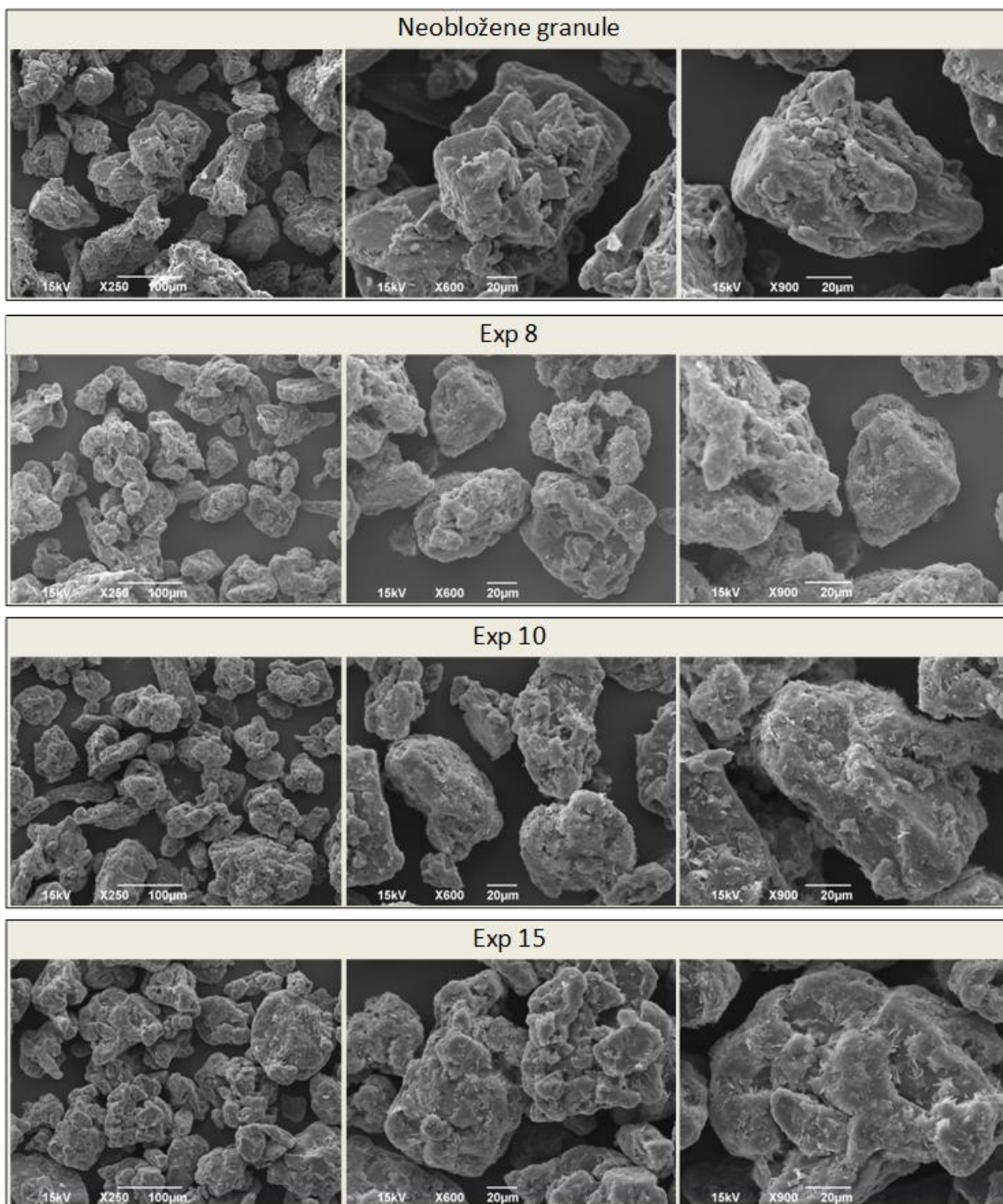
Koeficijenti	d_{50} (μm)	Nasipna gustina (g/mL)	Tapkana gustina (g/mL)	Brzina proticanja (g/s)
β_1	-2,911	0,009*	0,011	0,044**
β_2	-1,617	-0,001**	0,002**	0,064**
β_3	0,056**	-0,003**	-0,006**	-0,068**
β_{12}	1,423**	-	-0,014*	0,190
β_{13}	-3,224	-	0,007**	-0,159
β_{23}	-0,557**	-	0,004**	0,164
β_1^2	-0,760**	-	-	-0,004**
β_2^2	-3,963	-	-	-0,026**
β_3^2	1,589**	-	-	0,209
R^2	0,947	-	0,661	0,907
p -vrednost modela	0,011	-	0,106	0,039
p -vrednost <i>lack of fit</i>	0,182	-	0,817	0,681

$p < 0,05$; * $p = 0,05 - 0,1$; ** $p > 0,1$

4.2.1. Lipidna obloga, morfologija i raspodela veličine granula

Odabrani udeo obloge u svim eksperimentima je iznosio 9,1% (m/m). Sadržaj paracetamola u svim serijama obloženih granula je bio od $94,8 \pm 0,5\%$ do $102,7 \pm 0,2\%$ u odnosu na teorijski sadržaj. Postignuti udeo lipidne obloge u svim sprovedenim eksperimentima je bio u uskim granicama (tabela 24) i približan teorijskoj vrednosti.

Na mikrografijama dobijenim SEM analizom, na površini obloženih granula, u odnosu na neobložene granule, može se uočiti sloj koji potiče od lipidne supstance (slika 14). Međutim, oblik granula se oblaganjem topljenjem nije značajnije promenio. Poređenjem mikrografija granula obloženih pod različitim uslovima procesa (tri različita eksperimenta: Exp 8, Exp 10 i Exp 15) ne uočavaju se značajne razlike. Drugim rečima, promene eksperimentalnih uslova oblaganja topljenjem nisu dovele do uočljivih promena izgleda površine granula ili njihove morfologije. Treba napomenuti da je sličnost u morfologiji obloženih granula takođe posledica veoma malih razlika u masenom udelu lipidne supstance, dobijenom u sprovedenim eksperimentima (tabela 24). Analizom izgleda lipidnog omotača na mikrografijama, može se primetiti da na određenim mestima površina granule nije u potpunosti pokrivena, dok se u pojedinim delovima lipidni omotač sastoji iz više slojeva. Ove nepravilnosti, odnosno nedostaci lipidnog omotača, najverovatnije utiču na razlike u funkcionalnim karakteristikama i brzini oslobađanja lekovite supstance iz granula obloženih pod različitim eksperimentalnim uslovima.



Slika 14. SEM mikrografije neobloženih i obloženih (Exp 8, Exp 10 i Exp 15) granula pod različitim uvećanjima mikroskopa (označeno na pojedinačnim mikrografijama)

Veličina granula (d_{50} , d_{90}) i opseg veličine granula (span) prikazani su u tabeli 24. Oblaganje topljenjem pod izabranim eksperimentalnim uslovima (pre svega se odnosi na maseni udeo obloge), dovelo je do povećanja veličine granula (d_{50}) za približno 15% u odnosu na neobložene granule. Statističkom analizom utvrđeno je da najveći uticaj na vrednost d_{50} imaju protok vazduha za fluidizaciju i AAP (tabela 25). Oba procesna parametra imaju negativan uticaj na vrednost d_{50} , odnosno povećanjem AAP ili protoka vazduha za fluidizaciju, dolazi do smanjenja veličine granula.

Značajan uticaj protoka vazduha za fluidizaciju na veličinu granula se može objasniti mehaničkim stresom kome je izložen čvrsti materijal/supstrat tokom fluidizacije. Povećanje protoka vazduha dovodi do većeg sudaranja, trenja, oštećenja i lomljenja čvrstih čestica koje su u fluidizovanom stanju. Sa druge strane, vrednost ovog parametra ne treba da bude suviše niska, jer smanjenje vrednosti ovog procesnog parametra povećava verovatnoću stvaranja aglomerata. Stoga je u postupku oblaganja topljenjem potrebno optimizovati protok vazduha za fluidizaciju, kako ne bi došlo do aglomeracije čestica.

Negativan uticaj AAP na veličinu granula je već opisan u literaturi (Becker i sar., 2016; Jozwiakowski i sar., 1990). Vrednost AAP pre svega utiče na veličinu lipidne kapljice, odnosno povećanjem AAP smanjuje se veličina kapljice raspršene lipidne supstance i omogućava da lipidna supstanca brže očvrstne u komori za oblaganje, što smanjuje mogućnost stvaranja agregata tokom oblaganja topljenjem. Dodatno, povećanje vrednosti AAP i MCP povećava i brzinu vazduha koji izlazi iz raspršivača (mlaznice), a koji u sudaru sa čvrstim česticama u komori za oblaganje može razbiti eventualno formirane agregate i veće čestice.

Prema dobijenim rezultatima i statističkoj analizi, protok sredstva za oblaganje ima statistički značajan uticaj na d_{50} samo u interakciji sa protokom vazduha za fluidizaciju (β_{13}). Becker i saradnici (2016), kao i Jozwiakowski i saradnici (1990) su ukazali na pozitivan uticaj protoka sredstva za oblaganje na veličinu obloženih čestica i značajnost ovog parametra. Slično kao i AAP, protok sredstva za oblaganje utiče pre svega na karakteristike raspršene lipidne supstance i veličinu kapljice. Pri velikom protoku rastopljene lipidne supstance, formiraju se i veće kapljice koje lakše dovode do aglomeracije čestica i povećanja vrednosti d_{50} (suprotno efektu AAP). Posmatrajući interakciju ovog parametra sa protokom vazduha za fluidizaciju, može se zaključiti da će povećanje protoka lipidne supstance i smanjenje protoka vazduha za fluidizaciju dovesti do veće mogućnosti stvaranja agregata. Ovaj fenomen se može uočiti kod Exp 2 i 8, što se vidi iz vrednosti d_{90} (tabela 24). Naime, vrednosti d_{90} su kod skoro svih eksperimenata u rasponu 185,8-204,3 μm , što ukazuje da do aglomeracije najverovatnije nije došlo. Povećanje d_{90} uočava se samo kod Exp 2 ($d_{90} = 228,5 \mu\text{m}$) i Exp 8 ($d_{90} = 249,1 \mu\text{m}$) i potiče najverovatnije od aglomerata granula nastalih u postupku oblaganja topljenjem, pod datim eksperimentalnim uslovima.

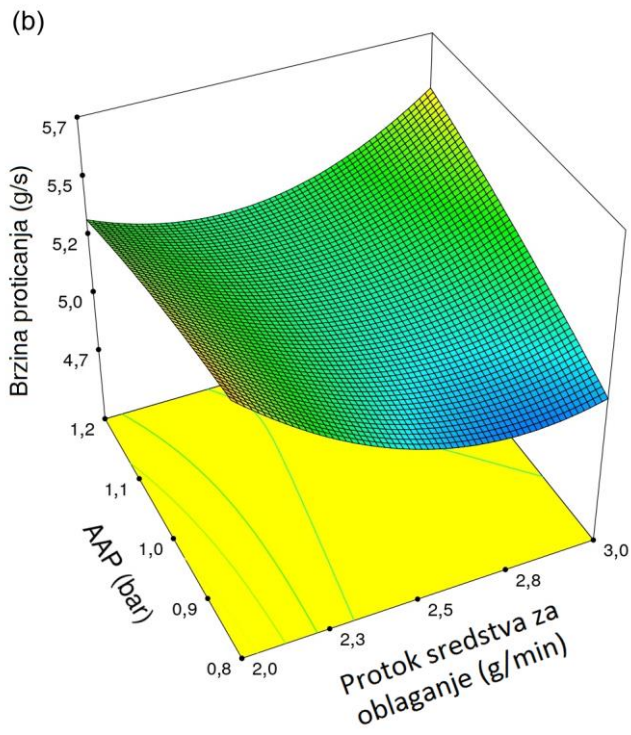
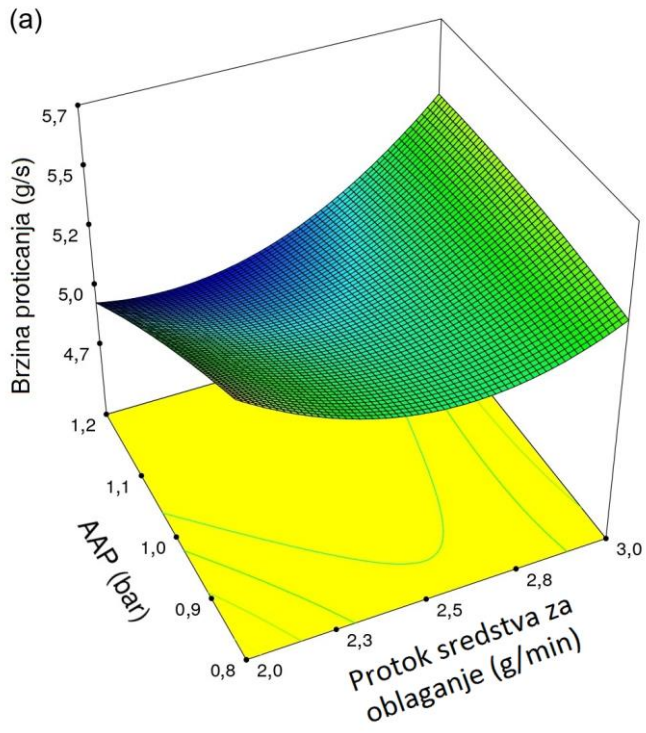
4.2.2. Nasipna i tapkana gustina, Hausner-ov odnos, indeks kompresibilnosti i protočnost

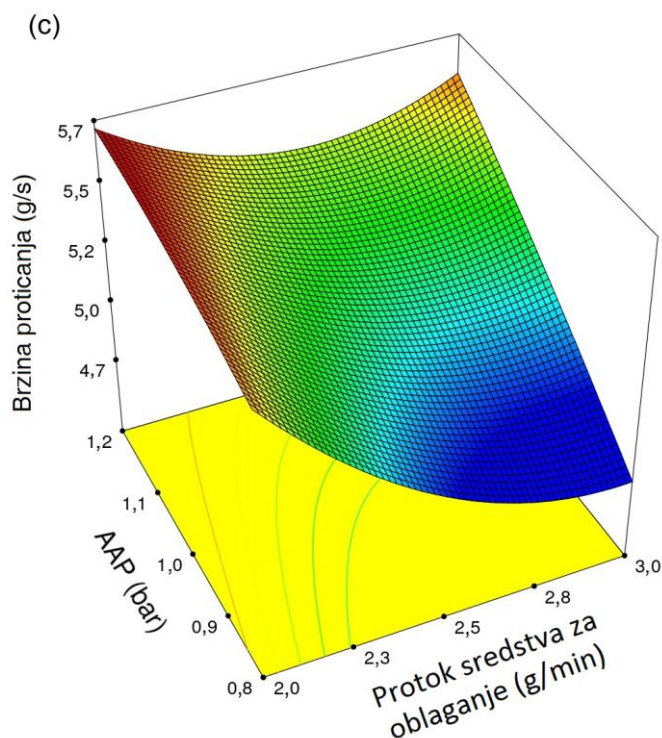
U poređenju sa neobloženim granulama, nasipna i tapkana gustina granula obloženih topljenjem je bila neznatno veća (tabela 24). Odabrani maseni udeo lipidne supstance je najverovatnije bio suviše mali da bi se postigle značajnije razlike u nasipnoj i tapkanoj gustini pre i nakon oblaganja topljenjem. Rezultati ANOVA-e pokazuju da je protok vazduha za fluidizaciju statistički značajan procesni parametar ($p < 0,05$) koji utiče na tapkanu gustinu obloženih granula (tabela 25). Prema dobijenim rezultatima, povećanje ovog parametra dovodi do povećanja tapkane gustine obloženih granula. Ovaj fenomen se dovodi u vezu sa raspodelom veličine dobijenih granula. Tako će smanjenje veličine obloženih granula dovesti do povećanja tapkane gustine. Iako prema rezultatima ANOVA-e ostali parametri nemaju statistički značajan efekat na tapkanu gustinu, može se očekivati da faktori koji utiču na raspodelu veličine granula imaju suprotan efekat na tapkanu gustinu. Do ovakvih rezultata su došli i Jozwiakowski i saradnici (1990), koji su pokazali da povećanje AAP i/ili smanjenje protoka sredstva za oblaganje dovode do povećanja tapkane gustine obloženih granula. Iako to autori nisu posebno istakli, navedena opažanja se mogu

dovesti u vezu sa uticajem ovih parametara na raspodelu veličine čestica/granula. Jozwiakowski i saradnici (1990) su zaključili da AAP jeste statistički značajan faktor koji utiče na tapkanu gustinu obloženog supstrata, za razliku od rezultata dobijenih u ovom eksperimentalnom radu (tabela 25) prema kojima faktor β_2 (AAP) nije statistički značajan ($p > 0,05$). Međutim, treba dodati da su pomenuti autori u svojoj studiji za granicu nivoa značajnosti uzeli vrednost 0,25 i da protok vazduha za fluidizaciju nije bio među ispitivanim parametrima.

Na osnovu izračunatih vrednosti *Hausner*-ovog odnosa i *CI*, a u skladu sa klasifikacijom u Ph. Eur. 10.0, protočnost ispitivanih obloženih granula se opisuje kao prosečna ili na granici između dobre i prosečne, bez obzira na primenjene vrednosti parametara procesa oblaganja topljenjem. Protočnost neobloženih granula se opisuje kao prosečna, što ukazuje na to da lipidna obloga, zastupljena u masenom udelu od oko 9,1% u svim eksperimentalnim serijama (tabela 24), ne utiče značajno na protočnost granula izraženu preko *Hausner*-ovog odnosa i *CI*.

Slično zapažanjima na osnovu vrednosti *Hausner*-ovog odnosa i *CI*, rezultati pokazuju da se brzina proticanja granula kroz otvor nije značajno promenila nakon oblaganja topljenjem (tabela 24). Poređenjem rezultata brzine proticanja neobloženih i obloženih granula, može se uočiti da je samo u određenim eksperimentima (Exp 3, Exp 5, Exp 6, Exp 8, Exp 9, Exp 10, Exp 12) došlo do povećanja, odnosno poboljšanja protočnih karakteristika granula. Međutim, primenom RSM dobijen je statistički značajan kvadratni model brzine proticanja granula (p -vrednost modela $< 0,05$), sa $R^2 > 0,90$ i greškom predviđanja koja nije statistički značajna (p -vrednost *lack of fit* $> 0,05$) (tabela 25). Rezultati ANOVA analize pokazali su da na brzinu proticanja obloženih granula statistički značajan uticaj imaju samo faktori interakcija procesnih parametara i kvadrat protoka sredstva za oblaganje, dok pojedinačni ispitivani procesni parametri nisu imali statistički značajan efekat. Analizom regresionih koeficijenata interakcije procesnih parametara (β_{12} , β_{13} , β_{23}) uočava se da ne postoji oblast, u datom eksperimentalnom opsegu (kombinacija procesnih parametara), u kojoj će sve tri interakcije imati pozitivan efekat na protočnost granula (g/s). Radi lakše interpretacije, dobijeni rezultati prikazani su na grafiku površine odgovora (slika 15). Zakrivljenost površine odgovora brzine proticanja obloženih granula, koja se može uočiti, potiče od β_3^2 (kvadratni efekat protoka sredstva za oblaganje). Međusobnim poređenjem vrednosti regresionih koeficijenata (tabela 25), uočava se da upravo β_3^2 ima najveći efekat na protočnost obloženih granula.





Slika 15. Grafik površine odgovora brzine proticanja (g/s), u zavisnosti od AAP i protoka sredstva za oblaganje pri različitom protoku vazduha za fluidizaciju: 10 m³/h (a); 15 m³/h (b); 20 m³/h (c)

Analizom grafika površine odgovora uočava se nekoliko oblasti u kojima je oblaganjem topljenjem povećana brzina proticanja granula, a neke od kombinacija procesnih parametara, odnosno eksperimentalni uslovi pod kojima je postignut takav efekat su navedeni u tabeli 26. Najveće poboljšanje protočnosti granula paracetamola postignuto je pri povećanom protoku vazduha za fluidizaciju i visokoj vrednosti AAP, uz istovremeno smanjen protok sredstva za oblaganje (slika 15c). Prema regresionoj analizi, povećanje brzine proticanja obloženih granula pri navedenim uslovima posledica je pozitivnog efekta sinergističke interakcije procesnih parametara X_1 i X_2 , zakrivljenosti površine odgovora zbog efekta kvadrata faktora X_3 i antagonističke interakcije faktora X_1 i X_3 koja u datoj kombinaciji faktora takođe ima pozitivan efekat na brzinu proticanja (tabela 25). Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da procesni uslovi pri kojima je AAP na istom nivou kao i protok vazduha za fluidizaciju i/ili protok sredstva za oblaganje, dovode do povećanja brzine proticanja obloženih granula, a da bi se postigao dodatni pozitivan efekat na vrednost ovog izlaznog parametra, potrebno je da protok vazduha za fluidizaciju i protok sredstva za oblaganje budu na suprotnim nivoima. Međutim, sve tri navedene kombinacije je nemoguće istovremeno postići, tako da poboljšanju protočnih karakteristika obloženih granula mogu doprineti najviše dve interakcije ispitivanih parametara procesa.

Tabela 26. Eksperimentalni uslovi pod kojima je postignuto povećanja brzine proticanja obloženih granula

Broj	X_1	X_2	X_3	Primer
1	+1	(-1, 0, +1)*	-1	Exp 5
2	+1	+1	0, +1	Exp 3
3	-1, 0	+1	+1	Exp 12
4	-1, 0	-1	-1	Exp 9

* celokupni ispitivani opseg procesnog parametra

Sa druge strane, mogu se identifikovati i uslovi pod kojima je brzina proticanja granula nakon oblaganja bila manja (lošija). Kombinacije nivoa procesnih parametara koje rezultuju pogoršanjem protočnih karakteristika obloženih granula prikazane su u tabeli 27. Najlošiji uslovi za oblaganje ostvareni su pri povećanom protoku vazduha za fluidizaciju uz istovremeno nisku vrednosti AAP i povećan protok sredstva za oblaganje (slika 15c), kao i pod sasvim suprotnim procesnim uslovima prikazanim (nizak protok vazduha za fluidizaciju, visok AAP i nizak protok sredstva za oblaganje) na slici 15a. Zapaženo je da pri datim kombinacijama procesnih parametara istovremeno postoje snažni negativni efekti sve tri interakcije procesnih parametara: X_1 i X_3 i negativni sinergistički efekti obe interakcije sa X_2 . Može se zaključiti da procesni uslovi pri kojima je AAP na suprotnom nivou u odnosu na protok vazduha za fluidizaciju i/ili protok sredstva za oblaganje, imaju negativan uticaj na protočne karakteristike obloženih granula. Dalje, ukoliko su ispunjena oba navedena uslova (obe interakcije sa AAP imaju negativan efekat), protok vazduha za fluidizaciju i protok sredstva za oblaganje će biti na istom nivou (suprotnom od AAP), a interakcija ova dva parametra će u datoj kombinaciji ispoljiti dodatni negativan efekat na brzinu proticanja obloženih granula.

Tabela 27. Eksperimentalni uslovi pod kojima je postignuto smanjenje brzine proticanja obloženih granula

Broj	X_1	X_2	X_3	Primer
1	+1	0, -1	0, +1	Exp 7, Exp 1
2	0	-1	0, +1	Exp 11
3	-1	+1	0, -1	Exp 4

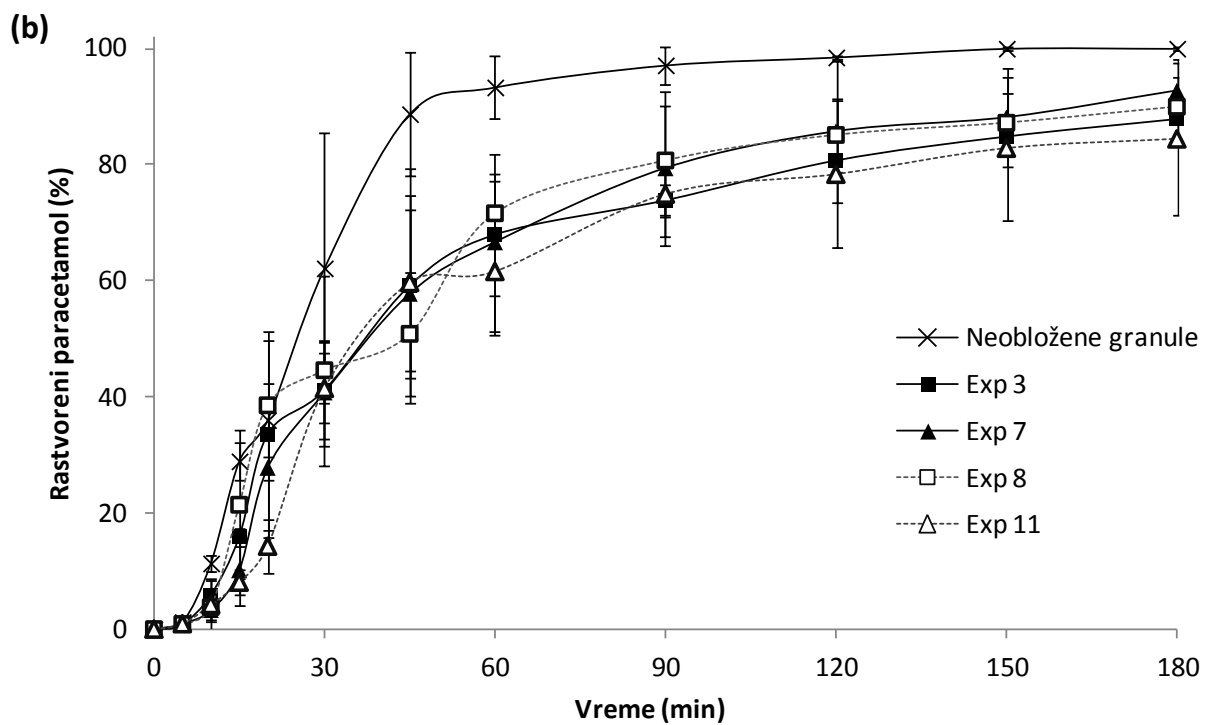
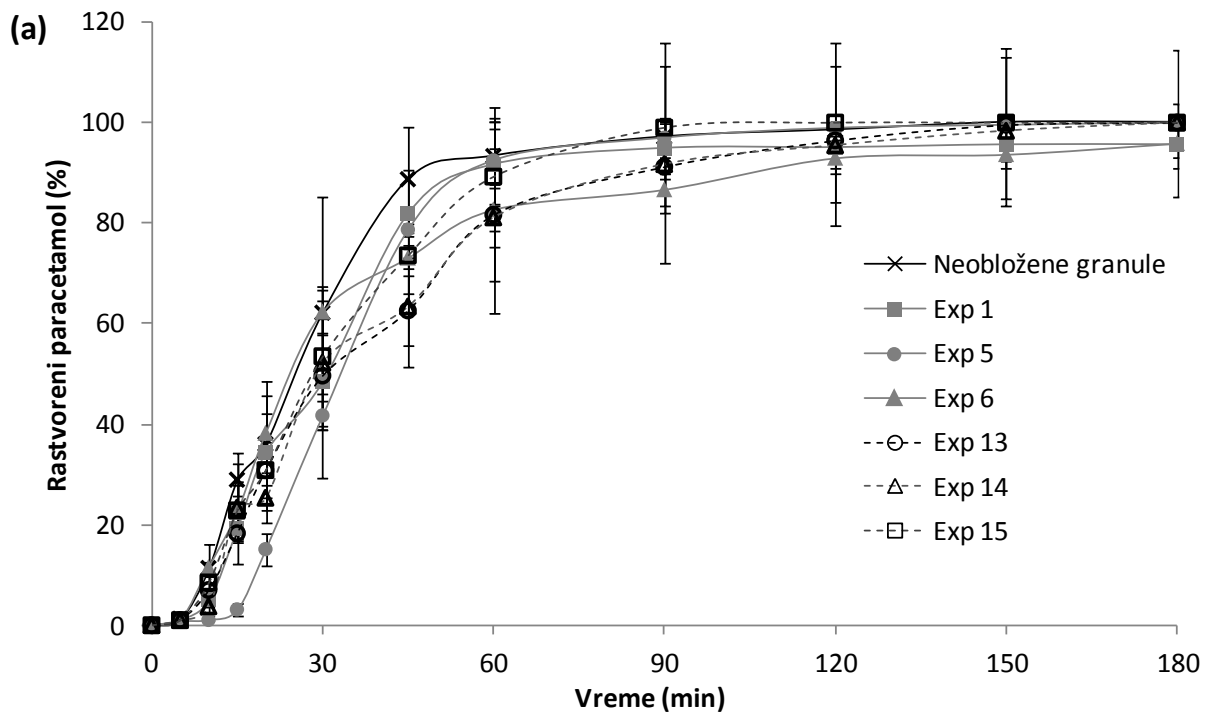
Prisustvo lipidne obloge na površini granula obloženih topljenjem dovelo je do povećanja brzine proticanja obloženih granula, što se moglo očekivati s obzirom na funkcionalna svojstva lipidne supstance kao lubrikansa i sredstva za klizanje i već opisane promene u morfologiji površine obloženih granula (u odnosu na neobložene). Međutim, protočne karakteristike zavise i od distribucije veličine granula i mogu se dovesti u vezu sa vrednostima parametra d_{50} . Tako se može zapaziti da najveću brzinu proticanja imaju granule sa većim vrednostima d_{50} , dobijene u Exp 5, 6, 8 i 9. Sa druge strane, najmanje vrednosti d_{50} se uočavaju kod Exp 1 i 4, a za navedene uzorke su izmerene i najniže vrednosti brzine proticanja. Veza distribucije veličine granula i brzine proticanja se može objasniti efektima dva ključna procesna parametra koji dovode do nižih vrednosti d_{50} , a to su protok vazduha za fluidizaciju i AAP. Naime, povećanjem dva navedena parametra dolazi do smanjenja veličine čestica mehaničkim putem, kao što je ranije opisano. Usitnjavanje i lomljenje čestica pod dejstvom ovih sila, kao i međučestično sudaranje i trenje, dovode do formiranja novih i

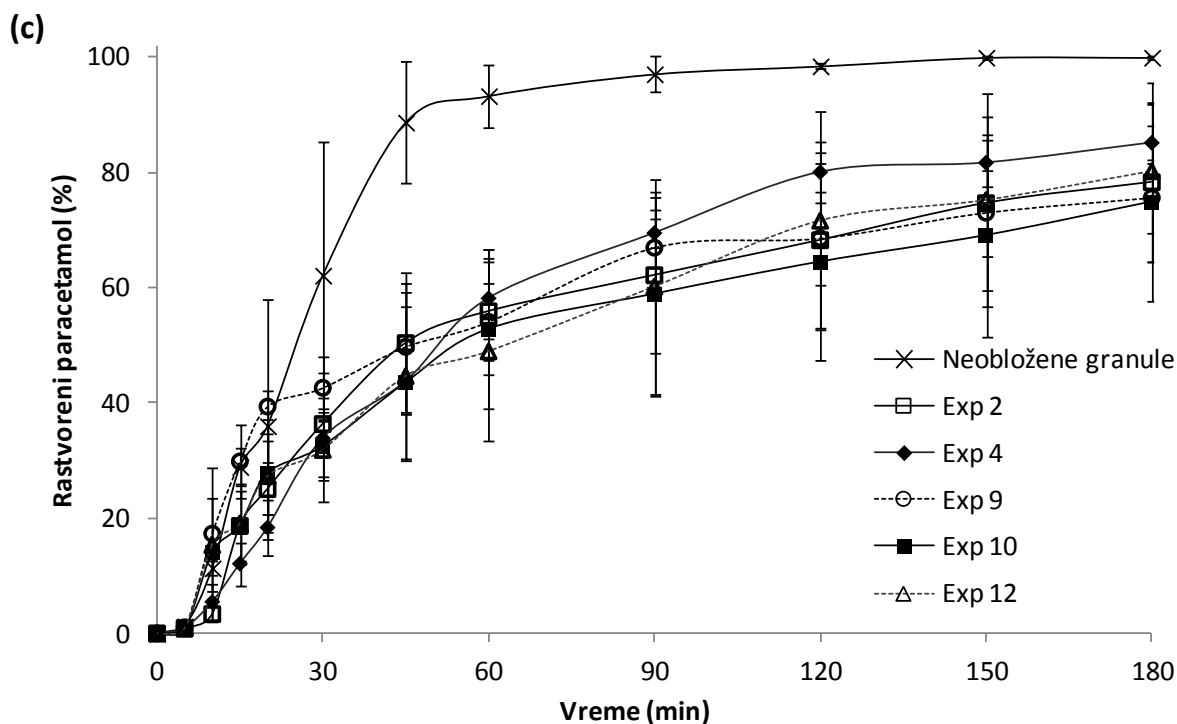
„grubih” površina. Posledično, dolazi do većeg trenja između granula/čestica, a moguće i do većeg elektrostatičkog naelektrisanja, što sve ima negativan efekat na protočnost dobijenog proizvoda.

4.3. Brzina rastvaranja paracetamola iz granula

Ispitivanje brzine rastvaranja paracetamola iz obloženih granula sprovedeno je kako bi se utvrdio efekat procesnih parametara na profil brzine rastvaranja lekovite supstance, odnosno, da li je pod određenim eksperimentalnim uslovima došlo do formiranja defekata lipidnog omotača koji dovode do bržeg rastvaranja paracetamola iz granula, posebno tokom prvih minuta ispitivanja. Iz tog razloga je u okviru prve faze eksperimentalnog rada utvrđena minimalna količina Precirol®-a ATO 5 u formulaciji (9,1% (*m/m*)), kojom se može postići produženo oslobađanje paracetamola, a da defekti i nedostaci lipidnog omotača ne budu pokriveni dodatnim slojem (slojevima) lipidne obloge. Na taj način će efekti procesnih parametara na kvalitet i karakteristike lipidnog omotača biti izraženiji.

Na slici 16 su prikazani profili brzine rastvaranja paracetamola iz neobloženih granula i granula obloženih topljenjem pod različitim eksperimentalnim uslovima (Exp 1 – Exp 15). U odnosu na uslove ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola, koji su primenjeni u okviru prve faze eksperimentalnog rada (odabir pomoćne supstance za oblaganje i masenog udela obloge), u ovoj fazi istraživanja (faza eksperimentalnog dizajna) masa uzoraka je bila 200 mg (umesto 500 mg). Masa uzorka je smanjena zbog uočenog nakupljanja obloženih granula na filteru ćelije u nekim eksperimentima, što je uticalo na protok medijuma. Ispitivanje brzine rastvaranja paracetamola iz svih uzoraka obloženih granula sprovedeno je približno 3 nedelje nakon oblaganja granula topljenjem. Pri tome su sve serije obloženih granula čuvane pod istim uslovima (temperatura i vlažnost vazduha). Ove činjenice su važne, jer Precirol® ATO 5 podleže polimorfnom prelazu koji je vremenski zavisani proces, kao što je opisano u poglavlju 4.1.1, a promena u polimorfnom obliku lipidnog omotača granula može da utiče na brzinu rastvaranja lekovite supstance, čime bi efekat koji parametri procesa imaju na brzinu rastvaranja bio delimično ili u potpunosti maskiran.





Slika 16. Profili brzine rastvaranja paracetamola iz neobloženih i obloženih granula, grupisani na osnovu površine ispod krive: $PIK_{0-180 \text{ min}} > 13 \times 10^3 \text{ min\%}$ (a); $PIK_{0-180 \text{ min}} = (11-13) \times 10^3 \text{ min\%}$ (b); $PIK_{0-180 \text{ min}} < 11 \times 10^3 \text{ min\%}$ (c)

Obim rastvaranja paracetamola iz ispitivanih uzoraka granula opisan je pomoću vrednosti $PIK_{0-180 \text{ min}}$ i $pPIK_{0-5 \text{ min}}$ (tabela 28). PIK opisuje proces rastvaranja (procenat rastvorene lekovite supstance) u funkciji vremena, pri čemu se uzima u obzir i oblik krive/profila brzine rastvaranja tokom celokupnog ispitivanja ili definisanog vremenskog intervala, umesto da se posmatraju i porede vrednosti dobijene u određenim vremenskim tačkama. Prema izračunatim vrednostima $PIK_{0-180 \text{ min}}$, svi dobijeni profili brzine rastvaranja paracetamola iz granula se mogu podeliti na tri grupe: $PIK_{0-180 \text{ min}} > 13 \times 10^3 \text{ min\%}$, $PIK_{0-180 \text{ min}} = (11-13) \times 10^3 \text{ min\%}$ i $PIK_{0-180 \text{ min}} < 11 \times 10^3 \text{ min\%}$ (slika 16).

Rezultati ANOVA analize su pokazali da jedino kvadrat faktora AAP ima statistički značajan uticaj na vrednost $PIK_{0-180 \text{ min}}$ (tabela 29). Uticaj ovog faktora na vrednost $PIK_{0-180 \text{ min}}$ najbolje ilustruje izražena zakrivljenost grafika dobijenog primenom metodologije površine odgovora (slika 17a-c).

Tabela 28. *PIK* vrednosti koje opisuju brzinu rastvaranja paracetamola iz neobloženih i obloženih granula

Oznaka eksperimenta	<i>PIK</i> _{0-180 min} (x 10 ³ min%)	<i>pPIK</i> _{0-5 min} (min%)
Exp 1	14,29	2,74
Exp 2	10,10	2,29
Exp 3	11,79	2,10
Exp 4	10,83	2,43
Exp 5	14,28	2,08
Exp 6	13,85	2,66
Exp 7	12,14	2,33
Exp 8	12,29	2,19
Exp 9	10,42	2,65
Exp 10	9,52	2,14
Exp 11	11,32	2,32
Exp 12	9,96	2,03
Exp 13	13,88	2,57
Exp 14	13,84	2,45
Exp 15	14,64	2,54
Neobložene granule	15,06	3,17

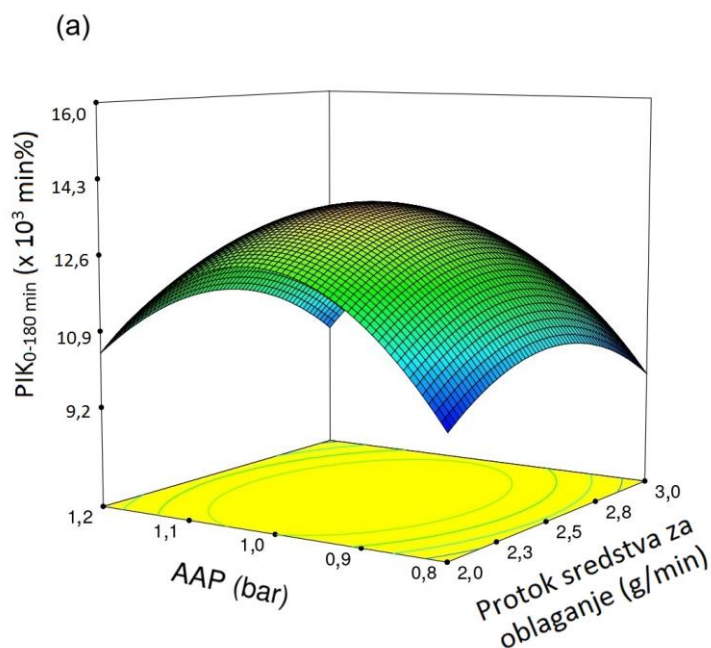
Prema rezultatima statističke analize, ostali regresioni koeficijenti procesnih parametara ne pokazuju statističku značajnost. Drugim rečima, u ispitivanom opsegu vrednosti procesnih parametara ne može se očekivati značajan uticaj navedenih parametara na brzinu rastvaranja paracetamola iz obloženih granula. Međutim, ova zapažanja ne isključuju mogućnost da faktori poput protoka vazduha za fluidizaciju i sredstva za oblaganje, ukoliko se nalaze izvan opsega ispitivanog u ovoj studiji, pokažu značajan efekat na profil brzine rastvaranja lekovite supstance. Pri tome treba naglasiti da je protok vazduha za fluidizaciju, odnosno brzina vazduha za fluidizaciju, ograničen minimalnom brzinom fluidizacije čestica sa jedne strane i brzinom odnošenja sa druge strane. Obe ove veličine su karakteristika čestica (koja zavisi od prečnika čestica, njihove gustine i sferičnosti) i ne mogu se menjati mnogo izvan ispitivanog opsega.

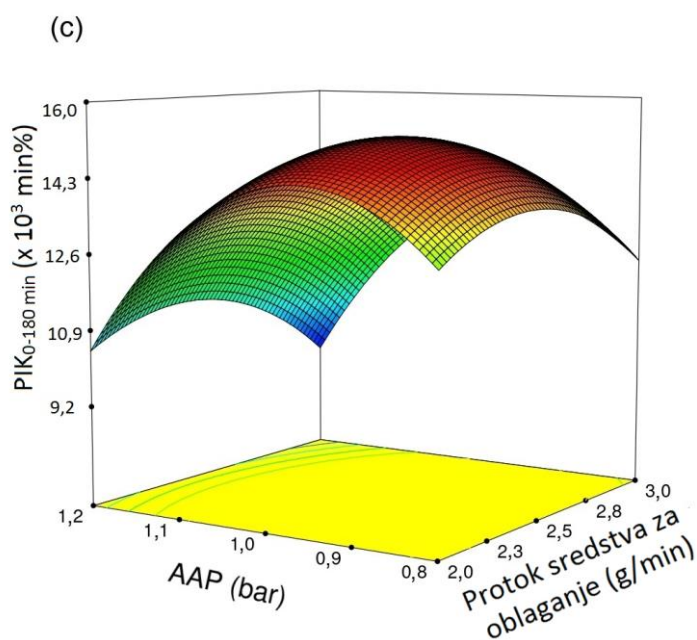
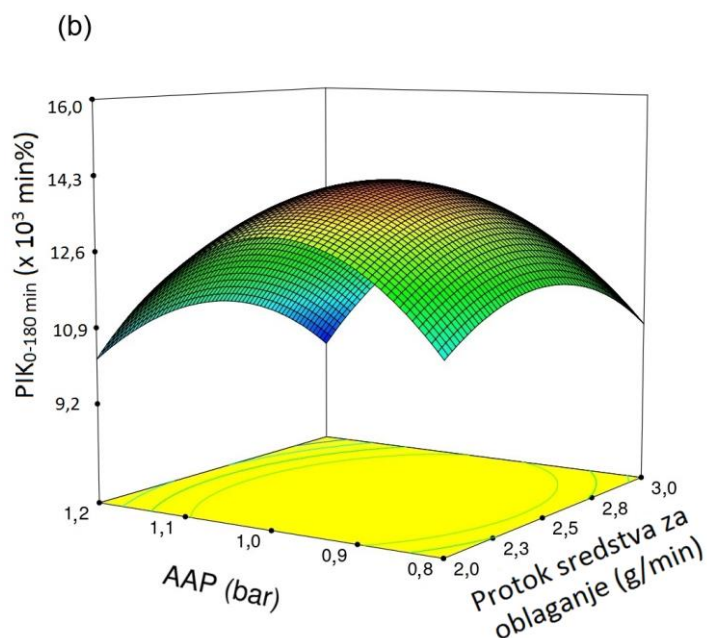
Tabela 29. Koeficijenti regresije i statistička značajnost uticaja ispitivanih parametara na brzinu rastvaranja paracetamola iz granula

Koeficijenti	$PIK_{0-180 \text{ min}}$ ($\times 10^3 \text{ min}\%$)	$pPIK_{0-5 \text{ min}}$ ($\text{min}\%$)
β_1	0,679**	-0,040**
β_2	-0,502**	-0,162
β_3	-0,296**	-0,082*
β_{12}	-0,807**	-0,193
β_{13}	-0,144**	0,181
β_{23}	-0,113**	0,056**
β_1^2	0,233**	-0,060**
β_2^2	-2,599	-0,087**
β_3^2	-1,213*	-0,163*
R^2	0,855	0,918
p -vrednost modela	0,102	0,036
p -vrednost <i>lack of fit</i>	0,093	0,193

$p < 0,05$; * $p = 0,05 - 0,1$; ** $p > 0,1$

Analiza grafika površine odgovora i rezultati ANOVA-e ukazuju na to da primena visokih vrednosti AAP u toku postupka oblaganja može dovesti do sporijeg rastvaranja paracetamola, bez obzira na vrednosti druga dva procesna parametra (slika 17). Ovakvo tumačenje podržavaju i izračunate vrednosti $PIK_{0-180 \text{ min}}$, koje su najniže u slučaju granula obloženih u Exp 4, 10 i 12 (visok AAP) (slika 17c). Rezultati dobijeni pod navedenim eksperimentalnim uslovima (Exp 4, 10 i 12) su najverovatnije posledica formiranja lipidnih kapljica male veličine u toku procesa oblaganja, što omogućava stvaranje uniformnog i kontinuiranog lipidnog omotača.



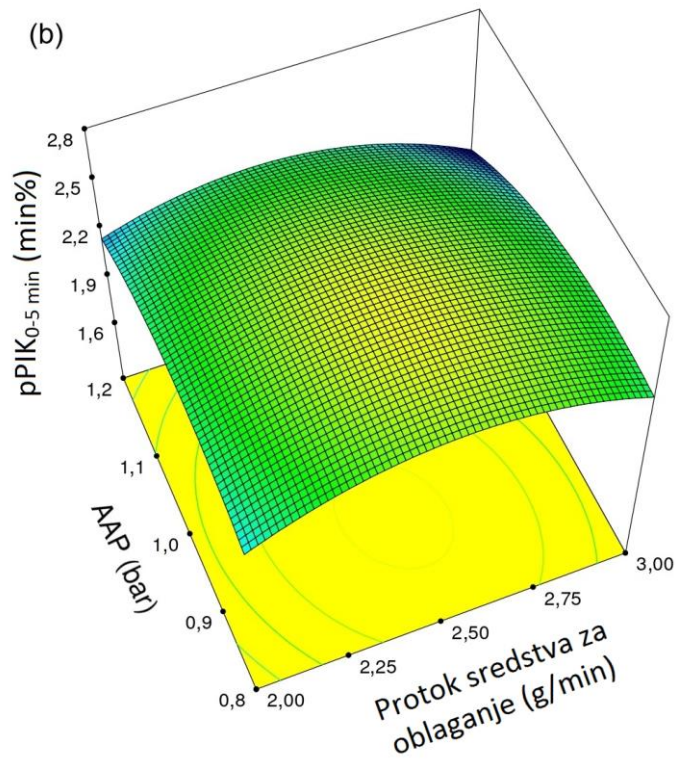
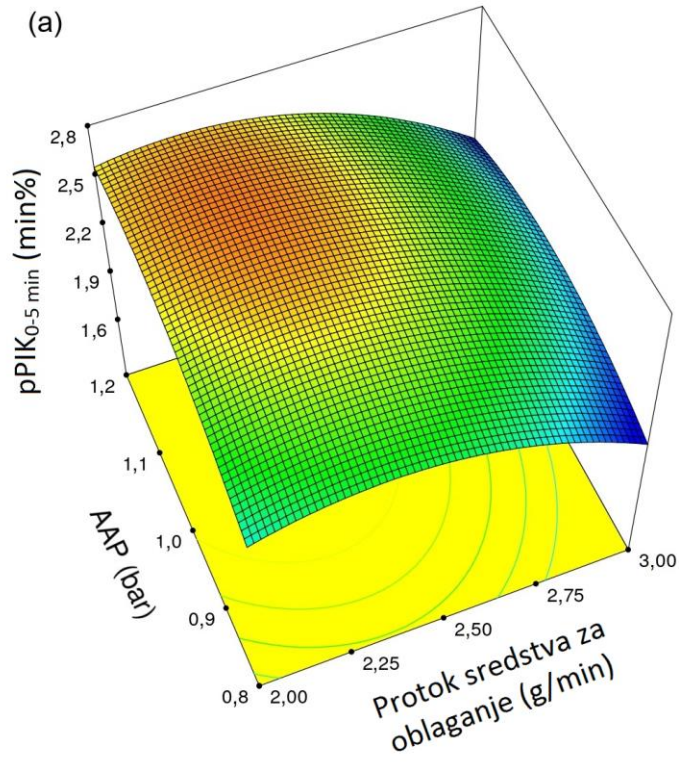


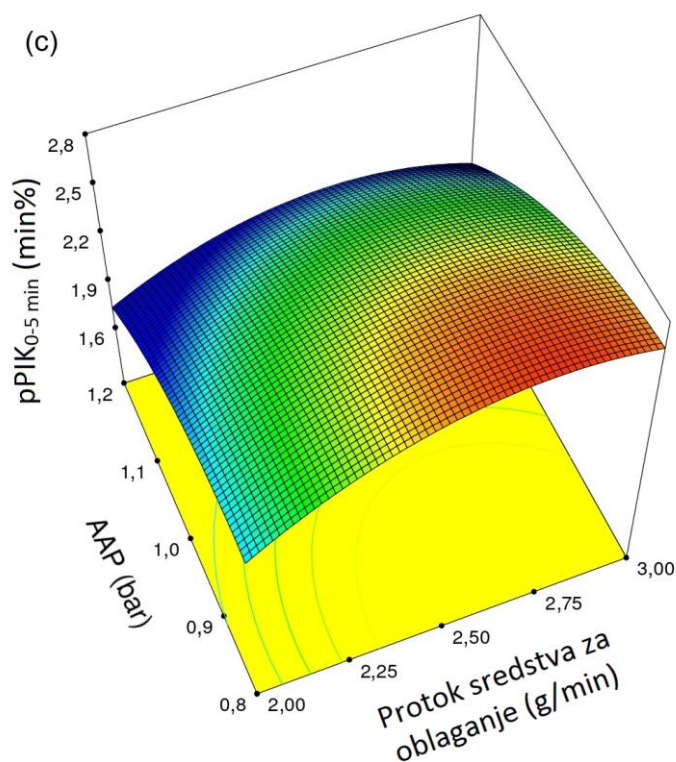
Slika 17. Grafik površine odgovora $PIK_{0-180 \text{ min}}$ ($\times 10^3 \text{ min\%}$), u zavisnosti od AAP i protoka sredstva za oblaganje pri različitom protoku vazduha za fluidizaciju: $10 \text{ m}^3/\text{h}$ (a); $15 \text{ m}^3/\text{h}$ (b); $20 \text{ m}^3/\text{h}$ (c)

Druga fizička veličina, kojom je opisana brzina rastvaranja paracetamola u ovom ispitivanju, je $pPIK_{0.5 \text{ min}}$. Analizom $pPIK_{0.5 \text{ min}}$ može se proceniti inicijalna brzina rastvaranja paracetamola iz obloženih granula. Brzina rastvaranja lekovite supstance u prvim minutima ispitivanja je u direktnoj vezi sa kvalitetom formirane lipidne obloge. Bilo kakav nedostatak u lipidnom omotaču (npr. nepokrivena površina granule ili manjak lipidne supstance na određenim delovima površine) dovešće do brzog početnog rastvaranja lekovite supstance. Dodatno, brzina rastvaranja lekovite supstance tokom prvih nekoliko minuta je posebno važan parametar kada su u pitanju formulacije sa lekovitom supstancom izrazito gorkog ukusa, koja je u isto vreme visoko

rastvorljiva, kao što je slučaj sa paracetamolom. U tom slučaju, naglo oslobađanje i rastvaranje lekovite supstance mogu dovesti do neprijatne senzacije gorčine i loše komplijanse pacijenta.

RSM analizom razvijen je matematički model drugog reda, koji opisuje uticaj ispitivanih parametara procesa na $pPIK_{0.5 \text{ min}}$. Prema rezultatima ANOVA-e, dobijeni kvadratni model je statistički značajan (p -vrednost modela $< 0,05$) sa $R^2 > 0,90$ i greškom predviđanja koja nije statistički značajna (p -vrednost *lack of fit* $> 0,05$), a AAP je prepoznat kao ključni (individualni) faktor koji utiče na inicijalnu brzinu rastvaranja lekovite supstance (tabela 29). Takođe, dvofaktorske interakcije, u kojima je jedan od faktora protok vazduha za fluidizaciju (β_{12} , β_{13}), imaju statistički značajan efekat na $pPIK_{0.5 \text{ min}}$. Vrednosti regresionih koeficijenata ukazuju da i AAP i navedeni faktori interakcija moraju da se uzmu u obzir pri tumačenju rezultata $pPIK_{0.5 \text{ min}}$. Drugim rečima, izostavljanje bilo kog od navedenih faktora ili tumačenje dobijenih rezultata uticajem samo jednog od njih, ne bi dovelo do ispravnog zaključka. Ova tvrdnja se može ilustrovati na grafiku površine odgovora (slika 18), kada se posmatra(ju) oblast(i) eksperimentalnih uslova pod kojima su dobijene najniže vrednosti $pPIK_{0.5 \text{ min}}$ (u slučaju obloženih granula koje sadrže lekovitu supstancu gorkog ukusa, poželjno je da $pPIK_{0.5 \text{ min}}$ bude što niže vrednosti). Prema izračunatoj vrednosti regresionog koeficijenta za AAP, ovaj procesni parametar bi trebalo da bude na gornjoj granici opsega eksperimentalnog dizajna, ukoliko je cilj postići što sporije inicijalno rastvaranje lekovite supstance. Dalje, ukoliko je AAP tako podešen, u skladu sa regresionim koeficijentom β_{12} , protok vazduha za fluidizaciju bi takođe trebalo da bude najviši mogući (interakcija pojačava efekat AAP), dok bi prema koeficijentu β_{13} protok sredstva za oblaganje trebalo da bude na najnižem mogućem nivou (efekat interakcije treba da bude negativan). Navedeni eksperimentalni uslovi, odnosno kombinacija procesnih parametara i njihovih vrednosti/nivoa, prikazana je na slici 18c. Treba istaći da će se pod ovakvim uslovima dobiti obložene granule manje veličine (d_{50}). Ova činjenica ukazuje na to da će manje granule pokazati i sporije inicijalno oslobađanje lekovite supstance, ali treba naglasiti da neće svi eksperimentalni uslovi oblaganja topljenjem, pod kojima će se dobiti granule niže vrednosti d_{50} , dovesti i do sporijeg inicijalnog oslobađanja lekovite supstance, odnosno niskih vrednosti $pPIK_{0.5 \text{ min}}$. Naime, granule obložene u Exp 1 i Exp 7 imaju niske vrednosti d_{50} , ali visoke vrednosti $pPIK_{0.5 \text{ min}}$ (fenomen koji je više izražen kod Exp 1). Međutim, regresiona analiza ukazuje da su dobijene vrednosti d_{50} u ova dva eksperimenta posledica velikog protoka vazduha za fluidizaciju, a da je brzo početno oslobađanje lekovite supstance posledica odnosa protoka sredstva za oblaganje i AAP. Naime, u oba navedena eksperimenta protok sredstva za oblaganje je bio na višem nivou od nivoa AAP, što je najverovatnije dovelo do stvaranja većih lipidnih kapljica tokom raspršivanja i formiranja neujednačene lipidne obloge, a kao krajnji ishod i do brzog početnog oslobađanja lekovite supstance.





Slika 18. Grafik površine odgovora $pPIK_{0-5 \text{ min}}$ (min%), u zavisnosti od AAP i protoka sredstva za oblaganje pri različitom protoku vazduha za fluidizaciju: 10 m³/h (a); 15 m³/h (b); 20 m³/h (c)

4.4. Uspostavljanje prostora za dizajn

Prvi korak u definisanju prostora za dizajn predstavlja identifikacija CQA. Na osnovu rezultata ispitivanja dobijenih primenom eksperimentalnog dizajna, kao CQA granula paracetamola obloženih topljenjem u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema, prepoznati su: brzina proticanja granula (g/s), $pPIK_{0-5 \text{ min}}$ i $PIK_{0-180 \text{ min}}$. Ciljni opseg za svaki CQA (tabela 30) definisan je na osnovu rezultata ispitivanja prikazanih u tabelama 24 i 28, kako bi se postigla maksimalna brzina proticanja granula i minimalne vrednosti $PIK_{0-180 \text{ min}}$ i $pPIK_{0-5 \text{ min}}$. Primenom RSM utvrđeni su optimalni procesni uslovi i predviđene su vrednosti CQA koje bi se postigle pod navedenim uslovima (tabela 31).

Tabela 30. Ciljni opseg odabranih CQA

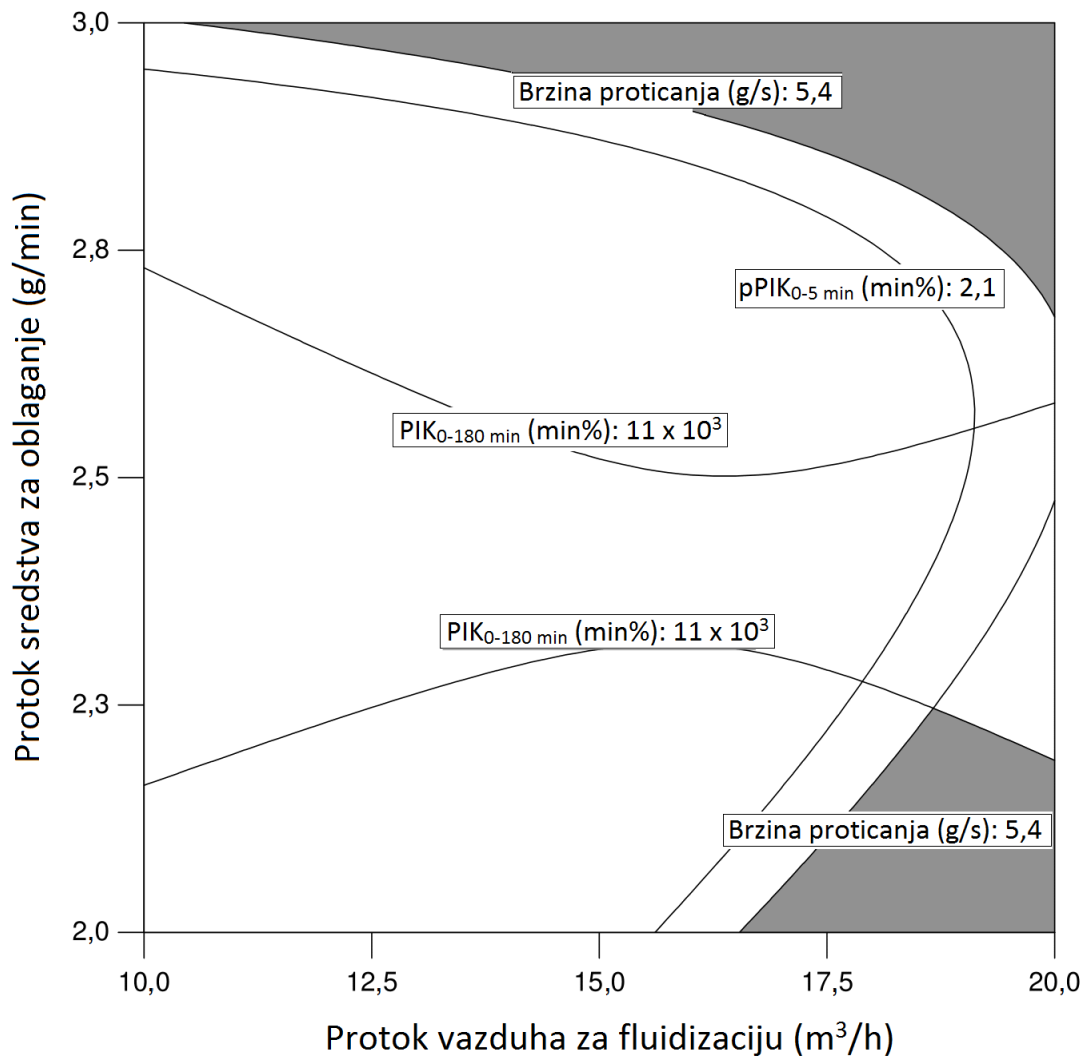
CQA	Cilj	Opseg
Brzina proticanja (g/s)	maksimalna	> 5,4
$PIK_{0-180 \text{ min}}$ ($\times 10^3$ min%)	minimalna	< 11,0
$pPIK_{0-5 \text{ min}}$ (min%)	minimalna	< 2,1

Tabela 31. Prostor za dizajn oblaganja topljenjem granula paracetamola u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema

Protok vazduha za fluidizaciju (m ³ /h)	AAP (bar)	Protok sredstva za oblaganje (g/min)	Brzina proticanja (g/s)	<i>PIK</i> _{0-180 min} (x 10 ³ min%)	<i>pPIK</i> _{0-5 min} (min%)
19,00-20,00	1,20	2,00-2,15	5,54-5,67	10,40-10,93	1,74-1,89
12,01-20,00	1,20	2,96-3,00	5,43-5,54	9,32-9,64	1,93-2,01

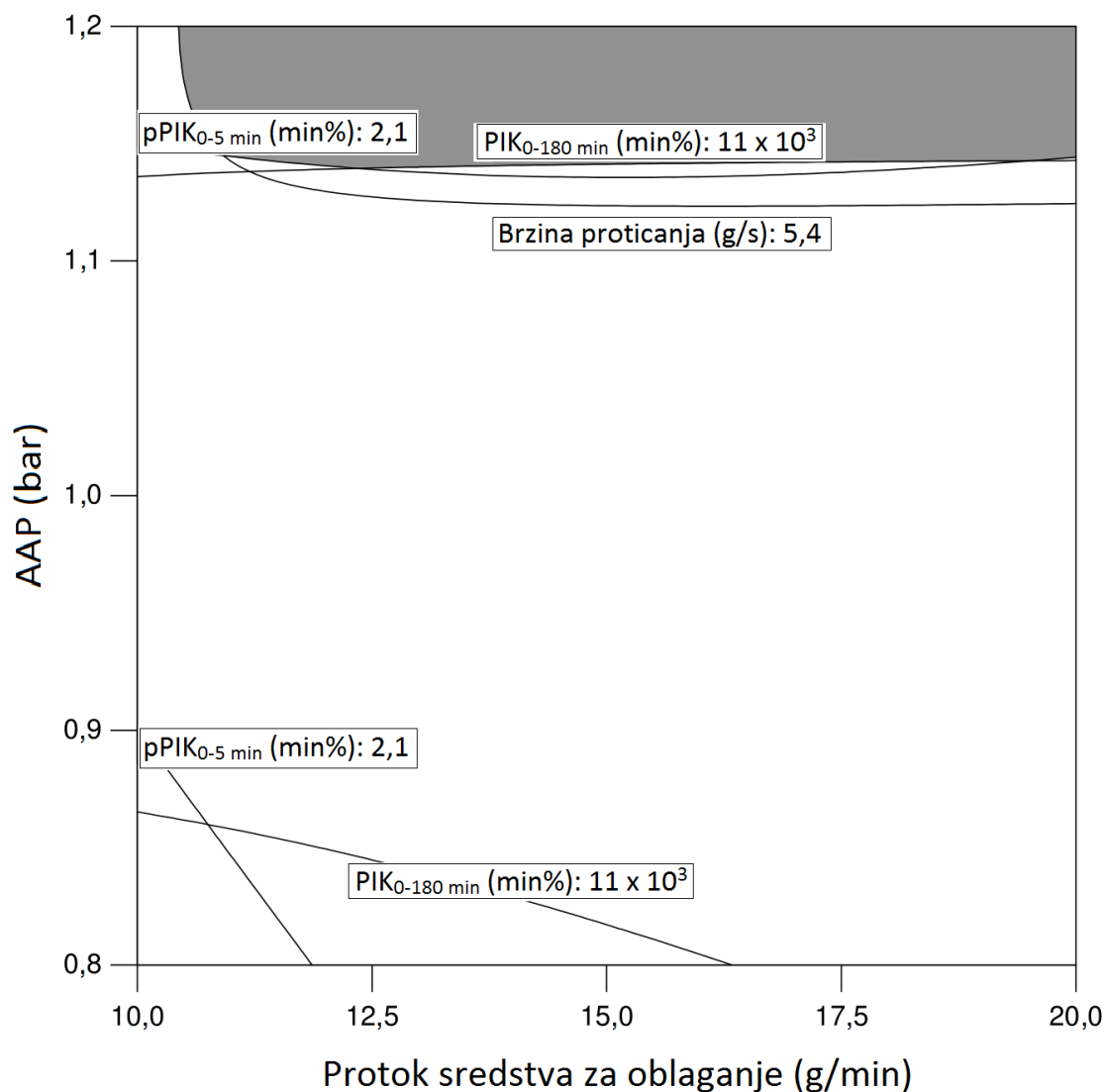
Analiza eksperimentalnih podataka pomoću Design Expert® softvera pokazala je da se optimalni rezultati, odnosno željene vrednosti CQA, mogu postići ukoliko je AAP visok (1,2 bar), a protok vazduha za fluidizaciju i protok sredstva za oblaganje se nalaze u definisanom opsegu, odnosno unutar utvrđenog prostora za dizajn. U skladu sa time, na slici 19 prikazan je prostor za dizajn bez koordinate koja bi se odnosila na AAP (AAP je jednak maksimalnom pritisku od 1,2 bar). Kao krajnji rezultat, uočavaju se dve oblasti koje definišu optimalne uslove procesa oblaganja topljenjem (slika 19).

U tabeli 31 navedene su numeričke vrednosti parametara procesa koje ograničavaju ove dve oblasti, kao i odgovarajuće predviđene vrednosti odabranih CQA. Kako je prostor za dizajn određen sa sva tri ispitivana parametra procesa, protok vazduha za fluidizaciju, AAP i protok sredstva za oblaganje se mogu predstaviti kao CPP. Dobijeni rezultati pokazuju da se granule obložene topljenjem, koje poseduju zadovoljavajuće CQA, mogu dobiti i ukoliko je protok sredstva za oblaganje na gornjoj granici ispitivanog opsega (3,0 g/min) (slika 19). Kako dužina trajanja procesa oblaganja topljenjem najviše zavisi od ovog parametra, a pri niskom protoku sredstva za oblaganje postoji rizik od preranog očvršćavanja lipidne supstance (npr. tokom transporta do komore za oblaganje), pomenuti rizik će biti značajno smanjen, a proces oblaganja kraći ukoliko se protok otopljenih lipidnih supstanci podese na srednje ili više vrednosti u ispitivanom opsegu. Dodatno, povećanje protoka sredstva za oblaganje dovodi do sporijeg oslobađanja paracetamola, izraženog preko *PIK*_{0-180 min} vrednosti. Ovaj zaključak je u skladu sa rezultatima do kojih su došli Jozwiakowski i saradnici (1990), koji su pokazali da protok sredstva za oblaganje ima negativan efekat na brzinu rastvaranja lekovite supstance (%/h). Ukoliko se protok sredstva za oblaganje podese na maksimalnu vrednost u ispitivanom opsegu (3,0 g/min), za iste CQA dobija se prostor za dizajn prikazan na slici 20. U skladu sa već navedenim opisom prostora za dizajn koji je ilustrovan na slici 19, takođe se može uočiti da AAP treba da bude 1,2 bar ili veoma blizu te vrednosti, kako bi se dobile obložene granule željenog kvaliteta. Takođe, na osnovu dobijenih rezultata može se zapaziti da su granule označene kao Exp 12 (tabela 12) obložene pod uslovima procesa unutar definisanog prostora za dizajn.



■ Prostor za dizajn

Slika 19. Prostor za dizajn koji definiše optimalan postupak oblaganja topljenjem granula paracetamola u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema, pri AAP od 1,2 bar



■ Prostor za dizajn

Slika 20. Prostor za dizajn koji definiše optimalan postupak oblaganja topljenjem granula paracetamola u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema, pri protoku sredstva za oblaganje od 3,0 g/min

Može se zapaziti da je prostor za dizajn, definisan odabranim CQA i njihovim vrednostima, u graničnoj oblasti odabranih vrednosti eksperimentalnog dizajna. Ovo ukazuje da eksperimentalni opseg ispitivanih parametara procesa možda treba proširiti. Međutim, maksimalna vrednost AAP je ograničena tehničkim mogućnostima uređaja, te dalje povećanje AAP nije uzeto u obzir. Preliminarnim eksperimentima i eksperimentima prve faze istraživanja utvrđeno je da protok vazduha za fluidizaciju veći od 20 m³/h dovodi do gubitaka materijala usled prolaska sitnih čestica kroz filtere komore, tako da ne bi bilo opravdano dalje povećavati ovaj parametar. Prema tome, jedino je protok sredstva za oblaganje procesni parametar čija bi gornja granica potencijalno mogla da se pomeri ka još većim vrednostima. Međutim, pod takvim uslovima, u opremi laboratorijskog kapaciteta i sa istom veličinom šarže, proces oblaganja topljenjem bi trajao izuzetno kratko i bilo bi ga teško kontrolisati. Dodatno, kao što je ranije opisano, u okviru preliminarnih eksperimenata

primećeno je da brzo dolazi do aglomeracije granula kada je protok otopljene lipidne supstance blizu 5 g/min.

4.5. Tabletabilne karakteristike granula paracetamola obloženih topljenjem

4.5.1. Tabletiranje pri zadatom pritisku kompresije

Nakon komprimovanja različitih materijala (neobložene i obložene granule, smeša praškova koja odgovara sastavu obloženih granula, paracetamol, α -laktosa monohidrat i MCC) pri pritiscima kompresije od 35 do 173 MPa, izmereni su debljina (mm) i čvrstina (N) izrađenih komprimata/tableta. Dobijeni rezultati su prikazani u tabelama 32-35.

Tabela 32. Debljina tableta komprimovanih pri zadatom pritisku kompresije (za tablete izrađene od obloženih granula)

Pritisak kompresije (MPa)	Debljina tableta (srednja vrednost \pm SD (mm))				
	35	69	104	139	173
Exp 1	3,53 \pm 0,21	3,07 \pm 0,06	2,88 \pm 0,03	2,73 \pm 0,06	2,58 \pm 0,03
Exp 2	3,57 \pm 0,06	3,05 \pm 0,09	3,02 \pm 0,03	2,66 \pm 0,07	2,70 \pm 0,22
Exp 3	3,20 \pm 0,00	3,10 \pm 0,00	2,83 \pm 0,03	2,73 \pm 0,06	2,62 \pm 0,03
Exp 4	3,53 \pm 0,11	3,07 \pm 0,11	2,90 \pm 0,05	2,70 \pm 0,00	2,63 \pm 0,06
Exp 5	3,27 \pm 0,15	3,07 \pm 0,06	2,85 \pm 0,05	2,66 \pm 0,06	2,55 \pm 0,05
Exp 6	3,40 \pm 0,10	3,07 \pm 0,06	2,83 \pm 0,06	2,70 \pm 0,00	2,63 \pm 0,03
Exp 7	3,57 \pm 0,25	2,97 \pm 0,03	2,97 \pm 0,06	2,66 \pm 0,06	2,57 \pm 0,11
Exp 8	3,67 \pm 0,11	3,10 \pm 0,00	2,93 \pm 0,06	2,66 \pm 0,06	2,58 \pm 0,03
Exp 9	3,47 \pm 0,06	3,13 \pm 0,06	2,82 \pm 0,03	2,60 \pm 0,00	2,60 \pm 0,00
Exp 10	3,37 \pm 0,06	2,93 \pm 0,08	2,95 \pm 0,05	2,70 \pm 0,00	2,58 \pm 0,08
Exp 11	3,43 \pm 0,06	3,10 \pm 0,00	2,90 \pm 0,10	2,78 \pm 0,03	2,62 \pm 0,08
Exp 12	3,45 \pm 0,06	3,06 \pm 0,08	2,90 \pm 0,04	2,68 \pm 0,00	2,61 \pm 0,10
Exp 13	3,48 \pm 0,08	3,07 \pm 0,06	2,87 \pm 0,03	2,56 \pm 0,06	2,72 \pm 0,03
Exp 14	3,52 \pm 0,08	3,10 \pm 0,00	3,03 \pm 0,06	2,66 \pm 0,03	2,57 \pm 0,06
Exp 15	3,47 \pm 0,47	3,02 \pm 0,08	2,95 \pm 0,08	2,73 \pm 0,03	2,65 \pm 0,13

Tabela 33. Debljina tableta komprimovanih pri zadatom pritisku kompresije (za tablete izrađene od različitih materijala)

Pritisak kompresije (MPa)	Debljina tableta (srednja vrednost \pm SD (mm))				
	35	69	104	139	173
Paracetamol	/	/	/	2,68 \pm 0,03	3,10 \pm 0,36
α -laktosa monohidrat	/	/	/	2,68 \pm 0,08	2,70 \pm 0,10
MCC	3,77 \pm 0,06	3,18 \pm 0,10	2,93 \pm 0,06	2,80 \pm 0,17	2,63 \pm 0,05
Smeša praškova	3,35 \pm 0,05	3,08 \pm 0,03	3,03 \pm 0,06	2,70 \pm 0,12	2,92 \pm 0,03
Neobložene granule	3,47 \pm 0,12	3,13 \pm 0,11	3,18 \pm 0,03	2,90 \pm 0,00	2,67 \pm 0,06

Tabela 34. Čvrstina tableta komprimovanih pri zadatom pritisku kompresije (za tablete izrađene od obloženih granula)

Pritisak kompresije (MPa)	Čvrstina tableta (srednja vrednost \pm SD (N))				
	35	69	104	139	173
Exp 1	23,67 \pm 1,53	40,00 \pm 2,00	52,00 \pm 1,00	61,33 \pm 1,15	62,33 \pm 1,53
Exp 2	22,67 \pm 2,08	36,33 \pm 1,53	50,00 \pm 0,00	57,33 \pm 4,16	70,67 \pm 2,88
Exp 3	22,00 \pm 2,00	39,33 \pm 1,53	53,67 \pm 0,58	63,33 \pm 5,13	71,33 \pm 3,21
Exp 4	24,33 \pm 0,58	36,00 \pm 1,00	50,33 \pm 0,58	61,00 \pm 5,57	69,67 \pm 2,88
Exp 5	22,67 \pm 1,53	38,67 \pm 1,15	51,33 \pm 0,58	64,33 \pm 1,15	63,67 \pm 1,15
Exp 6	22,67 \pm 1,15	38,33 \pm 1,15	53,00 \pm 2,65	62,67 \pm 1,15	65,67 \pm 2,31
Exp 7	23,33 \pm 1,15	37,67 \pm 0,58	49,00 \pm 1,00	61,33 \pm 4,51	62,33 \pm 1,15
Exp 8	23,00 \pm 3,46	39,67 \pm 2,08	54,00 \pm 1,00	63,33 \pm 3,21	69,67 \pm 3,06
Exp 9	21,33 \pm 0,58	40,00 \pm 1,00	52,33 \pm 1,15	62,00 \pm 0,00	68,00 \pm 1,73
Exp 10	24,00 \pm 1,53	37,33 \pm 0,58	50,00 \pm 1,73	67,33 \pm 3,79	68,33 \pm 1,15
Exp 11	23,67 \pm 0,58	37,67 \pm 0,58	50,00 \pm 0,00	60,67 \pm 2,52	69,33 \pm 0,58
Exp 12	21,67 \pm 1,53	39,67 \pm 2,31	54,00 \pm 1,00	62,00 \pm 0,00	64,00 \pm 1,73
Exp 13	21,67 \pm 0,58	40,67 \pm 2,31	54,00 \pm 1,73	62,33 \pm 3,06	66,67 \pm 3,21
Exp 14	22,67 \pm 1,53	37,67 \pm 1,53	53,67 \pm 2,52	57,67 \pm 2,89	66,00 \pm 0,00
Exp 15	24,33 \pm 3,06	37,33 \pm 0,58	49,33 \pm 1,15	59,00 \pm 2,00	69,67 \pm 0,58

Tabela 35. Čvrstina tableta komprimovanih pri zadatom pritisku kompresije (za tablete izrađene od različitih materijala)

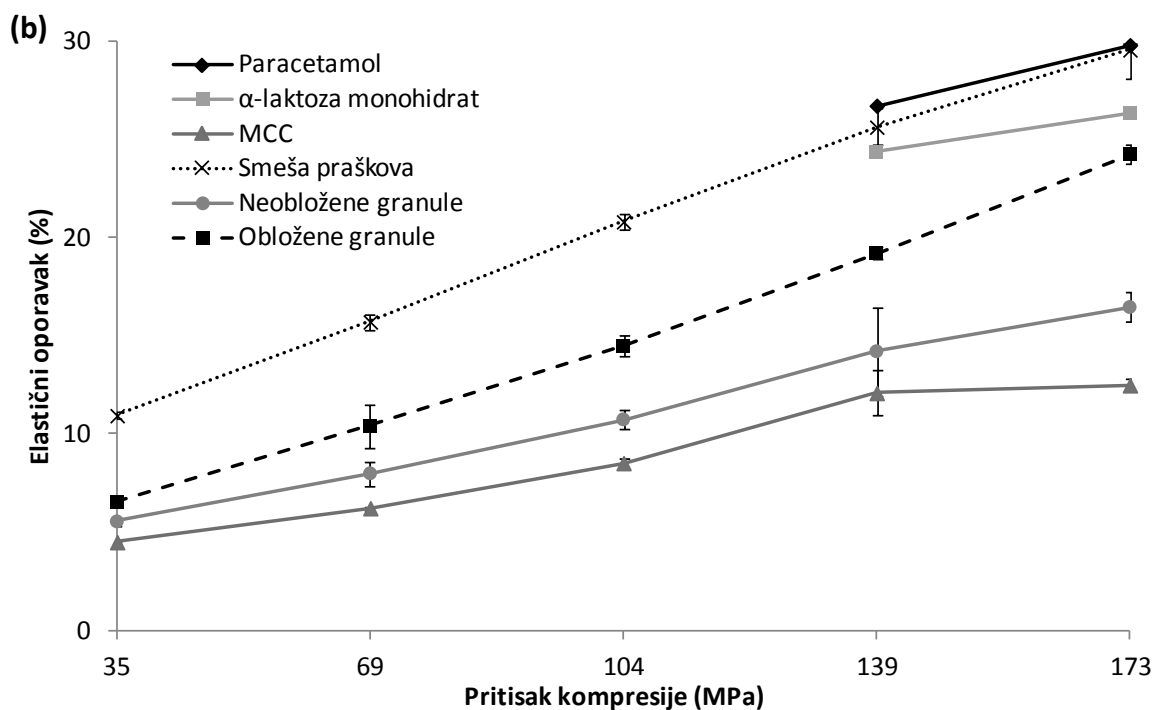
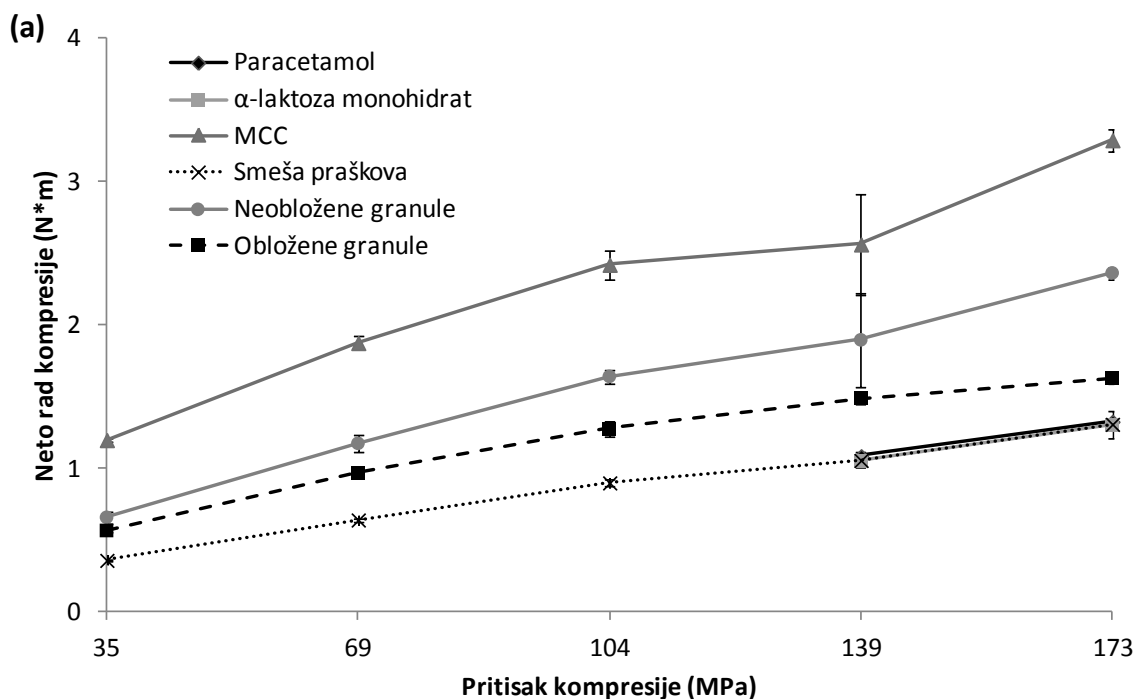
Pritisak kompresije (MPa)	Čvrstina tableta (srednja vrednost \pm SD (N))				
	35	69	104	139	173
α -laktoza monohidrat	/	/	/	/	26,67 \pm 3,06
MCC	71,33 \pm 0,58	122,00 \pm 4,00	174,33 \pm 5,86	206,67 \pm 12,70	213,67 \pm 3,30
Smeša praškova*	/	18,00 \pm 0,00	26,67 \pm 1,53	31,67 \pm 1,15	42,00 \pm 1,73
Neobložene granule	17,33 \pm 2,08	27,00 \pm 2,00	42,00 \pm 4,36	55,67 \pm 6,43	86,33 \pm 9,07

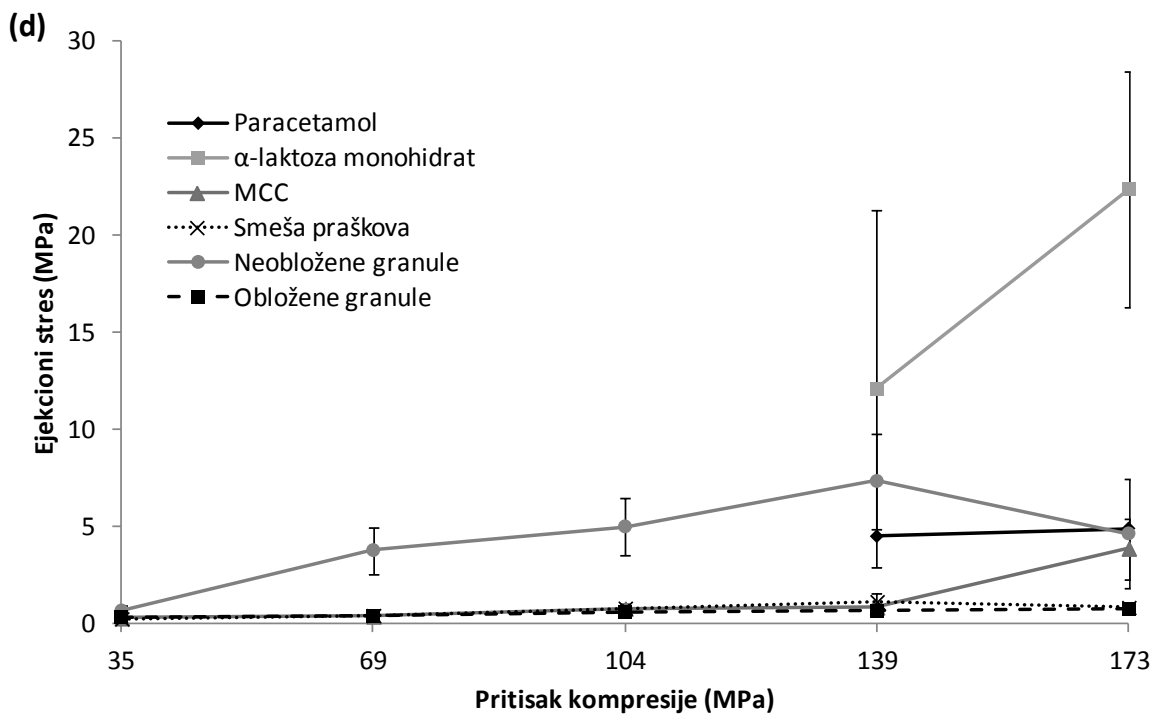
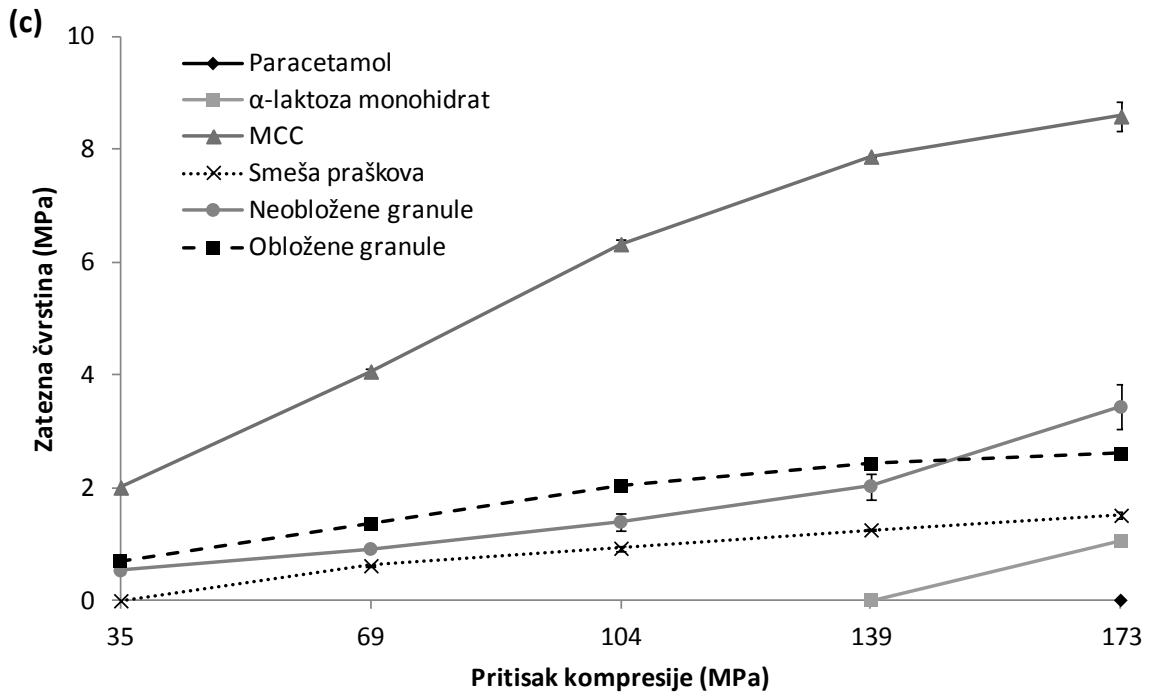
*smeša praškova odgovara sastavu obloženih granula

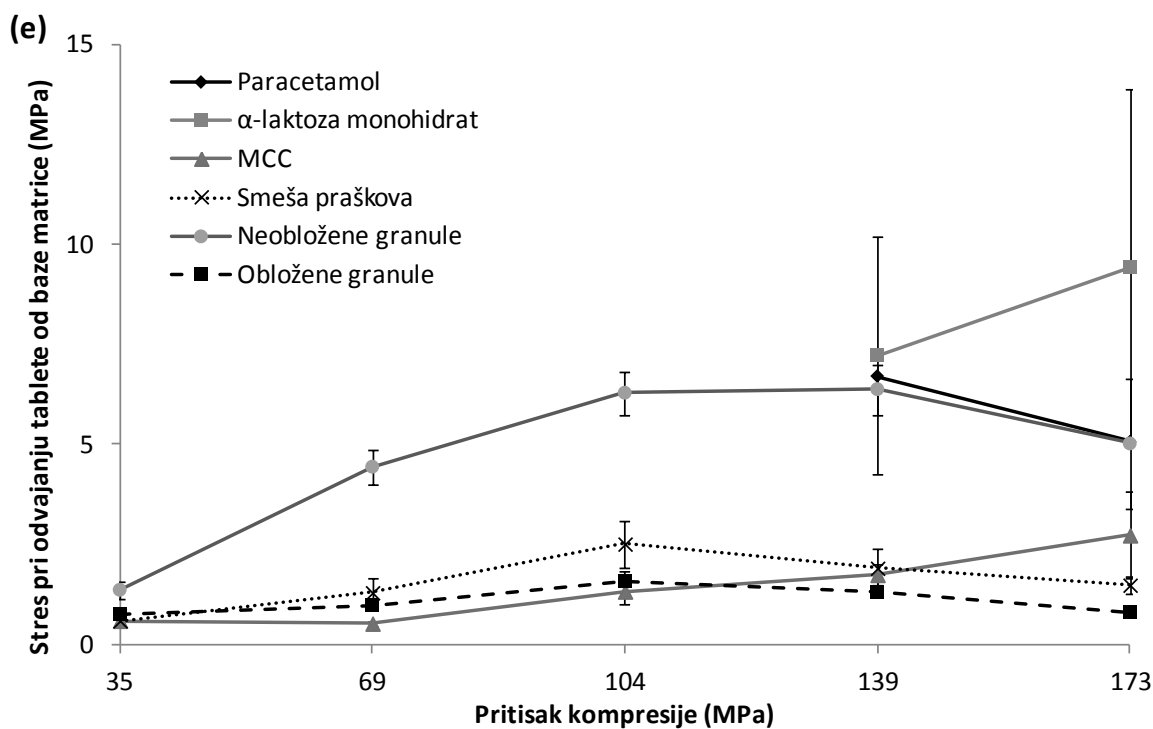
Na osnovu podataka koje generiše *Gamlen* uređaj, izračunati su parametri kojima se detaljnije mogu opisati tabletabilne karakteristike ispitivanih materijala, kao što su neto rad kompresije, elastični oporavak, zatezna čvrstina, ejakcioni stres i stres pri odvajanju tablete od baze matrice, a rezultati su prikazani grafički (slike 21 i 22). Radi lakšeg poređenja dobijenih rezultata, pre svega sa literaturnim podacima, x-osa na svim grafičkim prikazima je predstavljena kao pritisak kompresije u MPa. Prilikom rada na uređaju za tabletiranje, sila kompresije se podešava preko opterećenja klipa izraženog u kg, a kako je u svim eksperimentima primenjena matrica istih dimenzija, postignuti pritisak zavisi samo od zadatog opterećenja u kg.

Vrednosti koje se odnose na uzorke obloženih granula, prikazane na slici 21, predstavljaju rezultate dobijene komprimovanjem granula iz Exp 12 (tabela 12). Naime, analizom dobijenih rezultata (tabele 32, 34, slika 22), uočeno je da su razlike u tabletabilnim karakteristikama između različitih serija granula obloženih u okviru eksperimentalnog dizajna (Exp 1 – Exp 15; tabela 12) veoma male (*SD* izmerenog/izračunatog parametra između svih serija je manja od *SD* unutar jedne serije). Stoga su kao reprezentativni uzorak za poređenje sa podacima dobijenim kompresijom

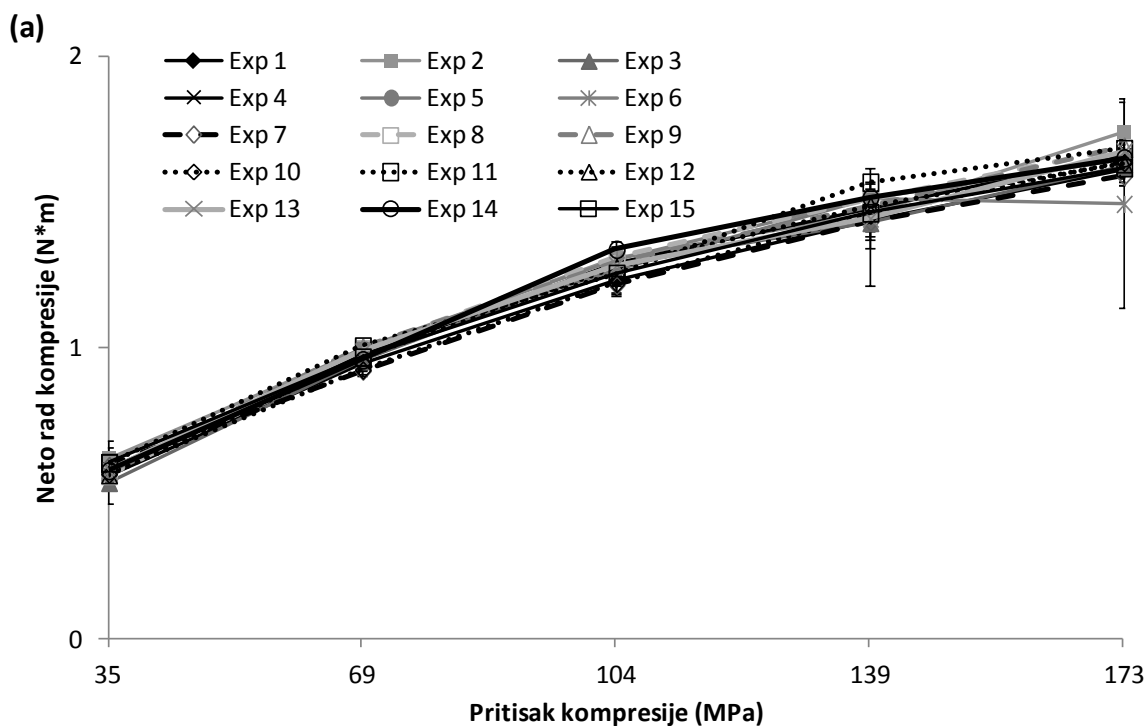
ostalih ispitivanih materijala (neobložene granule, smeša praškova i pojedinačne supstance) odabrane granule obložene pod uslovima procesa unutar definisanog prostora za dizajn, odnosno granule iz Exp 12.

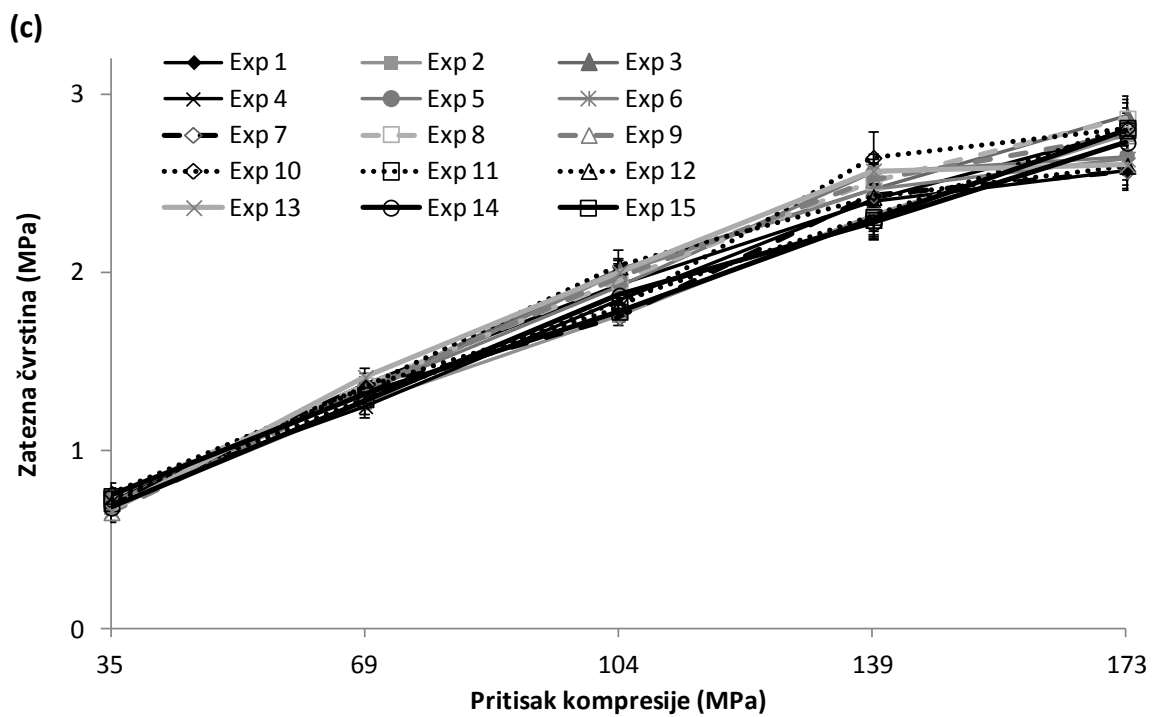
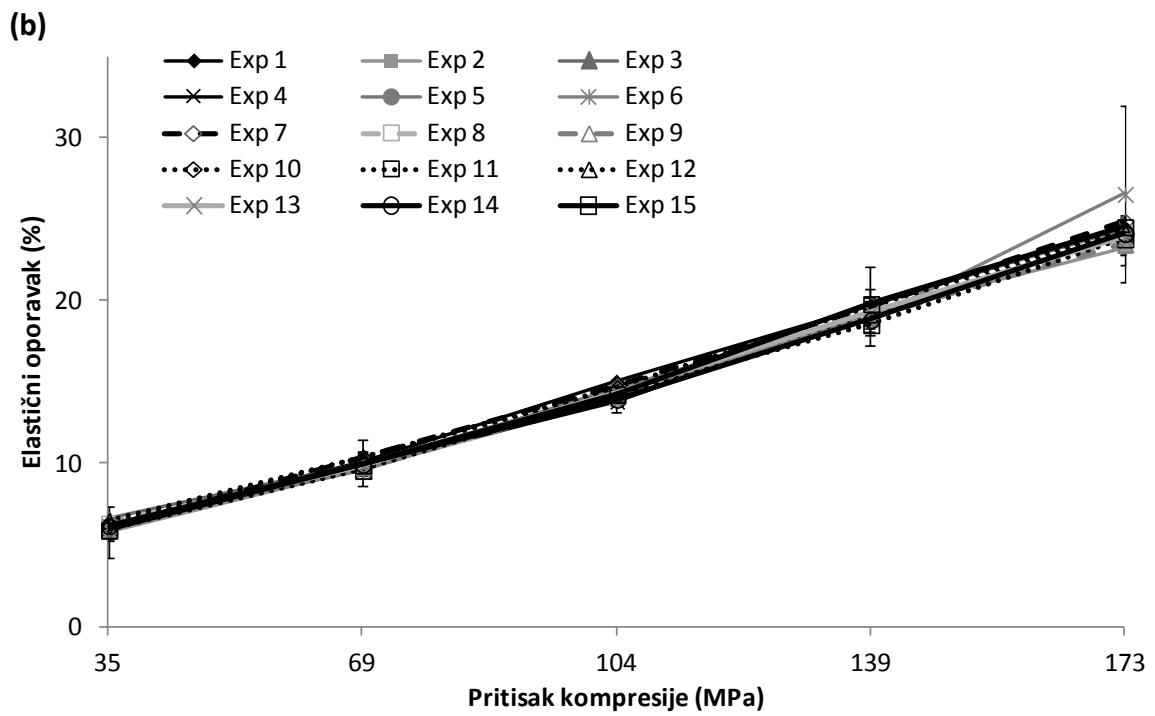


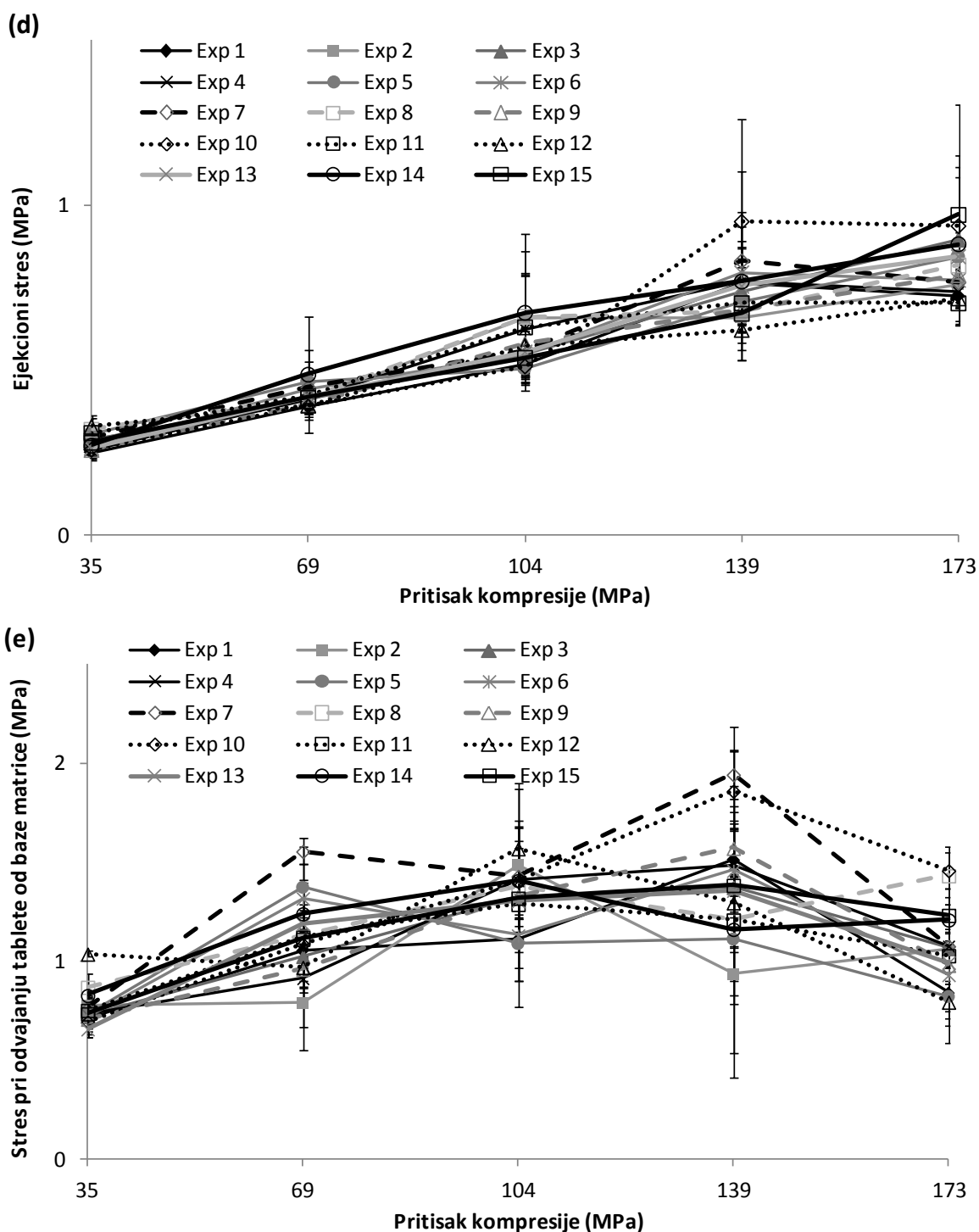




Slika 21. Izračunati parametri (srednja vrednost \pm *SD*) kojima su opisane tabletabilne karakteristike ispitivanih materijala, komprimovanih pri zadatim pritiscima kompresije: neto rad kompresije (profili za paracetamol i α -laktozu monohidrat se preklapaju) (a); elastični oporavak (b); zatezna čvrstina (c); ejskioni stres (d); stres pri odvajanju tablete od baze matrice (e)







Slika 22. Izračunati parametri (srednja vrednost \pm *SD*) kojima su opisane tabletabilne karakteristike obloženih granula, komprimovanih pri zadatim pritiscima kompresije: neto rad kompresije (a); elastični oporavak (b); zatezna čvrstina (c); ejezioni stres (d); stres pri odvajanju tablete od baze matrice (e)

Prema rezultatima dvofaktorske ANOVA-e, statistički značajan efekat na sve ispitivane parametre (debljina, otpornost na lomljenje i zatezna čvrstina tablete, ukupan i neto rad kompresije, elastični oporavak, stres pri odvajanju tablete od baze matrice i ejezioni stres) pokazuju i pritisak kompresije i vrsta materijala za tabletiranje ($p < 0,01$).

Debljina tableta se kod svih ispitivanih materijala smanjuje sa porastom sile kompresije, kao što se i očekivalo (tabele 32, 33). Određena odstupanja se mogu objasniti izvesnim varijacijama u masi tableta. Naime, tablete izrađene u ovom setu eksperimenata su odgovarale zahtevima Ph. Eur. 10.0 za ispitivanje variranja mase, sa tim da je masa pojedinačnih tableta varirala u dozvoljenom opsegu $100 \text{ mg} \pm 10\%$.

Rezultati su pokazali da čvrstina tableta izrađenih od neobloženih i obloženih granula, kao i od smeše praškova i MCC, raste sa porastom sile kompresije (tabele 34, 35). Dodatno, čvrstinu tableta izrađenih od smeše praškova, pri pritisku kompresije od 35 MPa, nije bilo moguće izmeriti, jer su se dobijene tablete raspadale pri najmanjoj manipulaciji. Trend porasta/smanjenja čvrstine tableta izrađenih od α -laktoze monohidrata i paracetamola, sa porastom sile kompresije nije bilo moguće definisati, zbog loše kompresibilnosti datih materijala. Komprimovanjem α -laktoze monohidrata, kao i paracetamola, pri pritisku manjem od 139 MPa nije se formirao komprimat, odnosno tableta. Čvrstina tableta izrađenih od paracetamola se nije mogla izmeriti ni kada je pritisak kompresije iznosio 173 MPa, jer su se dobijene tablete raspadale pri merenju prečnika (korak koji prethodi merenju čvrstine tablete na uređaju za ispitivanje). Komprimovanjem α -laktoze monohidrata, čvrstina tablete se mogla izmeriti samo ukoliko je primenjen maksimalan pritisak kompresije (173 MPa), gde je izmerena čvrstina veća od 15 N, koliko iznosi donja granica uređaja za ispitivanje.

Na osnovu izračunatih vrednosti neto rada kompresije i elastičnog oporavka, opisani su mehanizmi deformacije ispitivanih materijala za tabletiranje, odnosno udeo plastične i elastične deformacije materijala. Za dobru kompresibilnost materijala pogodno je da preovlađuje plastični tip deformacije. Ukoliko je elastični oporavak značajan, odnosno materijal se deformiše elastično, postoji povećan rizik od laminacije (kapingovanja) tablete u fazi dekompresije ili pri izbacivanju tablete iz matrice (Garr i Rubinstein, 1991; Armstrong, 2007b). Na slikama 21a i b prikazane su vrednosti neto rada kompresije i elastičnog oporavka i za pojedinačne komponente (paracetamol, α -laktoza monohidrat i MCC), s obzirom na to da navedene supstance čine preko 85% masenog udela obloženih granula. Dodatno, tip deformacije ove tri supstance je dobro poznat i opisan u literaturi, te se rezultati dobijeni za neobložene i obložene granule i smešu praškova mogu lakše protumačiti. Naime, paracetamol prilikom kompresije podleže fragmentaciji, a zbog izrazitog elastičnog oporavka nakon izbacivanja iz matrice, pokazuje veoma lošu kompresibilnost (Obiorah 1978; Garekani i sar., 2001). α -laktoza monohidrat je poznata kao krt materijal koji se takođe pri pritisku konsoliduje fragmentacijom (de Boer i sar., 1986). Sa druge strane, MCC je poznata po izrazitoj plastičnoj deformaciji u toku kompresije (David i Augsburger, 1977; Rubinstein, 1988), što se može zapaziti i na slikama 21a i b. Naime, od svih ispitivanih materijala, kod MCC se uočavaju najveći neto rad kompresije (slika 21a) i najmanji elastični oporavak (slika 21b). Najmanji neto rad kompresije (udeo plastične deformacije), a istovremeno i najveći elastični oporavak, od svih ispitivanih materijala (ne uzimajući u obzir paracetamol i α -laktozu monohidrat), dobijeni su komprimovanjem smeše praškova (slika 21a i b). Ovakav rezultat se može objasniti velikim masenim udelom supstanci koje su izuzetno loše kompresibilnosti, kao što su paracetamol i α -laktoza monohidrat (skoro 80% (m/m)). Međutim, druge komponente u sastavu smeše su uticale na njena tabletabilna svojstva i doprinele formiranju kompakta pri različitim pritiscima kompresije, usled čega se tabletabilna svojstva smeše praškova razlikuju u odnosu na svojstva čistog paracetamola ili α -laktoze monohidrat. Dalje, upoređivanjem neto rada kompresije neobloženih i obloženih granula može se zaključiti da je plastična deformacija više izražena kod neobloženih

granula (veći neto rad kompresije; slika 21a). Kod neobloženih granula se ujedno uočava i manji elastični oporavak (slika 21b). Drugim rečima, obložene granule u poređenju sa neobloženim poseduju veći udeo elastične deformacije, što se može dovesti u vezu sa uticajem lipidnog omotača. Tačan mehanizam kojim lipidni omotač umanjuje plastičnu, a povećava elastičnu deformaciju granula nije poznat i objašnjenje ovog fenomena zahteva dodatna istraživanja. Prikazani podaci (slika 21b) pokazuju i da sa porastom pritiska kompresije raste elastični oporavak kod svih ispitivanih materijala, pri čemu se razlika između neobloženih i obloženih granula povećava sa porastom pritiska kompresije. Na osnovu dobijenih rezultata moglo bi se pretpostaviti da će kompaktilnost granula biti smanjena nakon oblaganja topljenjem. Međutim, ova tabletabilna karakteristika materijala je procenjena merenjem zatezne čvrstine izrađenih tableta i dobijeni rezultati ispitivanja ne podržavaju ovakvu pretpostavku (slika 21c). Naime, osim u slučaju primene maksimalnog pritiska kompresije (173 MPa), tablete izrađene od obloženih granula su pokazale veću zateznu čvrstinu od tableta dobijenih komprimovanjem neobloženih granula. S obzirom na to da kompaktilnost materijala zavisi od međučestičnih veza koje se formiraju pod dejstvom pritiska, bolja kompaktilnost, odnosno zatezna čvrstina u slučaju tableta izrađenih od obloženih granula može se objasniti formiranjem lipidnog matriksa. Stvaranje matriksa usled komprimovanja i preraspodele lipidne supstance, opisano je i od strane Kneževića i saradnika (2009). Sa porastom pritiska kompresije, zatezna čvrstina tableta izrađenih od obloženih granula postepeno raste (slika 21c) i to od 0,71 MPa (pri pritisku kompresije od 35 MPa) do maksimalnih 2,60 MPa (pri pritisku kompresije od 173 MPa). Prema podacima iz literature, zatezna čvrstina tableta treba da bude najmanje 1,7 MPa kako ne bi došlo do mehaničkih oštećenja tablete, posebno kada je reč o komercijalnoj proizvodnji. Takođe, poželjno je i da zatezna čvrstina bude veća od 2 MPa, mada vrednosti preko 1 MPa mogu biti prihvatljive, ukoliko tablete naknadno neće biti izložene značajnijem mehaničkom stresu (Pitt i Heasley, 2013; Pitt i sar., 2015). Komprimovanjem obloženih granula, zatezna čvrstina veća od 2 MPa postignuta je pri pritiscima kompresije ≥ 104 MPa. Pri kompresiji od 69 MPa, izmerena zatezna čvrstina je iznosila oko 1,33 MPa, što odgovara navedenoj prihvatljivoj donjoj granici. U poređenju sa tabletama izrađenim od granula (neobloženih i obloženih), čvrstina tableta izrađenih od smeše praškova je znatno manja (tabele 34, 35), a samim tim i zatezna čvrstina (slika 21c). Navedeni rezultati su očekivani i u skladu sa velikim udelom elastične deformacije prilikom kompresije ovog materijala (slika 21b). Dodatno, komprimovanjem smeše praškova na 35 MPa, dobijene su tablete koje su se raspadale pri rukovanju i čvrstinu nije bilo moguće izmeriti. Kao što je ranije opisano, komprimovanjem paracetamola, čak i pri relativno visokim vrednostima pritiska kompresije (173 MPa), dobijene su tablete koje su se raspadale i čvrstinu nije bilo moguće izmeriti. U slučaju α -laktose monohidrata, izrađene tablete su imale čvrstinu koja se mogla izmeriti (veća od 15 N) samo prilikom kompresije pod pritiskom od 173 MPa, a izračunata zatezna čvrstina je najmanja od svih ispitivanih materijala pri navedenom pritisku kompresije (slika 21c).

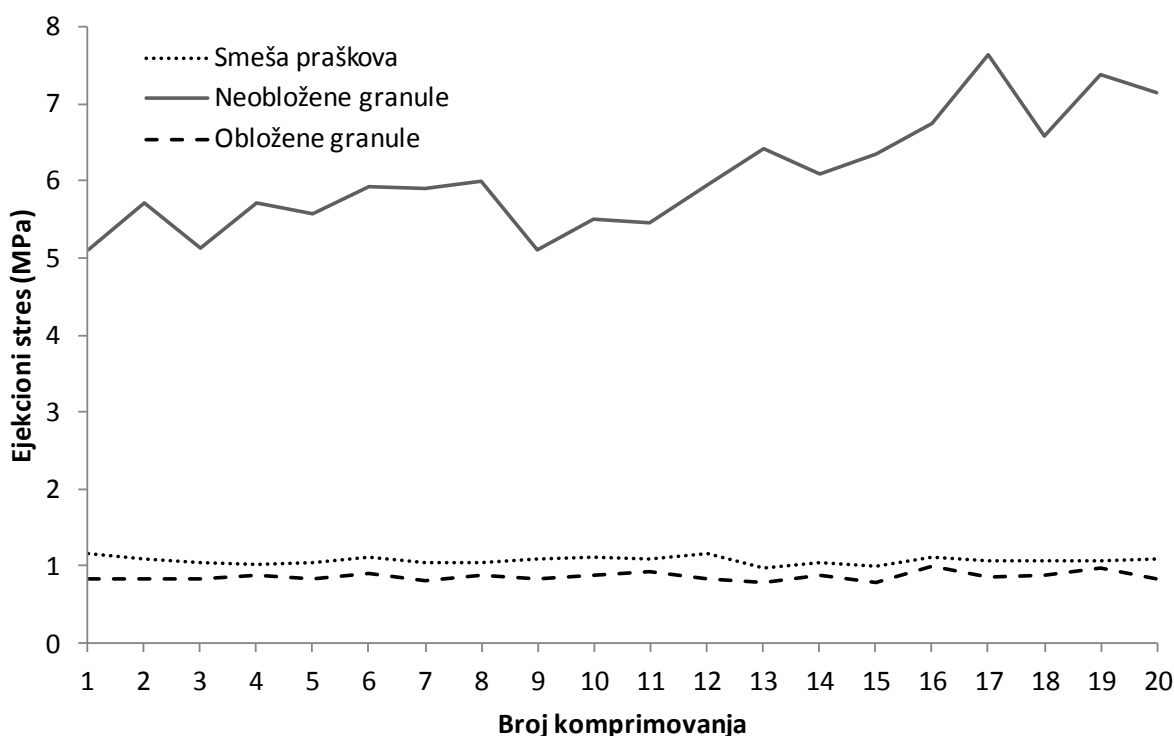
Ejkcioni stres je fizička veličina na osnovu koje se može proceniti rizik od laminacije tablete prilikom njenog izbacivanja iz matrice. Prema literaturnim podacima, ejkcioni stres ne bi trebalo da bude veći od 5 MPa, a preporučena maksimalna vrednost je 3 MPa (Pitt i sar., 2015). Veće vrednosti ejkcionog stresa ukazuju na povećan rizik od oštećenja tablete i ukazuju da je u sastav formulacije neophodno uključiti lubrikans. Kako bi se procenio lubrikantni efekat lipidne obloge, u uzorke ispitivanih materijala za tabletiranje nije dodat lubrikans. Prema dobijenim rezultatima, nakon komprimovanja obloženih granula, čak i pri pritisku od 173 MPa, ejkcioni stres

je bio manji od 1 MPa. Suprotno tome, kod tableta izrađenih od neobloženih granula, izmerene vrednosti ejakcionog stresa su bile veće od 3 MPa već pri pritisku kompresije od 69 MPa (slika 21d). Iako vizuelno oštećenja poput laminacije nisu uočena, dobijene vrednosti ejakcionog stresa za tablete izrađene od neobloženih granula ukazuju na povećan rizik od oštećenja tableta i potrebu za dodatkom lubrikansa. Sa druge strane, pokazano je da, pri tabletiranju obloženih granula, primena lubrikansa nije potrebna, i ovo zapažanje se odnosi na celokupan ispitivani opseg vrednosti pritiska kompresije. Naime, u slučaju tableta izrađenih od obloženih granula, ejakcioni stres je gotovo nezavisan od pritiska kompresije, odnosno, linearni porast ovog parametra u ispitivanom opsegu pritiska kompresije je jedva primetan (mali nagib prave) (slika 21d). Navedene osobine tableta izrađenih od obloženih granula se mogu pripisati jedino prisustvu lipidne supstance, odnosno lipidne obloge i njenom lubrikantnom delovanju. Ejakcioni stres izmeren nakon komprimovanja smeše praškova takođe ukazuje na postojanje lubrikantnog delovanja lipidne supstance, čak i kada nije prisutan u formi obloge. Naime, ejakcioni stres tableta izrađenih od smeše praškova na 35 i 69 MPa je skoro isti kao i u slučaju komprimovanja obloženih granula pod istim uslovima. Neznatne razlike se mogu uočiti pri većim pritiscima kompresije (slika 21d), pri čemu su niže vrednosti ejakcionog stresa izmerene kod tableta od obloženih granula.

Fazi izbacivanja tablete iz matrice (ejekcija tablete) prethodi odvajanje tablete od baze matrice. Stres pri odvajanju tablete od baze matrice se ne koristi često u opisivanju tabletabilnih karakteristika materijala. Naime, pogodnost materijala za proizvodnju se najčešće meri/opisuje ejakcionim stresom. Međutim, stres pri odvajanju tablete od baze matrice je takođe tabletabilna osobina materijala, jer ukazuje na rizik od oštećenja tablete pri njenom odvajanju od površina matrice. Ova fizička veličina je srazmerna adheziji i sklonosti materijala ka lepljenju za površine matrice, odnosno pokazatelj je lubrikantnog svojstva materijala (slično ejakcionom stresu). U skladu sa time, preporuka je da se stres pri odvajanju tablete od baze matrice ispita u svojstvu CQA kako bi se potpunije opisale tabletabilne osobine određenog materijala (Gamlen, 2017). Dalje, u pomenutom radu se navodi da ovaj parametar može biti manji ili veći od ejakcionog stresa, zavisno od materijala, odnosno može se reći da je odnos ova dva parametra karakteristika materijala. Detaljnija objašnjenja u vezi navedene korelacije nisu opisana. Međutim, ukoliko bi stres pri odvajanju tablete od baze matrice bio značajno veći od ejakcionog stresa, to bi značilo da postoji snažna interakcija između materijala za tabletiranje i površina matrice. Analizom rezultata prikazanih na slikama 21d i e može se uočiti da je za ispitivane materijale ejakcioni stres niži od stresa pri odvajanju tablete od baze matrice ukoliko je pritisak kompresije 35-104 MPa. Isti trend se nastavlja i pri većim pritiscima kompresije, uz određene izuzetke: pri komprimovanju neobloženih granula na 139 MPa, MCC na 173 MPa i α -laktoze monohidrata na 139 i 173 MPa. Ovde takođe treba napomenuti da su vrednosti ova dva parametra u slučaju neobloženih granula (pri pritisku od 139 MPa), kao i MCC (pri pritisku od 173 MPa) veoma bliske i da se od svih ispitivanih materijala jedino α -laktoza monohidrat izdvaja kao primer gde je ejakcioni stres veći od stresa pri odvajanju tablete od baze matrice. Dalje, analizom dobijenih rezultata uočava se da promene oba parametra imaju sličan trend, odnosno da prate određeni odnos. Tako je u slučajevima niskog ejakcionog stresa i stres pri odvajanju tablete od baze matrice takođe nizak i obratno. Kao što je ranije opisano, poređenjem ejakcionog stresa tableta izrađenih od smeše praškova i tableta izrađenih od obloženih granula ne mogu se uočiti značajne razlike (slika 21d). Međutim, poređenjem stresa pri odvajanju istih tableta od baze matrice, posebno ukoliko se posmatraju tablete dobijene pri pritisku kompresije 69 ili 104 MPa, lako je uočiti da su niže vrednosti izmerene u slučaju tableta od obloženih granula

(slika 22e). Drugim rečima, može se zaključiti da je stres pri odvajanju tablete od baze matrice bolji pokazatelj lubrikantnog svojstva materijala, odnosno da je osetljivost ovog parametra veća u odnosu na ejakcioni stres. Takođe, može se zaključiti da se smeša praškova pri srednjim vrednostima pritiska kompresije više lepi za zidove matrice od obloženih granula. Međutim, vrednosti parametara su dovoljno niske (ejakcioni stres manji od 1,2 MPa, stres pri odvajanju tablete od baze matrice manji od 2,6 MPa, u celom opsegu pritiska kompresije), tako da nisu uočena oštećenja tablete, kao ni adhezija ili lepljenje materijala za površine matrice. Dodatno, ispitivanje variranja mase tableta je potvrdilo da kod ispitivanih tableta nije bilo značajnijeg gubitka materijala.

Sukcesivno tabletiranje uzoraka materijala, bez čišćenja matrice između dva uzastopna komprimovanja, sprovedeno je kako bi se simulirali industrijski uslovi na rotacionoj tablet mašini. Po 20 tableta je izrađeno od smeše praškova, neobloženih i obloženih granula. U ovom setu eksperimenata je primećeno da, tokom tabletiranja neobloženih granula, ejakcioni stres postepeno raste, dok su u slučaju tableta izrađenih od obloženih granula ili smeše praškova vrednosti ejakcionog stresa skoro nepromenjene (slika 23). Dobijeni rezultati dodatno potvrđuju lubrikantni efekat lipidne pomoćne supstance koja može biti prisutna u obliku lipidne obloge ili kao komponenta smeše praškova za tabletiranje.



Slika 23. Ejekcioni stres tableta dobijenih komprimovanjem različitih materijala pri pritisku od 104 MPa, bez čišćenja matrice između dve uzastopne kompresije

4.5.2. Tabletiranje pri zadatoj debljini tablete

Komprimovanje materijala do zadate debljine tablete sprovedeno je u cilju dodatnog opisivanja tabletabilnih karakteristika ispitivanih materijala, naročito u pogledu elastičnih osobina. Vrednosti analiziranih parametara navedene su u tabelama 36 i 37. Na slikama 24a i b dati su uporedni prikazi ejectionog stresa i stresa pri odvajanju tablete od baze matrice.

Rezultati dobijeni ispitivanjem različitih serija obloženih granula (Exp 1 – Exp 15; tabela 12), ukazuju da su razlike u vrednostima ispitivanih parametara (pritisak kompresije, neto rad kompresije, debljina tablete, elastični oporavak, čvrstina i zatezna čvrstina tablete, ejectioni stres, stres pri odvajanju tablete od baze matrice) između različitih serija obloženih granula, veoma male (tabela 36; slika 24a). Radi lakšeg poređenja rezultata dobijenih komprimovanjem obloženih granula i ostalih ispitivanih materijala (neobložene granule, smeša praškova i pojedinačne supstance), kao reprezentativni uzorak obloženih granula, prikazan na slici 24b, uzet je Exp 12 (tabela 12).

Tabela 36. Karakteristike materijala za tabletiranje i tableta komprimovanih pri zadatoj debljini tablete (srednja vrednost \pm SD) (za tablete izrađene od obloženih granula)

	Pritisak kompresije (MPa)	Neto rad kompresije (N*m)	Debljina tablete (mm)	Elastični oporavak (%)	Čvrstina tablete (N)	Zatezna čvrstina tablete (MPa)
Exp 1	32,83 \pm 3,57	0,50 \pm 0,05	3,20 \pm 0,00	5,92 \pm 0,23	20,67 \pm 2,88	0,69 \pm 0,10
Exp 2	30,70 \pm 2,82	0,52 \pm 0,05	3,40 \pm 0,18	5,33 \pm 0,06	20,00 \pm 2,65	0,63 \pm 0,11
Exp 3	27,01 \pm 6,53	0,41 \pm 0,11	3,20 \pm 0,00	5,53 \pm 0,32	17,66 \pm 3,21	0,59 \pm 0,11
Exp 4	36,04 \pm 1,34	0,59 \pm 0,03	3,57 \pm 0,03	5,87 \pm 0,10	23,33 \pm 1,53	0,69 \pm 0,04
Exp 5	37,15 \pm 0,83	0,59 \pm 0,03	3,20 \pm 0,00	6,01 \pm 0,22	23,67 \pm 0,58	0,79 \pm 0,02
Exp 6	40,70 \pm 6,33	0,66 \pm 0,05	3,20 \pm 0,00	6,10 \pm 0,22	25,00 \pm 0,00	0,83 \pm 0,00
Exp 7	31,07 \pm 1,77	0,49 \pm 0,03	3,57 \pm 0,03	5,51 \pm 0,21	20,33 \pm 2,31	0,61 \pm 0,06
Exp 8	27,73 \pm 1,06	0,46 \pm 0,02	3,32 \pm 0,03	5,19 \pm 0,05	19,00 \pm 0,00	0,61 \pm 0,01
Exp 9	33,82 \pm 3,24	0,54 \pm 0,05	3,20 \pm 0,00	5,75 \pm 0,19	20,33 \pm 0,58	0,68 \pm 0,02
Exp 10	26,13 \pm 3,09	0,42 \pm 0,06	3,53 \pm 0,03	5,33 \pm 0,21	17,66 \pm 1,15	0,53 \pm 0,03
Exp 11	32,76 \pm 3,00	0,56 \pm 0,05	3,57 \pm 0,03	5,54 \pm 0,22	21,67 \pm 2,31	0,64 \pm 0,07
Exp 12	35,25 \pm 8,56	0,50 \pm 0,14	3,20 \pm 0,00	5,93 \pm 0,55	26,00 \pm 2,83	0,86 \pm 0,17
Exp 13	33,33 \pm 4,85	0,54 \pm 0,08	3,20 \pm 0,00	5,66 \pm 2,93	21,33 \pm 2,31	0,71 \pm 0,08
Exp 14	27,93 \pm 8,63	0,45 \pm 0,12	3,36 \pm 0,07	5,01 \pm 1,31	21,66 \pm 3,05	0,68 \pm 0,08
Exp 15	32,77 \pm 5,91	0,53 \pm 0,10	3,57 \pm 0,03	5,75 \pm 0,29	21,00 \pm 3,45	0,62 \pm 0,11

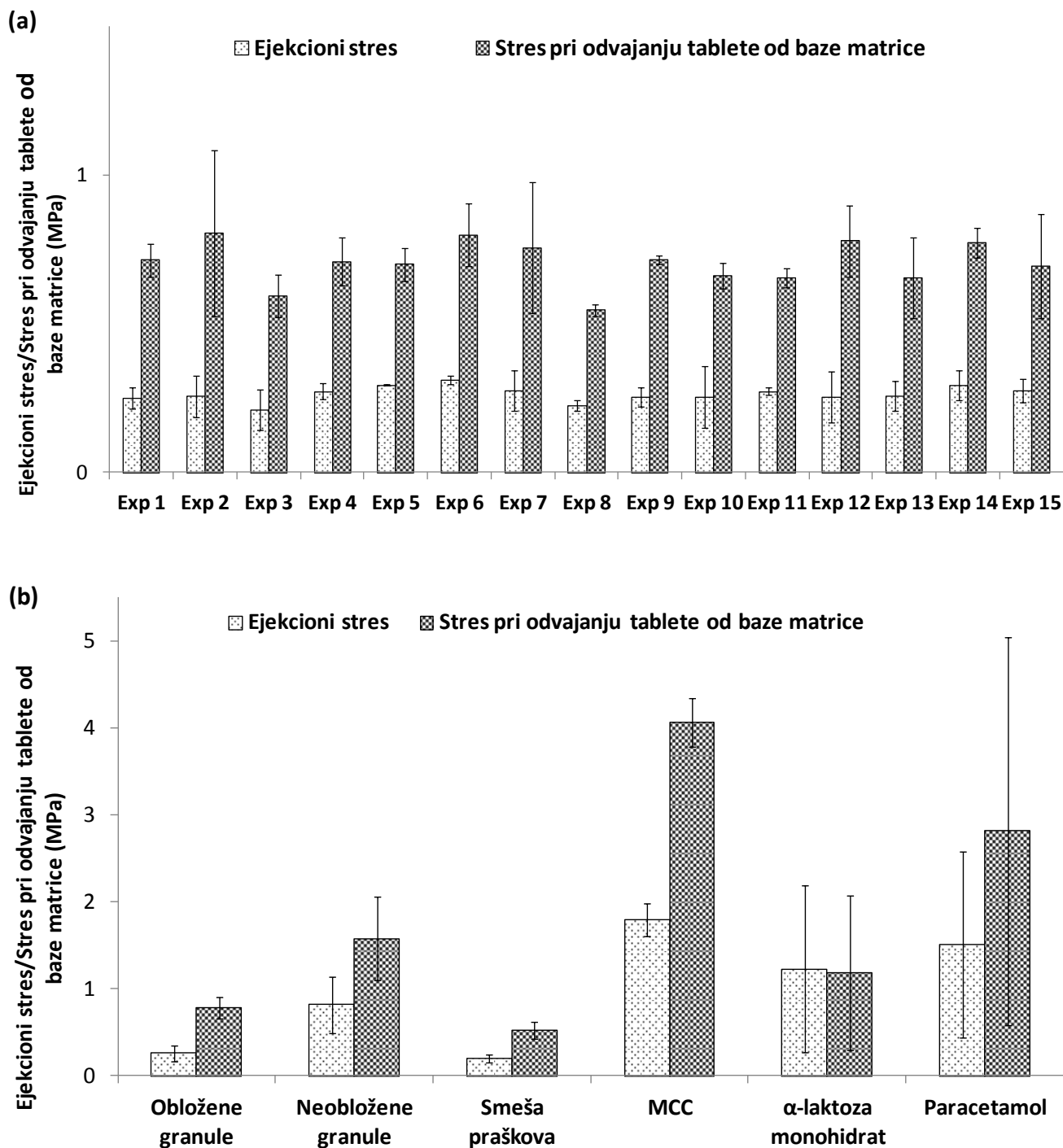
11

Tabela 37. Karakteristike materijala za tabletiranje i tableta komprimovanih pri zadatoj debljini tablete (srednja vrednost \pm SD) (za tablete izrađene od različitih materijala)

	Pritisak kompresije (MPa)	Neto rad kompresije (N*m)	Debljina tablete (mm)	Elastični oporavak (%)	Čvrstina tablete (N)	Zatezna čvrstina tablete (MPa)
Paracetamol	69,82 \pm 19,39	0,56 \pm 0,20	3,58 \pm 0,04	17,63 \pm 1,62	< 15,00	/
α -laktoza monohidrat	21,70 \pm 10,44	0,15 \pm 0,07	3,35 \pm 0,21	9,61 \pm 1,85	< 15,00	/
MCC	40,82 \pm 6,81	1,32 \pm 0,19	3,73 \pm 0,06	4,95 \pm 0,56	76,67 \pm 7,23	2,18 \pm 0,22
Smeša praškova	26,87 \pm 3,72	0,27 \pm 0,04	3,22 \pm 0,03	9,02 \pm 0,34	< 15,00	/
Neobložene granule	52,74 \pm 13,89	0,93 \pm 0,25	3,20 \pm 0,00	6,83 \pm 0,94	27,67 \pm 8,50	0,92 \pm 0,28

Iz dobijenih podataka (tabele 36, 37) se vidi da je elastični oporavak koji se javlja pri kompresiji neobloženih granula neznatno veći u poređenju sa obloženim granulama. Međutim, neto rad kompresije je znatno veći u slučaju neobloženih granula. Zapravo, pri kompresiji pod zadatim uslovima (debljina tablete 3 mm), neobložene granule su uslovile najveći neto rad kompresije od svih ispitivanih materijala (izuzev MCC), slično rezultatima dobijenim u prethodnom setu eksperimenata (komprimovanje pri zadatom pritisku kompresije). Na ovaj način je dodatno potvrđeno da neobložene granule podležu plastičnoj deformaciji prilikom kompresije, ali treba uzeti u obzir da je pritisak potreban za komprimovanje neobloženih granula (kako bi se postigla zadata debljina tablete) takođe bio znatno veći nego u slučaju kompresije obloženih granula (tabele 36, 37). Shodno tome, moglo se očekivati da će kompaktilnost neobloženih granula biti mnogo veća od kompaktilnosti obloženih granula. Međutim, poređenjem vrednosti zatezne čvrstine tableta, uočava se neznatno veća (manja od jedne *SD*) kompaktilnost tableta izrađenih od neobloženih granula, u odnosu na tablete izrađene od obloženih granula, što se može objasniti formiranjem lipidnog matriksa kod tableta izrađenih od obloženih granula. Naime, lipidni matriks koji nastaje komprimovanjem obloženih granula najverovatnije doprinosi boljem međusobnom vezivanju čestica i većoj čvrstini tablete. Dodatno, kompaktilnosti obloženih granula doprinosi i činjenica da je udeo elastične deformacije obloženih granula ipak manji u odnosu na neobložene. Dalje, analizom dobijenih vrednosti elastičnog oporavka, može se uočiti da od svih ispitivanih materijala paracetamol najviše podleže elastičnoj deformaciji, a da potom slede α -laktoza monohidrat i smeša praškova, što je u skladu sa rezultatima dobijenim u prethodnom setu eksperimenta. Loša kompaktilnost navedenih materijala (paracetamol, α -laktoza monohidrat i smeša praškova) je potvrđena ispitivanjem zatezne čvrstine. Zatezna čvrstina tableta izrađenih od smeše praškova, kao i od α -laktoze monohidrata i paracetamola, nije mogla da se izračuna, jer tablete nisu imale zadovoljavajuća mehanička svojstva i nije bilo moguće izmeriti njihovu čvrstinu. Ovakva zapažanja ukazuju na to da sama lipidna supstanca prisutna u smeši praškova nije bila dovoljna za formiranje matriksa koji bi omogućio da tablete dobijene komprimovanjem do debljine kompakta od 3 mm imaju zadovoljavajuću čvrstinu.

Ejekcioni stres i stres pri odvajanju tablete od baze matrice srazmerni su trenju koje postoji između tablete i zidova/površina matrice. Analizom oba parametra može se predvideti rizik od oštećenja tablete u poslednjim fazama tabletiranja (odvajanje i izbacivanje iz matrice).



Slika 24. Ejekcioni stres i stres pri odvajanju tablete od baze matrice (srednja vrednost \pm SD) ispitivanih tableta dobijenih komprimovanjem do zadate debljine tablete: za tablete izrađene od obloženih granula (a); za tablete izrađene od različitih materijala (b)

U poređenju sa obloženim granulama i smešom praškova, vrednosti stresa pri odvajanju tablete od baze matrice i ejekcionog stresa su mnogo veće kod neobloženih granula (slika 24b). Drugim rečima, tabletabilna svojstva obloženih granula i smeše praškova ukazuju na lubrikantno delovanje lipidne supstance, dok bi za uspešno tabletiranje neobloženih granula bilo neophodno dodati lubrikans (ekstragranularno). Ejekcioni stres za tablete izrađene od smeše praškova je čak manji u odnosu na tablete izrađene od obloženih granula (0,19 MPa prema 0,25 MPa). Međutim,

tablete izrađene od smeše praškova su imale loša mehanička svojstva i prilikom rukovanja su se raspadale, dok je zatezna čvrstina tableta od obloženih granula bila dovoljna (0,78 MPa) za njihovu dalju analizu i manipulaciju. Velika varijabilnost u vrednostima ejectionog stresa i stresa pri odvajanju tablete od baze matrice koja se može uočiti kod tableta dobijenih komprimovanjem α -laktoze monohidrata i paracetamola, posledica je raspadanja tableta, najverovatnije već u samoj matrici (jedna tableta izrađena od α -laktoze monohidrata i jedna tableta izrađena od paracetamola su se trenutno raspale prilikom pokušaja manualnog preuzimanja nakon izbacivanja tablete iz matrice), što je rezultovalo niskim vrednostima oba parametra za pomenute (pojedinačne) uzorke tableta.

4.6. Farmaceutsko-tehnološke karakteristike tableta

Na osnovu rezultata ispitivanja tabletabilnih osobina materijala, prikazanih u tabelama 32 i 34 i na slici 22, za karakterizaciju tableta u ovoj fazi istraživanja odabran je uzorak obloženih granula Exp 12 (tabela 12), dobijen pod uslovima procesa unutar definisanog prostora za dizajn. U daljem tekstu je ovaj uzorak označen terminom obložene granule. Tablete izrađene od smeše praškova, neobloženih i obloženih granula, pri pritisku kompresije od 104 MPa, ispitane su u smislu farmaceutsko-tehnoloških karakteristika, kao što su variranje mase, ujednačenost sadržaja, friabilnost, raspadljivost i brzina rastvaranja paracetamola. Dodatno, obložene granule su komprimovane pri pritiscima od 69 i 173 MPa kako bi se ispitao uticaj pritiska kompresije na karakteristike izrađenih tableta. Kompresija obloženih granula pri pritisku od 35 MPa nije sprovedena u ovom setu eksperimenata jer je pokazano da su tablete dobijene pri takvim uslovima nezadovoljavajuće zatezne čvrstine (manje od 1 MPa, slika 21c) prema preporukama iz literature (Pitt i Heasley, 2013).

Rezultati ispitivanja variranja mase su pokazali da su svi ispitivani uzorci tableta bili u granicama $100 \text{ mg} \pm 10\%$ (tabela 38). Međutim, kako je sadržaj lekovite supstance manji od 25 mg po tableti i maseni udeo manji od 25%, Ph. Eur. 10.0 u ovom slučaju zahteva ispitivanje ujednačenosti sadržaja lekovite supstance. S obzirom na to da ujednačenost sadržaja lekovite supstance ne zavisi od pritiska kompresije, ovo ispitivanje je sprovedeno samo na jednoj seriji tableta izrađenih od obloženih granula (tablete dobijene pri pritisku kompresije od 69 MPa). Iz dobijenih rezultata (tabela 38) se vidi da je ujednačenost sadržaja paracetamola u tabletama u skladu sa zahtevima Ph. Eur. 10.0, za sve ispitivane uzorke. Ovim je pokazano da je ravnomerna distribucija paracetamola održana tokom celokupnog sprovođenja eksperimenta, odnosno postupka tabletiranja.

Tabela 38. Farmaceutsko-tehnološke karakteristike tableta izrađenih od različitih materijala

Materijal za tabletiranje (pritisak kompresije)	Masa, srednja vrednost \pm <i>SD</i> (mg) (maksimalna devijacija (%))	Ujednačenost sadržaja, srednja vrednost \pm <i>SD</i> (%)	Friabilnost (%)	Raspadljivost, srednja vrednost \pm <i>SD</i> (min)
Smeša praškova (104 MPa)	99,43 \pm 0,94 (3,01)	100,23 \pm 1,84	1,10	2,12 \pm 0,36
Neobložene granule (104 MPa)	98,88 \pm 0,93 (2,66)	100,24 \pm 2,63	1,07	0,88 \pm 0,03
Obložene granule (69 MPa)	100,07 \pm 0,73 (1,83)	99,90 \pm 1,45	1,54	22,87 \pm 1,16
Obložene granule (104 MPa)	100,18 \pm 0,87 (1,82)	/	1,13	31,00 \pm 1,42
Obložene granule (173 MPa)	99,75 \pm 0,54 (1,27)	/	0,78	36,22 \pm 3,54

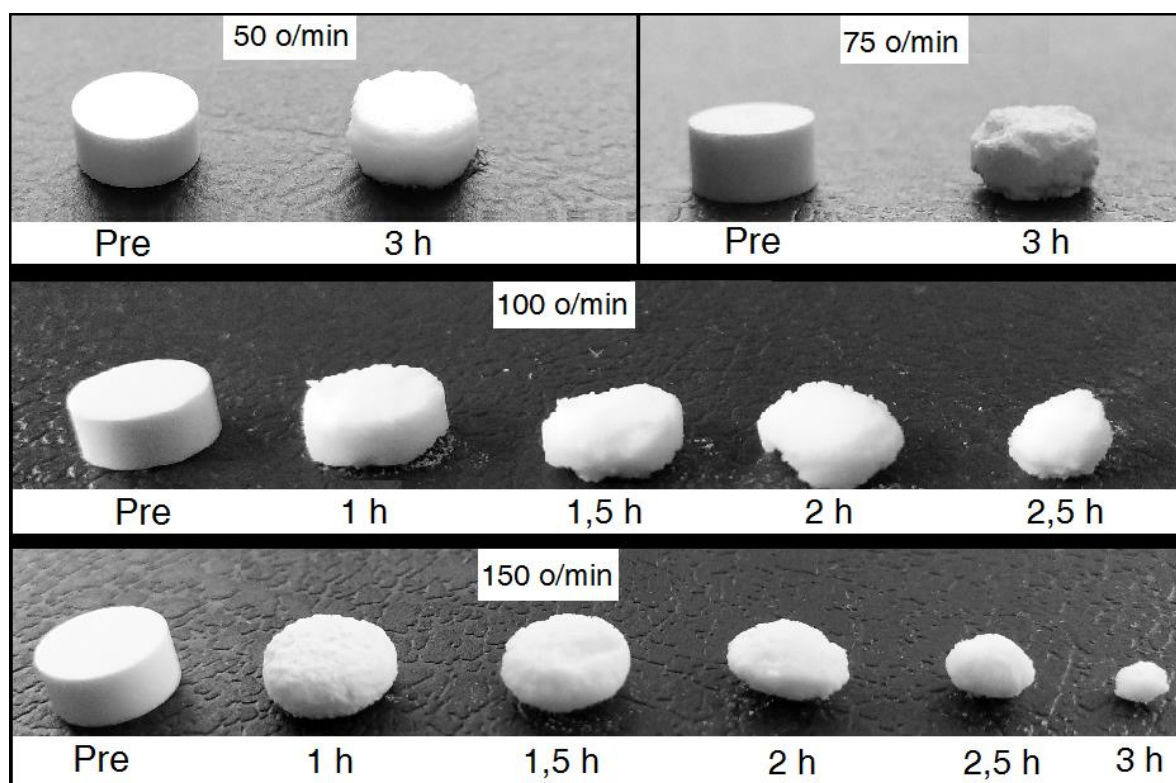
Friabilnost svih tableta, dobijenih pri pritisku kompresije od 104 MPa, bila je veća od 1% (tabela 38), koliko iznosi gornja granica propisana u Ph. Eur. 10.0. Takođe, uočava se veoma mala razlika u friabilnosti tableta izrađenih od tri ispitivana materijala pod istim uslovima. Međutim, promena u pritisku kompresije dovodi i do promena u friabilnosti tableta, tako da su tablete izrađene od obloženih granula pri kompresiji od 173 MPa pokazale friabilnost manju od 1% (tabela 38). Drugim rečima, rezultati pokazuju da se, povećanjem pritiska kompresije, mogu izraditi tablete od obloženih granula čija je friabilnost zadovoljavajuća i u skladu sa zahtevima Ph. Eur. 10.0.

Za razliku od friabilnosti, vrsta materijala je znatno uticala na raspadljivost tableta dobijenih pri kompresiji od 104 MPa (tabela 38). Tablete izrađene od neobloženih granula su se raspale za manje od jednog minuta, dok je tabletama dobijenim komprimovanjem smeše praškova bilo potrebno dva puta više vremena. Dobijeni rezultati ukazuju da je prisustvo lipidne pomoćne supstance u smeši praškova uticalo na ponašanje izrađene tablete u dodiru sa vodom. Ova pojava je bila još više izražena u slučaju tableta izrađenih od obloženih granula. Naime, produženo vreme raspadanja zabeleženo kod ovih tableta, očigledno je posledica formiranja tablete tipa lipidnog matriksa. Promenom pritiska kompresije obloženih granula došlo je i do promene u raspadljivosti izrađenih tableta, tako da se komprimovanjem obloženih granula pod većim pritiskom vreme raspadanja tableta dodatno produžilo (tabela 38). Takođe, u toku ispitivanja raspadljivosti, tablete izrađene od obloženih granula su pokazale karakteristične promene u smislu veličine i oblika. Naime, tablete su tokom celog ispitivanja zadržale prvobitni oblik i prečnik tablete se nije mnogo menjao, ali su tablete tokom ispitivanja postajale sve tanje (slika 25). Ovakve promene se mogu pripisati uticaju hidrodinamičkih sila i prisutnom lipidnom matriksu koji sprečava raspadanje tablete i održava njenu kompaktnost tokom dužeg vremenskog perioda.



Slika 25. Tablete izrađene od obloženih granula pri pritisku kompresije od 104 MPa, pre i posle 10, 20 i 30 min ispitivanja raspadljivosti (s leva na desno)

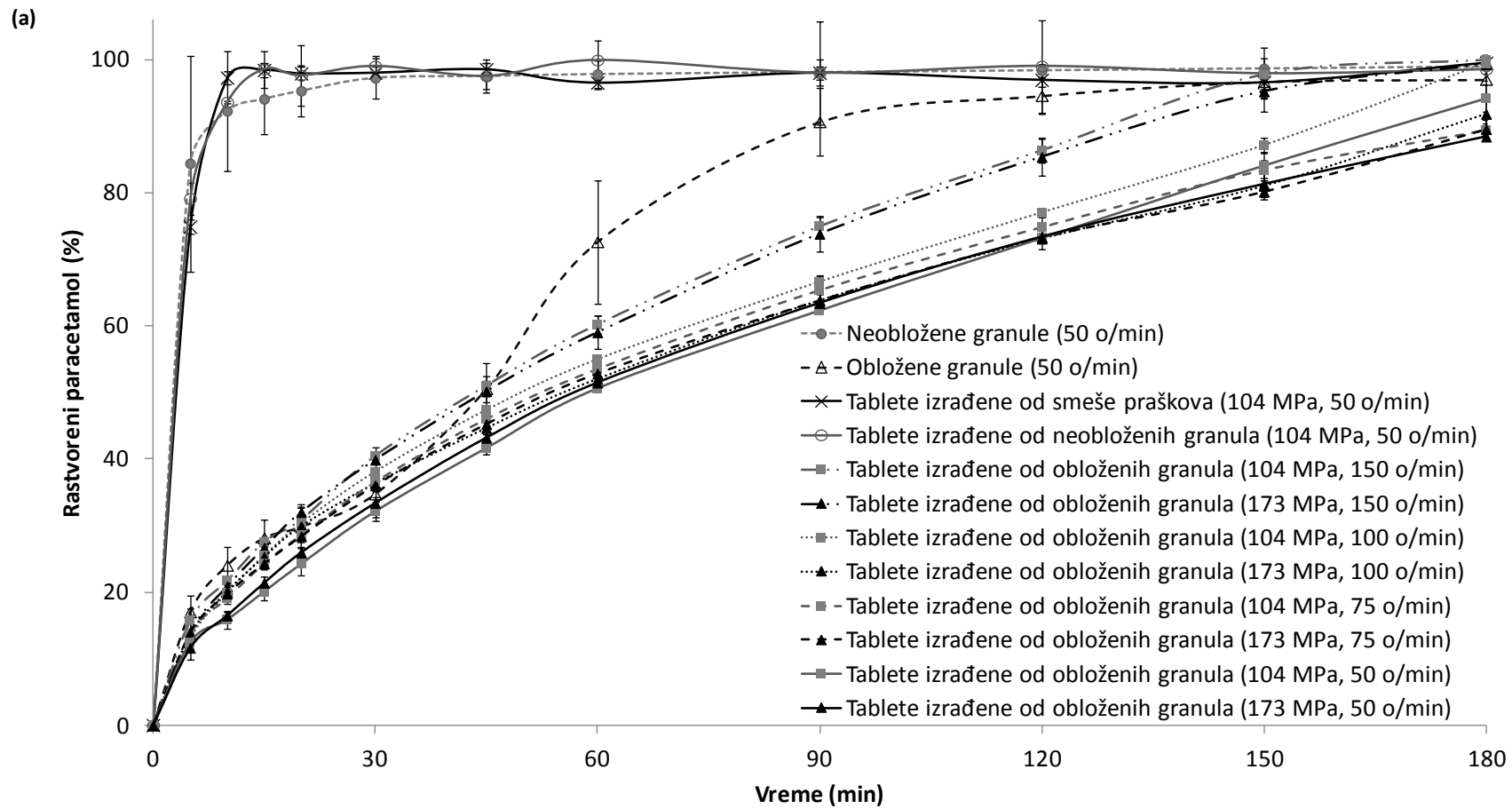
Tokom ispitivanja brzine rastvaranja lekovite supstance, tablete izrađene od obloženih granula su takođe ispoljile karakteristične promene. Naime, pri veoma blagim hidrodinamičkim uslovima (50 o/min), oblik i veličina tablete se nisu značajno promenili u toku ispitivanja (slika 26). Međutim, oslobađanje paracetamola je bilo postepeno i kontinuirano, što se može uočiti na dobijenim profilima (slika 27). Nakon završenog ispitivanja, pri pokušaju da se izvuku iz čaše aparata, tablete su se lako raspadale. Prema navodima u literaturi, ovakvo ponašanje je karakteristično za tablete sa matriks-strukturom (Cao i sar., 2007; Rosiaux i sar., 2014; Karvekar i Khan, 2017).

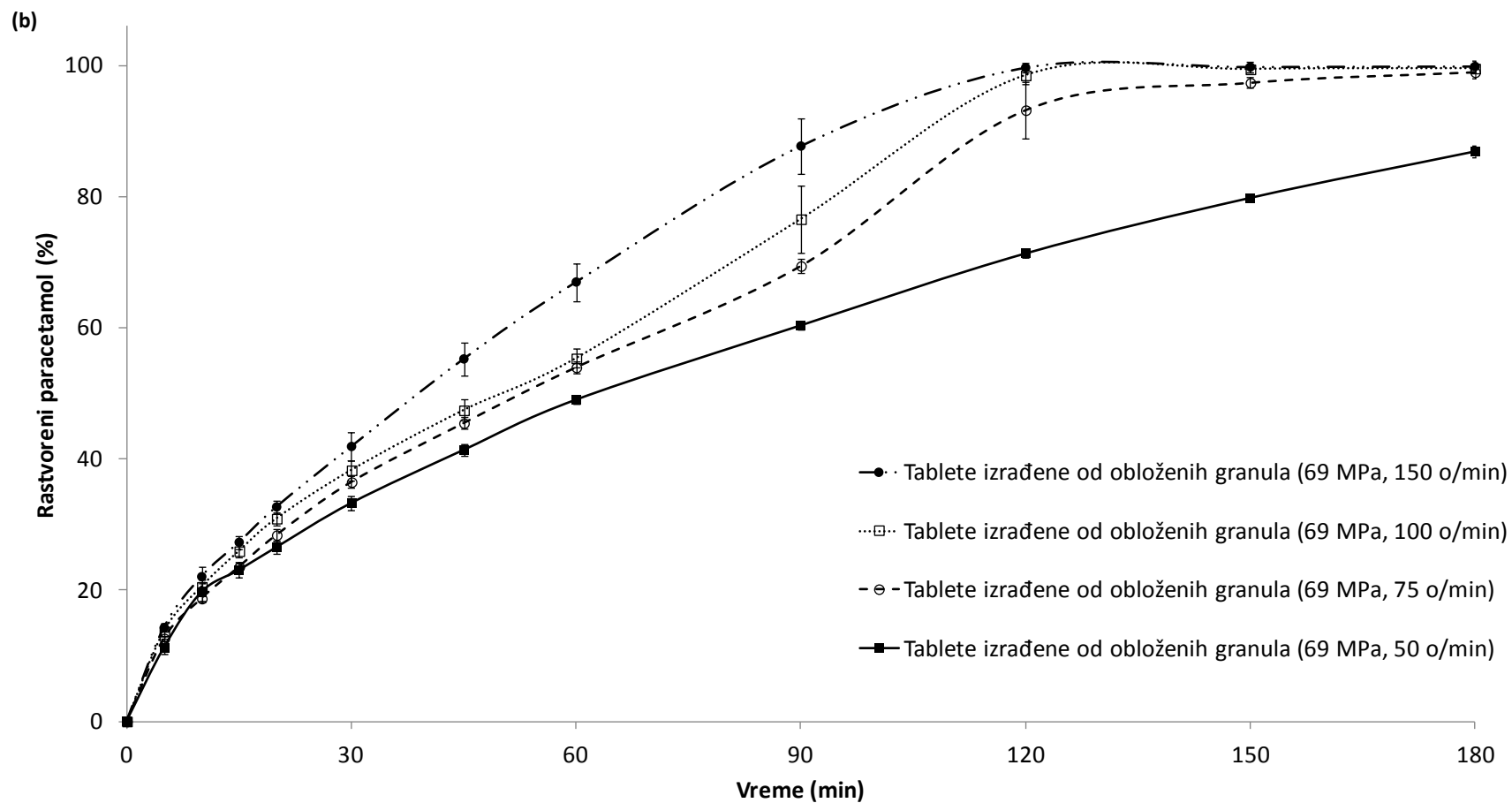


Slika 26. Izgled tableta izrađenih od obloženih granula pri pritisku kompresije od 104 MPa, tokom ispitivanja brzine rastvaranja paracetamola pri različitim brzinama obrtanja lopatice

Radi poređenja brzine rastvaranja paracetamola iz tableta izrađenih od obloženih granula pod različitim pritiscima kompresije, ispitani su uzorci tableta komprimovani pod pritiscima od 69,

104 i 173 MPa. Nezavisno od pritiska kompresije, pri 50 o/min tablete se nisu raspale ni nakon 3 h ispitivanja. Dodatno, ispitivanje je sprovedeno i pri brzini okretanja lopatica od 75, 100 i 150 o/min, kako bi se bolje procenio uticaj hidrodinamičkih uslova na ponašanje tableta i rezultate ispitivanja. Dobijeni profili brzine rastvaranja paracetamola su prikazani na slici 27. Pri brzinama okretanja lopatica od 75 o/min i 100 o/min, tokom prvih 120 min (odnosno, približno 120 min, u zavisnosti od pritiska kompresije), tablete su vizuelno slično izgledale, kao i pri ispitivanju na 50 o/min. Delimična erozija tableta se mogla jasno uočiti tek u kasnijim vremenskim tačkama (slika 26). Pri kraju ispitivanja na 100 o/min, tablete komprimovane na 69 i 104 MPa su se u potpunosti raspale. Kada je brzina okretanja lopatica podešena na 150 o/min, uočene su drugačije promene u veličini i izgledu/obliku tableta. Naime, erozija tableta je bila mnogo izraženija, što se može objasniti uticajem jačih hidrodinamičkih sila na tablete, sa efektima koji delimično podsećaju na promene opisane tokom ispitivanja raspadljivosti. Istovremeno sa promenom u veličini, tablete su postajale sve više okruglog oblika (slika 26), što je posledica njihovog kružnog kretanja po dnu čaše.





Slika 27. Profili brzine rastvaranja paracetamola (srednja vrednost \pm SD) iz ispitivanih tableta i granula, dobijeni pod različitim hidrodinamičkim uslovima: neobložene i obložene granule, tablete izrađene komprimovanjem smeše praškova, neobloženih i obloženih granula na 104 MPa i tablete izrađene komprimovanjem obloženih granula na 173 MPa (a); tablete izrađene komprimovanjem obloženih granula na 69 MPa (b)

Iako su vizuelne promene bile drugačije, brzina rastvaranja paracetamola iz tableta izrađenih od obloženih granula je bila postepena u toku svih 180 min ispitivanja, bez obzira na brzinu okretanja lopatica (slika 27). Izuzetak su jedino tablete dobijene pri pritisku kompresije od 69 MPa, koje su posedovale loša mehanička svojstva i raspale su se nakon 1,5-2,5 h ispitivanja, kada je brzina okretanja lopatica iznosila 75-150 o/min. Kao posledica potpune dezintegracije tablete, postignuta je i veća brzina rastvaranja paracetamola iz tableta dobijenih komprimovanjem obloženih granula pri pritisku od 69 MPa (slika 27b), u poređenju sa profilima svih ostalih uzoraka tableta izrađenih od obloženih granula (slika 27a). Takođe, terminalna faza na grafiku brzine rastvaranja paracetamola, za tablete komprimovane pri 69 MPa, je veoma slična profilu dobijenom ispitivanjem nekomprimovanih obloženih granula. Smatra se da je naglo oslobađanje paracetamola iz obloženih granula (nekomprimovanih), koje se uočava nakon 45 min ispitivanja (slika 27), posledica povećane difuzije medijuma kroz lipidnu oblogu granula.

Ispitivanje brzine rastvaranja paracetamola iz tableta izrađenih od različitih materijala pokazalo je produženo oslobađanje paracetamola samo kod tableta dobijenih komprimovanjem obloženih granula (slika 27). Ispitivanjem tableta dobijenih komprimovanjem smeše praškova i neobloženih granula, pri 50 o/min, dobijeni su rezultati slični profilu brzine rastvaranja paracetamola iz neobloženih granula (slika 27a), a koji su tipični za farmaceutske preparate sa trenutnim oslobađanjem lekovite supstance. U sva tri primera (neobložene granule, tablete izrađene od smeše praškova i tablete izrađene od neobloženih granula) preko 90% paracetamola je rastvoreno nakon 10 min ispitivanja. Brzina rastvaranja paracetamola je bila donekle sporija iz obloženih (nekomprimovanih) granula (90% za 90 min), dok se kod tableta izrađenih od obloženih granula 80-100% paracetamola rastvorilo za 150 min (zavisno od pritiska kompresije i hidrodinamičkih uslova). Dobijeni rezultati ukazuju na to da se pri odabranom masenom udelu lipidne supstance, produženo oslobađanje lekovite supstance može postići samo ukoliko je lipidna supstanca prisutna u vidu omotača, a ne ukoliko je deo fizičke smeše komponenata. Drugim rečima, produženo oslobađanje paracetamola omogućava lipidni matriks, koji se može formirati samo komprimovanjem obloženih granula, a ne i smeše praškova.

Na slici 27a uočava se sličnost između profila brzine rastvaranja paracetamola iz lipidnih matriksa koji su formirani pri pritiscima kompresije 104-173 MPa. Naime, f_2 između profila dobijenih ispitivanjem tableta od obloženih granula komprimovanih pri 104 i 173 MPa, pri svim primenjenim hidrodinamičkim uslovima ispitivanja brzine rastvaranja lekovite supstance, ima vrednost veću od 50 (tabela 39). Uočena karakteristika može imati veliki značaj pri optimizaciji parametara procesa proizvodnje tableta od obloženih granula, s obzirom na to da podešavanje parametara procesa sa ciljem proizvodnje tableta željenih karakteristika (npr. friabilnost manja od 1%) neće uticati na profil brzine rastvaranja lekovite supstance.

Tabela 39. Vrednosti faktora sličnosti (f_2) između profila dobijenih ispitivanjem tableta od obloženih granula komprimovanih pri 104 i 173 MPa, pri različitim hidrodinamičkim uslovima

Brzina okretanja lopatica (o/min) (pritisak kompresije (MPa))	Faktor sličnosti (f_2)						
	50 (104)	50 (173)	75 (104)	75 (173)	100 (104)	100 (173)	150 (104)
50 (173)	80,86						
75 (104)	72,28	79,73					
75 (173)	72,74	82,06	89,76				
100 (104)	66,21	64,45	72,08	68,63			
100 (173)	72,76	78,11	87,11	92,63	71,78		
150 (104)	51,53	50,88	55,41	52,69	62,57	53,50	
150 (173)	53,85	53,28	58,32	55,27	66,83	56,27	89,65

4.7. *In silico* modeli za predviđanje apsorpcije i raspodele paracetamola

4.7.1. Razvoj i validacija PBPK modela za predviđanje apsorpcije i raspodele paracetamola kod odraslih ispitanika

PBPK model paracetamola za odraslu populaciju razvijen je na osnovu ulaznih podataka navedenih u tabeli 14. Na osnovu unetih parametara koji se odnose na karakteristike lekovite supstance i fiziološke karakteristike reprezentativnog ispitanika izabrane populacije, softver izračunava V_d i $t_{1/2}$. Ključni parametri za izračunavanje V_d su K_p vrednosti za pojedinačna tkiva. Za izračunavanje K_p vrednosti GastroPlus™ programski paket nudi različite opcije, pri čemu je preporučena metoda *Lukacova (Rodgers-Single)* (Lukacova i sar., 2008). Korišćenjem K_p vrednosti izračunatih navedenom metodom, uočeno je da rezultujuće vrednosti V_d i $t_{1/2}$ znatno odstupaju od literaturnih/referentnih podataka koje u proseku iznose 1,0 L/kg i 2,5 h, redom (tabela 7). Ostale metode izračunavanja K_p (Poulin & Theil, Berezhkovskiy, Rodgers, Leahy, Rowland, Lukacova with Lysosomes), integrisane u okviru softvera, takođe nisu pokazale dobro slaganje predviđenih i referentnih vrednosti za V_d i $t_{1/2}$. U cilju smanjenja greške predviđanja V_d i $t_{1/2}$, vrednosti K_p izračunate metodom *Lukacova (Rodgers-Single)* su optimizovane (skalirane faktorom 2). Primenjeni pristup optimizacije K_p vrednosti linearnim skaliranjem inicijalno izračunatih vrednosti se smatra opravdanim i opisan je u literaturi (Jiang i sar., 2013; Villiger i sar., 2016; Stelova i sar., 2020). Prikaz K_p vrednosti za odraslu populaciju muškog pola, izračunatih metodom *Lukacova (Rodgers-Single)*, pre i nakon optimizacije, dat je u tabeli 40. Primenom optimizovanih vrednosti K_p (ostali ulazni parametri su zadržani na vrednostima navedenim u tabeli 14), postignuto je znatno manje odstupanje predviđenih u odnosu na referentne vrednosti V_d i $t_{1/2}$ (tabela 41).

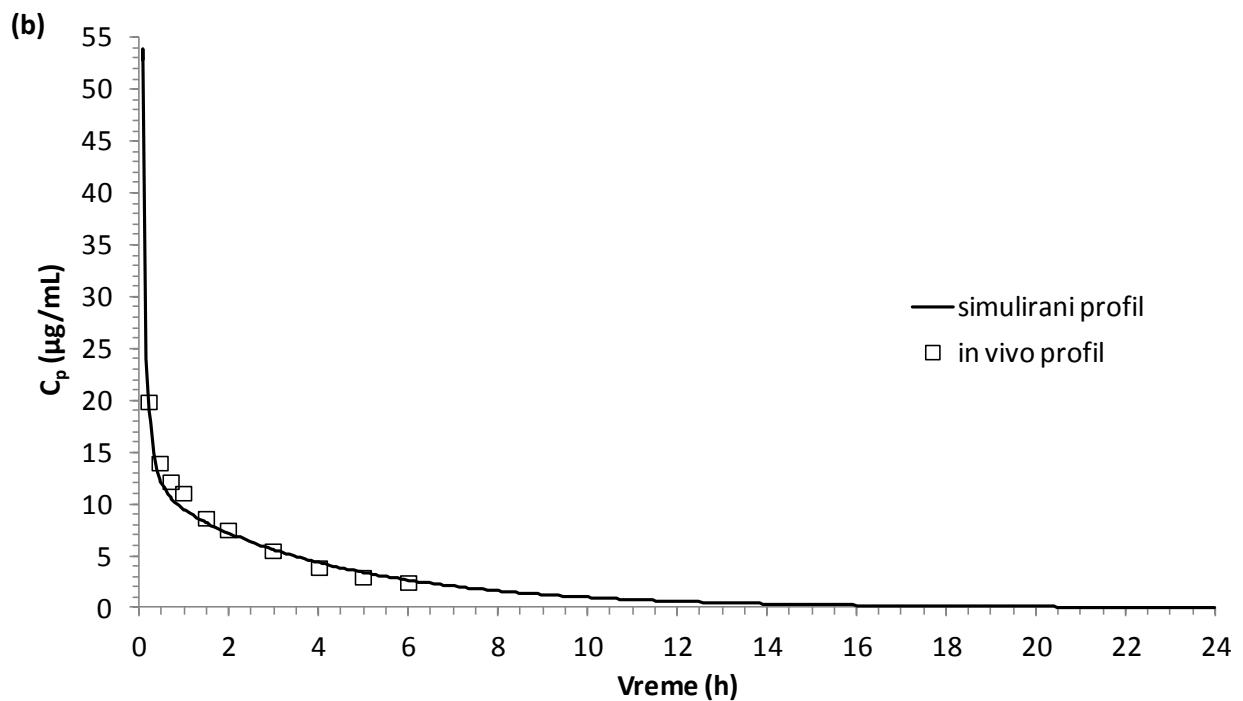
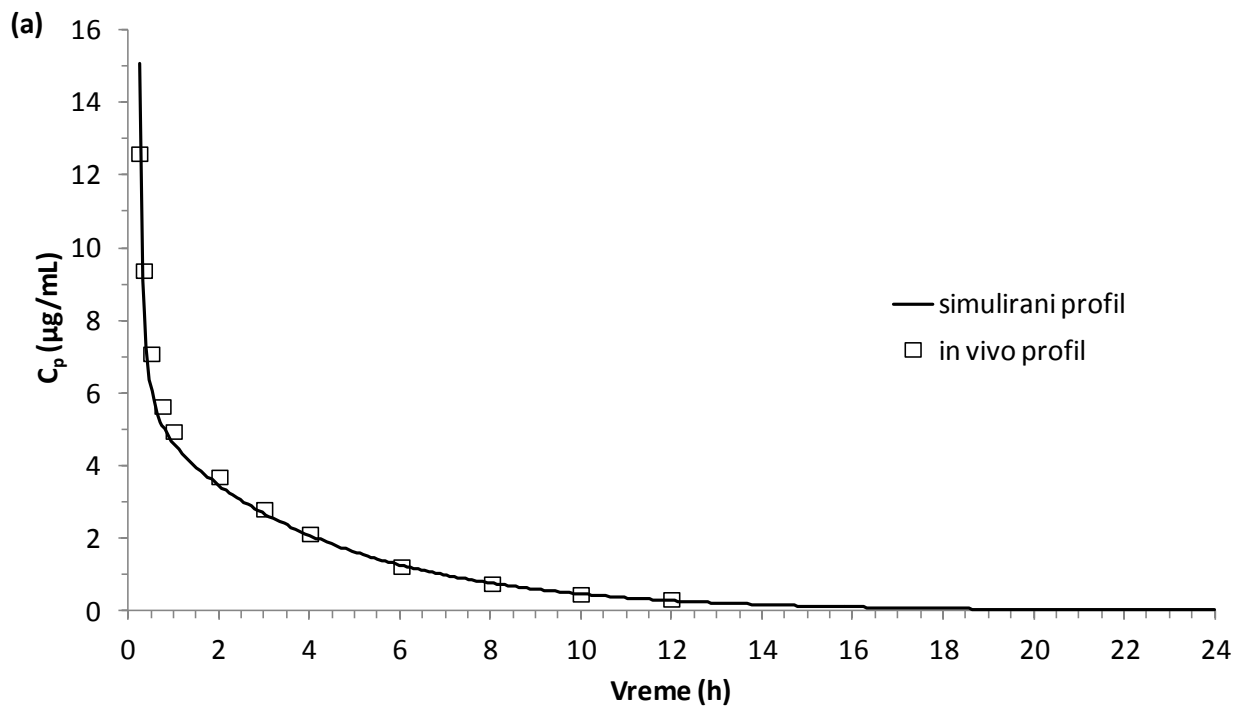
Tabela 40. K_p vrednosti izračunate metodom Lukacova i sar. (2008) i optimizovane K_p vrednosti

Tkivo/organ	K_p (pre optimizacije)	K_p (nakon optimizacije)
Pluća	0,70	1,40
Masno tkivo	0,24	0,48
Mišićno tkivo	0,67	1,34
Jetra	0,72	1,44
Slezina	0,71	1,42
Srce	0,73	1,46
Mozak	0,80	1,60
Bubrezi	0,71	1,42
Koža	0,70	1,40
Reproduktivni organi	0,71	1,42
Crvena koštana srž	0,54	1,08
Žuta koštana srž	0,24	0,48
Ostalo	0,71	1,42

Tabela 41. Poređenje farmakokinetičkih parametara V_d i $t_{1/2}$ za paracetamol, predviđenih na osnovu dva različita seta K_p vrednosti, sa referentnim vrednostima iz literature (V_d : 1,0 L/kg, $t_{1/2}$: 2,5 h)

Parametar	Predviđena vrednost bez optimizacije K_p	PE (%)	Predviđena vrednost sa optimizacijom K_p	PE (%)	Telesna masa i uzrast ispitanika
V_d (L)	38,85	46,78	70,73	3,12	73 kg,
$t_{1/2}$ (h)	1,34	46,32	2,44	2,32	23 godine
V_d (L)	37,30	46,72	68,38	2,31	70 kg,
$t_{1/2}$ (h)	1,34	46,28	2,46	1,52	25 godina
V_d (L)	37,32	46,68	68,43	2,53	70 kg,
$t_{1/2}$ (h)	1,34	46,24	2,46	1,60	30 godina
V_d (L)	36,69	46,44	67,19	1,91	68,5 kg,
$t_{1/2}$ (h)	1,35	46,19	2,47	1,12	30 godina

Izgrađeni PBPK model paracetamola za odraslu populaciju je najpre validiran poređenjem simuliranih vrednosti sa podacima iz kliničkih ispitivanja koji se odnose na i.v. primenu paracetamola. Simulirani i srednji profili dobijeni u *in vivo* studijama prikazani su na slici 28. U tabeli 42 dati su farmakokinetički parametri predviđeni na osnovu izgrađenog PBPK modela, kao i odgovarajuće vrednosti uočene *in vivo*.



Slika 28. Simulirani i srednji *in vivo* profili koncentracije paracetamola u plazmi nakon i.v. primene: 500 mg paracetamola (Depre i sar., 1992) (a); 1000 mg paracetamola (Rawlins i sar., 1977) (b)

Tabela 42. Poređenje farmakokinetičkih parametara dobijenih primenom paracetamol-specifičnog PBPK modela za odraslu populaciju i *in vivo* podataka koji se odnose na i.v. primenu leka

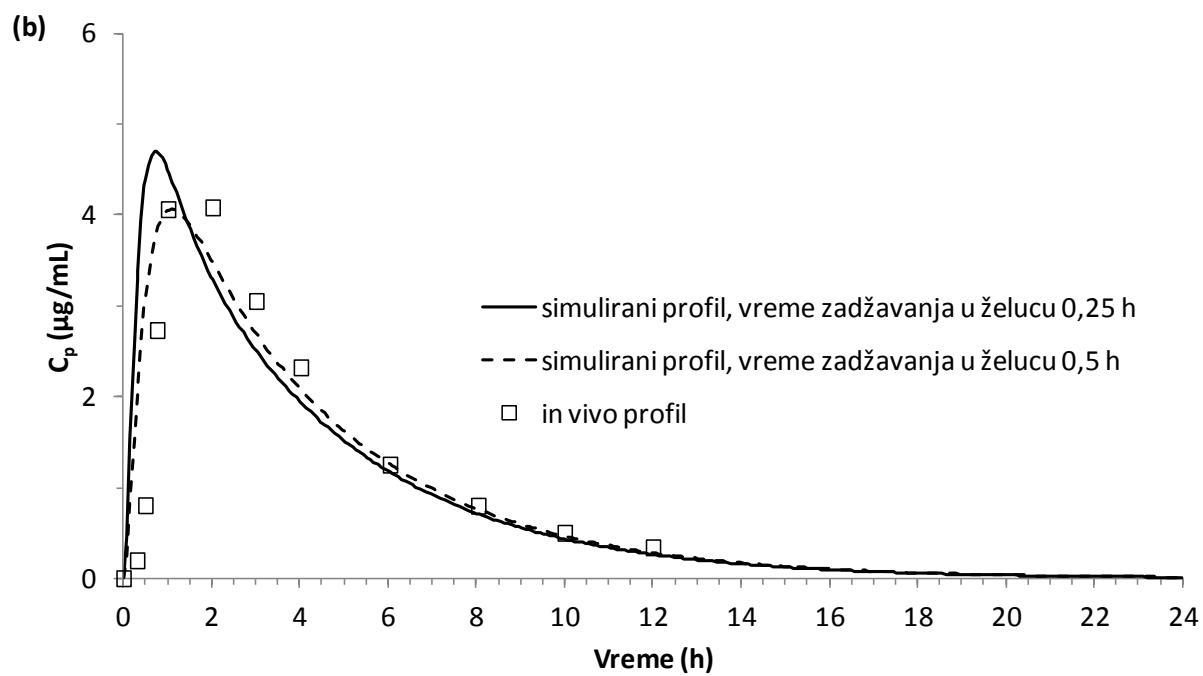
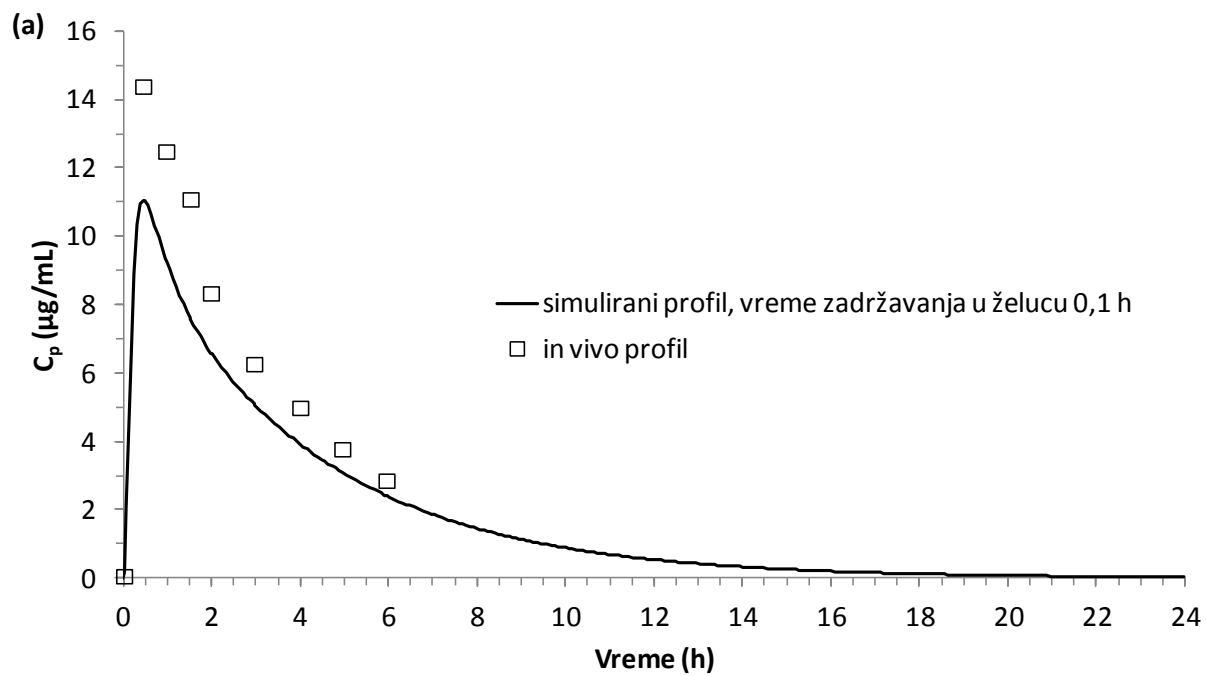
Parametar	<i>In vivo</i> srednje vrednosti*	<i>In vivo</i> opseg*	Simulirane vrednosti	<i>PE</i> (%)
C_{max} (µg/mL)	12,60	9,21–16,23	15,05	-19,48
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	26,17	21,26–29,8	24,90	4,85
$PIK_{0 \rightarrow t}$ (µg h/mL)	24,30	20,30–27,84	23,78	2,16
Parametar	<i>In vivo</i> srednje vrednosti**	<i>In vivo</i> opseg**	Simulirane vrednosti	<i>PE</i> (%)
C_{max} (µg/mL)	19,90	/	53,92	-170,96
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	52,67	44,35–55,75	53,03	-0,69
$PIK_{0 \rightarrow t}$ (µg h/mL)	39,41	/	42,31	-7,38

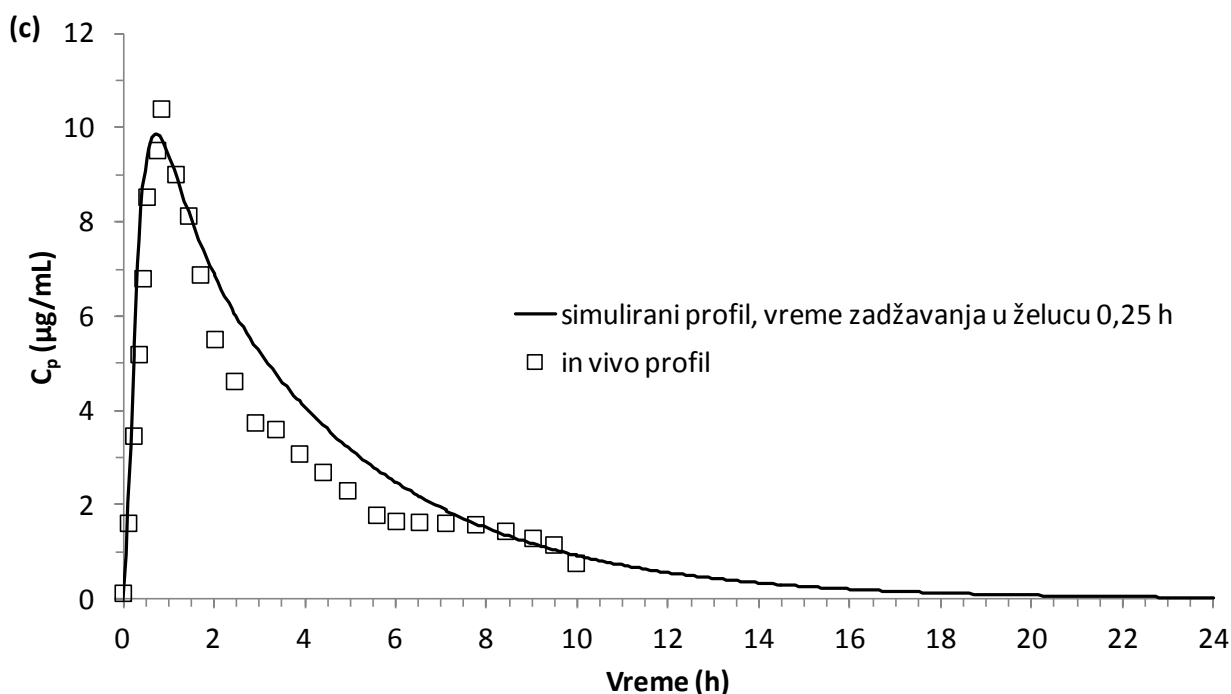
* Depre i sar., 1992

**Rawlins i sar., 1977

Na slici 28 može se uočiti dobro slaganje simuliranih profila sa srednjim profilima dobijenim u kliničkim studijama. Iako su predviđene vrednosti C_{max} veće od *in vivo* uočenih, oblik krive i ostali farmakokinetički parametri ukazuju na dobro slaganje između vrednosti dobijenih simulacijom i vrednosti dobijenih u kliničkom ispitivanju (tabela 42). Kao što je navedeno, veće odstupanje može se uočiti jedino između predviđene i vrednosti C_{max} iz studije Rawlins-a i saradnika (1977). Međutim, prema protokolu datog kliničkog ispitivanja, prvi uzorak krvi je uzet 2,5 min nakon početka davanja infuzije, a drugi 15 min kasnije. Kako je vreme trajanja infuzije bilo 5 min, koncentracija paracetamola u plazmi u vremenu koje bi odgovaralo t_{max} (5 min) nije izmerena. Stoga se može smatrati da simulirana vrednost adekvatno ilustruje očekivanu realnu koncentraciju leka u plazmi u pomenutoj vremenskoj tački (5 min). Predviđeni obim apsorpcije, izražen kao PIK , pokazuje dobro slaganje sa srednjim vrednostima uočenim *in vivo* nakon i.v. primene paracetamola (tabela 42).

U narednom koraku, izgrađeni model je proširen na peroralni put primene i validiran u odnosu na podatke dobijene u kliničkim studijama. Izmene ulaznih parametara, u odnosu na model koji opisuje i.v. primenu paracetamola, odnose se na farmaceutski oblik i režim doziranja, koji su odabrani u skladu sa podacima iz referentnih kliničkih ispitivanja (tabela 15). Simulirani profili i srednji *in vivo* profili prikazani su na slici 29. Predviđene vrednosti farmakokinetičkih parametara date su u tabelama 43 i 44.





Slika 29. Simulirani i srednji *in vivo* profili koncentracije paracetamola u plazmi nakon peroralne primene: efervescentne tablete (primenjene u obliku rastvora) jačine 1000 mg (Perucca i Richens, 1979) (a); tablete sa trenutnim oslobađanjem jačine 500 mg (Depre i sar., 1992) (b); tablete sa trenutnim oslobađanjem jačine 1000 mg (Stillings i sar., 2000) (c)

Tabela 43. Poređenje farmakokinetičkih parametara dobijenih primenom paracetamol-specifičnog PBPK modela za odraslu populaciju i *in vivo* podataka koji se odnose na peroralnu primenu efervescentne tablete (u obliku rastvora) jačine 1000 mg (Perucca i Richens, 1979)

Parametar	<i>In vivo</i> srednje vrednosti	<i>In vivo</i> opseg	Simulirane vrednosti	<i>PE</i> (%)
C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	14,40	/	11,06	23,23
t_{max} (h)	0,46	/	0,46	0,00
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ ($\mu\text{g h/mL}$)	51,93	47,60 – 51,20	42,53	18,11
$PIK_{0 \rightarrow t}$ ($\mu\text{g h/mL}$)	41,61	/	32,92	20,88
Biološka raspoloživost (%)	89,00	87,00 – 91,00	81,55	8,37

Tabela 44. Poređenje farmakokinetičkih parametara dobijenih primenom paracetamol-specifičnog PBPK modela za odraslu populaciju i *in vivo* podataka koji se odnose na peroralnu primenu tableta sa trenutnim oslobađanjem

Parametar	<i>In vivo</i> srednje vrednosti*	<i>In vivo</i> opseg*	Simulirane vrednosti	PE (%)
C_{max} (µg/mL)	4,08	3,60 – 7,38	4,70	-15,09
t_{max} (h)	2,02	0,89 – 2,03	0,72	64,36
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	21,32	16,55 – 25,53	20,31	4,74
$PIK_{0 \rightarrow t}$ (µg h/mL)	19,56	15,79 – 23,17	19,25	1,58
Biološka raspoloživost (%)	82,20	72,80 – 91,60	81,43	0,93
Parametar	<i>In vivo</i> srednje vrednosti**	<i>In vivo</i> opseg**	Simulirane vrednosti	PE (%)
C_{max} (µg/mL)	10,40	11,23 – 13,97	9,45	9,10
t_{max} (h)	0,84	/	0,80	4,76
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	33,42	41,92 – 45,08	42,51	-27,22
$PIK_{0 \rightarrow t}$ (µg h/mL)	32,52	37,62 – 40,78	38,72	-19,08
Biološka raspoloživost (%)	/	/	81,68	/

* tablete sa trenutnim oslobađanjem jačine 500 mg (Depre i sar., 1992)

** tablete sa trenutnim oslobađanjem jačine 1000 mg (Stillings i sar., 2000)

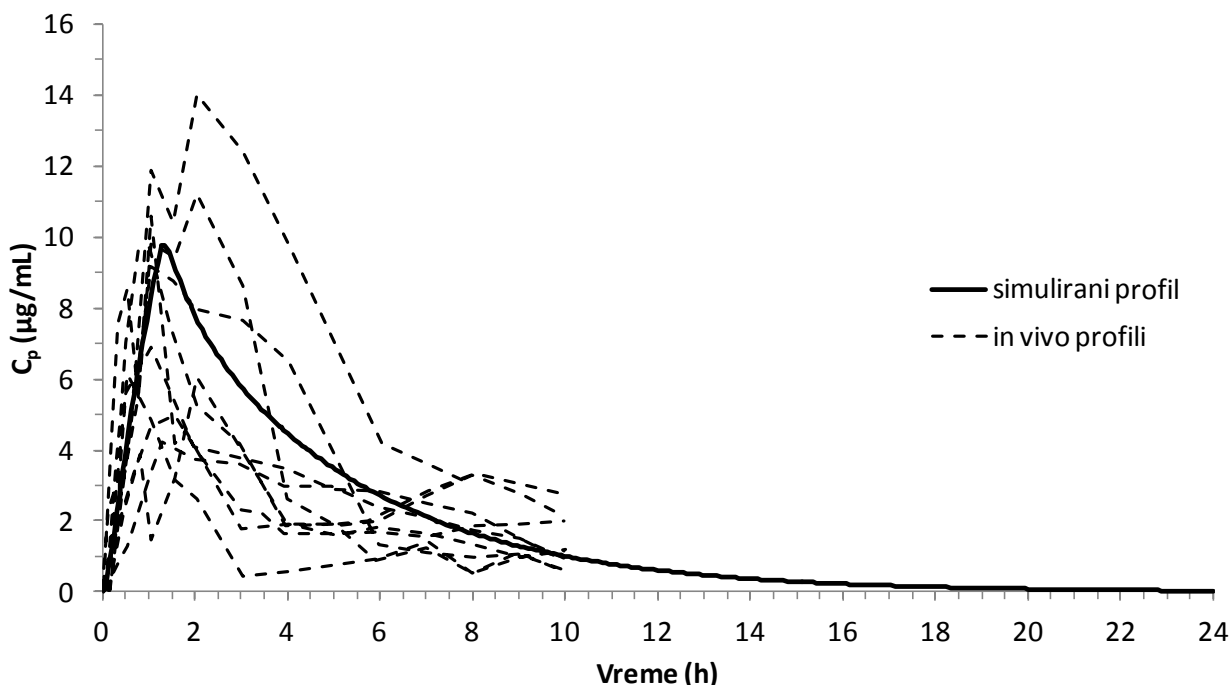
Na slici 29 može se uočiti da postoji dobro slaganje oblika krive simuliranih i srednjih *in vivo* profila koncentracije paracetamola u plazmi. Međutim, vrednosti PE (%) ukazuju na određena odstupanja između predviđenih i *in vivo* uočenih vrednosti farmakokinetičkih parametara (tabele 43, 44). U poređenju sa *in vivo* podacima koji se odnose na peroralnu primenu efervescentnih tableta u obliku rastvora (tabela 43), predviđene vrednosti za C_{max} , obim apsorpcije i biološku raspoloživost manje su u odnosu na *in vivo* uočene vrednosti. Razlog uočenog odstupanja, odnosno, većih vrednosti farmakokinetičkih parametara, pre svega C_{max} , izmerenih u kliničkom ispitivanju koje su sproveli Perucca i Richens (1979), se potencijalno može objasniti uticajem natrijum-hidrogenkarbonata u sastavu formulacije preparata na brzinu pražnjenja želuca i, posledično, apsorpciju paracetamola. Naime, prema literaturnim podacima, velike količine natrijum-hidrogenkarbonata (npr. 630 mg) u formulacijama za peroralnu primenu dovode do brže apsorpcije paracetamola i veće vrednosti C_{max} (Grattan i sar., 2000; Kalantzi i sar., 2006). Iako tačan sastav tableta nije naveden u opisu studije, natrijum-hidrogenkarbonat je uobičajen sastojak efervescentnih tableta (obično u koncentraciji 25-50% (m/m)) (Rowe i sar., 2006). S obzirom da su u kliničkom ispitivanju korišćene tablete jačine 1000 mg, količina natrijum-hidrogenkarbonata u sastavu formulacije mogla je biti dovoljna da utiče na apsorpciju paracetamola.

Za lekovite supstance kao što je paracetamol, kod kojih brzina rastvaranja nije ograničavajući faktor za apsorpciju, t_{max} nakon peroralne primene farmaceutskog preparata sa trenutnim oslobađanjem zavisi najviše od vremena zadržavanja u želucu. Na ovaj fiziološki parametar utiču brojni faktori, kao što su vrsta i količina sadržaja u želucu, uzrast, položaj tela, tako da vrednosti t_{max} dobijene *in vivo* pokazuju veliku inter- i intraindividualnu varijabilnost. GastroPlus™ predložene srednje vrednosti zadržavanja u želucu u stanju „na gladno” iznose 0,1 h ukoliko je u pitanju tečni farmaceutski oblik leka, odnosno 0,25 h za čvrste farmaceutske oblike lekova. Korišćenjem predloženih (default) vrednosti, predviđena t_{max} nakon peroralne primene

efervescentne tablete (rastvora) paracetamola odgovara srednjoj *in vivo* vrednosti (tabela 43), što ukazuje da vreme zadržavanja rastvora leka u želucu od 0,1 h odgovara stanju *in vivo*. Međutim, t_{max} dobijena simulacijom primene tablete sa trenutnim oslobađanjem paracetamola od 500 mg ne nalazi se u opsegu *in vivo* vrednosti (tabela 44). Poređenjem srednjih vrednosti t_{max} iz dve odabrane kliničke studije (tabela 44), uočava se da između njih postoji znatna razlika, iako su obe studije sprovedene na zdravim ispitanicima, muškog pola, približno iste telesne mase i starosti i u stanju „na gladno”. Razlika u uočenim vrednostima t_{max} najverovatnije je posledica različitog vremena zadržavanja leka u želucu kod ispitanika iz ove dve kliničke studije. Dodatno, prema protokolu studije koju su sprovedeli Depre i saradnici (1992), ispitanici su nakon primene leka bili u ležećem položaju (na leđima) naredna 4 sata. Kako je vreme zadržavanja u želucu u ležećem položaju duže u odnosu na uspravan položaj tela, ova činjenica je najverovatnije doprinela i većoj srednjoj vrednosti t_{max} . Radi ilustracije uticaja vremena zadržavanja leka u želucu na simulirani profil koncentracije paracetamola u plazmi, na slici 29b prikazan je i profil dobijen simulacijama kada je vreme zadržavanja u želucu promenjeno u odnosu na *default* vrednost. Ukoliko se vreme zadržavanja leka u želucu podesi na 0,5 h (umesto 0,25 h), predviđena t_{max} iznosi 1,12 h (umesto 0,72 h), što je u rasponu vrednosti koje su izmerili Depre i saradnici (1992), a koje iznosi $1,46 \pm 0,57$ h. Podaci o položaju tela, kretanju ili ponašanju/aktivnostima ispitanika u studiji Stillings-a i saradnika (2000) nisu dostupni, međutim, pod pretpostavkom vremena zadržavanja u želucu od 0,25 h (*default*) dobijeno je dobro slaganje predviđene i referentne t_{max} (tabela 44).

Poređenjem simuliranih i *in vivo* uočenih vrednosti C_{max} , PIK i biološke raspoloživosti nakon peroralne primene paracetamola u dozi od 500 mg, pokazano je dobro slaganje predviđenih i izmerenih vrednosti (tabela 44). Nakon primene tableta sa trenutnim oslobađanjem u dozi od 1000 mg, može se uočiti da je predviđena C_{max} niža od opsega vrednosti uočenih u kliničkoj studiji Stillings-a i saradnika (2000). Nešto veće vrednosti C_{max} u kliničkoj studiji mogu biti posledica veće biološke raspoloživosti leka (podatak o biološkoj raspoloživosti u referentnoj studiji nije dostupan). Biološka raspoloživost paracetamola dobijena simulacijom nakon peroralne primene, u svim slučajevima (tabele 43, 44), bila je oko 80%, što odgovara podacima iz literature (Ji i sar., 2012).

Dodatna validacija izgrađenog paracetamol-specifičnog PBPK modela urađena je poređenjem sa kliničkim podacima dobijenim nakon primene tableta sa trenutnim oslobađanjem u stanju sitosti (nakon obroka). Poređenjem simuliranog sa *in vivo* profilima (Stillings i sar., 2000), prikazanim na slici 30, može se zaključiti da izgrađeni PBPK model predviđa vrednosti koncentracije paracetamola u plazmi koje se nalaze u okvirima *in vivo* uočenih vrednosti.



Slika 30. Simulirani profil i pojedinačni/individualni *in vivo* profili koncentracije paracetamola u plazmi nakon peroralne primene tablete sa trenutnim oslobađanjem jačine 1000 mg u stanju sitosti (Stillings i sar., 2000)

U odnosu na *in vivo* podatke dobijene u stanju „na gladno”, Stillings i saradnici (2000) su uočili da je t_{max} duže, a da su C_{max} i PIK niži nakon primene tableta paracetamola sa trenutnim oslobađanjem u stanju sitosti. Simulirano t_{max} u stanju sitosti je takođe duže u odnosu na stanje „na gladno”, odnosno postoji dobro slaganje sa *in vivo* uočenim vrednostima, ali predviđene C_{max} i PIK znatno odstupaju od srednjih vrednosti uočenih *in vivo* (tabela 45). Odstupanja predviđenih u odnosu na srednje vrednosti iz *in vivo* studije mogu se objasniti velikom interindividualnom varijabilnošću *in vivo* podataka (slika 30). Dodatno, u kliničkom ispitivanju koje su sproveli Stillings i saradnici (2000), prisustvo hrane je uticalo na sve ispitivane farmakokinetičke parametre, dok su rezultati simulacije u stanju sitosti pokazali da prisustvo hrane utiče jedino na t_{max} , a da su predviđene vrednosti PIK i biološke raspoloživosti paracetamola ostale nepromenjene u odnosu na vrednosti predviđene u stanju „na gladno” (tabela 45). Međutim, prema drugim literaturnim podacima, zbog produženog vremena zadržavanja leka u želucu u prisustvu hrane, efekat hrane na apsorpciju paracetamola se, pre svega, odražava na produženo t_{max} , dok obim apsorpcije ostaje nepromenjen (Kalantzi i sar., 2006; Ji sar., 2012). Ovakva zapažanja potvrđuju adekvatnu sposobnost predviđanja izgrađenog paracetamol-specifičnog PBPK modela za odraslu populaciju u stanju sitosti.

Tabela 45. Poređenje farmakokinetičkih parametara dobijenih primenom paracetamol-specifičnog PBPK modela za odraslu populaciju i *in vivo* podataka koji se odnose na peroralnu primenu tableta sa trenutnim oslobađanjem jačine 1000 mg u stanju sitosti (Stillings i sar., 2000)

Parametar	Simulirane vrednosti („na gladno”)	Simulirane vrednosti (stanje sitosti)	Stepen efekta hrane*	<i>In vivo</i> vrednosti** („na gladno”)	<i>In vivo</i> vrednosti** (stanje sitosti)	Stepen efekta hrane*
C_{max} (µg/mL)	9,86	9,81	0,99	10,40	4,61	0,44
t_{max} (h)	0,73	1,33	1,82	0,84	1,27	1,51
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	42,53	42,53	1,00	33,42	26,04	0,78
$PIK_{0 \rightarrow t}$ (µg h/mL)	38,83	38,47	0,99	32,52	22,85	0,70
Biološka raspoloživost (%)	81,74	81,73	1,00	/	/	/

*vrednost u stanju sitosti/ vrednost „na gladno”

**srednje vrednosti

Rezultati simulacija su pokazali da t_{max} predviđena nakon peroralne primene čvrstog farmaceutskog oblika leka zavisi najviše od vremena zadržavanja leka u želucu. Na osnovu izloženog, može se zaključiti da izgrađeni paracetamol-specifični PBPK model na odgovarajući način opisuje apsorpciju i raspodelu paracetamola kod odraslih osoba, nakon peroralne primene leka u stanju „na gladno” i u stanju sitosti.

4.7.2. Razvoj PBPK modela za predviđanje apsorpcije i raspodele paracetamola u pedijatrijskoj populaciji

Ekstrapolacijom (modifikacijom) PBPK modela za odraslu populaciju izgrađeno je 5 modela za decu različitog uzrasta. U prvom koraku su K_p vrednosti PBPK modela za svaku pedijatrijsku grupu izračunate na isti način kao i za populaciju odraslih ispitanika (množenjem vrednosti izračunate po metodi *Lukacova (Rodgers-Single)* sa faktorom skaliranja 2). Međutim, u ovom slučaju su predviđene vrednosti V_d odstupale od literaturnih podataka (Anderson i sar., 2000) za decu uzrasta mlađeg od 12 godina, a najveća razlika je uočena za novorođenčad (tabela 46). Na osnovu predviđenih vrednosti V_d , utvrđeno je da K_p vrednosti za odraslu populaciju odgovaraju jedino populaciji adolescenata. Vrednosti V_d za ostale pedijatrijske grupe su procenjene, a greška predviđanja (apsolutna vrednost) raste sa smanjenjem uzrasta deteta. Linearno smanjenje K_p vrednosti za 10% kod odojčadi i dece rezultovalo je znatno boljim slaganjem izračunatih i referentnih (literaturnih) vrednosti V_d (tabela 46). Međutim, za populaciju novorođenčadi bilo je neophodno smanjiti K_p za 20%.

Tabela 46. GastroPlus™ predviđene vrednosti V_d paracetamola kod dece različitog uzrasta i odgovarajuće referentne vrednosti iz literature (Anderson i sar., 2000)

Pedijatrijska grupa*	V_d (L) referentna vrednost	V_d (L) pre dodatne optimizacije K_p	PE (%) u odnosu na referentnu vrednost	V_d (L) nakon dodatne optimizacije K_p	PE (%) u odnosu na referentnu vrednost
Novorođenčad	3,35	4,16	-24,15	3,40	-1,52
Odojčad	4,30	4,94	-14,95	4,46	-3,63
Deca (2 godine)	10,90	11,73	-7,59	10,65	2,30
Deca (6 godina)	23,81	25,02	-5,07	22,74	4,50
Adolescenti	36,50	36,69	-0,52	33,38	8,55

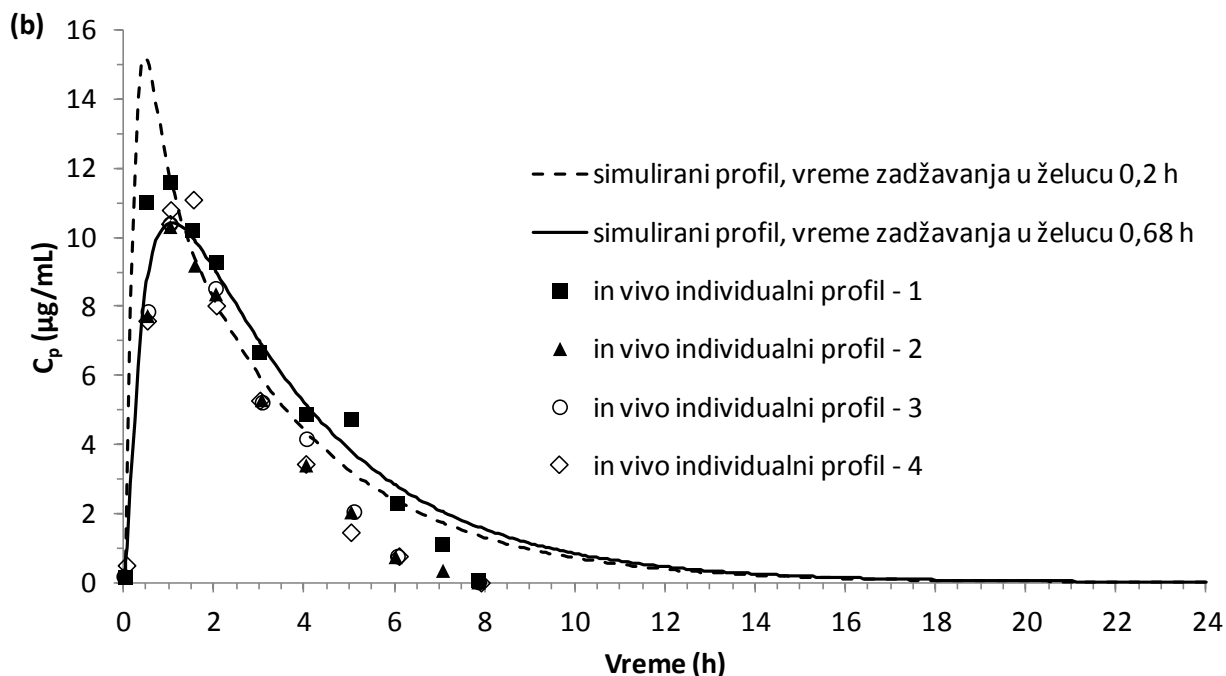
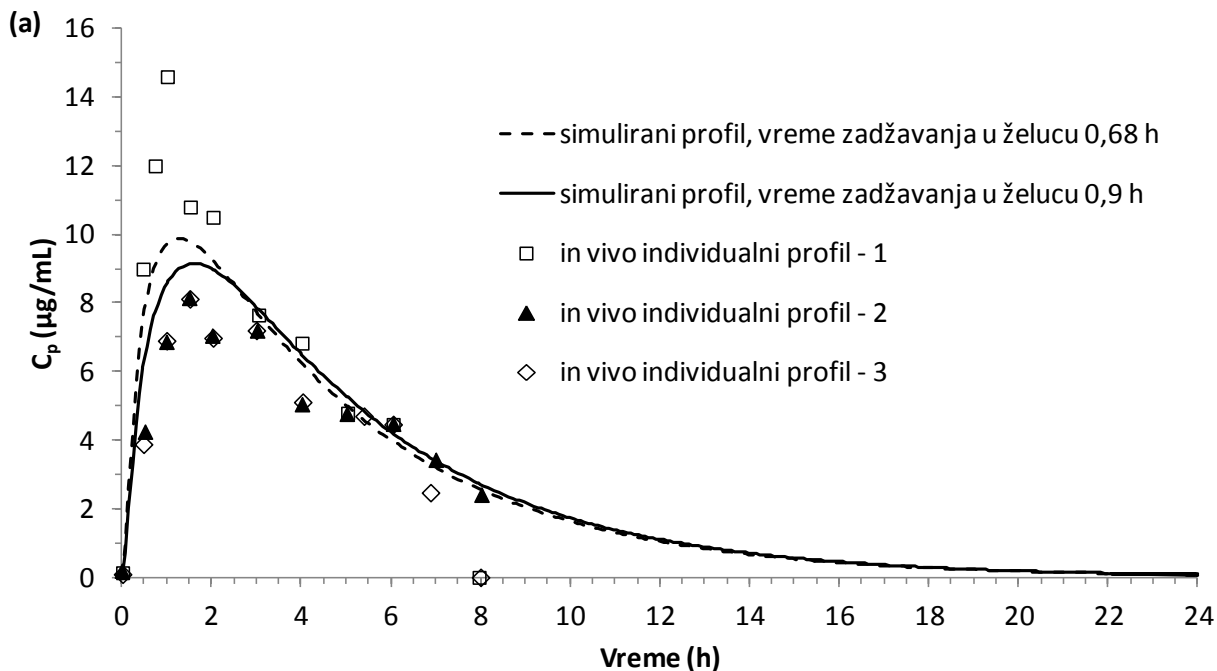
*uzrast i telesna masa navedeni su u tabeli 16

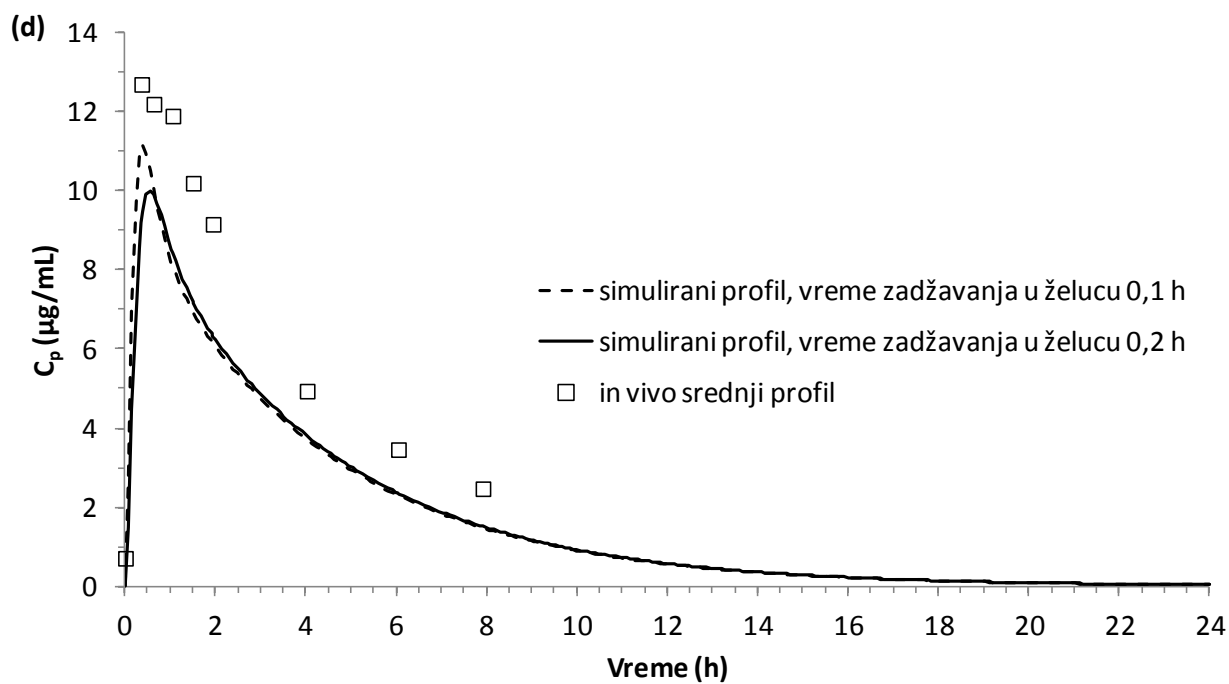
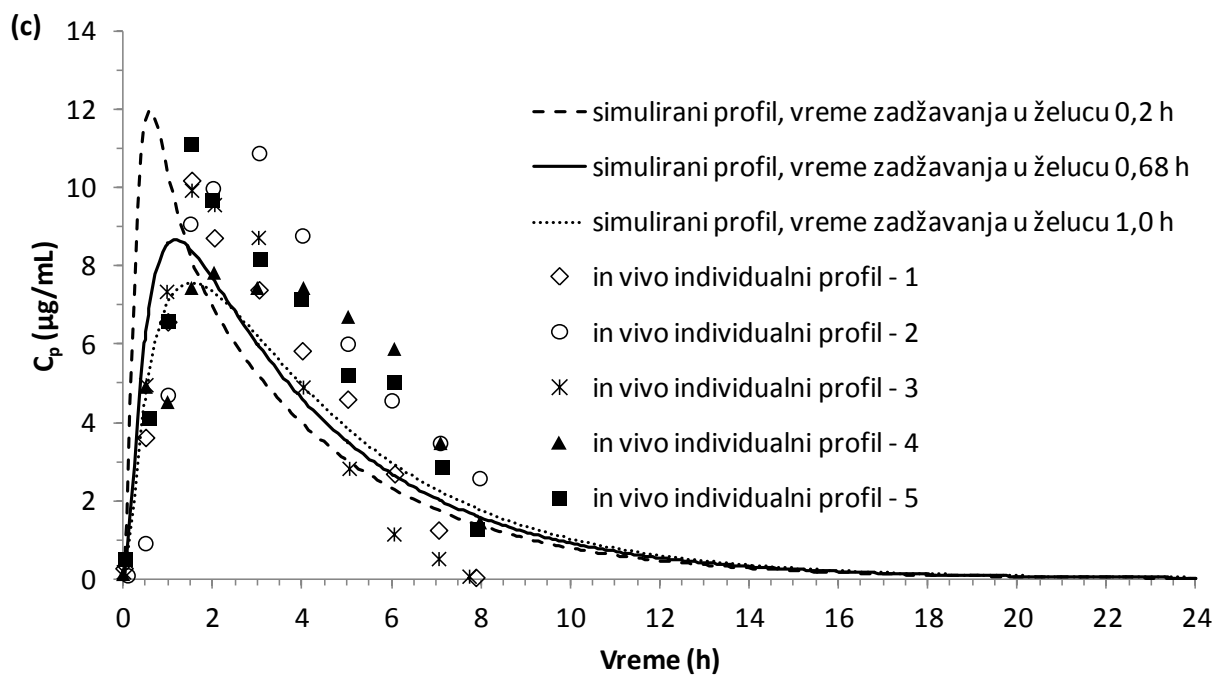
Fiziološke karakteristike ispitanika u PBPK modelima svih pedijatrijskih grupa definisane su prema podacima iz *PEAR Physiology*™ baze podataka GastroPlus™ programskog paketa. Podaci iz navedene baze podataka zavise od uzrasta, telesne mase i pola ispitanika, a dobijeni su na osnovu analize literaturnih podataka. Parametri koje je bilo neophodno podesiti „ručno”, za svaki pedijatrijski uzrast, su vremena zadržavanja u različitim segmentima GI trakta. Naime, kako ACAT model GI trakta nema mogućnost automatskog podešavanja fizioloških parametara za različite pedijatrijske uzraste, vremena zadržavanja leka u različitim delovima GI trakta su podešena prema literaturnim podacima (Kaye, 2011), navedenim u tabeli 17. Što se tiče pH vrednosti za različite segmente GI trakta, za sve pedijatrijske modele zadržane su *default* vrednosti softvera, uključujući i pH želuca od 7,0 kod novorođenčadi uzrasta 12 dana. Podaci iz literature ukazuju na to da se vrednosti pH u različitim segmentima GI trakta ne menjaju značajno sa uzrastom, odnosno da su kod dece starije od 4 nedelje približno jednake vrednostima odrasle populacije, dok je kod novorođenčadi pH želuca približno neutralne vrednosti (Kaye, 2011, Batchelor i sar., 2013; Stillhart i sar., 2020).

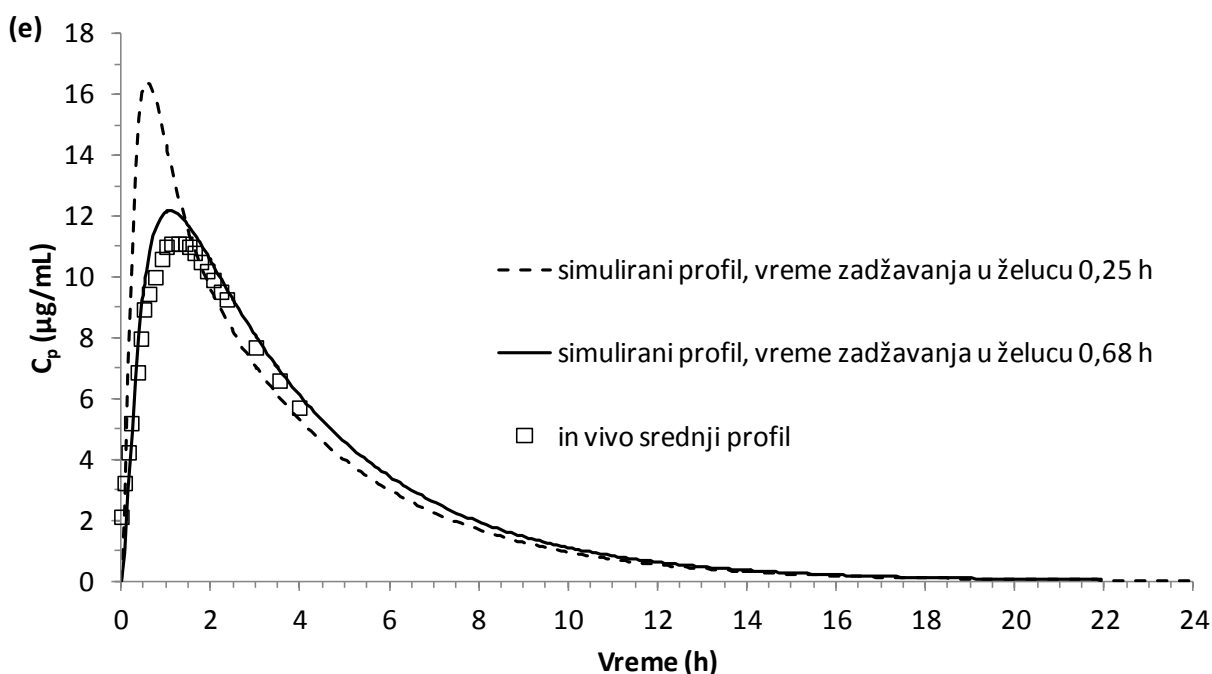
Pored podešavanja K_p vrednosti i vremena zadržavanja u različitim regionima GI trakta, za izgradnju PBPK modela je neophodno uneti i vrednosti za CL . Jiang i saradnici (2013) su primenom validiranog PBPK modela odredili vrednosti CL za pedijatrijsku populaciju (0-17 godina). Autori su model izgradili uzimajući u obzir parametre svih poznatih puteva eliminacije paracetamola i ontogeni razvoj enzima koji učestvuju u metabolizmu paracetamola, a predviđene vrednosti koncentracija pojedinačnih metabolita u urinu su validirane u odnosu na rezultate dobijene u kliničkim studijama. Do sličnih rezultata u vrednostima CL za decu različitog uzrasta, došli su i drugi istraživači, primenom NONMEM (engl. *nonlinear mixed-effects modeling*) metode (Anderson i sar., 2000; Anderson i sar., 2002; Anderson i sar., 2005; Zuppa i sar., 2011).

Izgrađeni PBPK modeli validirani su poređenjem sa podacima dobijenim u *in vivo* studijama, nakon peroralne primene paracetamola kod pedijatrijskih pacijenata različitog uzrasta. Prema smernici ICH E11(R1) (2017), klinička ispitivanja lekova se ne sprovode na zdravoj deci i za razliku od validacije PBPK modela za odraslu populaciju gde su referentne studije bile sprovedene na zdravim dobrovoljcima, klinička ispitivanja koja su korišćena za validaciju PBPK modela za pedijatrijske uzraste, sprovedena su na deci koja su bila na bolničkom lečenju i ne može se izuzeti mogućnost uticaja zdravstvenog stanja ispitanika i primenjene konkomitantne terapije na *in vivo* uočene vrednosti farmakokinetičkih parametara paracetamola.

Simulirani i *in vivo* uočeni profili koncentracije paracetamola u plazmi, za različite pedijatrijske uzraste, prikazani su na slici 31, pri čemu su na slikama 31a-c prikazani *in vivo* profili svih ispitanika u studiji (srednji profil nije dostupan u referenci). Predviđene i *in vivo* vrednosti farmakokinetičkih parametara, kao i odgovarajuće greške predviđanja, date su u tabelama 47-51.







Slika 31. Simulirani i *in vivo* profili koncentracije paracetamola u plazmi nakon peroralne primene paracetamola: novorođenčad prosečnog uzrasta 12 dana, prosečna doza 52,5 mg, oralna suspenzija (120 mg/5 mL) (Hopkins i sar., 1990) (a); odojčad prosečnog uzrasta 18 nedelja, prosečna doza 84,3 mg, oralna suspenzija (120 mg/5 mL) (Hopkins i sar., 1990) (b); deca prosečnog uzrasta 2,3 godine, prosečna doza 158,0 mg, oralna suspenzija (120 mg/5 mL) (Hopkins i sar., 1990) (c); deca prosečnog uzrasta 5,9 godina, prosečna doza 243,6 mg, oralna suspenzija (160 mg/5 mL) (Kelley i sar., 1992) (d); deca prosečnog uzrasta 12 godina, tablete sa trenutnim oslobađanjem, prosečna doza 821,2 mg (Romsing i sar., 2001) (e)

Tabela 47. Poređenje farmakokinetičkih parametara dobijenih primenom paracetamol-specifičnog PBPK modela za novorođenčad uzrasta 12 dana i *in vivo* podataka koji se odnose na primenu doze od 52,5 mg u obliku oralne suspenzije (120 mg/5 mL) (Hopkins i sar., 1990)

Parametar	<i>In vivo</i> srednje vrednosti	<i>In vivo</i> opseg	Simulirane vrednosti (vreme zadržavanja u želucu 0,90 h)	<i>PE</i> (%)	Simulirane vrednosti (vreme zadržavanja u želucu 0,68 h)	<i>PE</i> (%)
C_{max} (µg/mL)	10,29	8,15 – 14,60	9,14	11,17	9,87	4,07
t_{max} (h)	1,34	1,01 – 1,50	1,63	-21,04	1,28	4,75
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	46,12	38,66 – 51,54	59,69	-29,43	59,66	-29,38
$PIK_{0 \rightarrow t}$ (µg h/mL)	43,80	38,66 – 51,54	47,62	-8,74	48,33	-10,35
Biološka raspoloživost (%)	/	/	92,89	/	92,94	/

Tabela 48. Poređenje farmakokinetičkih parametara dobijenih primenom paracetamol-specifičnog PBPK modela za odojčad uzrasta 18 nedelja i *in vivo* podataka koji se odnose na primenu doze od 84,3 mg u obliku oralne suspenzije (120 mg/5 mL) (Hopkins i sar., 1990)

Parametar	<i>In vivo</i> srednje vrednosti	<i>In vivo</i> opseg	Simulirane vrednosti	PE (%)
C_{max} (µg/mL)	10,85	10,30 – 11,60	10,43	3,88
t_{max} (h)	1,16	1,02 – 1,54	1,07	8,07
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	35,11	31,91 – 43,14	48,43	-37,96
$PIK_{0 \rightarrow t}$ (µg h/mL)	35,10	31,91 – 43,12	43,39	-23,61
Biološka raspoloživost (%)	/	/	86,08	/

Tabela 49. Poređenje farmakokinetičkih parametara dobijenih primenom paracetamol-specifičnog PBPK modela za decu uzrasta 2 godine i *in vivo* podataka koji se odnose na primenu doze od 158 mg u obliku oralne suspenzije (120 mg/5 mL) (Hopkins i sar., 1990)

Parametar	<i>In vivo</i> srednje vrednosti	<i>In vivo</i> opseg	Simulirane vrednosti	PE (%)
C_{max} (µg/mL)	10,00	7,83 – 11,10	8,66	13,34
t_{max} (h)	1,93	1,52 – 3,03	1,17	39,13
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	45,87	36,80 – 57,62	42,91	6,46
$PIK_{0 \rightarrow t}$ (µg h/mL)	43,81	36,77 – 50,01	37,12	15,29
Biološka raspoloživost (%)	/	/	87,93	/

Tabela 50. Poređenje farmakokinetičkih parametara dobijenih primenom paracetamol-specifičnog PBPK modela za decu uzrasta 6 godina i *in vivo* podataka koji se odnose na primenu doze od 276,2 mg u obliku oralne suspenzije (160 mg/5 mL) (Kelley i sar., 1992)

Parametar	<i>In vivo</i> srednje vrednosti	<i>In vivo</i> opseg	Simulirane vrednosti	PE (%)
C_{max} (µg/mL)	12,70	8,40 – 25,90	10,01	21,18
t_{max} (h)	0,37	0,33 – 1,50	0,56	-51,35
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	62,47	/	41,07	34,25
$PIK_{0 \rightarrow t}$ (µg h/mL)	48,76	/	34,84	28,55
Biološka raspoloživost (%)	/	/	88,30	/

Tabela 51. Poređenje farmakokinetičkih parametara dobijenih primenom paracetamol-specifičnog PBPK modela za adolescente uzrasta 12 godina i *in vivo* podataka koji se odnose na primenu doze od 821,2 mg u obliku tablete sa trenutnim oslobađanjem (Romsing i sar., 2001)

Parametar	<i>In vivo</i> srednje vrednosti	<i>In vivo</i> opseg	Simulirane vrednosti	PE (%)
C_{max} (µg/mL)	11,10	7,23 – 18,20	12,17	-9,67
t_{max} (h)	1,02	0,52 – 2,02	1,09	-7,19
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	52,81	34,59 – 84,70	57,48	-8,84
$PIK_{0 \rightarrow t}$ (µg h/mL)	34,15	18,93 – 46,90	36,01	-5,44
Biološka raspoloživost (%)	/	/	82,57	/

Validacija paracetamol-specifičnih PBPK modela za novorođenčad (12 dana), odojčad (18 nedelja) i decu uzrasta 2 godine sprovedena je poređenjem sa rezultatima dobijenim u kliničkoj studiji koju su sproveli Hopkins i saradnici (1990). Na slici 31a (novorođenčad) može se uočiti da su simulirani profili koncentracije paracetamola u plazmi u funkciji vremena (za različita vremena zadržavanja u želucu) u okviru *in vivo* uočenih vrednosti. Bolje slaganje predviđenih C_{max} i t_{max} sa *in vivo* podacima dobijeno je kada je vreme zadržavanja u želucu smanjeno sa početnih 0,90 h na 0,68 h (slika 31a, tabela 47). Vrednost od 0,90 h predstavlja donju granicu opsega vremena zadržavanja u želucu kod zdrave dece uzrasta do 4 nedelje (Kaye, 2011), ali prema literaturnim podacima vreme zadržavanja u želucu kod dece (među ispitanicima najviše dece je bilo uzrasta do 4 nedelje) je kraće ukoliko se primenjuje nazogastrična sonda (Bonner i sar., 2015). U studiji koju su sproveli Hopkins i saradnici (1990) paracetamol je dat putem nazogastrične sonde drugog postoperativnog dana, deci koja su bila u febrilnom stanju nakon sprovedene kardiohirurške operacije. Poređenjem predviđenih farmakokinetičkih parametara prikazanih u tabeli 47, dobijenih kada je vreme zadržavanja u želucu 0,68 h i 0,90 h, uočeno je da greška predviđanja zavisi od vremena zadržavanja u želucu. Predviđene vrednosti C_{max} i t_{max} nalaze se u intervalu *in vivo* uočenih vrednosti, dok je simulirani ukupni obim apsorpcije, izražen kao $PIK_{0 \rightarrow \infty}$, znatno veći u odnosu vrednosti dobijene u kliničkoj studiji. Međutim, treba napomenuti da su kod dva ispitanika (od ukupno 3), u poslednjem uzorkovanju (8 h) izmerene koncentracije paracetamola u plazmi od 0 $\mu\text{g/mL}$, zbog čega su intervali izmerenih vrednosti $PIK_{0 \rightarrow t}$ i $PIK_{0 \rightarrow \infty}$ bili jednaki. Simulirani profil ne predviđa tako niske vrednosti koncentracije leka u plazmi nakon 8 sati, što je dovelo do razlike između predviđenih i uočenih vrednosti $PIK_{0 \rightarrow \infty}$, ali kako postoji dobro slaganje između simuliranog i *in vivo* uočenog obima apsorpcije tokom prvih 8 sati ($PIK_{0 \rightarrow t}$), tačnost predviđanja izgrađenog modela se može prihvatiti.

Za decu uzrasta 18 nedelja (odojčad), može se očekivati da vreme zadržavanja tečnih farmaceutskih preparata u želucu bude 0,2 h, koliko iznosi donja granica opsega iz literature (Kaye, 2011). Međutim, poređenjem *in vivo* individualnih profila (studija je sprovedena na 5 ispitanika, ali jedan profil nije u celosti prikazan u publikaciji) i profila koncentracije paracetamola u plazmi dobijenih simulacijom, prikazanih na slici 31b, može se uočiti da vreme zadržavanja u želucu od 0,2 h ne odgovara uslovima uočenim *in vivo* (Hopkins i sar., 1990). Treba naglasiti da je referentno kliničko ispitivanje sprovedeno dva dana nakon kardiohirurške intervencije, a duže vreme zadržavanja leka u želucu kod dece postoperativno opisali su i drugi autori (Anderson i sar, 1999; Romsing i sar., 2011). Kada je vreme zadržavanja leka u želucu povećano sa 0,2 h na 0,68 h, koliko iznosi srednja vrednost opsega ovog parametra (Kaye, 2011), slaganje simuliranih profila koncentracije paracetamola u plazmi sa individualnim profilima dobijenim u kliničkom ispitivanju bilo je zadovoljavajuće (slika 31b). Takođe, dobijeni rezultati ukazuju da postoji dobro slaganje predviđenih i *in vivo* uočenih t_{max} i C_{max} (tabela 48), dok je predviđeni obim apsorpcije (izražen kao PIK) veći od *in vivo* izračunatih vrednosti. Na slici 31b može se uočiti nagli pad koncentracije paracetamola u plazmi nakon 4-6 sati kod sva četiri ispitanika, dok se simulacijom predviđa ravnomerno smanjenje koncentracije paracetamola tokom vremena, usled čega se javlja izvesno neslaganje između predviđenog i izmerenog obima apsorpcije leka.

Poređenjem simuliranih i *in vivo* uočenih profila koncentracije paracetamola u plazmi kod dece uzrasta 2 godine može se uočiti da je predviđeno t_{max} kraće od *in vivo* uočenih vrednosti, posebno ukoliko je vreme zadržavanja u želucu 0,2 h (slika 31c). Ukoliko je vreme zadržavanja u želucu 0,68 h, C_{max} i koncentracije paracetamola u ostalim vremenskim tačkama nalaze se u okviru

individualnih vrednosti, a rezultati validacije ukazuju da postoji dobro slaganje između predviđenih i *in vivo* dobijenih vrednosti farmakokinetičkih parametara, izuzev t_{max} (tabela 49). Duže t_{max} izmereno kod dece uzrasta 2 godine, u odnosu na druge grupe ispitanika (novorođenčad i odojčad), uočili su i autori referentne studije, što su pripisali delovanju opijata. Naime, prema opisu kliničkog ispitivanja, „starijoj” deci su u okviru terapije dati i opijati (dovode do smanjenja motiliteta GI trakta), a najveći broj takvih pacijenata je u grupi prosečnog uzrasta 2,3 godine (Hopkins i sar., 1990). Radi ilustracije, na slici 31c je prikazan profil dobijen simulacijom kada je vreme zadržavanja želucu povećano sa 0,68 h na 1,0 h (predviđeno t_{max} u tom slučaju iznosi 1,52 h).

Evaluacijom paracetamol-specifičnih PBPK modela za novorođenčad (12 dana), odojčad (18 nedelja) i decu uzrasta 2 godine pokazano je da se rezultati dobijeni simulacijom nalaze u okviru *in vivo* uočenih podataka, a da su odstupanja najverovatnije posledica zdravstvenog stanja pacijenata i konkomitantne terapije. Takođe, u studiju je bio uključen mali broj pacijenata (ukupno 13) koji su se međusobno razlikovali, ne samo prema uzrastu, već i telesnoj masi. Dodatno, prema protokolu studije, doza paracetamola je definisana prema telesnoj masi deteta (15 mg/kg), ali autori su naveli da nisu mogli da primene preciznu dozu leka (mg). Za svaku pedijatrijsku grupu je naveden opseg doze u mg/kg, pri čemu nije dostupan podatak o tačnoj dozi paracetamola koju je primio pojedinačni pacijent (Hopkins i sar., 1990). Na osnovu rezultata validacije i uzimajući u obzir navedene činjenice, predviđanja izgrađenih PBPK modela paracetamola za novorođenčad, odojčad i decu uzrasta 2 godine se mogu smatrati prihvatljivim.

Za validaciju paracetamol-specifičnog PBPK modela za decu uzrasta 6 godina korišćeni su podaci iz kliničke studije koju su sproveli Kelley i saradnici (1992) na deci prosečnog uzrasta 5,9 godina. Poređenjem profila koncentracije paracetamola u plazmi dobijenog simulacijom i srednjeg profila dobijenog u referentnoj studiji, uočava se dobro slaganje oblika krive, ali je predviđena C_{max} niža od *in vivo* uočene vrednosti (slika 31d). Međutim, iako postoji znatna greška predviđanja C_{max} i t_{max} (tabela 50), vrednosti dobijene simulacijom nalaze se u okviru intervala individualnih vrednosti C_{max} i t_{max} uočenih *in vivo*. Dodatno, na slici 31d prikazan je profil koncentracije paracetamola u plazmi, dobijen simulacijom kada je vreme zadržavanja u želucu smanjeno sa početnih 0,2 h na 0,1 h (*default* vrednost za odraslu osobu). Ukoliko je vreme zadržavanja u želucu 0,1 h, predviđena C_{max} iznosi 11,40 $\mu\text{g/mL}$, a t_{max} 0,4 h, odnosno postignuto je bolje slaganje sa srednjim vrednostima uočenim u kliničkom ispitivanju. S obzirom da je u kliničkoj studiji paracetamol dat u tečnom obliku (suspencija), pretpostavka je da bi vreme zadržavanja tečnog farmaceutskog preparata u želucu bilo približno 0,2 h, koliko iznosi najkraće vreme zadržavanja u želucu kod zdrave dece uzrasta 6 godina (Kaye, 2011). Treba naglasiti da je na grešku predviđanja C_{max} uticala i činjenica da u opisu referentne kliničke studije nije navedena tačna primenjena doza paracetamola (mg). Naime, autori su naveli da je primenjena prosečna doza od $11,6 \pm 0,7$ mg/kg, ali podatak o telesnoj masi pacijenata (ispitanika) nije naveden. Za simulacije je korišćena doza od 276,2 mg, koja odgovara detetu telesne mase 23,8 kg, koliko iznosi *default* vrednost telesne mase devojčice uzrasta 6 godina (prema opisu kliničke studije, u ispitivanju je učestvovalo 10 devojčica i 6 dečaka). Kako je predviđena C_{max} niža od *in vivo* srednje vrednosti, predviđeni obim apsorpcije (PIK) je takođe manji u odnosu na vrednost izračunatu iz srednjeg *in vivo* profila (tabela 50). Međutim, ne može se utvrditi da li se vrednosti PIK dobijene simulacijom nalaze u okviru *in vivo* uočenih vrednosti. Interval ili individualne vrednosti PIK , dobijene u kliničkom ispitivanju, nisu dostupne, kao ni individualni profili koncentracije paracetamola u plazmi.

Paracetamol-specifični PBPK model za adolescente (12 godina) validiran je poređenjem sa podacima iz kliničke studije Romsing-a i saradnika (2001). Studija je sprovedena na 10 pacijenata (3 dečaka i 7 devojčica), uzrasta 7-13 godina, čime su obuhvaćene dve pedijatrijske grupe: deca školskog uzrasta i adolescenti. Međutim, prosečan uzrast ispitanika je bio 12 godina, što odgovara donjoj granici za grupu adolescenata (12-16 ili 18 godina). Poređenjem predviđenog i srednjeg *in vivo* profila koncentracije paracetamola u plazmi (slika 31e) uočava se dobro slaganje u obliku krive, vrednostima t_{max} i C_{max} , pod pretpostavkom da vreme zadržavanja u želucu čvrstog farmaceutskog oblika leka kod dece uzrasta 12 godina iznosi 0,68 h (srednja vrednost opsega za adolescente (Kaye, 2011)). Takođe, na osnovu greške predviđanja farmakokinetičkih parametara može se zaključiti da postoji dobro slaganje predviđenih i *in vivo* podataka, uključujući i t_{max} (tabela 51). Ukoliko bi vreme zadržavanja leka u želucu bilo 0,25 h (*default* vrednost koja odgovara odrasloj populaciji), greška predviđanja bi bila znatno veća, a simulirani profil ne bi odgovarao *in vivo* profilu koncentracije paracetamola u plazmu i predviđena vrednost t_{max} ne bi odgovarala vrednostima uočenim u referentnoj kliničkoj studiji (slika 31e). Međutim, *default* vrednost od 0,25 h bi verovatno odgovarala *in vivo* uslovima kod adolescenata u „normalnim” okolnostima (npr. kućno lečenje povišene temperature). Naime, u referentnoj studiji paracetamol je dat prvog dana nakon operacije krajnika, a činjenicu da je uočeno t_{max} bilo duže u odnosu na očekivano Romsing i saradnici (1992) su objasnili sporijim pražnjenjem želuca kod dece postoperativno. Može se pretpostaviti da su autori očekivali da t_{max} bude slična vrednostima za odraslu populaciju (manje od 1 h), što je uočeno samo kod jednog ispitanika. Dobijeni rezultati ukazuju da je tačnost predviđanja izgrađenog PBPK modela za adolescente zadovoljavajuća, kao i da je vreme zadržavanja leka u želucu jedan od ključnih parametara koji utiču na apsorpciju i dispoziciju paracetamola kod adolescenata, ali i kod dece svih ostalih uzrasta.

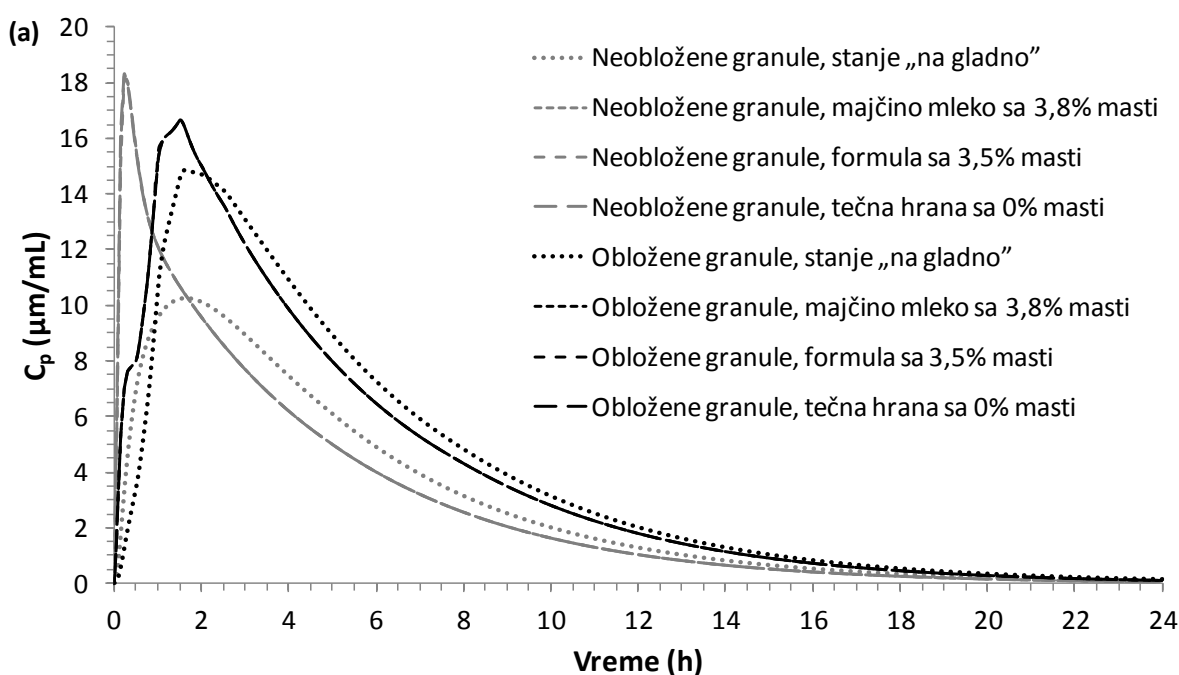
Na osnovu rezultata validacije može se zaključiti da se farmakokinetički parametri dobijeni primenom opisanih PBPK modela za pedijatrijsku populaciju uglavnom nalaze u okviru *in vivo* uočenih vrednosti. Treba naglasiti da na grešku predviđanja utiču i činjenice da su *in vivo* podaci dobijeni na malom broju ispitanika (pacijenata) i da su u pitanju grupe ispitanika koje obuhvataju oba pola i koje su po uzrastu i telesnoj masi vrlo heterogene. Takođe, doza paracetamola koja je primenjena u obliku suspenzije predstavlja prosečnu dozu u mg/kg koju su autori naveli (Hopkins i sar., 1990; Kelley i sar., 1992), odnosno, svi ispitanici nisu primili istu dozu leka (mg/kg). Odstupanja stvarne od propisane doze Hopkins i saradnici (1990) su objasnili nemogućnošću preciznog doziranja tečnog farmaceutskog oblika leka (tačnost doziranja je bila 0,5 mL (12 mg paracetamola)). Sa druge strane, protokolom ispitivanja koje su sproveli Kelley i saradnici (1992) propisana je doza 10–15 mg/kg, a primenjeno je 9,8–12,6 mg/kg (razlog odstupanja autori nisu naveli).

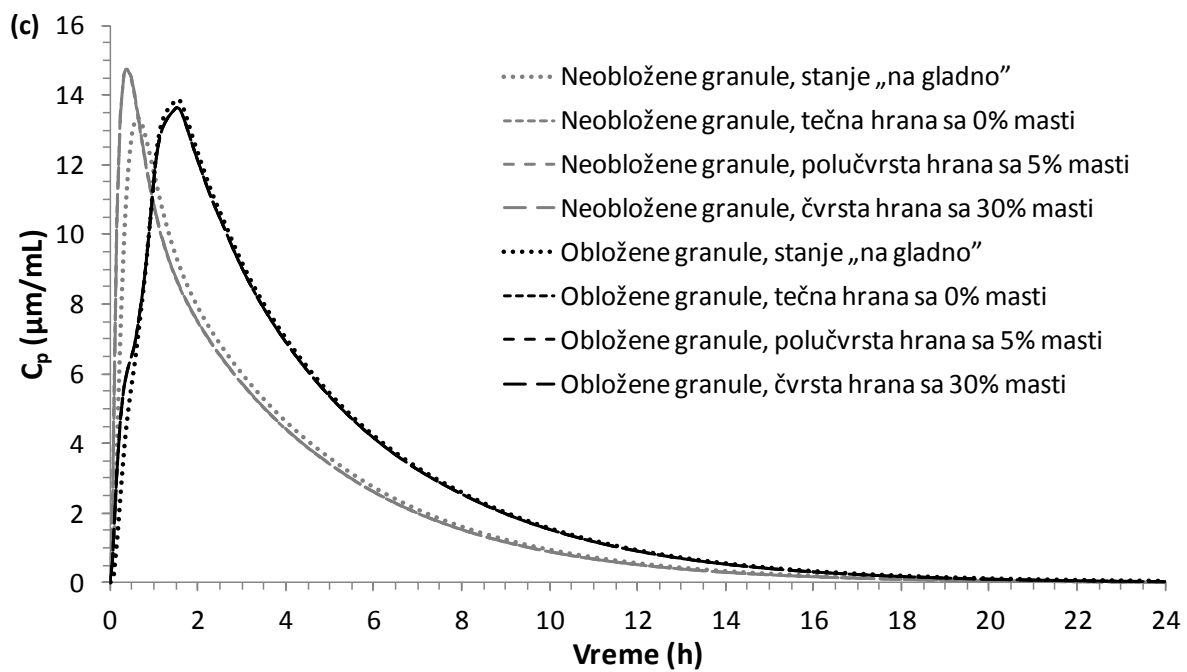
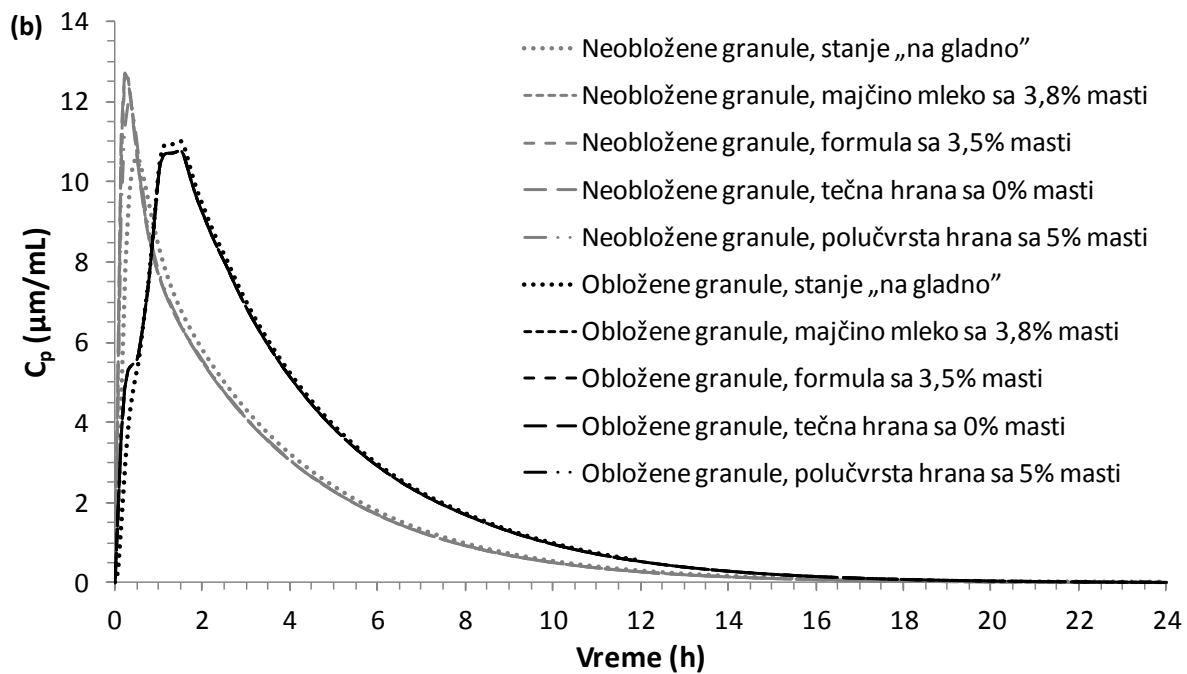
4.7.3. Primena PBPK modela za predviđanje apsorpcije i raspodele paracetamola u pedijatrijskoj populaciji

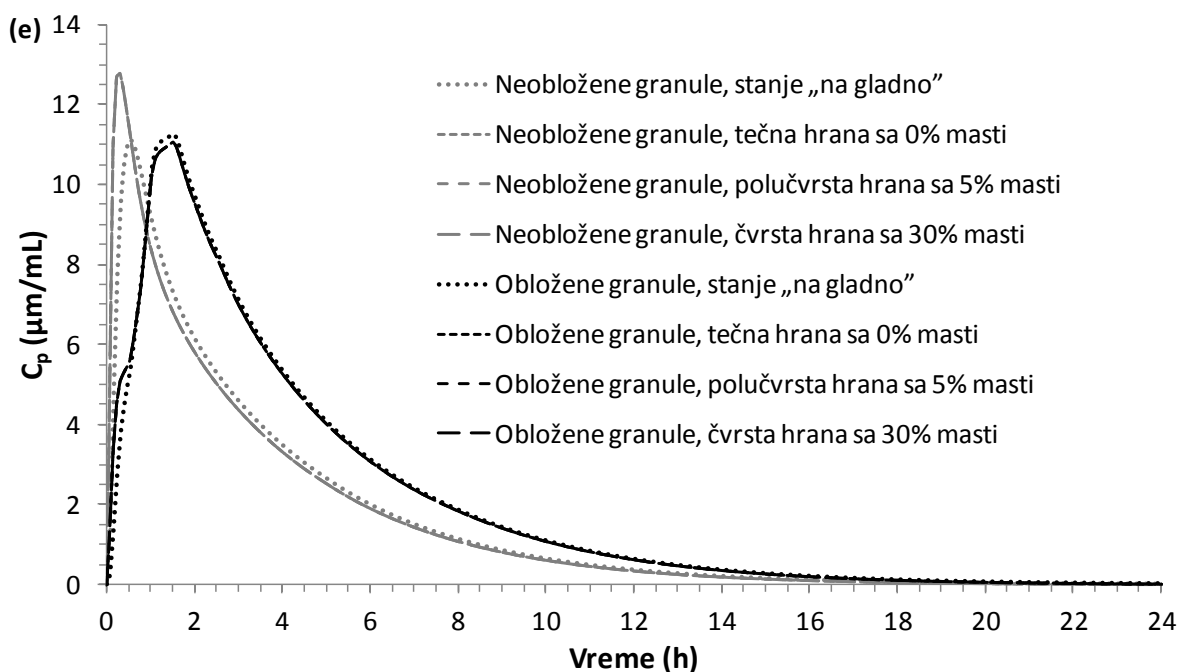
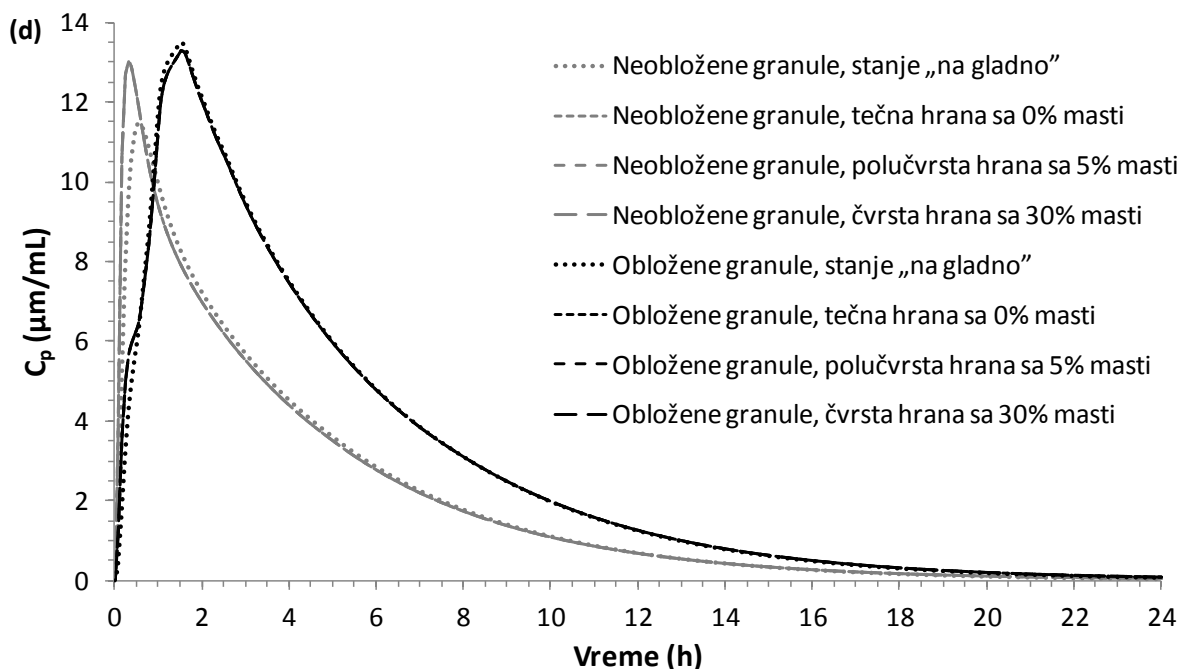
4.7.3.1. Apsorpcija i raspodela leka nakon primene pojedinačne doze granula paracetamola

Razvijeni i validirani paracetamol-specifični PBPK modeli za decu različitog uzrasta primenjeni su za predviđanje apsorpcije i raspodele paracetamola primenjenog u obliku obloženih granula, u stanju „na gladno” i u stanju sitosti. Radi poređenja, simulirani su i apsorpcija i raspodela

leka nakon primene neobloženih granula pod istim uslovima. Simulacije su urađene za slučaj primene jedne doze leka i nakon ponovljenog doziranja. Na slici 32 prikazani su simulirani profili koncentracija paracetamola u plazmi kod dece različitog uzrasta, nakon primene jedne doze leka u obliku neobloženih i obloženih granula. Kod svih pedijatrijskih grupa, izbor farmaceutskog oblika leka (neobložene ili obložene granule paracetamola) uticao je na izgled simuliranog profila. Takođe, rezultati simulacija su pokazali da predviđeni profili koncentracije paracetamola u plazmi zavise od načina primene leka (bez ili sa hranom), kao i da prisustvo hrane ima veći uticaj na apsorpciju paracetamola nakon primene neobloženih granula, u odnosu na obložene granule. Simulacije uticaja različitih vrsta hrane/obroka na apsorpciju paracetamola ukazuju da, kod dece svih uzrasta i za oba farmaceutska oblika leka, predviđeni profili ne zavise od konzistencije, odnosno vrste hrane, s obzirom na to da se profili dobijeni simulacijama u stanju sitosti za različite vrste obroka preklapaju (slika 32).







Slika 32. Simulirani profili koncentracije paracetamola u plazmi nakon peroralne primene ispitivanih neobloženih i obloženih granula bez/sa hranom kod: novorođenčadi uzrasta 12 dana (a); odojčadi uzrasta 18 nedelja (b); dece uzrasta 2 godine (c); deca uzrasta 6 godina (d); adolescenata uzrasta 12 godina (e); profili koji se odnose na neobložene granule, primenjene sa hranom, se preklapaju (a-e); profili koji se odnose na obložene granule, primenjene sa hranom, se preklapaju (a-e)

Rezultati simulacija ukazuju da je kod svih pedijatrijskih uzrasta apsorpcija paracetamola znatno brža nakon primene neobloženih granula, u odnosu na obložene granule, bez obzira na odsustvo/prisustvo hrane, osim kod novorođenčadi u stanju „na gladno” (slika 32). Međusobnim poređenjem profila dobijenih simulacijom primene leka u stanju „na gladno”, može se uočiti da

postoji znatna razlika između profila dobijenih kod novorođenčadi i profila dobijenih kod ostalih pedijatrijskih grupa. Kod novorođenčadi, brzina apsorpcije paracetamola u odsustvu hrane, sporija je u odnosu na sve ostale pedijatrijske uzraste, ali samo nakon primene neobloženih granula. Rezultati simulacija primene neobloženih granula paracetamola „na gladno” pokazali su da je t_{max} kod novorođenčadi oko tri puta duže u odnosu na vrednosti dobijene kod ostalih pedijatrijskih grupa (tabela 52), što se može dovesti u vezu sa činjenicom da je vreme zadržavanja u želucu kod ove pedijatrijske grupe, u stanju „na gladno”, znatno duže u odnosu na ostale pedijatrijske uzraste (0,9 h u odnosu na 0,2 h). Kao što je već opisano kod validacije PBPK modela, vreme zadržavanja u želucu znatno utiče na t_{max} , kada se primeni farmaceutski oblik sa trenutnim oslobađanjem lekovite supstance (npr. neobložene granule) bez hrane. Usporena apsorpcija paracetamola kod novorođenčadi, u odnosu na decu starijih uzrasta, uočena je i u kliničkim studijama i opisana u literaturi (Anderson i sar., 2002, Gibb i Anderson, 2008). Primenom obloženih granula paracetamola, u stanju „na gladno”, predviđene vrednosti t_{max} za različite pedijatrijske uzraste, uključujući i novorođenčad, skoro su iste (tabela 53).

Tabela 52. Poređenje farmakokinetičkih parametara dobijenih primenom paracetamol-specifičnih PBPK modela za decu različitih uzrasta, koji se odnose na primenu paracetamola u obliku neobloženih granula u stanju „na gladno” i u stanju sitosti (stepen efekta hrane je naveden u zagradi)

Pedijatrijska grupa/doza Parametar	Stanje „na gladno”	Majčino mleko (3,8% masti)	Formula (3,5% masti)	Tečna hrana (0% masti)	Polučvrsta hrana (5% masti)	Čvrsta hrana (30% masti)
Novorođenčad/60 mg						
C_{max} (µg/mL)	10,28	18,26 (1,78)	18,12 (1,76)	18,30 (1,78)	/	/
t_{max} (h)	1,68	0,25 (0,15)	0,25 (0,15)	0,25 (0,15)	/	/
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	68,19	68,18 (1,00)	68,18 (1,00)	68,18 (1,00)	/	/
PIK_{tc} (µg h/mL)	9,77	21,90 (2,24)	21,87 (2,24)	21,93 (2,24)	/	/
Biološka raspoloživost (%)	93,18	93,17 (1,00)	93,17 (1,00)	93,17 (1,00)	/	/
Odojčad /60 mg						
C_{max} (µg/mL)	10,60	12,68 (1,20)	12,60 (1,19)	12,72 (1,20)	12,02 (1,13)	/
t_{max} (h)	0,50	0,25 (0,50)	0,32 (0,64)	0,25 (0,50)	0,33 (0,67)	/
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	34,48	34,48 (1,00)	34,48 (1,00)	34,48 (1,00)	34,48 (1,00)	/
PIK_{tc} (µg h/mL)	3,17	5,28 (1,66)	5,24 (1,65)	5,32 (1,68)	4,46 (1,41)	/
Biološka raspoloživost (%)	86,19	86,19 (1,00)	86,19 (1,00)	86,19 (1,00)	86,19 (1,00)	/
Deca (2 godine)/180 mg						
C_{max} (µg/mL)	13,33	/	/	14,76 (1,11)	14,78 (1,11)	14,78 (1,11)
t_{max} (h)	0,64	/	/	0,40 (0,63)	0,40 (0,63)	0,40 (0,63)
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	48,88	/	/	48,88 (1,00)	48,88 (1,00)	48,88 (1,00)
PIK_{tc} (µg h/mL)	12,21	/	/	12,82 (1,05)	12,80 (1,05)	12,78 (1,05)
Biološka raspoloživost (%)	88,25	/	/	88,25 (1,00)	88,25 (1,00)	88,25 (1,00)
Deca (6 godina)/324 mg						
C_{max} (µg/mL)	11,48	/	/	13,01 (1,13)	13,02 (1,13)	13,02 (1,13)
t_{max} (h)	0,56	/	/	0,32 (0,57)	0,32 (0,57)	0,32 (0,57)
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	48,18	/	/	48,18 (1,00)	48,18 (1,00)	48,18 (1,00)
PIK_{tc} (µg h/mL)	7,25	/	/	8,17 (1,13)	8,16 (1,13)	8,16 (1,13)
Biološka raspoloživost (%)	88,47	/	/	88,47 (1,00)	88,47 (1,00)	88,47 (1,00)

Pedijatrijska grupa/doza Parametar	Stanje „na gladno”	Majčino mleko (3,8% masti)	Formula (3,5% masti)	Tečna hrana (0% masti)	Polučvrsta hrana (5% masti)	Čvrsta hrana (30% masti)
Adolescenti/540 mg						
C_{max} (µg/mL)	11,11	/	/	12,78 (1,15)	12,78 (1,15)	12,79 (1,15)
t_{max} (h)	0,54	/	/	0,32 (0,59)	0,32 (0,59)	0,32 (0,59)
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	37,73	/	/	37,73 (1,00)	37,73 (1,00)	37,73 (1,00)
PIK_{tc} (µg h/mL)	4,99	/	/	7,14 (1,43)	7,14 (1,43)	7,14 (1,43)
Biološka raspoloživost (%)	83,14	/	/	83,14 (1,00)	83,14 (1,00)	83,14 (1,00)

Tabela 53. Poređenje farmakokinetičkih parametara dobijenih primenom paracetamol-specifičnih PBPK modela za decu različitih uzrasta, koji se odnose na primenu paracetamola u obliku obloženih granula u stanju „na gladno” i u stanju sitosti (stepen efekta hrane je naveden u zagradi)

Pedijatrijska grupa/doza Parametar	Stanje „na gladno”	Majčino mleko (3,8% masti)	Formula (3,5% masti)	Tečna hrana (0% masti)	Polučvrsta hrana (5% masti)	Čvrsta hrana (30% masti)
Novorođenčad/84 mg						
C_{max} (µg/mL)	14,84	16,65 (1,12)	16,65 (1,12)	16,65 (1,12)	/	/
t_{max} (h)	1,68	1,53 (0,91)	1,53 (0,91)	1,53 (0,91)	/	/
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	95,41	95,38 (1,00)	95,38 (1,00)	95,38 (1,00)	/	/
PIK_{tc} (µg h/mL)	44,39	44,04 (0,99)	44,05 (0,99)	44,04 (0,99)	/	/
Biološka raspoloživost (%)	93,13	93,10 (1,00)	93,10 (1,00)	93,10 (1,00)	/	/
Odojčad /84 mg						
C_{max} (µg/mL)	11,00	10,81 (0,98)	10,81 (0,98)	10,81 (0,98)	10,81 (0,98)	/
t_{max} (h)	1,52	1,52 (1,00)	1,52 (1,00)	1,52 (1,00)	1,52 (1,00)	/
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	48,24	48,24 (1,00)	48,24 (1,00)	48,24 (1,00)	48,24 (1,00)	/
PIK_{tc} (µg h/mL)	8,60	8,05 (0,94)	8,05 (0,94)	8,05 (0,94)	8,05 (0,94)	/
Biološka raspoloživost (%)	86,14	86,13 (1,00)	86,14 (1,00)	86,13 (1,00)	86,14 (1,00)	/
Deca (2 godine)/240 mg						
C_{max} (µg/mL)	13,89	/	/	13,66 (0,98)	13,66 (0,98)	13,66 (0,98)
t_{max} (h)	1,52	/	/	1,52 (1,00)	1,52 (1,00)	1,52 (1,00)
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	65,13	/	/	65,12 (1,00)	65,12 (1,00)	65,12 (1,00)
PIK_{tc} (µg h/mL)	22,50	/	/	21,39 (0,95)	21,39 (0,95)	21,39 (0,95)
Biološka raspoloživost (%)	88,19	/	/	88,18 (1,00)	88,18 (1,00)	88,18 (1,00)
Deca (6 godina)/432 mg						
C_{max} (µg/mL)	12,15	/	/	11,98 (0,99)	11,98 (0,99)	11,98 (0,99)
t_{max} (h)	1,52	/	/	1,52 (1,00)	1,52 (1,00)	1,52 (1,00)
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	64,19	/	/	64,18 (1,00)	64,18 (1,00)	64,18 (1,00)
PIK_{tc} (µg h/mL)	15,40	/	/	15,18 (0,99)	15,18 (0,99)	15,18 (0,99)
Biološka raspoloživost (%)	88,40	/	/	88,39 (1,00)	88,39 (1,00)	88,39 (1,00)

Pedijatrijska grupa/doza Parametar	Stanje „na gladno”	Majčino mleko (3,8% masti)	Formula (3,5% masti)	Tečna hrana (0% masti)	Polučvrsta hrana (5% masti)	Čvrsta hrana (30% masti)
Adolescenti/720 mg						
C_{max} (µg/mL)	11,25	/	/	11,06 (0,98)	11,06 (0,98)	11,06 (0,98)
t_{max} (h)	1,53	/	/	1,53 (1,00)	1,53 (1,00)	1,53 (1,00)
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	50,27	/	/	50,26 (1,00)	50,26 (1,00)	50,26 (1,00)
PIK_{tc} (µg h/mL)	9,56	/	/	8,90 (0,93)	8,90 (0,93)	8,90 (0,93)
Biološka raspoloživost (%)	83,08	/	/	83,07 (1,00)	83,07 (1,00)	83,07 (1,00)

U stanju sitosti, predviđene vrednosti t_{max} nisu zavisile od uzrasta deteta, već samo od farmaceutskog oblika leka (neobložene ili obložene granule paracetamola) (tabele 52, 53). Simulacije primene obloženih granula u odsustvu i prisustvu hrane, kod odojčadi, dece i adolescenata, pokazale su da je brzina apsorpcije paracetamola kod navedenih pedijatrijskih grupa ista, odnosno, da predviđeno t_{max} nije zavisilo od uzrasta deteta nakon primene obloženih granula paracetamola (tabela 53). Sa druge strane, rezultati simulacija primene neobloženih granula paracetamola, u odsustvu i prisustvu hrane, pokazali su da postoje razlike između vrednosti t_{max} predviđenih kod dece različitog uzrasta, ali su razlike u brzini apsorpcije paracetamola između odojčadi, dece i adolescenata neznatne (tabela 52).

Kod novorođenčadi, predviđena vrednost C_{max} nakon primene neobloženih granula paracetamola u stanju „na gladno” znatno je niža od vrednosti dobijene simulacijom primene obloženih granula paracetamola, što se može dovesti u vezu sa većom dozom leka koja je korišćena u simulacijama za obložene granule. Međutim, simulacijama primene leka u stanju sitosti, predviđene vrednosti C_{max} su bile niže nakon primene obloženih granula paracetamola (slika 32a). Dodatno, kod ostalih pedijatrijskih uzrasta, predviđene C_{max} nakon primene neobloženih i obloženih granula, u stanju „na gladno” i u stanju sitosti, ne razlikuju se znatno (tabele 52, 53), iako su doze paracetamola primenjene u obliku obloženih granula takođe veće u odnosu na dozu leka u neobloženim granulama (tabela 20). Činjenica da primena veće doze leka u obliku obloženih granula nije povećala vrednosti C_{max} može biti važna sa aspekta bezbednosti primene obloženih granula paracetamola. Takođe, može se zaključiti da je kod novorođenčadi usporena apsorpcija leka u stanju „na gladno” dovela do smanjenja C_{max} kada je primenjen farmaceutski oblik leka sa trenutnim oslobađanjem (neobložene granule), ali je ovaj efekat izostao kada je primenjen farmaceutski oblik leka sa produženim oslobađanjem (obložene granule).

Predviđene vrednosti PIK srazmerne su primenjenoj dozi paracetamola, usled čega su vrednosti dobijene nakon primene obloženih granula paracetamola veće u odnosu na neobložene granule. Prema kliničkim podacima, terapijski efekat paracetamola (antipiretički i analgetički) kod dece postiže se ukoliko je koncentracija paracetamola u plazmi veća od 10 $\mu\text{g/mL}$ (Anderson i sar., 2002; Zuppa i sar., 2011). Prema određenim istraživanjima ovaj prag je prihvatljiv ako treba postići antipiretički efekat, dok su za terapiju bola neophodne koncentracije veće od 11 $\mu\text{g/mL}$ ili 12 $\mu\text{g/mL}$ (Gibb i Anderson, 2008; de Martino i Chiarugi, 2015). U cilju poređenja terapijske efikasnosti ispitivanih neobloženih i obloženih granula, izračunata je vrednost PIK_{tc} koja se odnosi na površinu ispod dela krive simuliranog profila u kome je koncentracija paracetamola u plazmi veća od 10 $\mu\text{g/mL}$. Poređenjem predviđenih vrednosti PIK_{tc} nakon primene neobloženih i obloženih granula, u odsustvu ili prisustvu hrane, može se uočiti da su kod svih pedijatrijskih uzrasta predviđene vrednosti veće nakon primene obloženih granula (tabele 52, 53). Vrednosti PIK_{tc} takođe su srazmerne dozi paracetamola, međutim, ukoliko bi doza paracetamola primenjena sa neobloženim granulama bila povećana i jednaka dozi leka primenjenog u obliku obloženih granula, vrednosti C_{max} bi bile znatno više (npr. 25,62 $\mu\text{g/mL}$ i 17,08 $\mu\text{g/mL}$ za novorođenčad i odojčad u stanju sitosti/majčino mleko, a 19,69 $\mu\text{g/mL}$, 19,35 $\mu\text{g/mL}$ i 17,03 $\mu\text{g/mL}$ za decu uzrasta 2 godine, 6 godina i adolescente, redom, u stanju sitosti/polučvrsta hrana).

Simulacije primene neobloženih i obloženih granula paracetamola u stanju sitosti sprovedene su sa ciljem ispitivanja efekta hrane na farmakokinetičke parametre kod dece različitih uzrasta. Procena efekta hrane najčešće se sprovodi u skladu sa principima kojima se utvrđuje biološka ekvivalentnost lekova (Koziolek i sar., 2019). Ukoliko je stepen efekta hrane u opsegu

0,80–1,25 (FDA/CDER, 2002), može se smatrati da efekat hrane nije klinički značajan. Takođe, efekat hrane na vrednost određenog farmakokinetičkog parametra može biti negativan ili pozitivan, u zavisnosti od toga da li uzimanjem leka nakon obroka dolazi do smanjenja ili povećanja vrednosti farmakokinetičkog parametra. Rezultati simulacija primene neobloženih granula paracetamola pokazali su da je stepen efekta hrane na t_{max} kod svih pedijatrijskih uzrasta izvan navedenog opsega (0,80–1,25), a kod novorođenčadi je predviđen i klinički značajan (veći od 1,25) pozitivan efekat hrane na C_{max} (tabela 52). Nakon primene obloženih granula paracetamola, efekat hrane na simulirane profile može se uočiti samo kod novorođenčadi, međutim, dobijeni rezultati su pokazali da stepen efekta hrane na t_{max} i C_{max} nije klinički značajan (tabela 53). Kod ostalih pedijatrijskih grupa, profili dobijeni simulacijama u stanju „na gladno” i u stanju sitosti se skoro u potpunosti preklapaju (slika 32), t_{max} ostaje nepromenjeno kada se obložene granule paracetamola primene bez ili sa hranom, dok su razlike u C_{max} neznatne (tabela 53). Dalje, kod dece svih uzrasta, efekat hrane se odrazio na bržu apsorpciju paracetamola kada su neobložene granule primenjene u stanju sitosti, a predviđeni negativni efekat hrane na t_{max} , kod svih pedijatrijskih grupa praćen je pozitivnim efektom na C_{max} , što je u suprotnosti sa efektima hrane (duže t_{max} i niže C_{max}) koji su opisani kod validacije PBPK modela za odrasle i u literaturi (Kalantzi i sar., 2006; Ji i sar., 2012). Međutim, treba naglasiti da se opisani fenomeni odnose na primenu tableta sa trenutnim oslobađanjem paracetamola (kod odraslih), a ne na višestruke farmaceutske oblike leka (npr. granule). Negativan efekat hrane na t_{max} , nakon primene višestruke farmaceutskog oblika leka, uočen je i u kliničkoj studiji koju su sprovedli Smith i saradnici (2012). Rezultati spomenute studije pokazali su da je t_{max} nakon primene suspenzije sa trenutnim oslobađanjem paracetamola kod dece kraće ukoliko se lek primeni nakon obroka u odnosu na primenu „na gladno”.

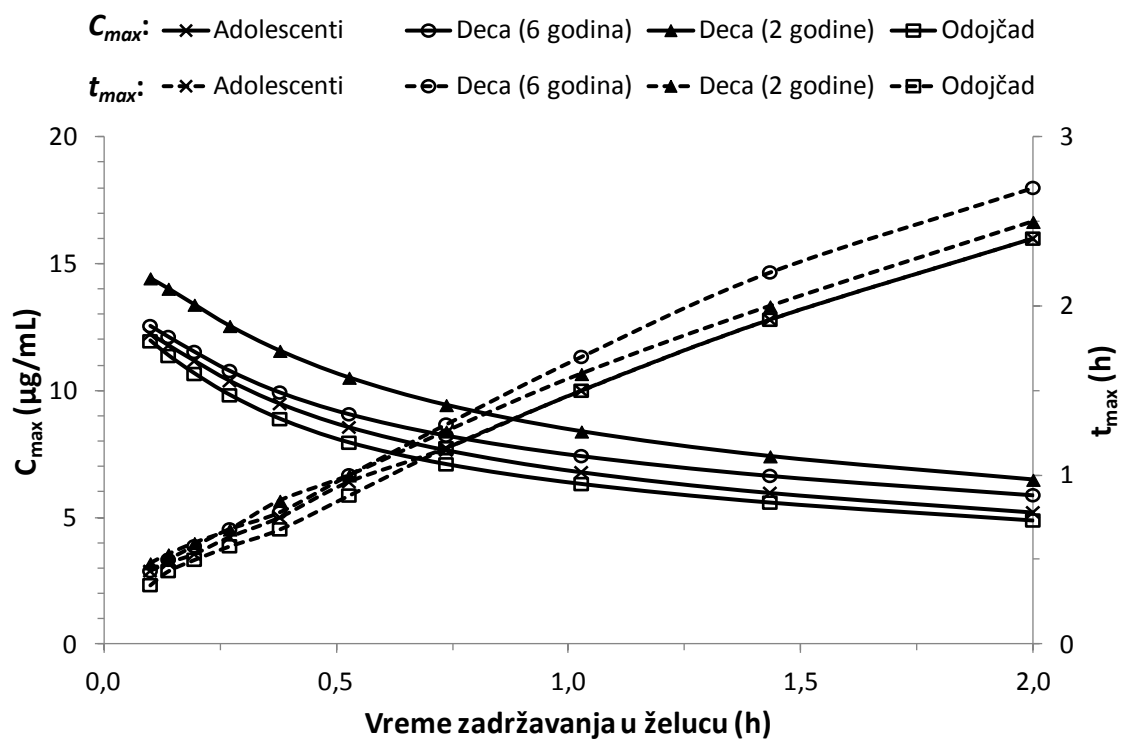
S obzirom na to da simulirani profili kod svih pedijatrijskih uzrasta, u stanju sitosti, nisu zavisili od vrste obroka, može se zaključiti da vreme zadržavanja u želucu nije uticalo na brzinu apsorpcije paracetamola. Međutim, pri odabiru fiziologije (u okviru softvera) koja opisuje stanje “na gladno”, pored vremena zadržavanja u želucu koje je podešeno/uneto kao eksterni ulazni podatak, softver automatski menja kinetiku prolaska leka kroz želudac. U stanju „na gladno” pražnjenje želuca je opisano kao proces koji se odvija kinetikom prvog reda, dok je u stanju sitosti definisano jednačinom nultog reda (*default*). Navedena podešavanja se slažu sa podacima iz literature, koji opisuju kinetiku pražnjenja želuca kod dece u odsustvu i prisustvu tečne i čvrste hrane (Mesbah i Thomas, 2017), te su ovakva softverska podešavanja zadržana. Rezultati simulacija, pri ispitivanim uslovima, ukazuju da najveća razlika u brzini apsorpcije paracetamola, u stanju „na gladno” i u stanju sitosti, postoji kod novorođenčadi (slika 32a), dok se kod ostalih pedijatrijskih grupa razlika može jasno uočiti samo nakon primene neobloženih granula (slika 32b-e). Drugim rečima, kinetika pražnjenja želuca (prvog ili nultog reda) utiče na brzinu apsorpcije paracetamola iz formulacije tipa višestruke sistema mnogo manje ukoliko je u pitanju farmaceutski oblik leka sa produženim oslobađanjem (obložene granule), u poređenju sa višestrukim farmaceutskim oblikom leka sa trenutnim oslobađanjem (neobložene granule), a efekat hrane na brzinu apsorpcije paracetamola primenjenog u obliku granula, ostvaren je preko kinetike pražnjenja želuca, a ne vremena zadržavanja u želucu.

Prisustvo hrane, kod svih grupa ispitanika i za oba farmaceutska oblika leka, nije uticalo na PIK i biološku raspoloživost paracetamola (tabele 52, 53). Kod svih pedijatrijskih grupa primenom obloženih granula u stanju sitosti, predviđeni efekat hrane na PIK_{tc} nije klinički značajan. Međutim,

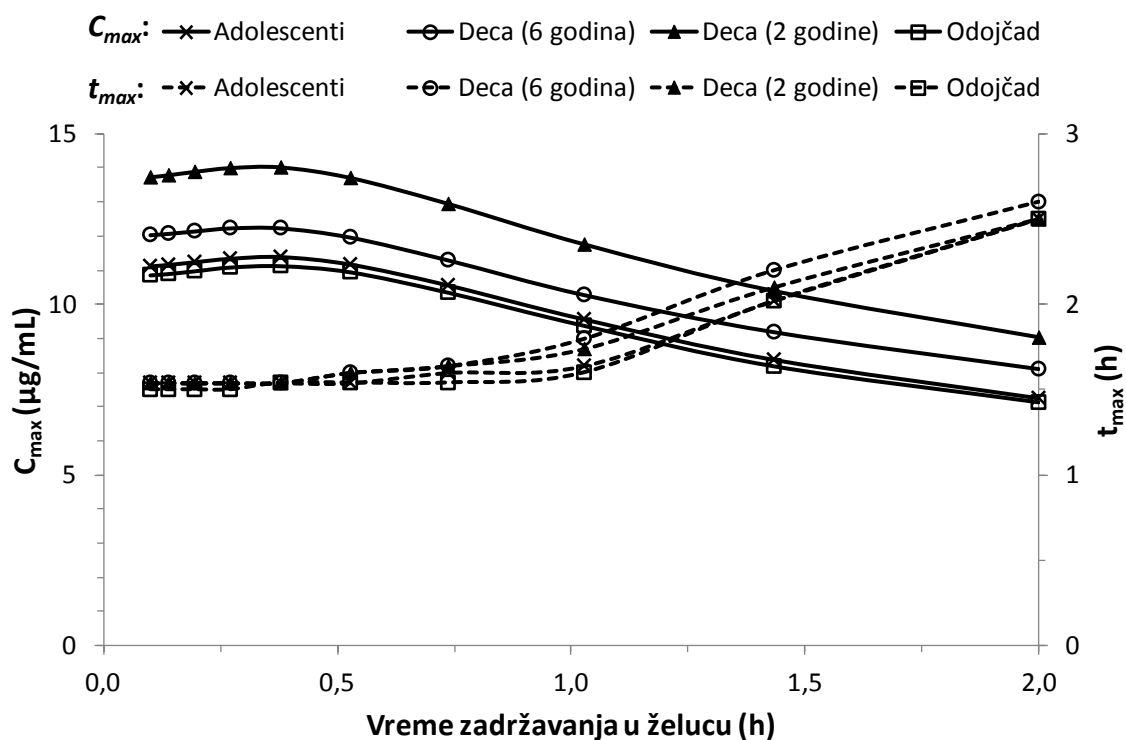
rezultati simulacije ukazuju na značajan stepen efekta hrane na PIK_{tc} , ukoliko se neobložene granule paracetamola primene kod novorođenčadi, odojčadi i adolescenata, u preporučenim dozama.

Analizom rezultata simulacija uočeno je da predviđena biološka raspoloživost paracetamola kod dece iznosi 83,07-93,18% (tabele 52, 53) i da zavisi od uzrasta deteta, a ne od farmaceutskog oblika leka (neobložene ili obložene granule), niti od načina uzimanja leka (bez ili sa hranom). S obzirom na to da je u svim simulacijama celokupna količina paracetamola apsorbirana iz tankog creva, razlike u biološkoj raspoloživosti najverovatnije potiču od razlika u kapacitetu metabolizma u jetri, odnosno C_H . Najveća biološka raspoloživost je predviđena kod novorođenčadi, što se može dovesti u vezu sa smanjenim metabolizmom prvog prolaza kroz jetru. Najniža predviđena biološka raspoloživost, u odnosu na sve ostale pedijatrijske grupe, uočena je kod adolescenata (oko 83%) i najbliža je vrednostima za odraslu populaciju (oko 80%), što je u skladu sa stepenom razvoja i sličnostima u fiziološkim karakteristikama ove dve populacije.

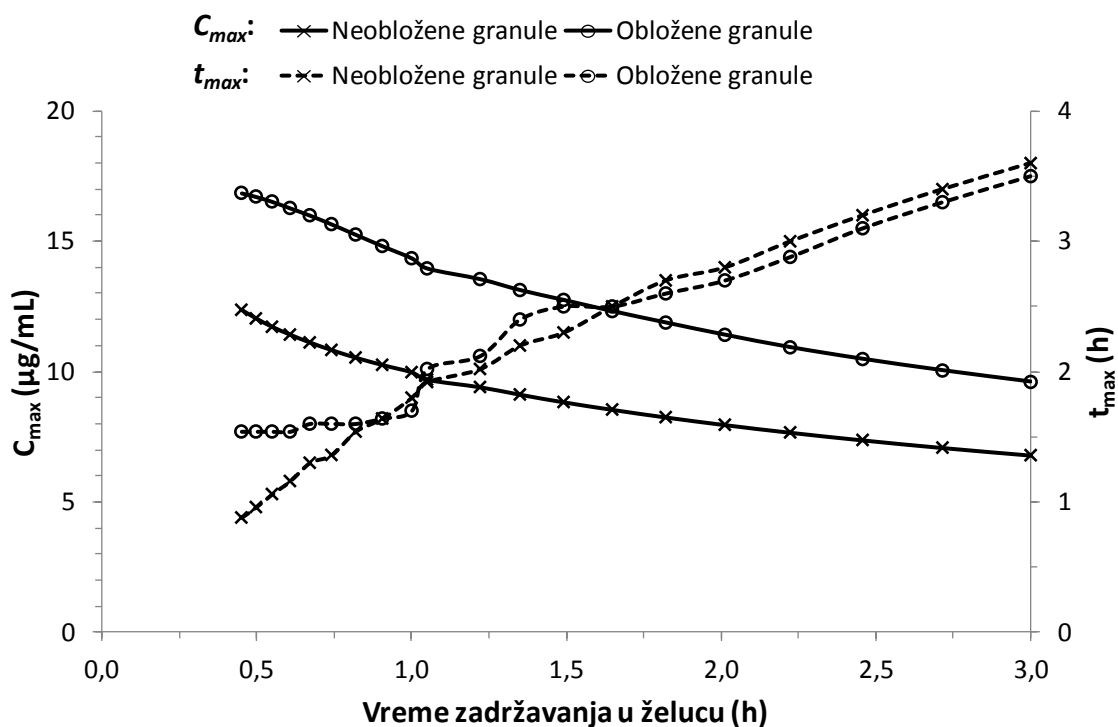
Fiziološki uslovi na mestu primene i/ili apsorpcije leka, kao što su npr. zapremina raspoložive tečnosti, pH želuca i/ili vreme zadržavanja leka u želucu, često predstavljaju ključne faktore koji utiču na apsorpciju leka (Stillhart i sar., 2020) i predviđanja ovakvih efekata su od velikog značaja za racionalan razvoj formulacije. U ovoj fazi istraživanja, PSA je sprovedena kako bi se ispitao potencijalni uticaj tri fiziološka faktora (pH želuca, zapremina tečnosti u želucu i vreme zadržavanja leka u želucu), na predviđene vrednosti farmakokinetičkih parametara (t_{max} , C_{max} , PIK i biološka raspoloživost). Rezultati PSA su pokazali da pH i zapremina tečnosti u želucu ne utiču na ispitivane parametre. Ovakvi rezultati su i očekivani, s obzirom na to da je paracetamol visoko rastvorljiv pri fiziološkom rasponu pH vrednosti. Međutim, u ispitivanom opsegu vremena zadržavanja leka u želucu, uočava se izražen efekat ovog fiziološkog faktora na t_{max} i C_{max} i nakon primene neobloženih i obloženih granula paracetamola. Kod odojčadi, dece različitog uzrasta i adolescenata, promena t_{max} , kao i C_{max} , u zavisnosti od vremena zadržavanja leka u želucu, u celom ispitivanom opsegu (0,1-2 h) se uočava samo za neobložene granule paracetamola. Naime, sa povećanjem vremena zadržavanja neobloženih granula u želucu, u stanju „na gladno”, t_{max} linearno raste, a C_{max} istovremeno opada (slika 33). Sa druge strane, vreme zadržavanja obloženih granula u želucu, kod odojčadi, dece i adolescenata, neće znatno uticati na vrednosti C_{max} i t_{max} sve dok ne pređe, redom, vrednosti od 0,5 h i 1,0 h (slika 34). Kod novorođenčadi postoji zavisnost između C_{max} i vremena zadržavanja leka u želucu u celom ispitivanom opsegu ovog parametra, za oba farmaceutska oblika leka (neobložene i obložene granule paracetamola), dok se t_{max} nakon primene obloženih granula paracetamola neće znatno promeniti sve dok je vreme zadržavanja u želucu kraće od 1 h (ispitivani opseg je 0,45-3 h) (slika 35). Dodatno, prema rezultatima PSA, efekat vremena zadržavanja leka u želucu na PIK je zanemarljiv, a na biološku raspoloživost nema uticaja, kod svih pedijatrijskih uzrasta i za obe ispitivane formulacije. Na osnovu PSA simulacija, može se zaključiti da je brzina apsorpcije paracetamola nakon primene obloženih granula paracetamola manje osetljiva na promene u vremenu zadržavanja leka u želucu, u odnosu na neobložene granule paracetamola.



Slika 33. Rezultati PSA nakon primene neobloženih granula paracetamola kod dece različitog uzrasta



Slika 34. Rezultati PSA nakon primene obloženih granula paracetamola kod dece različitog uzrasta



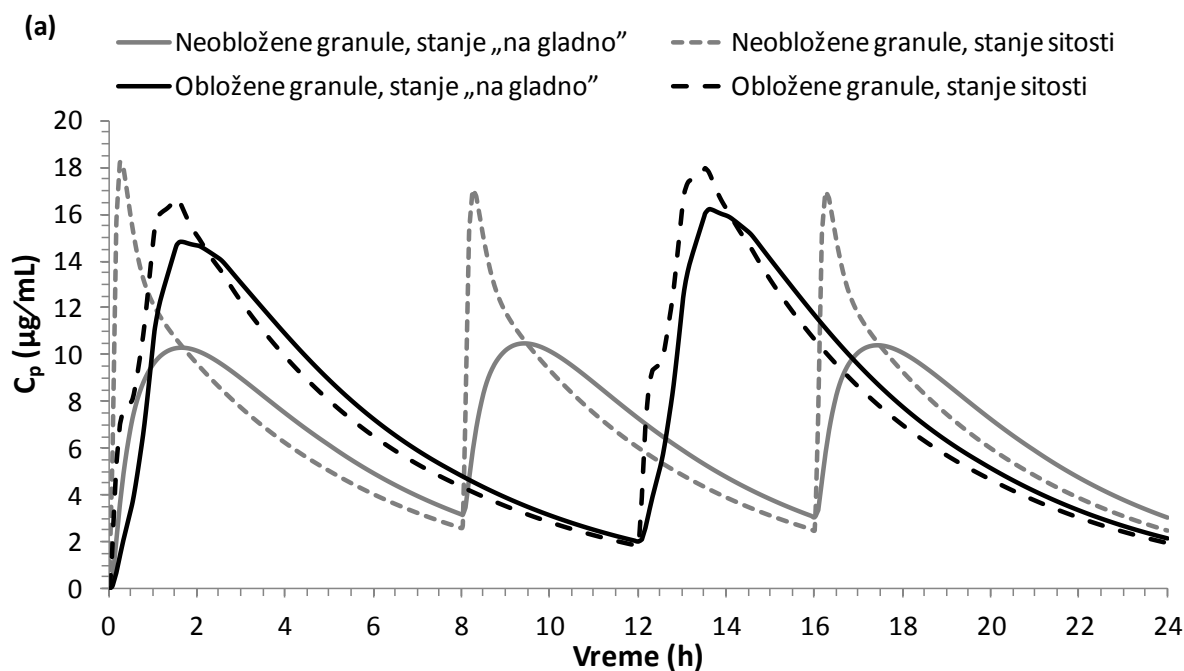
Slika 35. Rezultati PSA nakon primene neobloženih i obloženih granula paracetamola kod novorođenčadi

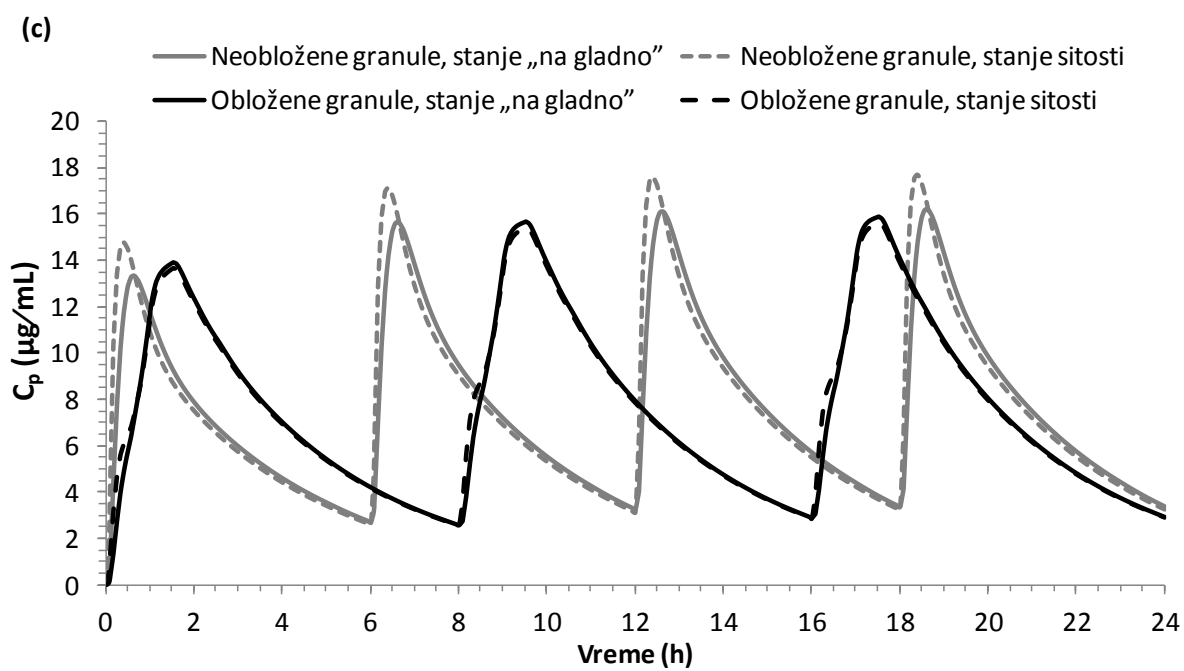
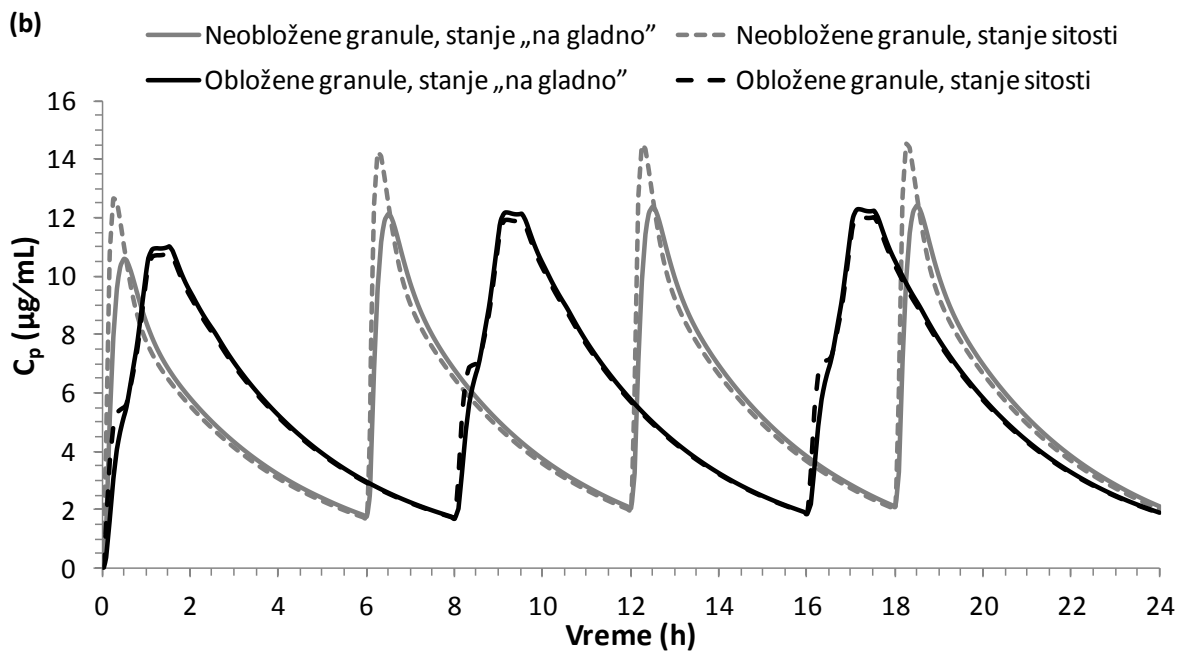
4.7.3.2. Apsorpcija i raspodela leka nakon ponovljene primene granula paracetamola

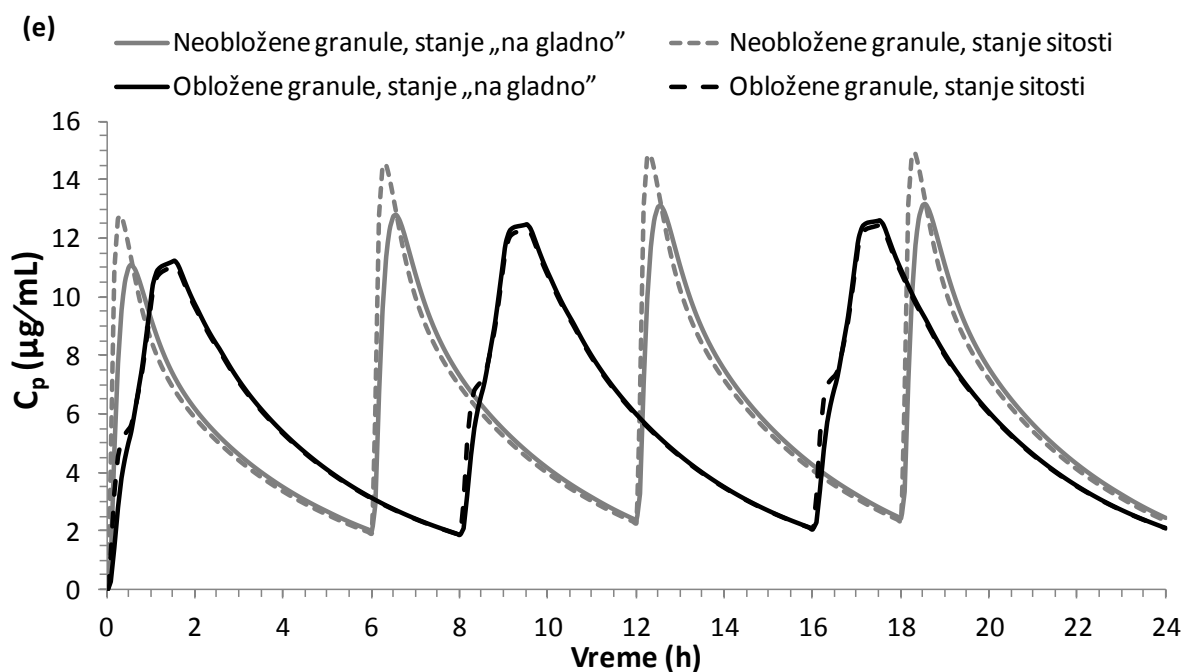
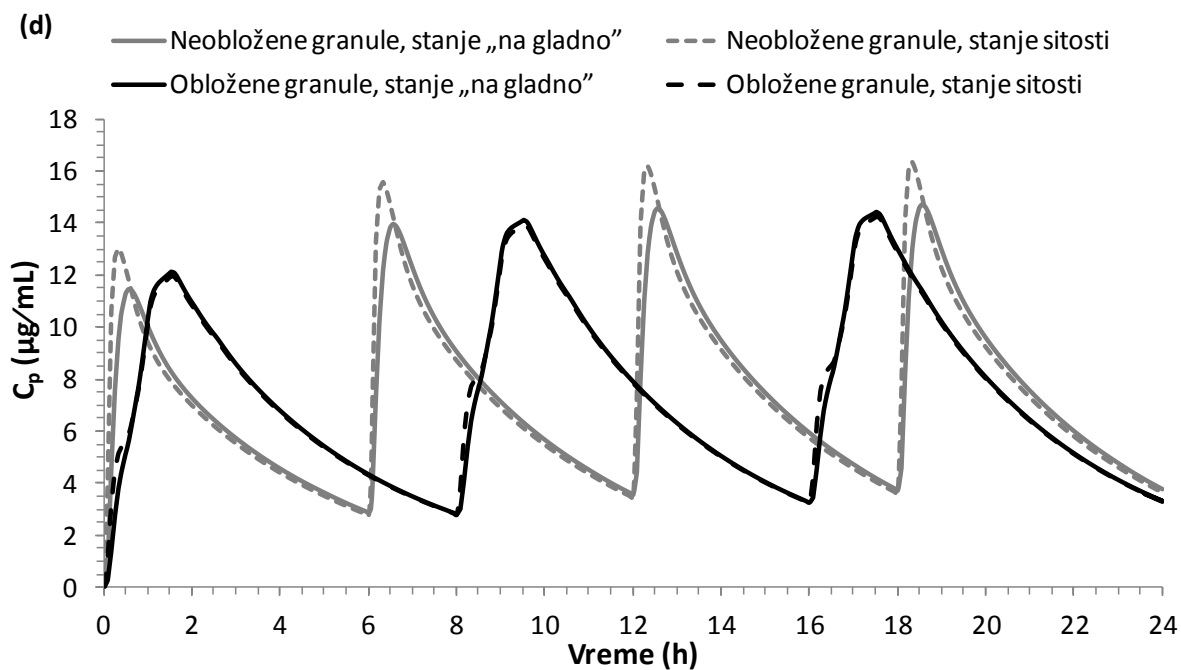
In silico simulacije apsorpcije i raspodele paracetamola nakon primene jedne doze leka u obliku obloženih granula, ukazale su na produženu apsorpciju leka, pri čemu je kod svih pedijatrijskih uzrasta postignuta terapijska koncentracija leka u plazmi. U nastavku su sprovedene simulacije apsorpcije i raspodele paracetamola u pedijatrijskoj populaciji nakon ponovljenog doziranja, sa ciljem ispitivanja mogućnosti smanjenja broja doza paracetamola primenjenog u obliku obloženih granula, u odnosu na neobložene granule paracetamola. Naime, prihvatljivost leka od strane deteta često predstavlja izazov. Stoga smanjenje broja doza, neophodnih za postizanje terapijskog efekta, može poboljšati komplikaciju pacijenta i terapijski ishod. Propisani interval doziranja paracetamola u obliku formulacija sa trenutnim oslobađanjem, za decu stariju od 4 nedelje i odrasle, iznosi 4 ili 6 sati (po potrebi, u zavisnosti od simptoma), dok je za novorođenčad 6 ili 8 sati (Zuppa i sar., 2011; Ji i sar., 2012; BNFC 2020-21). Doza paracetamola može se propisati na osnovu telesne mase deteta, kada najčešće iznosi 15 mg/kg (Zuppa i sar., 2011; de Martino i Chiarugi, 2015) ili na osnovu uzrasta deteta, kada se navodi opseg u mg (Ji i sar., 2012; BNFC 2020-21). Međutim, doza paracetamola izračunata na osnovu telesne mase pacijenta, uglavnom se mora zaokružiti prema jačini gotovog leka i preciznosti doziranja koja se može postići primenom gotovog leka. Doze paracetamola koje su primenjene u simulacijama za formulacije sa trenutnim oslobađanjem (neobložene granule paracetamola), definisane su na osnovu uzrasta deteta i jačine najčešće dostupnih gotovih lekova (tabela 20), uzimajući u obzir da odstupanje od preporučenih 15 mg/kg bude što manje. S obzirom da maksimalni broj doza za decu stariju od 4 nedelje, u toku jednog dana (24 h) iznosi četiri, bez obzira da li su primenjene na razmaku od 4 ili 6 h, interval doziranja u simulacijama je podešen na 6 h i vreme trajanja simulacija je podešeno na 24 h.

Predložena doza paracetamola primenjenog u obliku obloženih granula odabrana je tako da dnevne doze leka za određeni uzrast deteta, primenjene u različitim formulacijama, budu jednake ili približno jednake. Za decu uzrasta 2 godine i 6 godina i adolescente, dnevne doze paracetamola primenjene u obliku neobloženih granula i obloženih granula su iste, a pojedinačna doza leka primenjena u obliku obloženih granula jednaka je dnevnoj dozi paracetamola primenjenog u obliku neobloženih granula, podeljenoj na manji broj doza (3 doze tokom 24 h). Ukoliko bi se na isti način izračunala doza leka za novorođenčad i odojčad, bilo bi potrebno primeniti redom, 78 mg i 80 mg paracetamola u obliku obloženih granula, što iznosi 3,25 mL i 3,33 mL suspenzije jačine 120 mg/5 mL (najčešće dostupna jačina leka na tržištu). S obzirom da je tako precizno doziranje u mL teško postići primenom standardnih sredstava za doziranje (npr. kašičica, špric), a u literaturi se navodi da tačnost doziranja koja se može postići iznosi 0,5 mL (Hopkins i sar., 1990), doza paracetamola u obloženim granulama za novorođenčad i odojčad zaokružena je na 84 mg (odgovara zapremini od 3,5 mL preparata jačine 120 mg/5 mL). Ovim povećanjem doze paracetamola primenjenog u obliku obloženih granula nisu prekoračene maksimalne dozvoljene dnevne doze paracetamola kod novorođenčadi i odojčadi od 60 mg/kg (de Martino i Chiarugi, 2015; BNFC 2020-21).

Na slici 36 prikazani su simulirani profili koncentracije paracetamola u plazmi tokom 24 h, nakon ponovljenog uzimanja eksperimentalno dobijenih neobloženih i obloženih granula paracetamola, prema režimu doziranja navedenom u tabeli 20. S obzirom da se simulirani profili u stanju sitosti za različite vrste hrane preklapaju, na slikama 36a-e prikazan je po jedan profil koji se odnosi na stanje sitosti (za novorođenčad i odojčad: primena leka sa majčinim mlekom; za decu od 2 i 6 godina i adolescente, primena leka sa polučvrstom hranom). Numeričke vrednosti date u tabeli 54 odnose se na profile prikazane na slici 36.







Slika 36. Simulirani profili koncentracije paracetamola u plazmi tokom ponovljenog doziranja kod: novorođenčadi uzrasta 12 dana (a); kod odojčadi uzrasta 18 nedelja (b); dece uzrasta 2 godine (c); dece uzrasta 6 godina (d); adolescenata uzrasta 12 godina (e)

Tabela 54. Poređenje farmakokinetičkih parametara dobijenih primenom paracetamol-specifičnih PBPK modela za decu različitih uzrasta, koji se odnose na primenu ponovljenih doza paracetamola u obliku neobloženih i obloženih granula u stanju „na gladno” i u stanju sitosti

	Neobložene granule		Obložene granule	
	Stanje „na gladno”	Stanje sitosti	Stanje „na gladno”	Stanje sitosti
Novorođenčad				
C_{max} (µg/ml) - doza 1	10,28	18,26	14,84	16,65
	- doza 2	10,46	17,08	16,24
	- doza 3	10,38	16,99	/
C_{min} (µg/ml) - doza 1	3,15	2,58	2,00	1,81
	- doza 2	3,04	2,49	2,14
	- doza 3	3,02	2,48	/
t_{max} (h) - doza 1	1,68	0,25	1,68	1,53
	- doza 2	9,44	8,25	13,60
	- doza 3	17,44	16,25	/
PIK_{tc} (µg h/mL) - doza 1	9,77	21,90	44,39	44,04
	- doza 2	12,37	20,28	53,21
	- doza 3	11,47	19,36	/
ΣPIK_{tc} (µg h/mL)	33,62	61,55	97,60	95,90
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	177,34	177,32	190,87	190,81
Odojčad				
C_{max} (µg/ml) - doza 1	10,60	12,68	11,00	10,81
	- doza 2	12,12	14,26	12,11
	- doza 3	12,37	14,51	12,27
	- doza 4	12,41	14,55	/
C_{min} (µg/ml) - doza 1	1,78	1,70	1,72	1,71
	- doza 2	2,06	1,98	1,88
	- doza 3	2,11	2,02	1,89
	- doza 4	2,12	2,03	/
t_{max} (h) - doza 1	0,50	0,25	1,52	1,52
	- doza 2	6,50	6,25	9,52
	- doza 3	12,48	12,25	17,20
	- doza 4	18,48	18,25	/
PIK_{tc} (µg h/mL) - doza 1	3,17	5,28	8,60	8,05
	- doza 2	7,15	8,01	14,57
	- doza 3	8,13	8,79	15,51
	- doza 4	8,16	8,82	/
ΣPIK_{tc} (µg h/mL)	26,61	30,90	38,69	35,29
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	137,98	137,98	145,16	145,16

	Neobložene granule		Obložene granule	
	Stanje „na gladno”	Stanje sitosti	Stanje „na gladno”	Stanje sitosti
Deca (2 godine)				
C_{max} (µg/ml) - doza 1	13,33	14,78	13,89	13,66
- doza 2	15,62	17,13	15,64	15,40
- doza 3	16,08	17,60	15,85	15,61
- doza 4	16,18	17,70	/	/
C_{min} (µg/ml) - doza 1	2,72	2,62	2,58	2,56
- doza 2	3,27	3,14	2,90	2,88
- doza 3	3,38	3,25	2,94	2,92
- doza 4	3,40	3,27	/	/
t_{max} (h) - doza 1	0,64	0,40	1,52	1,52
- doza 2	6,64	6,40	9,52	9,52
- doza 3	12,64	12,40	17,52	17,52
- doza 4	18,64	18,40	/	/
PIK_{tc} (µg h/mL) - doza 1	12,21	12,80	22,50	21,39
- doza 2	20,57	20,44	32,39	31,15
- doza 3	22,89	22,72	32,87	32,44
- doza 4	23,04	22,86	/	/
ΣPIK_{tc} (µg h/mL)	78,71	78,83	87,75	84,97
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	195,53	195,53	195,75	195,76
Deca (6 godina)				
C_{max} (µg/ml) - doza 1	11,48	13,02	12,15	11,98
- doza 2	13,99	15,58	14,14	13,96
- doza 3	14,59	16,20	14,45	14,27
- doza 4	14,74	16,35	/	/
C_{min} (µg/ml) - doza 1	2,86	2,76	2,80	2,78
- doza 2	3,55	3,43	3,25	3,23
- doza 3	3,72	3,59	3,28	3,25
- doza 4	3,76	3,63	/	/
t_{max} (h) - doza 1	0,56	0,32	1,52	1,52
- doza 2	6,56	6,32	9,52	9,52
- doza 3	12,56	12,32	17,52	17,52
- doza 4	18,56	18,32	/	/
PIK_{tc} (µg h/mL) - doza 1	7,25	8,16	15,40	15,18
- doza 2	17,22	17,19	27,75	27,01
- doza 3	19,68	19,50	29,10	28,75
- doza 4	19,90	19,70	/	/
ΣPIK_{tc} (µg h/mL)	64,06	64,55	72,26	70,94
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	192,76	192,77	193,05	193,07

	Neobložene granule		Obložene granule	
	Stanje „na gladno”	Stanje sitosti	Stanje „na gladno”	Stanje sitosti
Adolescenti				
C_{max} (µg/ml) - doza 1	11,11	12,78	11,25	11,06
	- doza 2	12,81	14,54	12,49
	- doza 3	13,12	14,86	12,63
	- doza 4	13,18	14,92	/
C_{min} (µg/ml) - doza 1	2,00	1,92	1,86	1,85
	- doza 2	2,37	2,27	2,07
	- doza 3	2,43	2,33	2,09
	- doza 4	2,45	2,35	/
t_{max} (h) - doza 1	0,54	0,32	1,53	1,53
	- doza 2	6,56	6,32	9,52
	- doza 3	12,56	12,32	17,52
	- doza 4	18,56	18,32	/
PIK_{tc} (µg h/mL) - doza 1	4,99	7,14	9,56	8,90
	- doza 2	10,18	10,83	16,58
	- doza 3	11,36	11,92	16,78
	- doza 4	11,42	11,97	/
ΣPIK_{tc} (µg h/mL)	37,96	41,86	42,92	40,15
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	150,93	150,94	151,07	151,08

Fenomeni koji su opisani nakon primene pojedinačnih doza neobloženih i obloženih granula paracetamola, potvrđeni su i u simulacijama ponovljenog doziranja. Naime, simulirani profili za pedijatrijske uzraste starije od novorođenčadi, međusobno su slični ukoliko se uporede profili za isti farmaceutski oblik leka.

Analizom simuliranih profila prikazanih na slici 36b-e, može se uočiti da je, primenom oba farmaceutska oblika leka, tokom 24 h postignuto ravnotežno stanje koncentracije paracetamola u plazmi. Porast C_{max} sa svakom narednom dozom uočava se u svim simulacijama, osim nakon primene neobloženih granula kod novorođenčadi zbog specifičnog režima doziranja konvencionalnih farmaceutskih oblika leka kod ove pedijatrijske podgrupe (druga doza leka je manja od prve). Sa primenom svake naredne doze, uočeno je da je porast predviđenih vrednosti C_{max} veći kada se paracetamol primeni u obliku neobloženih granula u odnosu na obložene granule (tabela 54). Rezultati simulacija ponovljene primene leka u stanju „na gladno” kod dece starije od novorođenčadi, pokazali su da su u ravnotežnom stanju predviđene vrednosti C_{max} nakon primene neobloženih i obloženih granula paracetamola, za određeni pedijatrijski uzrast, veoma slične, iako je režim doziranja (doza i interval doziranja) ova dva farmaceutska oblika leka drugačiji. Kod novorođenčadi, zbog produženog zadržavanja leka u želucu u stanju „na gladno”, predviđene vrednosti C_{max} su veoma niske kada se primene neobložene granule paracetamola, što je u skladu sa prethodno opisanim rezultatima simulacije primene jedne doze leka. Međutim, u stanju sitosti, kod novorođenčadi, rezultati simulacije ukazuju na to da su vrednosti C_{max} predviđene nakon primene neobloženih i obloženih granula tokom 24 h veoma slične. Dalje, pri ponovljenom doziranju, kao i u simulacijama primene jedne doze leka, najviše vrednosti C_{max} , kod svih pedijatrijskih uzrasta, dobijene su nakon primene neobloženih granula paracetamola u stanju sitosti, tako da su predviđene

vrednosti C_{max} i u ravnotežnom stanju najviše ako se primene neobložene granule paracetamola sa hranom. Međutim, simulacijama primene leka sa hranom, pokazano je da razlike između vrednosti C_{max} , predviđenih za neobložene i obložene granule paracetamola, nisu izrazite.

Literaturni podaci ukazuju da se maksimalni terapijski efekat (E_{max}) paracetamola (sniženje temperature) postiže 2-4 sata nakon uzimanja konvencionalnog farmaceutskog oblika leka (Kelley i sar., 1992; Gupta i sar., 2007; Ruperto i sar., 2011; Ji i sar., 2012; Allegaert i sar., 2013). Drugim rečima, profil efikasnosti „kasni” u odnosu na profil koncentracije leka u plazmi, jer je t_{max} kraće u odnosu na E_{max} . Dalje, prema podacima iz literature, ukupno trajanje sniženja temperature je 6 sati od trenutka uzimanja leka. Zato je najčešće preporučen interval doziranja paracetamola 6 sati. U trenutku kada je neophodno uzeti drugu dozu leka, koncentracija paracetamola u plazmi je C_{min} . Analizom dobijenih rezultata, uočeno je da su predviđene vrednosti C_{min} kod odojčadi, dece i adolescenata, nakon primene obloženih granula paracetamola uglavnom niže, ali i dalje bliske vrednostima postignutim nakon uzimanja neobloženih granula (tabela 54), na osnovu čega se može smatrati da je predviđeni interval doziranja od 8 h za obložene granule paracetamola (farmaceutski oblik sa produženim oslobađanjem lekovite supstance) prihvatljiv sa aspekta terapijske efikasnosti. Kod novorođenčadi, razlika između C_{min} postignute primenom neobloženih i obloženih granula paracetamola, veća je u odnosu na ostale pedijatrijske grupe. Uzimajući u obzir da je predloženi interval doziranja obloženih granula kod novorođenčadi 4 h duži u odnosu na neobložene granule, a kod ostalih pedijatrijskih grupa razlika iznosi 2 h, veća razlika u predviđenim vrednostima C_{min} između neobloženih i obloženih granula kod novorođenčadi je očekivana. Međutim, vrednosti C_{min} , postignute nakon primene obloženih granula kod novorođenčadi, nalaze se u opsegu vrednosti predviđenih za ostale pedijatrijske uzraste i veće su nego kod odojčadi (fiziološki najbližiji sa grupom novorođenčadi), na osnovu čega se predloženi režim doziranja na 12 h najverovatnije može prihvatiti za ovu pedijatrijsku populaciju (tabela 54).

Poređenjem vrednosti PIK_{tc} , uočeno je da su sa svakom pojedinačnom dozom paracetamola uzetog u obliku obloženih granula, predviđene vrednosti veće u odnosu na PIK_{tc} vrednosti dobijene nakon primene neobloženih granula paracetamola (tabela 54). Takođe, ΣPIK_{tc} koja se odnosi na ukupnu PIK_{tc} tokom 24 h uglavnom je veća nakon primene obloženih granula paracetamola kod svih pedijatrijskih grupa, u stanju na gladno i u stanju sitosti. Jedino je u stanju sitosti kod adolescenata, nakon primene neobloženih granula u odnosu na obložene granule, predviđeno veće ΣPIK_{tc} , ali je predviđena razlika zanemarljiva. Na osnovu ΣPIK_{tc} može se zaključiti da efikasnost leka ne bi bila ugrožena primenom obloženih granula paracetamola (prema navedenom režimu doziranja) u odnosu na primenu konvencionalnog farmaceutskog oblika leka (neobloženih granula). Pri tome je tokom 24 h, preporučena primena jedne doze paracetamola u obliku obloženih granula manje u odnosu na propisani režim doziranja za konvencionalne farmaceutske oblike leka. Pored navedenog, treba pomenuti i činjenicu da su predviđene vrednosti C_{max} i C_{min} dobijene simulacijom primene neobloženih i obloženih granula paracetamola veoma slične, što dodatno potvrđuje da se predloženim režimom doziranja obloženih granula paracetamola mogu postići isti ili bolji terapijski efekat i bezbednosni profil kao i konvencionalnim farmaceutskim oblicima leka.

Analizom vrednosti $PIK_{0 \rightarrow \infty}$ može se zaključiti da ukupna izloženost deteta leku ne zavisi od farmaceutskog oblika leka (tabela 54). Naime, za decu uzrasta 2 i 6 godina i adolescente predviđena dnevna doza paracetamola uzetog u obliku neobloženih i obloženih granula je ista, kao i *in silico* dobijene vrednosti $PIK_{0 \rightarrow \infty}$. Kao što je već opisano, kod novorođenčadi i odojčadi ukupna doza paracetamola uzeta sa obloženim granulama tokom 24 h veća je u odnosu na neobložene granule,

što je dovelo i do razlike u predviđenim vrednostima $PIK_{0 \rightarrow \infty}$. Međutim, uočene razlike u izloženosti leku nakon primene neobloženih i obloženih granula paracetamola, kod novorođenčadi i odojčadi, srazmerne su razlikama u dnevnoj dozi paracetamola, odnosno ne zavise od farmaceutskog oblika leka.

4.7.3.3. Apsorpcija i raspodela leka nakon primene pojedinačne doze tableta paracetamola

Apsorpcija i raspodela paracetamola nakon primene tableta simulirana je kod dece uzrasta 6 godina i adolescenata, s obzirom da se tablete prečnika 6 mm (tačnije, većeg od 5 mm) smatraju neprihvatljivim farmaceutskim oblikom leka za decu mlađu od 6 godina (Zajicek i sar., 2013; Thabet i sar., 2018). Rezultati simulacija su prikazani na slici 37 i u tabelama 55-57. Poređenjem simuliranih profila koncentracije paracetamola u plazmi, može se uočiti sličnost između profila dobijenih za istu formulaciju, pod istim uslovima kod ove dve pedijatrijske grupe (slika 37). Međutim, simulirani profili dobijeni za različite vrste ispitivanih tableta znatno se razlikuju. Prema dobijenim rezultatima, nakon primene tableta izrađenih od neobloženih granula i tableta izrađenih od smeše praškova (formulacije sa trenutnim oslobađanjem leka), predviđeno t_{max} je znatno kraće u odnosu na t_{max} za tablete izrađene od obloženih granula. Drugim rečima, simulacijom primene tableta izrađenih od obloženih granula uočena je produžena faza apsorpcije paracetamola. Takođe, rezultati simulacija su pokazali da način primene leka (bez ili sa hranom) ima uticaj na t_{max} i C_{max} vrednosti, ukoliko se primene tablete izrađene od smeše praškova ili tablete izrađene od neobloženih granula. Dodatno, vrsta hrane uticala je na apsorpciju paracetamola samo nakon primene tableta izrađenih od smeše praškova. U slučaju primene tableta izrađenih od obloženih granula, odsustvo/prisustvo i vrsta hrane nisu uticali na simulirane profile (slika 37). Poređenjem simuliranih profila koji se odnose na primenu tableta izrađenih od neobloženih granula i smeše praškova, uočena je sličnost u koncentraciji leka u plazmi u toku vremena u stanju „na gladno”, dok su simulacije u stanju sitosti pokazale da prisustvo hrane ima suprotan efekat na predviđene profile za ove dve vrste tableta. Primenom tableta izrađenih od smeše praškova, u stanju sitosti, predviđeno je duže t_{max} , u odnosu na primenu istih tableta bez hrane, kao i niže C_{max} (osim primene sa tečnom hranom, npr. voćni sok). Ovakav efekat hrane, odnosno, usporena apsorpcija (duže t_{max}) i niža C_{max} kada se tablete paracetamola sa trenutnim oslobađanjem primene u stanju sitosti (uz standardni obrok čvrste konzistencije), u odnosu na primenu istih tableta u stanju „na gladno”, opisan je i u literaturi (Kalantzi i sar., 2006; Ji i sar., 2012). Sa druge strane, simulacije su pokazale da je nakon primene tableta izrađenih od neobloženih granula apsorpcija paracetamola brža i predviđene vrednosti C_{max} veće ukoliko se lek primeni sa hranom. Razlike u predviđenim profilima koncentracije leka u plazmi za ove dve vrste tableta potiču od razlika u ulaznim parametrima modela koji opisuju ponašanje datih farmaceutskih oblika lekova, pri čemu se farmaceutski oblik bira između predefinisanih opcija u okviru softvera. Farmaceutski oblik koji je korišćen za simulacije primene tableta izrađenih od neobloženih granula je *CR: Dispersed*. S obzirom da je u *in vitro* uslovima zapaženo da ove tablete trenutno počinju da se raspadaju u vodi zagrejanjoj na 37 °C, a u potpunosti se raspadnu za manje od 10 minuta, bez mešanja, oblik *CR: Dispersed* ih najbolje opisuje. Treba napomenuti da je opcija *CR: Dispersed* korišćena i za simulacije apsorpcije i raspodele paracetamola primenjenog u obliku granula. Sličnosti u predviđenom ponašanju *in vivo* između neobloženih granula i tableta izrađenih od neobloženih granula potiču upravo od sličnosti u ulaznim parametrima modela, kao što su isti izbor farmaceutskog oblika i slični *in vitro* profili

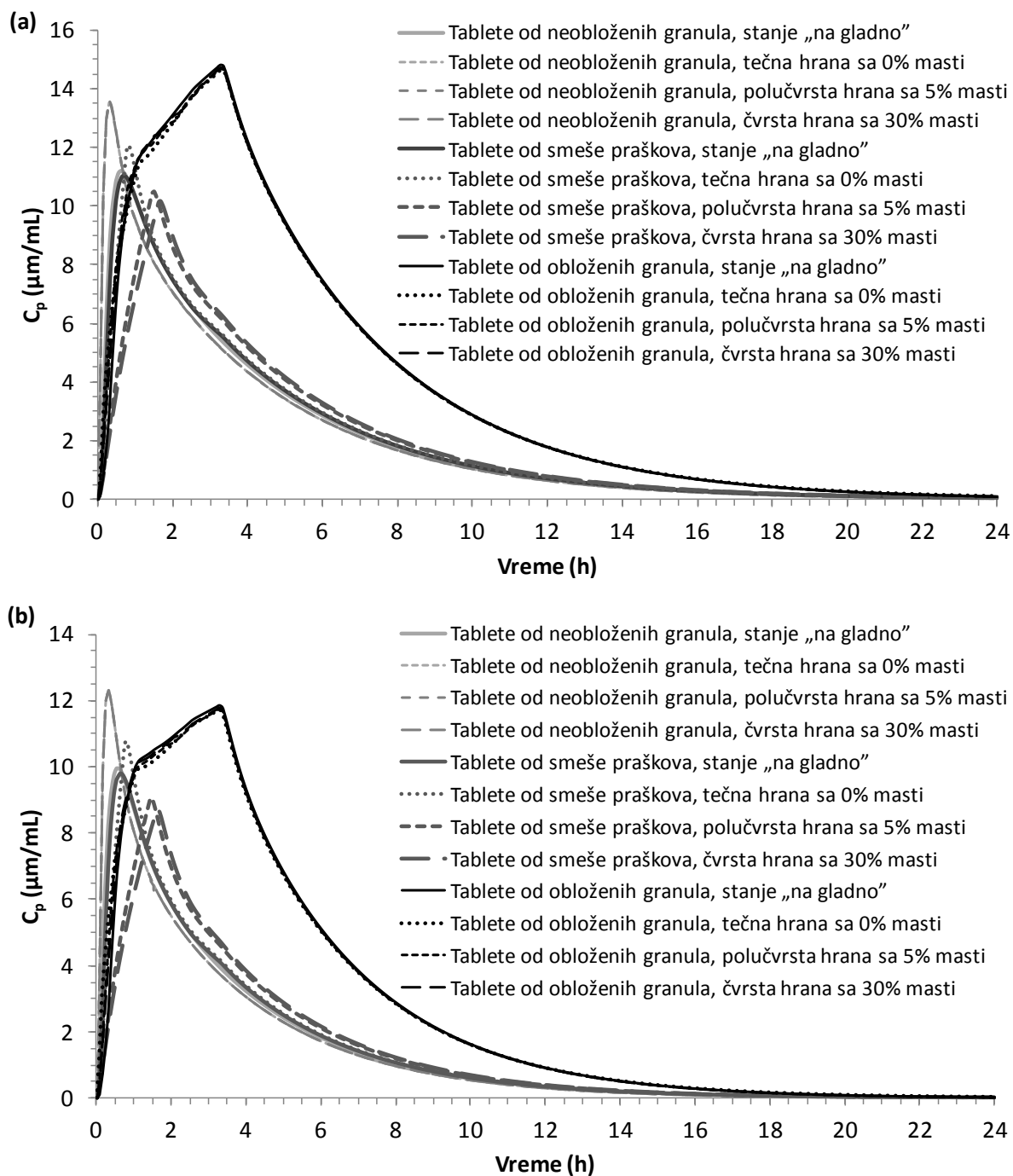
brzine rastvaranja paracetamola iz ova dva farmaceutska oblika leka (slika 27a). Tablete izrađene od smeše praškova, iako predstavljaju tablete sa trenutnim oslobađanjem lekovite supstance, nisu se raspale ni nakon 30 minuta u vodi zagrejanjoj na 37 °C, uz mešanje, zbog čega je u modelu za ovaj tip tableta odabrana opcija CR: *Integral Tablet*. Na osnovu rezultata simulacija, može se zaključiti da duže zadržavanje leka u želucu (npr. uzimanje leka sa polučvrstom ili čvrstom hranom), dovodi do sporije apsorpcije paracetamola i niže predviđene C_{max} , samo ukoliko su u pitanju tablete sa trenutnim oslobađanjem leka koje i nakon primene zadržavaju oblik (ne raspadaju se po primeni, odnosno, ne ponašaju se kao višestručni sistem).

Poređenjem predviđenih vrednosti farmakokinetičkih parametara nakon primene tableta u stanju „na gladno” i u stanju sitosti, uočeno je da su vrednosti t_{max} za tablete izrađene od obloženih granula nekoliko puta duže u poređenju sa t_{max} za tablete od neobloženih granula i tablete od smeše praškova (tabele 55-57). Značajan efekat hrane na t_{max} (stepen efekta je izvan opsega 0,80–1,25) uočen je u simulacijama primene tableta izrađenih od neobloženih granula i smeše praškova, osim kada se tablete izrađene od smeše praškova primene sa tečnom hranom bez masti (tabele 55, 56). Simulacije primene tableta od neobloženih granula pokazale su da postoji efekat hrane i na C_{max} i da je veći u odnosu na efekat hrane na C_{max} za tablete izrađene od smeše praškova, ali nije klinički značajan (tabele 55, 56). Rezultati simulacija primene tableta izrađenih od obloženih granula pokazali su da efekat hrane na ispitivane farmakokinetičke parametre ne postoji ili je neznatan (tabela 57).

Predviđene vrednosti PIK nisu zavisile od načina primene leka (bez ili sa hranom), niti od vrste hrane, kod obe ispitivane pedijatrijske grupe i za sve tri vrste tableta. Predviđene vrednosti PIK zavisile su samo od primenjene doze paracetamola, tako da su najviše vrednosti predviđene nakon primene tableta izrađenih od obloženih granula, kod obe grupe ispitanika, gde je i primenjena doza bila najveća. Međutim, dva puta veća doza paracetamola koja je primenjena u obliku tableta izrađenih od obloženih granula nije dovela do znatnog povećanja C_{max} , što je važno sa aspekta bezbednosti. Poređenjem predviđenih vrednosti PIK , unutar iste pedijatrijske grupe, uočeno je da su ove vrednosti skoro jednake za tablete izrađene od neobloženih granula i tablete izrađene od smeše praškova, odnosno skoro su jednake kada su primenjene iste doze paracetamola u obliku dve različite formulacije sa trenutnim oslobađanjem leka (tabele 55, 56). Sa druge strane, dva puta veće doze paracetamola primenjene u obliku tableta izrađenih od obloženih granula (formulacija sa produženim oslobađanjem leka), linearno su povećale vrednosti PIK (dva puta), tako da se može zaključiti da vrsta tablete nije uticala na predviđene vrednosti PIK , kod obe pedijatrijske grupe.

Terapijska koncentracija paracetamola u plazmi (10 µg/mL) dostignuta je u svim simuliranim profilima (u stanju „na gladno” i u stanju sitosti), kod dece uzrasta 6 godina. Simulirani profili za adolescente su pokazali da je terapijska koncentracija paracetamola u plazmi postignuta nakon primene tableta izrađenih od obloženih granula (bez obzira na prisustvo i vrstu hrane), zatim nakon primene tableta izrađenih od neobloženih granula u stanju sitosti i nakon primene tableta izrađenih od smeše praškova sa tečnom hranom (tabele 55, 56). Vrednosti PIK_{tc} , predviđene za primenu tableta izrađenih od obloženih granula, nekoliko puta su veće u poređenju sa vrednostima predviđenim nakon primene druge dve vrste tableta (kada je $PIK_{tc} > 0$). Na osnovu dobijenih rezultata (PIK_{tc}), može se očekivati veća terapijska efikasnost tableta izrađenih od obloženih granula u odnosu na tablete sa trenutnim oslobađanjem paracetamola (tablete izrađene od neobloženih granula i smeše praškova). Takođe, veće vrednosti PIK_{tc} , koje su postignute sa jednom dozom paracetamola, pružaju mogućnost manje učestalosti doziranja tableta izrađenih od obloženih

granula u odnosu na konvencionalne farmaceutske oblike sa trenutnim oslobađanjem lekovite supstance.



Slika 37. Simulirani profili koncentracije paracetamola u plazmi nakon peroralne primene ispitivanih tableta (izrađenih od različitog materijala) bez/sa hranom kod: dece uzrasta 6 godina (a); adolescenata uzrasta 12 godina (b); profili koji se odnose na tablete izrađene od neobloženih granula, primenjene sa hranom, se preklapaju (a,b)

Tabela 55. Poređenje farmakokinetičkih parametara dobijenih primenom paracetamol-specifičnih PBPK modela za decu različitog uzrasta, koji se odnose na primenu paracetamola u obliku tableta izrađenih od neobloženih granula u stanju „na gladno” i u stanju sitosti (stepen efekta hrane je naveden u zagradi)

Pedijatrijska grupa/doza Parametar	Stanje „na gladno”	Tečna hrana (0% masti)	Polučvrsta hrana (5% masti)	Čvrsta hrana (30% masti)
Deca (6 godina)/325 mg				
C_{max} (µg/mL)	11,21	13,54 (1,21)	13,55 (1,21)	13,55 (1,21)
t_{max} (h)	0,64	0,32 (0,50)	0,32 (0,50)	0,32 (0,50)
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	48,28	48,28 (1,00)	48,28 (1,00)	48,28 (1,00)
PIK_{tc} (µg h/mL)	7,41	9,16 (1,24)	9,16 (1,24)	9,16 (1,24)
Biološka raspoloživost (%)	88,39	88,39 (1,00)	88,39 (1,00)	88,39 (1,00)
Adolescenti/500 mg				
C_{max} (µg/mL)	9,97	12,31 (1,23)	12,31 (1,23)	12,31 (1,23)
t_{max} (h)	0,56	0,32 (0,57)	0,32 (0,57)	0,32 (0,57)
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	34,90	34,90 (1,00)	34,90 (1,00)	34,90 (1,00)
PIK_{tc} (µg h/mL)	/	5,37 (/)	5,37 (/)	5,37 (/)
Biološka raspoloživost (%)	83,06	83,06 (1,00)	83,06 (1,00)	83,06 (1,00)

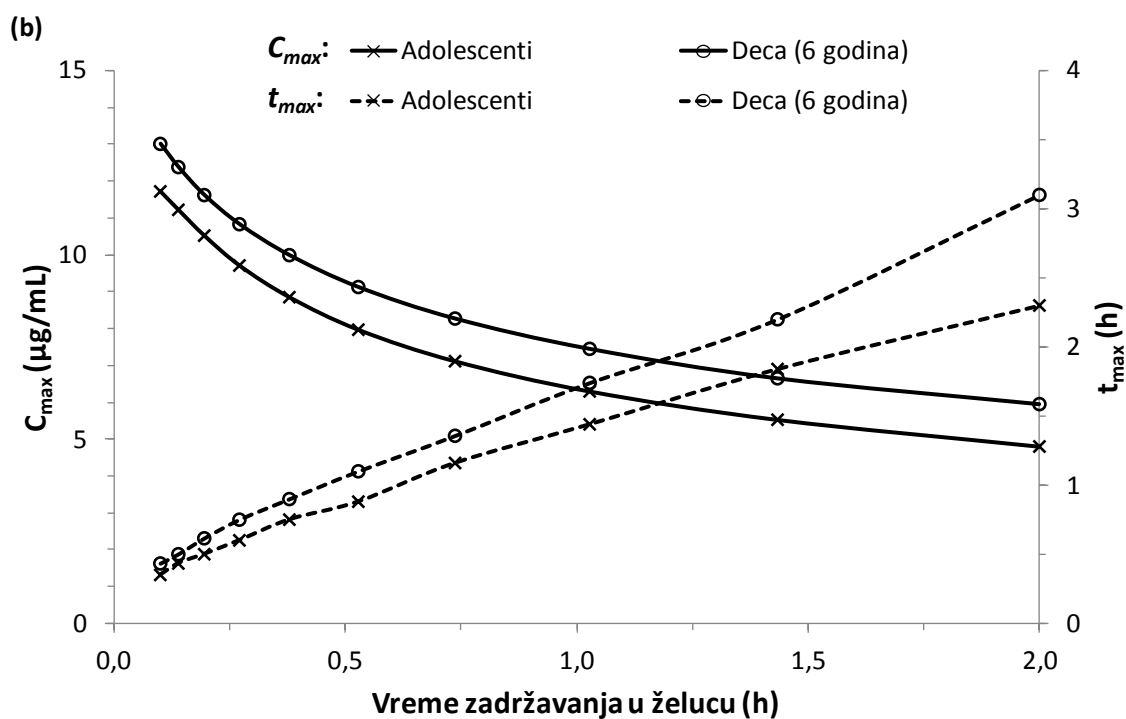
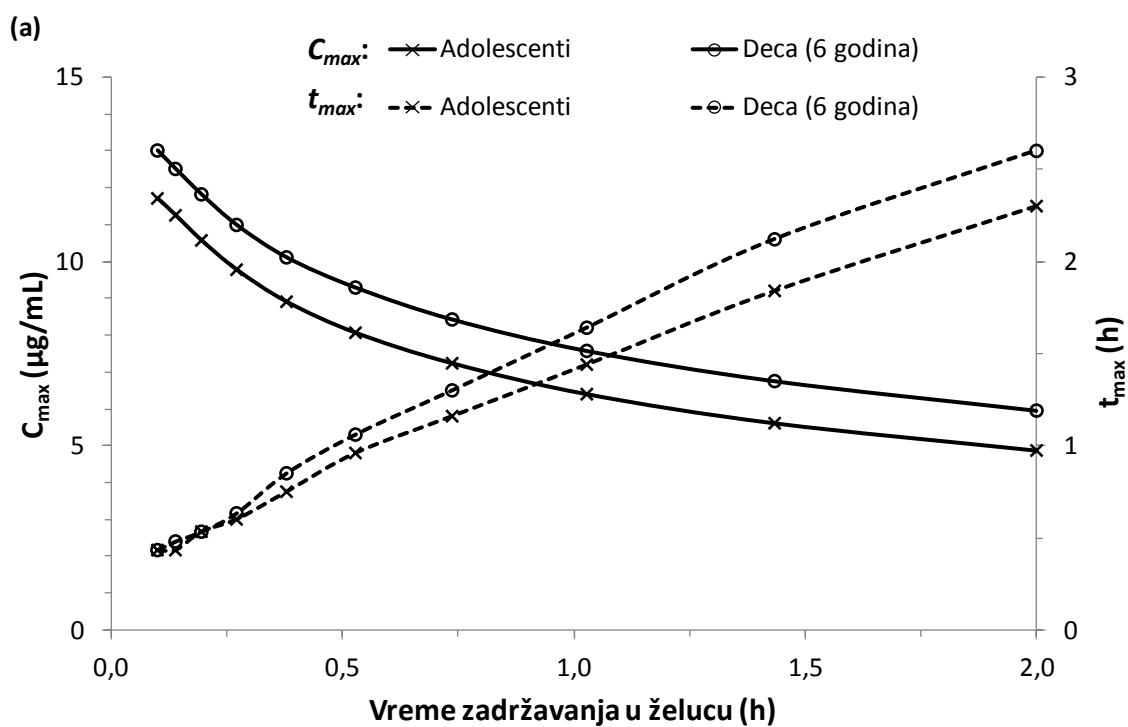
Tabela 56. Poređenje farmakokinetičkih parametara dobijenih primenom paracetamol-specifičnih PBPK modela za decu različitog uzrasta, koji se odnose na primenu paracetamola u obliku tableta izrađenih od smeše praškova u stanju „na gladno” i u stanju sitosti (stepen efekta hrane je naveden u zagradi)

Pedijatrijska grupa/doza Parametar	Stanje „na gladno”	Tečna hrana (0% masti)	Polučvrsta hrana (5% masti)	Čvrsta hrana (30% masti)
Deca (6 godina)/325 mg				
C_{max} (µg/mL)	11,03	12,07 (1,09)	10,48 (0,95)	10,16 (0,92)
t_{max} (h)	0,72	0,80 (1,11)	1,50 (2,08)	1,68 (2,33)
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	48,33	48,33 (1,00)	48,33 (1,00)	48,33 (1,00)
PIK_{tc} (µg h/mL)	6,97	7,03 (1,01)	2,47 (0,36)	1,59 (0,23)
Biološka raspoloživost (%)	88,48	88,48 (1,00)	88,48 (1,00)	88,48 (1,00)
Adolescenti/500 mg				
C_{max} (µg/mL)	9,80	10,77 (1,10)	9,06 (0,92)	8,72 (0,89)
t_{max} (h)	0,67	0,80 (1,19)	1,48 (2,21)	1,63 (2,43)
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	34,94	34,94 (1,00)	34,94 (1,00)	34,94 (1,00)
PIK_{tc} (µg h/mL)	/	3,28 (/)	/	/
Biološka raspoloživost (%)	83,15	83,15 (1,00)	83,15 (1,00)	83,15 (1,00)

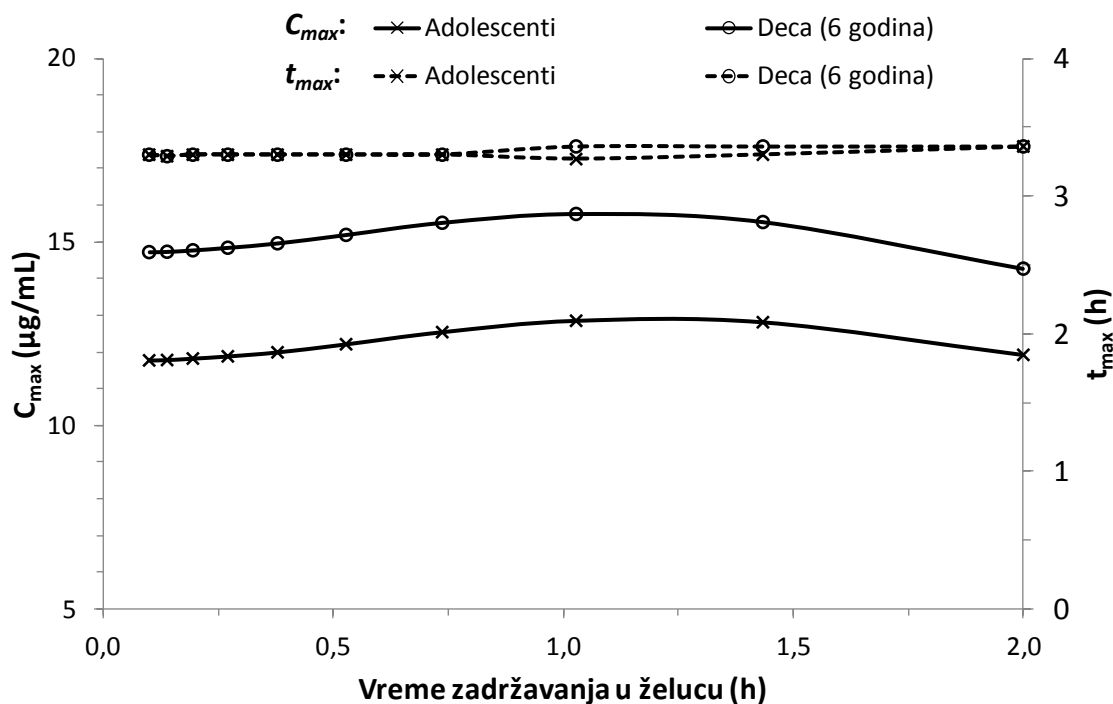
Tabela 57. Poređenje farmakokinetičkih parametara dobijenih primenom paracetamol-specifičnih PBPK modela za decu različitog uzrasta, koji se odnose na primenu paracetamola u obliku tableta izrađenih od obloženih granula u stanju „na gladno” i u stanju sitosti (stepen efekta hrane je naveden u zagradi)

Pedijatrijska grupa/doza Parametar	Stanje „na gladno”	Tečna hrana (0% masti)	Polučvrsta hrana (5% masti)	Čvrsta hrana (30% masti)
Deca (6 godina)/650 mg				
C_{max} (µg/mL)	14,80	14,65 (0,99)	14,68 (0,99)	14,70 (1,00)
t_{max} (h)	3,28	3,28 (1,00)	3,28 (1,00)	3,28 (1,00)
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	96,67	96,67 (1,00)	96,67 (1,00)	96,67 (1,00)
PIK_{tc} (µg h/mL)	50,19	49,52 (0,99)	50,24 (1,00)	50,41 (1,00)
Biološka raspoloživost (%)	88,48	88,48 (1,00)	88,48 (1,00)	88,48 (1,00)
Adolescenti/1000 mg				
C_{max} (µg/mL)	11,85	11,72 (0,99)	11,74 (0,99)	11,76 (0,99)
t_{max} (h)	3,28	3,28 (1,00)	3,28 (1,00)	3,28 (1,00)
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	69,88	69,88 (1,00)	69,88 (1,00)	69,88 (1,00)
PIK_{tc} (µg h/mL)	28,40	27,89 (0,98)	29,64 (1,04)	29,85 (1,05)
Biološka raspoloživost (%)	83,15	83,15 (1,00)	83,15 (1,00)	83,15 (1,00)

Kod oba pedijatrijska uzrasta i za sve ispitivane formulacije, rezultati PSA su pokazali da, u ispitivanom opsegu, pH želuca i zapremina tečnosti u želucu nemaju efekat na predviđene vrednosti farmakokinetičkih parametara (t_{max} , C_{max} , PIK i biološka raspoloživost), dok efekat vremena zadržavanja leka u želucu nema uticaja na PIK i biološku raspoloživost. Sa druge strane, vreme zadržavanja leka u želucu znatno utiče na t_{max} i C_{max} nakon primene tableta sa trenutnim oslobađanjem lekovite supstance, kod oba pedijatrijska uzrasta. Naime, sa povećanjem vremena zadržavanja leka u želucu, u stanju „na gladno”, t_{max} linearno raste, a C_{max} istovremeno opada, za tablete izrađene od neobloženih granula i tablete izrađene od smeše praškova (slika 38). Međutim, prema rezultatima PSA, ukoliko se primene tablete izrađene od obloženih granula, t_{max} i C_{max} gotovo ne zavise od vremena zadržavanja tablete u želucu (slika 39) i može se zaključiti da je brzina apsorpcije paracetamola nakon primene tableta izrađenih od obloženih granula paracetamola znatno manje osetljiva na promene u vremenu zadržavanja leka u želucu, u odnosu na tablete izrađene od neobloženih granula i tablete izrađene od smeše praškova.



Slika 38. Rezultati PSA nakon primene tableta sa trenutnim oslobađanjem lekovite supstance kod dece različitog uzrasta: tablete izrađene od neobloženih granula paracetamola (a); tablete izrađene od smeše praškova (b)



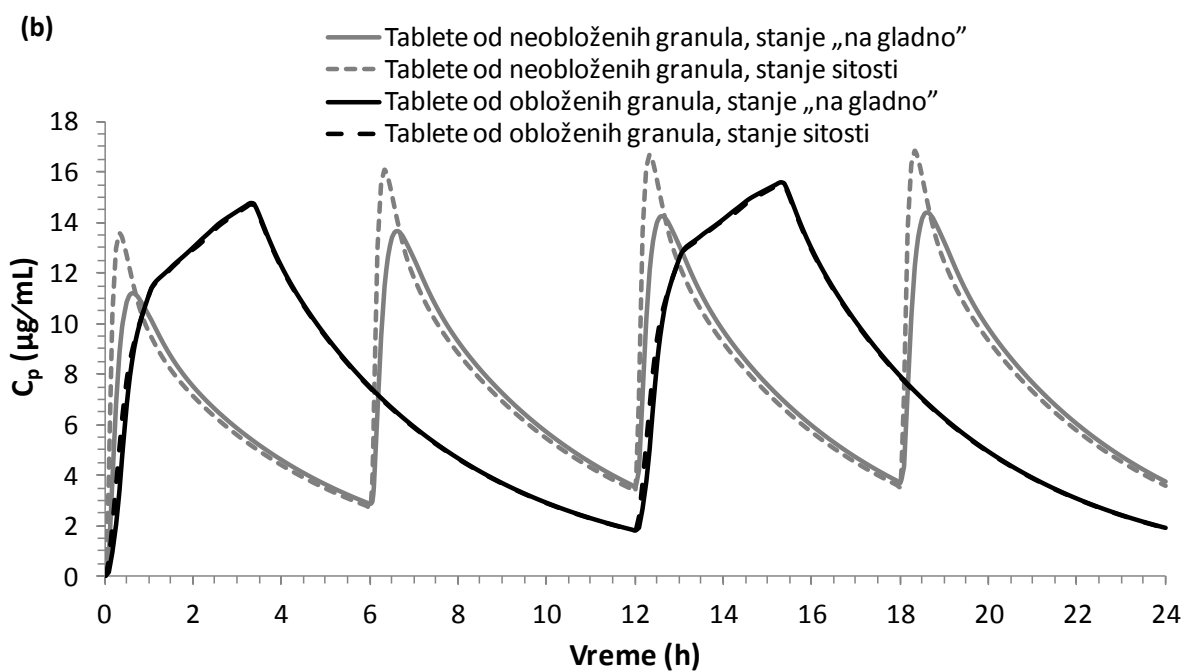
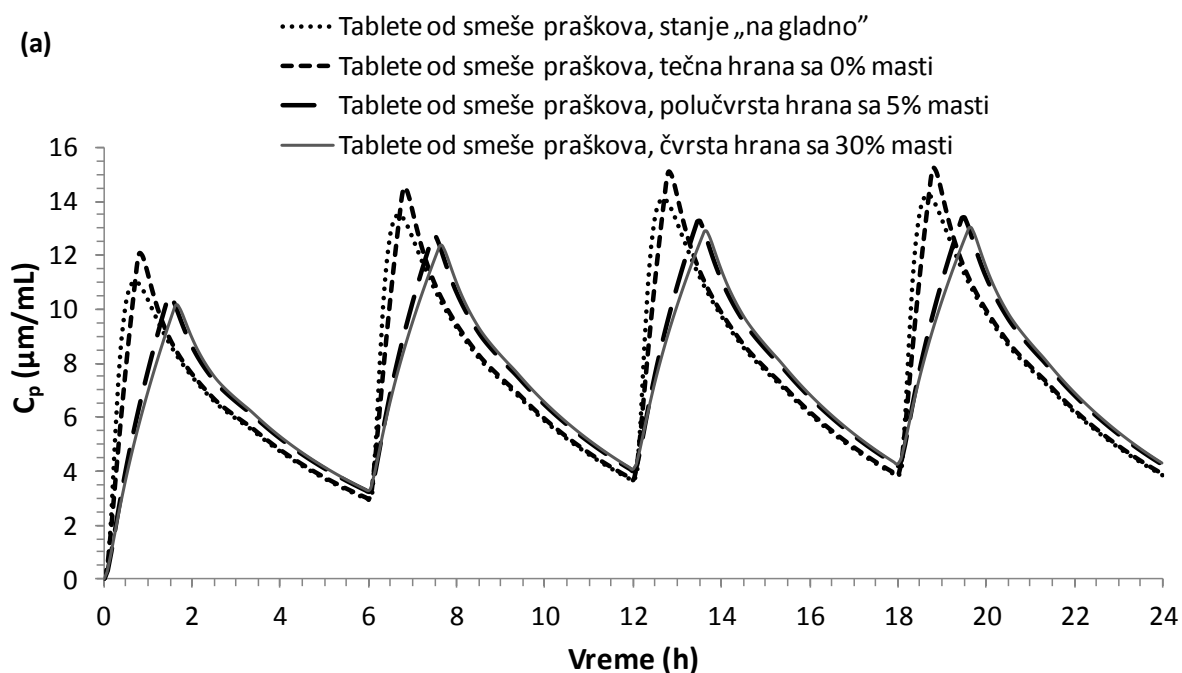
Slika 39. Rezultati PSA nakon primene tableta izrađenih od obloženih granula paracetamola kod dece različitog uzrasta

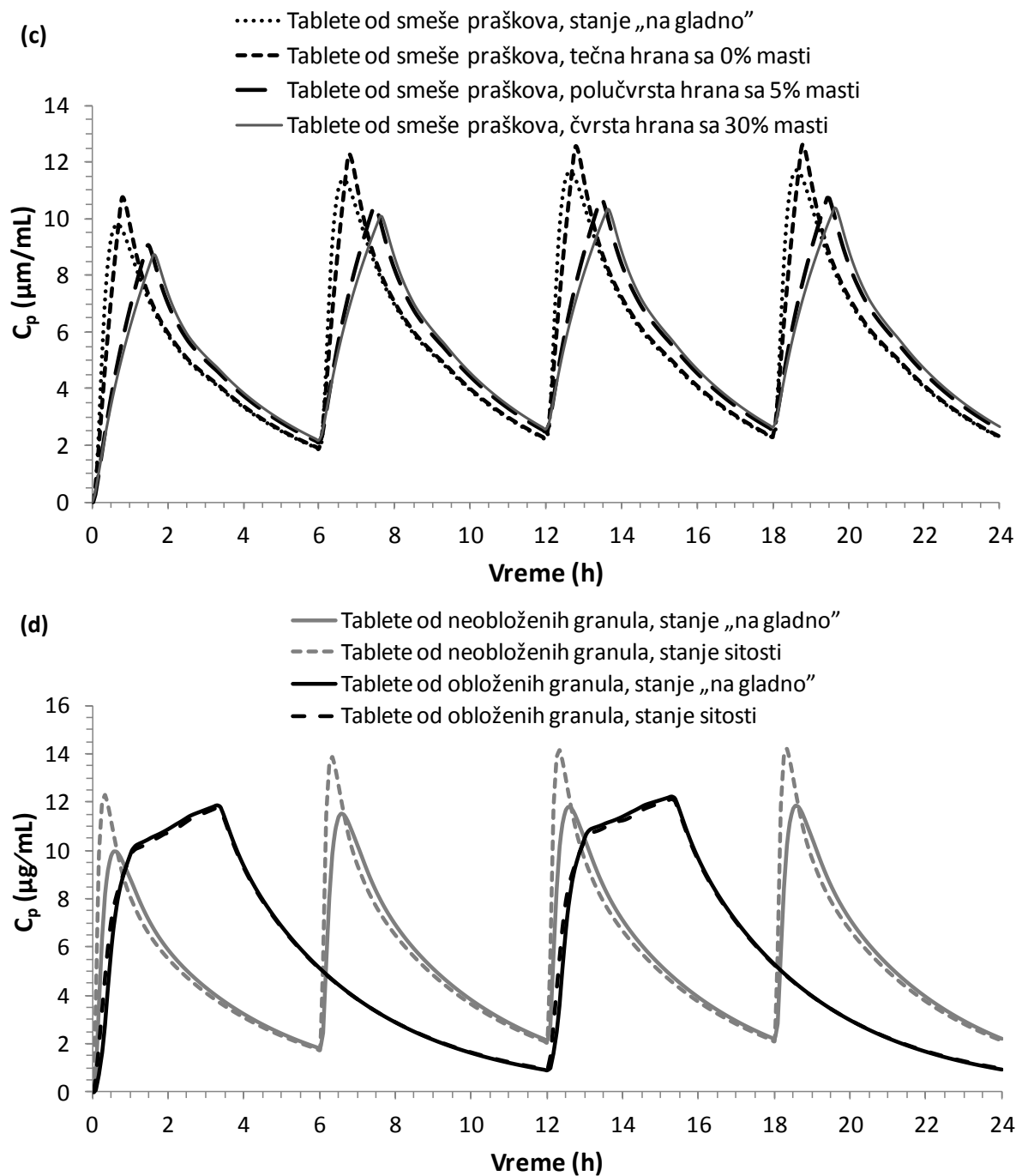
4.7.3.4. Apsorpcija i raspodela leka nakon ponovljene primene tableta paracetamola

Simulacije apsorpcije i raspodele paracetamola nakon ponovljene primene različitih eksperimentalno dobijenih tableta paracetamola, sprovedene su sa ciljem ispitivanja mogućnosti smanjenja broja doza paracetamola primenjenog u obliku tableta izrađenih od obloženih granula, u odnosu na konvencionalne farmaceutske oblike leka. Tablete izrađene od neobloženih granula i tablete izrađene od smeše praškova smatraju se konvencionalnim farmaceutskim oblicima lekova, s obzirom da predstavljaju farmaceutske oblike sa trenutnim oslobađanjem lekovite supstance. Doze paracetamola, koje su korišćene u simulacijama za formulacije sa trenutnim oslobađanjem leka, definisane su na osnovu uzrasta deteta i jačine najčešće dostupnih gotovih lekova (tabela 20). Za konvencionalne farmaceutske oblike leka, interval doziranja u simulacijama je podešen na 6 h, u skladu sa propisanim maksimalnim brojem doza paracetamola u toku jednog dana (četiri doze tokom 24 h) (Ji i sar., 2012; BNFC 2020-21). Predloženi interval doziranja za tablete izrađene od obloženih granula paracetamola je dva puta duži u odnosu na konvencionalne tablete. Predložene dnevne doze paracetamola primenjene u obliku tableta izrađenih od obloženih granula jednake su dnevnim dozama leka uzetog u obliku tableta izrađenih od neobloženih granula i smeše praškova, za oba pedijatrijska uzrasta. Na osnovu predloženog intervala doziranja i ukupne dnevne doze leka, izračunata je pojedinačna doza paracetamola uzetog u obliku tableta izrađenih od obloženih granula (dva puta veća u odnosu na konvencionalne tablete).

Rezultati simulacija koje se odnose na primenu pojedinačnih doza leka u obliku tableta izrađenih od smeše praškova pokazale su da vrsta hrane utiče na predviđene vrednosti t_{max} i C_{max} (poglavlje 4.7.3.3), tako da su na slikama 40a i c prikazani svi profili koji se odnose na ponovljenu primenu ove vrste tableta u stanju sitosti, za različite vrste hrane. Međutim, simulacije koje opisuju

primenu pojedinačnih doza leka u obliku tableta izrađenih od neobloženih i obloženih granula paracetamola pokazale su da se predviđeni profili koncentracije paracetamola u plazmi, dobijeni u stanju sitosti za različite vrste hrane preklapaju, tako da je na slikama 40b i d prikazan po jedan profil koji se odnosi na ponovljenu primenu leka u stanju sitosti. Vrednosti date u tabelama 58 i 59 odnose se na profile prikazane na slici 40.





Slika 40. Simulirani profili koncentracije paracetamola u plazmi tokom ponovljenog doziranja kod: dece uzrasta 6 godina (a,b); adolescenata uzrasta 12 godina (c,d)

Tabela 58. Poređenje farmakokinetičkih parametara dobijenih primenom paracetamol-specifičnih PBPK modela za decu različitog uzrasta, koji se odnose na primenu ponovljenih doza paracetamola u obliku tableta izrađenih od smeše praškova u stanju „na gladno” i u stanju sitosti

	Stanje „na gladno”	Tečna hrana (0% masti)	Polučvrsta hrana (5% masti)	Čvrsta hrana (30% masti)
Deca (6 godina)				
C_{max} (µg/ml) - doza 1	11,03	12,07	10,48	10,16
	- doza 2 13,51	14,51	12,73	12,36
	- doza 3 14,11	15,10	13,27	12,90
	- doza 4 14,25	15,24	13,40	13,03
C_{min} (µg/ml) - doza 1	2,92	2,95	3,21	3,28
	- doza 2 3,62	3,66	3,98	4,07
	- doza 3 3,79	3,83	4,17	4,26
	- doza 4 3,83	3,87	4,21	4,30
t_{max} (h) - doza 1	0,72	0,80	1,50	1,68
	- doza 2 6,67	6,80	7,50	7,68
	- doza 3 12,67	12,80	13,50	13,63
	- doza 4 18,67	18,80	19,50	19,63
PIK_{tc} (µg h/mL) - doza 1	6,97	7,03	2,47	1,59
	- doza 2 17,02	16,40	14,49	13,43
	- doza 3 19,49	18,80	17,61	16,53
	- doza 4 20,51	18,99	17,81	17,50
ΣPIK_{tc} (µg h/mL)	63,99	61,22	52,38	49,06
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	193,31	193,31	193,31	193,31
Adolescenti				
C_{max} (µg/ml) - doza 1	9,80	10,77	9,06	8,72
	- doza 2 11,37	12,29	10,43	10,08
	- doza 3 11,65	12,56	10,68	10,33
	- doza 4 11,71	12,61	10,73	10,37
C_{min} (µg/ml) - doza 1	1,89	1,91	2,12	2,17
	- doza 2 2,23	2,26	2,50	2,56
	- doza 3 2,29	2,32	2,57	2,64
	- doza 4 2,30	2,33	2,58	2,65
t_{max} (h) - doza 1	0,67	0,80	1,48	1,63
	- doza 2 6,64	6,80	7,45	7,63
	- doza 3 12,64	12,80	13,45	13,63
	- doza 4 18,64	18,80	19,45	19,63

	Stanje „na gladno”	Tečna hrana (0% masti)	Polučvrsta hrana (5% masti)	Čvrsta hrana (30% masti)
Adolescenti				
PIK_{tc} ($\mu\text{g h/mL}$) - doza 1	/	3,28	/	/
- doza 2	6,97	6,34	3,26	1,59
- doza 3	8,61	7,90	3,34	1,63
- doza 4	8,65	7,93	4,14	2,65
ΣPIK_{tc} ($\mu\text{g h/mL}$)	24,22	25,45	10,74	5,88
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ ($\mu\text{g h/mL}$)	139,74	139,74	139,74	139,74

Tabela 59. Poređenje farmakokinetičkih parametara dobijenih primenom paracetamol-specifičnih PBPK modela za decu različitog uzrasta, koji se odnose na primenu ponovljenih doza paracetamola u obliku tableta izrađenih od neobloženih i obloženih granula u stanju „na gladno” i u stanju sitosti

	Tablete izrađene od neobloženih granula		Tablete izrađene od obloženih granula	
	Stanje „na gladno”	Stanje sitosti	Stanje „na gladno”	Stanje sitosti
Deca (6 godina)				
C_{max} (µg/ml) - doza 1	11,21	13,55	14,80	14,68
	- doza 2	13,65	16,06	15,50
	- doza 3	14,24	16,67	/
	- doza 4	14,38	16,81	/
C_{min} (µg/ml) - doza 1	2,85	2,71	1,80	1,78
	- doza 2	3,53	3,37	1,90
	- doza 3	3,69	3,52	/
	- doza 4	3,73	3,56	/
t_{max} (h) - doza 1	0,64	0,32	3,28	3,28
	- doza 2	6,64	6,32	15,28
	- doza 3	12,64	12,32	/
	- doza 4	18,64	18,32	/
PIK_{tc} (µg h/mL) - doza 1	7,41	9,16	50,19	50,24
	- doza 2	17,29	17,94	59,01
	- doza 3	19,83	19,75	/
	- doza 4	21,49	20,76	/
ΣPIK_{tc} (µg h/mL)	66,02	67,6	109,21	109,44
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ (µg h/mL)	193,11	193,11	193,33	193,33
Adolescenti				
C_{max} (µg/ml) - doza 1	9,97	12,31	11,85	11,74
	- doza 2	11,53	13,89	12,21
	- doza 3	11,81	14,17	/
	- doza 4	11,86	14,22	/
C_{min} (µg/ml) - doza 1	1,80	1,73	0,92	0,91
	- doza 2	2,13	2,04	0,95
	- doza 3	2,19	2,10	/
	- doza 4	2,20	2,11	/
t_{max} (h) - doza 1	0,56	0,32	3,28	3,28
	- doza 2	6,56	6,32	15,28
	- doza 3	12,56	12,32	/
	- doza 4	18,56	18,32	/

	Tablete izrađene od neobloženih granula		Tablete izrađene od obloženih granula	
	Stanje „na gladno”	Stanje sitosti	Stanje „na gladno”	Stanje sitosti
Adolescenti				
PIK_{tc} ($\mu\text{g h/mL}$) - doza 1	/	5,37	28,40	29,64
- doza 2	7,73	8,56	34,59	34,18
- doza 3	8,71	9,59	/	/
- doza 4	8,75	9,63	/	/
ΣPIK_{tc} ($\mu\text{g h/mL}$)	25,19	33,14	62,99	63,82
$PIK_{0 \rightarrow \infty}$ ($\mu\text{g h/mL}$)	139,60	139,6	139,75	139,75

Analizom podataka prikazanih na slici 40, uočava se sličnost između profila dobijenih za isti farmaceutski oblik leka kod dece različitog uzrasta. Na osnovu ovog zapažanja se može zaključiti da je ponašanje leka *in vivo* nezavisno od pedijatrijskog uzrasta, ali da zavisi od vrste tableta. Efekat hrane, koji je uočen u simulacijama primene pojedinačne doze leka, isti je i pri ponovljenom doziranju. Primenom tableta izrađenih od obloženih granula paracetamola, predviđene vrednosti t_{max} i C_{max} nisu zavisile od uzrasta deteta, niti od načina uzimanja leka (tabela 59). Usporeno rastvaranje paracetamola iz tableta izrađenih od obloženih granula odrazilo se na znatno duže t_{max} u odnosu na tablete sa trenutnim oslobađanjem leka. Za tablete izrađene od neobloženih granula predviđeno je znatno kraće t_{max} i više vrednosti C_{max} kada se lek primeni u stanju sitosti, u odnosu na primenu leka bez hrane (slika 40b,d, tabela 59). Kod tableta izrađenih od smeše praškova t_{max} se produžava sa produženjem vremena zadržavanja leka u želucu, odnosno kada se lek primeni sa tečnom, polučvrstom ili čvrstom hranom, dok su istovremeno vrednosti C_{max} sve niže, osim kada se ovaj tip tableta primeni sa tečnom hranom (slika 40a,c, tabela 58).

Porast C_{max} sa svakom narednom dozom uočava se u svim simulacijama, pri čemu je porast vrednosti C_{max} nakon primene druge doze paracetamola u obliku tableta izrađenih od obloženih granula paracetamola niži u odnosu na druge dve vrste tableta (tabele 58, 59). Ovaj fenomen se može dovesti u vezu sa produženim oslobađanjem paracetamola, ali i dužim intervalom doziranja kod tableta izrađenih od obloženih granula. Ravnotežno stanje koncentracije paracetamola u plazmi zapaža se kod svih simuliranih profila (slika 40). U stanju „na gladno”, najviše vrednosti C_{max} u ravnotežnom stanju predviđene su nakon primene tableta izrađenih od obloženih granula, ali razlika u odnosu na C_{max} predviđene za druge dve vrste tableta u stanju „na gladno” nije izrazita. Takođe, treba uzeti u obzir da je doza paracetamola u obliku tableta izrađenih od obloženih granula dva puta veća u odnosu na dozu leka primenjenu u obliku tableta izrađenih od neobloženih granula i tableta izrađenih od smeše praškova. Međutim, u stanju sitosti, vrednosti C_{max} predviđene u ravnotežnom stanju nakon primene tableta od obloženih granula niže su u odnosu na tablete izrađene od neobloženih granula uzetih sa hranom i tablete izrađene od smeše praškova primenjene sa tečnostima koje imaju izvesnu kalorijsku vrednost. Najviše vrednosti C_{max} u stanju sitosti predviđene su nakon primene tableta izrađenih od neobloženih granula paracetamola, što je u skladu sa rezultatima simulacija koje se odnose na primenu pojedinačne doze leka.

Vrednosti C_{min} predviđene nakon primene tableta izrađenih od obloženih granula paracetamola niže su u odnosu na vrednosti predviđene za druge dve vrste tableta (tabele 58, 59), najverovatnije zbog dužeg intervala doziranja tableta izrađenih od obloženih granula (dva puta duži) u odnosu na tablete sa trenutnim oslobađanjem paracetamola. Antipiretički efekat

paracetamola, koji se postiže nakon primene konvencionalnog farmaceutskog oblika leka, traje najduže 6 sati, nakon čega je neophodno uzeti narednu dozu leka (Kelley i sar., 1992; Gupta i sar., 2007; Ruperto i sar., 2011; Ji i sar., 2012; Allegaert i sar., 2013), pa se može zaključiti da bi u trenutku kada je postignuta određena vrednost C_{min} (6 h nakon uzimanja leka) bilo neophodno uzeti drugu dozu leka. Ukoliko je to trenutak kada je C_{min} oko 2 $\mu\text{g/ml}$, koliko je predviđeno 6 h nakon primene tableta sa trenutnim oslobađanjem, interval doziranja tableta izrađenih od obloženih granula paracetamola bi trebalo skratiti na 11 h kod dece uzrasta 6 godina, odnosno 9 h kod adolescenata. Međutim, za procenu terapijske efikasnosti predloženog režima doziranja tableta sa produženim oslobađanjem paracetamola, pored C_{min} , upoređene su i vrednosti PIK_{tc} dobijene simulacijama ispitivanih farmaceutskih oblika leka (tableta).

Rezultati simulacije su pokazali da su vrednosti PIK_{tc} , predviđene nakon svake pojedinačne doze paracetamola uzetog u obliku tableta izrađenih od obloženih granula, veće u odnosu na vrednosti dobijene simulacijom primene tableta izrađenih od neobloženih granula paracetamola i tableta izrađenih od smeše praškova. Ove razlike u vrednostima PIK_{tc} su posledica veće pojedinačne doze leka uzete sa tabletama izrađenim od obloženih granula. Međutim, na simuliranim profilima koncentracije paracetamola u plazmi, dobijenim za tablete izrađene od obloženih granula, jasno se uočava usporeni porast koncentracije leka u plazmi nakon postizanja terapijske koncentracije od 10 $\mu\text{g/mL}$. Zbog znatno većih vrednosti PIK_{tc} nakon primene tableta izrađenih od obloženih granula paracetamola, ΣPIK_{tc} je takođe veća u odnosu na druge dve vrste tableta, iako su, umesto četiri doze konvencionalnog farmaceutskog oblika leka, tokom 24 h uzete dve doze tableta izrađenih od obloženih granula paracetamola. Na osnovu dobijenih rezultata, može se očekivati da će terapijska efikasnost tableta izrađenih od obloženih granula paracetamola, nakon ponovljenog doziranja tokom 24 h, biti ista ili bolja u poređenju sa tabletama sa trenutnim oslobađanjem paracetamola primenjenim prema propisanom režimu doziranja.

Rezultati simulacija primene eksperimentalno izrađenih tableta pokazali su da ukupna izloženost deteta leku, izražena kao $PIK_{0 \rightarrow \infty}$, ne zavisi od farmaceutskog oblika leka, niti od prisustva hrane (isto kao kod simulacija primene eksperimentalno dobijenih granula). S obzirom da je predviđena dnevna doza paracetamola za određeni uzrast ista, bez obzira na vrstu tableta, predviđene vrednosti $PIK_{0 \rightarrow \infty}$ unutar određene pedijatrijske grupe su skoro jednake (tabele 58, 59).

5. ZAKLJUČAK

U okviru ove disertacije sprovedena su opsežna ispitivanja sa ciljem optimizacije postupka oblaganja topljenjem u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema laboratorijskog kapaciteta, karakterizacije granula paracetamola obloženih topljenjem i ispitivanja njihovih tabletabilnih svojstava, kao i svojstava izrađenih tableta, i procene očekivane apsorpcije i raspodele leka nakon peroralne primene obloženih granula i tableta izrađenih od obloženih granula kod pedijatrijskih pacijenata različitog uzrasta.

Na osnovu dobijenih rezultata i zapažanja u toku eksperimentalnog rada doneto je više zaključaka, koji su u nastavku navedeni u okviru nekoliko celina, u skladu sa definisanim ciljevima rada.

1. U prvoj fazi eksperimentalnog rada uspešno je dizajniran modifikovani uređaj tipa fluidizirajućeg sistema, laboratorijskog kapaciteta. Dodatkom pomoćnih komponenti, kao što su peščano kupatilo i termo elementi, oblaganje granula topljenjem u modifikovanom sistemu sprovedeno je pod kontrolisanim uslovima. Granule obložene ispitivanim pomoćnim supstancama (Precirol® ATO 5, Dynasan® P 60, Dynasan® 116 i Dynasan® 118) pokazale su produženo oslobađanje paracetamola u odnosu na neobložene granule. U poređenju sa pomoćnim supstancama Dynasan® P 60, Dynasan® 116 i Dynasan® 118, oblaganjem sa Precirol®-om ATO 5 dobijene su obložene granule boljih karakteristika, pre svega u smislu protočnosti i profila brzine rastvaranja lekovite supstance, a proces oblaganja je bio bolje kontrolisan. U narednim eksperimentima, utvrđeno je da povećanje udela lipidne obloge odabrane pomoćne supstance (Precirol® ATO 5) sa 9,1% (*m/m*) na 13,0% (*m/m*), nema uticaja na brzinu rastvaranja paracetamola, tako da je kao ciljani maseni udeo Precirol®-a ATO 5 u formulaciji odabran udeo od 9,1%.

2. Analiza rezultata dobijenih u drugoj fazi eksperimentalnog rada (optimizacija procesa oblaganja, primenom *Box-Behnken* eksperimentalnog dizajna) pokazala je da protok vazduha za fluidizaciju i AAP, kao i različite interakcije ispitivanih procesnih parametara (protok vazduha za fluidizaciju, AAP i protok sredstva za oblaganje) imaju značajan uticaj na distribuciju veličine granula, brzinu proticanja i inicijalnu brzinu rastvaranja lekovite supstance ($pPIK_{0-5 \text{ min}}$) iz obloženih granula. Na distribuciju veličine granula značajan efekat imaju protok vazduha za fluidizaciju i AAP. Oba procesna parametra imaju negativan uticaj na vrednost d_{50} , odnosno povećanjem AAP ili protoka vazduha za fluidizaciju smanjuje se mogućnost aglomeracije granula. Dalje, dobijeni rezultati su pokazali da na brzinu proticanja obloženih granula statistički značajan efekat imaju faktori interakcija procesnih parametara i kvadrat protoka sredstva za oblaganje, a da uticaj pojedinačnih ispitivanih parametara procesa nije statistički značajan. Najveće poboljšanje brzine proticanja granula paracetamola postignuto je pod sledećim uslovima procesa: povećan protok vazduha za fluidizaciju (20 m³/h) i visoka vrednost AAP (1,2 bar), uz istovremeno smanjen protok sredstva za oblaganje (2 g/min).

S obzirom na to da je jedan od ciljeva oblaganja granula topljenjem bio maskiranje ukusa lekovite supstance, inicijalna brzina rastvaranja lekovite supstance (tokom prvih 5 min) izdvojena je kao važan parametar koji ukazuje na efikasnost ovog postupka. Naime, naglo oslobađanje i rastvaranje lekovite supstance mogu dovesti do neprijatne senzacije gorčine i loše komplikacije pacijenta. Stoga je za formulacije koje sadrže visoko rastvorljive lekovite supstance izrazito gorkog ukusa (kao što je paracetamol), kao i za formulacije koje su namenjene pedijatrijskoj populaciji, ispitivanje inicijalne brzine rastvaranja lekovite supstance od posebnog značaja. Prema rezultatima

ANOVA-e, na inicijalnu brzinu rastvaranja paracetamola iz obloženih granula (izražena kao $pPIK_{0.5\ min}$) značajan efekat imaju AAP i dvofaktorske interakcije u kojima je jedan od faktora protok vazduha za fluidizaciju. Najniže vrednosti $pPIK_{0.5\ min}$ postignute su oblaganjem granula paracetamola topljenjem pri povećanoj vrednosti AAP (1,2 bar), uz istovremeno povećan protok vazduha za fluidizaciju (20 m³/h) i smanjen protok sredstva za oblaganje (2 g/min), odnosno, pri istim uslovima procesa pri kojima je postignuto i najveće poboljšanje brzine proticanja obloženih granula.

Na osnovu rezultata ispitivanja dobijenih primenom eksperimentalnog dizajna, kao CQA obloženih granula prepoznati su brzina proticanja granula, $pPIK_{0.5\ min}$ i $PIK_{0-180\ min}$, a sva tri ispitivana parametra procesa su identifikovani kao CPP. Utvrđen je odnos između CPP i CQA i definisane su dve oblasti koje predstavljaju prostor za dizajn. Oblaganje granula topljenjem pod optimalnim uslovima, unutar prostora za dizajn, obezbediće da dobijeni proizvod ima željene karakteristike, a to su poboljšana protočnost, odgovarajuća distribucija veličine čestica, odsustvo aglomerata, usporeno oslobađanje paracetamola tokom prvih 5 min i produženo oslobađanje paracetamola tokom 3 h ispitivanja. Procesni parametri oblaganja topljenjem i njihov uticaj na kvalitet proizvoda do sada nisu dovoljno istraženi, što ističe značaj sprovedenih ispitivanja. Naime, rezultati ovih ispitivanja doprinose novim znanjima i boljem razumevanju procesa oblaganja topljenjem u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema, kao i poznavanju uticaja procesnih parametara na karakteristike obloženih granula. Utvrđene relacije i efekti treba da olakšaju odabir optimalnih uslova oblaganja topljenjem kako bi se izradile/proizvele granule odgovarajućih osobina, odnosno, predstavljaju neophodne elemente u primeni QbD koncepta u razvoju formulacija preparata koje uključuju primenu oblaganja topljenjem. Pristup zasnovan na eksperimentalnom dizajnu, koji je primenjen u ovom radu, može se primeniti i za ispitivanje oblaganja topljenjem u uređaju tipa fluidizirajućeg sistema sa drugim lipidnim supstancama. Takva istraživanja bi doprinela većoj primeni ove alternativne tehnike oblaganja koja ima brojne prednosti u odnosu na konvencionalno oblaganje u farmaceutskoj industriji. Treba dodati da bi dalja istraživanja usmerena ka ispitivanju stabilnosti proizvoda/međuproizvoda obloženih topljenjem sa Precirol[®]-om ATO 5, pre svega u smislu ispitivanja polimorfnih prelaza ove lipidne supstance, bila od velikog značaja u razvoju novih farmaceutskih preparata.

3. U okviru treće faze eksperimentalnog rada komprimovani su uzorci neobloženih i obloženih granula paracetamola, smeša praškova koja odgovara sastavu obloženih granula i pojedinačne komponente u sastavu granula (paracetamol, α -laktoza monohidrat i MCC) i izračunate su vrednosti fizičkih veličina na osnovu kojih su procenjena tabletabilna svojstva obloženih granula. U poređnom analizom dobijenih podataka pokazano je da granule paracetamola obložene topljenjem sa Precirol[®]-om ATO 5 poseduju bolja tabletabilna svojstva u odnosu na neobložene granule, što se vidi iz nižih vrednosti ejectionog stresa i stresa prilikom odvajanja komprimata od baze matrice, u ispitivanom opsegu pritiska kompresije. Dodatno, na osnovu vrednosti zatezne čvrstine, uočeno je da obložene granule paracetamola imaju bolju kompaktilnost u odnosu na neobložene granule (ukoliko je pritisak kompresije 35-139 MPa) i smešu praškova (u ispitivanom opsegu pritiska kompresije). Takođe, tablete dobijene komprimovanjem obloženih granula pri pritisacima kompresije ≥ 104 MPa poseduju zadovoljavajuće vrednosti zatezne čvrstine u odnosu na zahteve postavljene na osnovu dosadašnjih naučnih saznanja i preporuka iz literature (veće od 2 MPa). Na osnovu dobijenih rezultata ejectionog stresa (manji od 1 MPa) i stresa prilikom odvajanja tablete

od baze matrice (manji od 1,4 MPa), može se zaključiti da za komprimovanje obloženih granula nije potreban lubrikans. Takođe, pokazano je da je ejskcionni stres tableta dobijenih komprimovanjem obloženih granula gotovo nezavisan od primenjenog pritiska kompresije. Ova činjenica može biti od velikog značaja u optimizaciji procesa (tabletiranje granula obloženih topljenjem), jer se pri povećanju pritiska kompresije (npr. sa ciljem postizanja veće zatezne čvrstine tablete), neće povećati rizik od oštećenja tablete u fazi izbacivanja iz matrice. Bolja kompaktilnost obloženih granula, u poređenju sa neobloženim granulama, može se objasniti formiranjem lipidnog matriksa kod tableta izrađenih od granula obloženih topljenjem.

Dodatnim eksperimentima pokazano je da tablete dobijene komprimovanjem obloženih granula poseduju zadovoljavajuće karakteristike kvaliteta, definisane zahtevima Ph. Eur. 10.0 (ujednačenost sadržaja lekovite supstance, variranje mase, friabilnost), kao i zahtevima postavljenim na osnovu dosadašnjih naučnih saznanja i preporuka iz literature (zatezna čvrstina, ejskcionni stres). Pokazano je da friabilnost i vreme raspadanja tableta izrađenih od obloženih granula (produženo usled formiranja lipidnog matriksa) zavise od pritiska kompresije, a da tablete izrađene pri pritisku kompresije od 173 MPa ispunjavaju zahtev Ph. Eur. 10.0 (friabilnost manja od 1%). Ispitivanjem brzine rastvaranja lekovite supstance pokazano je produženo oslobađanje paracetamola iz tableta od obloženih granula. Dodatno, pokazano je da brzina rastvaranja paracetamola ne zavisi od pritiska kompresije u toku izrade tableta i hidrodinamičkih uslova ispitivanja (u opsegu brzine okretanja lopatica 50-150 o/min) ukoliko su obložene granule komprimovane pri pritisku 104-173 MPa. Ova karakteristika tableta izrađenih od obloženih granula može imati veliki značaj pri optimizaciji parametara procesa komprimovanja. Naime, dobijeni rezultati pokazuju da povećanje pritiska kompresije u određenom opsegu, sa ciljem proizvodnje tableta željenih karakteristika (npr. friabilnost manja od 1%), neće uticati na profil brzine rastvaranja lekovite supstance.

Poseban doprinos sprovedenog istraživanja odnosi se na procenu tabletabilnih svojstava granula obloženih topljenjem, koja do sada nisu opisana u literaturi. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da su granule obložene topljenjem pogodan materijal za izradu matriks tableta sa produženim oslobađanjem lekovite supstance, jer poseduju dobra tabletabilna svojstva, a farmaceutsko-tehnološke karakteristike izrađenih tableta (ujednačenost sadržaja lekovite supstance, variranje mase, friabilnost) odgovaraju zahtevima Ph. Eur. 10.0. Dodatno, ovakav pristup omogućava da se iskoriste prednosti lipidnog omotača, kao što su netoksičnost, ekološka prihvatljivost, jednostavnost formulacije, a ujedno i da se formuliše farmaceutski oblik sa modifikovanim oslobađanjem lekovite supstance kojim bi se postigla bolja komplijansa pacijenata (manja učestalost doziranja i/ili maskiranje neprijatnog ukusa leka). S obzirom na to da čvrsti farmaceutski oblici lekova za peroralnu primenu, dobijeni oblaganjem topljenjem, trenutno nisu prisutni na tržištu, dobijeni rezultati mogu da ukažu na značaj i mogućnosti primene oblaganja topljenjem u proizvodnji lipidnih matriks tableta sa produženim oslobađanjem lekovite supstance.

4. U četvrtoj fazi eksperimentalnog rada, primenom *in silico* modelovanja i simulacija procenjeni su očekivani profili koncentracije paracetamola u plazmi kod dece različitog uzrasta, nakon primene granula paracetamola obloženih topljenjem i tableta izrađenih od granula paracetamola obloženih topljenjem. Sa ciljem razvoja paracetamol-specifičnog PBPK modela za pedijatrijsku populaciju, u prvom koraku izgrađen je PBPK model za odraslu populaciju, koji je validiran u odnosu na podatke dobijene u kliničkim studijama, a potom ekstrapoliran na

pedijatrijsku populaciju. Izgrađeno je pet PBPK modela za različite pedijatrijske uzraste, a tačnost predviđanja svih pet PBPK modela potvrđena je poređenjem sa podacima dobijenim *in vivo*. Stoga se može zaključiti da su uspešno razvijeni paracetamol-specifični PBPK modeli za decu različitog uzrasta (12 dana, 18 nedelja, 2 godine, 6 godina, 12 godina) koji se mogu koristiti za procenu izloženosti deteta leku nakon peroralne primene različitih formulacija/preparata sa paracetamolom. Primenjeni pristup potvrđuje značaj i mogućnost izgradnje lek-specifičnog PBPK modela za pedijatrijsku populaciju skaliranjem i modifikacijom validiranog modela za odraslu populaciju. Ovo je naročito značajno, jer se u novije vreme primena PBPK modelovanja i simulacija sve više ističe kao veoma koristan pristup u razvoju farmaceutskih preparata, kako za odraslu populaciju, tako i za posebne populacije pacijenata, poput pedijatrijske populacije.

Rezultati simulacija koji se odnose na primenu obloženih granula pokazali su da se kod dece različitog uzrasta očekuje usporena apsorpcija paracetamola. Takođe, pokazano je da je apsorpcija paracetamola nakon primene obloženih granula nezavisna od načina primene leka (bez ili sa hranom). Dodatno, pokazano je da se primenom obloženih granula paracetamola prema predloženom režimu doziranja postižu terapijske koncentracije paracetamola u plazmi (veće od 10 µg/mL), pri čemu su vrednosti PIK_{tc} kod svih pedijatrijskih uzrasta veće nakon primene obloženih granula, u odnosu na neobložene granule. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da je primena obloženih granula paracetamola sa aspekta bezbednosti (procenjeno na osnovu vrednosti C_{max}) slična konvencionalnim farmaceutskim oblicima leka (npr. neobložene granule), a da je terapijska efikasnost (procenjena na osnovu vrednosti PIK_{tc}) ista ili bolja.

Rezultati simulacija ponovljenog doziranja tokom 24 h, kod dece različitog uzrasta, pokazali su da se predloženim režimom doziranja obloženih granula paracetamola mogu postići isti ili bolji terapijski efekat (procenjen na osnovu vrednosti PIK_{tc} i ΣPIK_{tc}) i sličan bezbednosni profil (procenjen na osnovu vrednosti C_{max}) kao i primenom konvencionalnih farmaceutskih oblika leka. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da se tokom 24 h može primeniti jedna doza leka (granule paracetamola obložene topljenjem) manje u odnosu na farmaceutske oblike sa trenutnim oslobađanjem lekovite supstance, npr. neobložene granule paracetamola. Smanjenje učestalosti uzimanja leka može povećati komplijansu pacijenata i posledično poboljšati terapijski ishod.

Rezultati PSA su pokazali da promene u vremenu zadržavanja leka u želucu manje utiču na vrednosti C_{max} i t_{max} paracetamola nakon primene obloženih granula, u odnosu na neobložene granule. S obzirom na to da vreme zadržavanja u želucu može znatno uticati na apsorpciju leka i da je inter- i intraindividualna varijabilnost ovog fiziološkog parametra velika, smanjenje uticaja ovog faktora na apsorpciju leka može obezbediti efikasnu terapiju bez potrebe za uzimanjem dodatnih doza leka (ako izostane efekat leka nakon primene prve doze).

Simulacije koje se odnose na primenu tableta izrađenih od obloženih granula paracetamola su pokazale da je predviđena apsorpcija leka nezavisna od odsustva/prisustva hrane. Takođe, dobijeni rezultati su pokazali da je apsorpcija paracetamola znatno sporija nakon primene tableta izrađenih od obloženih granula, u odnosu na farmaceutske oblike sa trenutnim oslobađanjem lekovite supstance (tablete izrađene od neobloženih granula, tablete izrađene od smeše praškova). Veća doza paracetamola koja je primenjena u obliku tableta izrađenih od obloženih granula nije dovela do znatnog povećanja C_{max} , u odnosu na vrednosti C_{max} koju su predviđene za tablete sa trenutnim oslobađanjem lekovite supstance, što je važno sa aspekta bezbednosti. Terapijske koncentracije paracetamola u plazmi (veće od 10 µg/mL) postignute su nakon primene tableta izrađenih od obloženih granula, kod obe ispitivane pedijatrijske grupe (6 i 12 godina). Dodatno,

simulacijama primene tableta izrađenih od obloženih granula predviđene su vrednosti PIK_{tc} koje su nekoliko puta veće u odnosu na očekivane vrednosti za druge dve ispitivane formulacije tableta (kada je $PIK_{tc} > 0$), na osnovu čega se može zaključiti da je terapijska efikasnost tableta izrađenih od obloženih granula bolja u odnosu na tablete sa trenutnim oslobađanjem paracetamola (tablete izrađene od neobloženih granula i smeše praškova).

Simulacijama sa ponovljenim dozama preparata pokazano je da se, primenom tableta izrađenih od obloženih granula, interval doziranja može produžiti sa 6 h, koliko je propisano za konvencionalne farmaceutske oblike leka (tablete sa trenutnim oslobađanjem lekovite supstance), na 12 h. Naime, predviđene vrednosti PIK_{tc} i ΣPIK_{tc} nakon primene tableta izrađenih od obloženih granula paracetamola veće su u odnosu na tablete sa trenutnim oslobađanjem paracetamola, na osnovu čega se može zaključiti da je terapijska efikasnost tableta izrađenih od obloženih granula ista ili bolja u poređenju sa tabletama sa trenutnim oslobađanjem paracetamola. Smanjenje učestalosti uzimanja tableta izrađenih od obloženih granula u odnosu na konvencionalne farmaceutske oblike leka i apsorpcija leka koja je nezavisna od uzimanja hrane, mogu povećati komplijansu pacijenata, što je od posebnog značaja u pedijatrijskoj populaciji.

Rezultati PSA su pokazali da je apsorpcija paracetamola nakon primene tableta izrađenih od obloženih granula paracetamola gotovo nezavisna od vremena zadržavanja leka u želucu, u ispitivanom opsegu (0,1-2 h), za razliku od tableta sa trenutnim oslobađanjem lekovite supstance. Apsorpcija lekovite supstance koja je nezavisna od vremena zadržavanja preparata u želucu dodatno doprinosi boljoj terapijskoj efikasnosti i povećanju komplijanse pacijenata, što predstavlja još jednu prednost primene tableta izrađenih od obloženih granula u odnosu na tablete sa trenutnim oslobađanjem paracetamola.

6. LITERATURA

- Abdel-Rahman, S.M., Amidon, G.L., Kaul, A., Lukacova, V., Vinks, A.A., Knipp, G.T., 2012. Summary of the National Institute of Child Health and Human Development–Best Pharmaceuticals for Children Act Pediatric Formulation Initiatives Workshop–Pediatric Biopharmaceutics Classification System Working Group. *Clin. Ther.* 34, S11-S24.
- Abernethy, D.R., Divoll, M., Greenblatt, D.J., Ameer, B., 1982. Obesity, sex, and acetaminophen disposition. *Clin. Pharmacol. Ther.* 31, 783-790.
- Agoram, B., Woltosz, W.S., Bolger, M.B., 2001. Predicting the impact of physiological and biochemical processes on oral drug bioavailability. *Adv. Drug Deliver. Rev.* 50, S41-67.
- Allegaert, K., Naulaers, G., Vanhaesebrouck, S., Anderson, B.J., 2013. The paracetamol concentration-effect relation in neonates. *Paediatr. Anaesth.* 23, 45-50.
- Amidon, G.L., Lennernäs, H., Shah, V.P., Crison, J.R., 1995. A theoretical basis for the biopharmaceutic drug classification: The correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm. Res.* 12, 413-420.
- Amidon, G.L., Secreast, P.J., Mudie, D., 2009. Particle, Powder, and Compact Characterization. In: Yihong, Q., Yisheng, C., Zhang, G.G.Z., Liu, L., Porter, W.R. (Eds.), *Developing Solid Oral Dosage Forms: Pharmaceutical Theory and Practice*, 1st edition. Elsevier Inc., 163-186.
- Anderson, B.J., Holford, N.H., Woollard, G.A., Kanagasundaram, S., Mahadevan, M., 1999. Perioperative pharmacodynamics of acetaminophen analgesia in children. *Anesthesiology.* 90, 411-421.
- Anderson, B.J., Pons, G., Autret-Leca, E., Allegaert, K., Boccard, E., 2005. Pediatric intravenous paracetamol (propacetamol) pharmacokinetics: a population analysis. *Paediatr. Anaesth.* 15, 282-292.
- Anderson, B.J., van Lingen, R.A., Hansen, .G., Lin, Y., Holford, N.H.G., 2002. Acetaminophen Developmental Pharmacokinetics in Premature Neonates and Infants: A Pooled Population Analysis. *Anesthesiology.* 96, 1336-1345.
- Anderson, B.J., Woollard, G.A., Holford, N.H., 2000. A model for size and age changes in the pharmacokinetics of paracetamol in neonates, infants and children. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 50, 125-134.
- Armstrong, N.A., 2007a. Tablet Manufacture by Direct Compression. In: Swarbrick, J. (Ed.), *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, 3rd edition, Volume 1. Informa Healthcare USA, Inc., 3673-3682.
- Armstrong, N.A., 2007b. Tablet Manufacture. In: Swarbrick, J. (Ed.), *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, 3rd edition, Volume 1. Informa Healthcare USA, Inc., 3653-3672.
- Armstrong, N. A., 2008. Applications of tablet press instrumentation. In: Watt, P.R., Armstrong, N.A. (Eds.), *Tablet and Capsule Machine Instrumentation*. Pharmaceutical Press, 167-206.
- Bannow, J., Koren, L., Salar-Behzadi, S., Löbmann, K., Zimmer, A., Rades, T., 2020. Hot Melt Coating of Amorphous Carvedilol. *Pharmaceutics.* 12, 519.

- Barrett, J.S., Della Casa Alberighi, O., Läer, S., Meibohm, B., 2012. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling in children. *Clin. Pharmacol. Ther.* 92, 40-49.
- Barthélémy, P., Laforêt, J.P., Farah, N., Joachim, J., 1999. Compritol 888 ATO: an innovative hot-melt coating agent for prolonged-release drug formulations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 47, 87-90.
- Batchelor, H.K., Kendall, R., Desset-Brethes, S., Alex, R., Ernest, T.B., 2013. European Paediatric Formulation Initiative. Application of in vitro biopharmaceutical methods in development of immediate release oral dosage forms intended for paediatric patients. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 85, 833-842.
- Batchelor, H., 2014. Paediatric biopharmaceutics classification system: Current status and future decisions. *Int. J. Pharm.* 469, 251-253.
- Becker, K., Salar-Behzadi, S., Zimmer, A., 2015. Solvent-Free Melting Techniques for the Preparation of Lipid-Based Solid Oral Formulations. *Pharm. Res.* 32, 1519-1545.
- Becker, K., Saurugger, E.-M., Kienberger, D., Lopes, D., Haack, D., Köberle, M., Stehr, M., Lochmann, D., Zimmer, A., Salar-Behzadi, S., 2016. Advanced stable lipid-based formulations for a patient-centric product design. *Int. J. Pharm.* 497, 136-149.
- Bi, Y., Liu, J., Li, L., Yu, J., Bhattaram, A., Bewernitz, M., Li, R.J., Liu, C., Earp, J., Ma, L., Zhuang, L., Yang, Y., Zhang, X., Zhu, H., Wang, Y., 2019. Role of Model-Informed Drug Development in Pediatric Drug Development, Regulatory Evaluation, and Labeling. *J. Clin. Pharmacol.* 59, S104-S111.
- Bonner, J.J., Vajjah, P., Abduljalil, K., Jamei, M., Rostami-Hodjegan, A., Tucker, G.T., Johnson, T.N., 2015. Does age affect gastric emptying time? A model-based metaanalysis of data from premature neonates through to adults. *Biopharm. Drug Dispos.* 36, 245-257.
- Bose, S., Bogner, R.H., 2007. Solventless Pharmaceutical Coating Processes: A Review. *Pharm. Dev. Technol.* 12, 115-131.
- Brayfield, A. (Ed.), *Martindale: The Complete Drug Reference* 39th edition. London: Pharmaceutical Press, 2017.
- Breitkreutz, J., 2008. European Perspectives on Pediatric Formulations. Commentary. *Clin. Ther.* 30, 2146-2154.
- British National Formulary for Children 2020-2021. British Medical Association, Royal Pharmaceutical Society, Royal College of Paediatrics and Child Health, Neonatal and Paediatric Pharmacists Group.
- Brubach, J.B., Jannin, V., Mahler, B., Bourgaux, C., Lessieur, P., Roy, P., Ollivon, M., 2007. Structural and thermal characterization of glyceryl behenate by X-ray diffraction coupled to differential calorimetry and infrared spectroscopy. *Int. J. Pharm.* 336, 248-256.
- Cao, Q.R., Kim, T.W., Lee, B.J., 2007. Photoimages and the release characteristics of lipophilic matrix tablets containing highly water-soluble potassium citrate with high drug loadings. *Int. J. Pharm.* 339, 19-24.

- Chansanroj, K., Betz, G., 2008. Improving stability of triglycerides in hot melt coating formulations. *Glatt Int. Times*. 26, 1-6.
- Chansanroj, K., Betz, G., Leuenberger, H., Mitrevej, A., Sinchaipanid, N., 2007. Development of a multi-unit floating drug delivery system by hot-melt coating technique with drug-lipid dispersion. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 17, 333-338.
- Chen, H., Shi, S., Liu, A., Tang, X., 2010. Combined application of extrusion–spheronization and hot-melt coating technologies for improving moisture-proofing of herbal extracts. *J. Pharm. Sci.* 99, 2444-2454.
- Christensen, F.N., Bertelsen, P., 1997. Qualitative Description of the Wurster-Based Fluid-Bed Coating Process. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 23, 451-463.
- Coppola, P., MHRA. The finalized EMA guideline and latest experience of PBPK models in Regulatory submissions. PBPK Symposium, Paris 4th April 2019.
- David, S.T., Augsburger, L.L., 1977. Plastic flow during compression of directly compressible fillers and its effect on tablet strength. *J. Pharm. Sci.* 66, 155-159.
- de Boer, A.H., Vromans, H., Lerk, C.F., Bolhuis, G.K., Kussendrager, K.D., Bosch, H., 1986. Studies on tableting properties of lactose. Part III. The consolidation behavior of sieve fractions of crystalline α -lactose monohydrate. *Pharm. Weekbl. Sci.* 8, 145-150.
- de Martino, M., Chiarugi, A., 2015. Recent Advances in Pediatric Use of Oral Paracetamol in Fever and Pain Management. *Pain Ther.* 4, 149-168.
- Depre, M., van Hecken, A., Verbesselt, R., Tjandra-Maga, T.B., Gerin, M., de Schepper, P.J., 1992. Tolerance and pharmacokinetics of propacetamol, a paracetamol formulation for intravenous use. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 6, 259-262.
- Dhuppe, S., Mitkare, S.S., Sakarkar, D.M., 2012. Recent Techniques of Pharmaceutical Solventless Coating: a Review. *IJPSR.* 3, 1976-1986.
- Dixit, R., Puthli, S., 2009. Fluidization Technologies: Aerodynamic Principles and Process Engineering. *J. Pharm. Sci.* 98, 3933-3960.
- El Mafadi, S., Hayert, M., Poncelet, D., 2003. Fluidization control in the Wurster coating process. *Chem. Ind.* 57, 641-644.
- EMA, 2007. The Paediatric Regulation. Paediatric Team Scientific Advice, Paediatrics & Orphan Drugs Sector, EMEA. [Online] [poslednji pristup: april 2020].
- EMA, 2011. Development of paediatric formulations - points to consider. Workshop on Paediatric Formulations II. London, 8 November 2011. [Online] [poslednji pristup: mart 2020].
- EMA/CHMP, 2006. Reflection paper: formulations of choice for the paediatric population. EMEA/CHMP/PEG/194810/2005.
- EMA/CHMP, 2010. Guideline on the investigation of bioequivalence. CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1.
- EMA/CHMP, 2018. Guideline on the reporting of physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modelling and simulation. EMA/CHMP/458101/2016.

- EMA/CHMP/ICH, 2020. ICH M9 guideline on biopharmaceutics classification system-based biowaivers. EMA/CHMP/ICH/493213/2018.
- European Parliament, Council of the European Union, 2006. Regulation (EC) n. 1901/2006 of the European Parliament and of the Council of 12 December 2006 on medicinal products for paediatric use and amending Regulation (EEC) No. 1768/92, Directive 2001/20/EC, Directive 2001/83/EC and Regulation (EC) No 726/2004. Official Journal of the European Union 27.12.2006, L378/1-L378/19.
- European Pharmacopoeia 10th ed. Strasbourg: Council of Europe, 2019.
- Evrard, B., Amighi, K., Beten, D., Delattre, L., Moës, A.J., 1999. Influence of Melting and Rheological Properties of Fatty Binders on the Melt Granulation Process in a High-Shear Mixer. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 25, 1177-1184.
- Fachaux, J.M., Guyot-Hermann, A.M., Guyot, J.C., Conflant, P., Drache, M., Huvenne, J.P., Bouche, R., 1993. Compression ability improvement by solvation: desolvation process: application to paracetamol for direct compression. *Int. J. Pharm.* 99, 99-107.
- Faham, A., Prinderre, P., Farah, N., Eichler, K.D., Kalantzis, G., Joachim, J., 2000. Hot-melt coating technology. I. Influence of Compritol 888 ATO and granule size on theophylline release. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 26, 167-176.
- Faure, A., York, P., Rowe, R.C., 2001. Process control and scale-up of pharmaceutical wet granulation processes: a review. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 52, 269-277.
- FDA/CDER, 2002. Guidance for Industry: Food-effect Bioavailability and Fed Bioequivalence Studies.
- FDA/CDER, 2017. Guidance for Industry: Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. [Online] [poslednji pristup: jul 2020].
- FDA/CDER, 2018. Guidance for Industry: Physiologically Based Pharmacokinetic Analyses — Format and Content.
- FDA/CDER, 2020. Guidance for Industry: The Use of Physiologically Based Pharmacokinetic Analyses — Biopharmaceutics Applications for Oral Drug Product Development, Manufacturing Changes, and Controls (Draft Guidance).
- Forrest, J.A., Clements, J.A., Prescott, L.F., 1982. Clinical pharmacokinetics of paracetamol. *Clin. Pharmacokinet.* 7, 93-107.
- Führer, C., 1996. Interparticulate Attraction Mechanisms. In: Alderborn, G., Nyström, C. (Eds.), *Pharmaceutical Powder Compaction Technology*. Marcel Dekker Inc., 1-16.
- Gamlen, M.J., 2017. Assessing Tablet Manufacturability: Will Your Powder Formulation Actually Produce a Good Tablet? *Gamlen Tableting*. 1-4.
- Garekani, H.A., Ford, J.L., Rubinstein, M.H., Rajabi-Siahboomy, A.R., 2001. Effect of Compression Force, Compression Speed, and Particle Size on the Compression Properties of Paracetamol. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 27, 935-942.

- Garekani, H.A., Sadeghi, F., Ghazi, A., 2003. Increasing the aqueous solubility of acetaminophen in the presence of polyvinylpyrrolidone and investigation of the mechanisms involved. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 29, 173-179.
- Garr, J.S.M., Rubinstein, M.H., 1991. An investigation into the capping of paracetamol at increasing speeds of compression. *Int. J. Pharm.* 72, 117-122.
- Gattefossé SAS, Technical data sheet Precirol® ATO 5, 2012.
- Geldart, D., 1973. Types of Gas Fluidization. *Powder Technol.* 7, 285-292.
- Gibb, I.A., Anderson, B.J., 2008. Paracetamol (acetaminophen) pharmacodynamics: interpreting the plasma concentration. *Arch. Dis. Child.* 93, 241-247.
- Govedarica, B., Injac, R., Dreu, R., Srcic, S., 2011. Formulation and evaluation of immediate release tablets with different types of paracetamol powders prepared by direct compression. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* 5, 31-41.
- Gramatte, T., Richter, K., 1994. Paracetamol absorption from different sites in the human small intestine. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 37, 608-611.
- Grattan, T., Hickman, R., Darby-Dowman, A., Hayward, M., Boyce, M., Warrington, S., 2000. A five way crossover human volunteer study to compare the pharmacokinetics of paracetamol following oral administration of two commercially available paracetamol tablets and three development tablets containing paracetamol in combination with sodium bicarbonate or calcium carbonate. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 49, 225-229.
- Griffin, E.N., Niebergall, P.J., 1999. Release Kinetics of a Controlled-Release Multiparticulate Dosage Form Prepared Using a Hot-Melt Fluid Bed Coating Method. *Pharm. Dev. Technol.* 4, 117-124.
- Grimstein, M., Yang, Y., Zhang, X., Grillo, J., Huang, S.M., Zineh, I., Wang, Y., 2019. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling in Regulatory Science: An Update From the U.S. Food and Drug Administration's Office of Clinical Pharmacology. *J. Pharm. Sci.* 108, 21-25.
- Gupta, H., Shah, D., Gupta, P., Sharma, K.K., 2007. Role of paracetamol in treatment of childhood Fever: a double-blind randomized placebo controlled trial. *Indian Pediatr.* 44, 903-911.
- Hamdani, J., Moës, A.J., Amighi, K., 2003. Physical and thermal characterisation of Precirol® and Compritol® as lipophilic glycerides used for the preparation of controlled-release matrix pellets. *Int. J. Pharm.* 260, 1, 47-57.
- Hate, S.S., 2015. MSc Thesis: Investigation of physico-chemical properties of lipid-based excipients in a hot-melt fluid bed coating process. The State University of New Jersey. Dostupno na: <http://dx.doi.org/doi:10.7282/T3D220GJ>
- Heckel, R.W., 1961. Density–pressure relationships in powder compaction. *Trans. Metallurgical Soc. AIME.* 221, 671-675.
- Holman, L.E., 1991. The compaction behaviour of particulate materials. An elucidation based on percolation theory. *Powder Technol.* 66, 265-280.

- Hopkins, C.S., Underhill, S., Booker, P.D., 1990. Pharmacokinetics of paracetamol after cardiac surgery. *Arch. Dis. Child.* 65, 971-976.
- ICH Q8(R2), 2009. Pharmaceutical development Q8(R2). ICH harmonised tripartite guideline.
- ICH E11(R1), 2017. Guideline on clinical investigation of medicinal products in the pediatric population.
- Ilić, I., Kasa Jr., P., Dreu, R., Pintye-Hodi, K., Srcic, S., 2009. The compressibility and compactibility of different types of lactose. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 35, 1271-1280.
- Jannin, V., Bérard, V., N'Diaye, A., Andrès, C., Pourcelot, Y., 2003. Comparative study of the lubricant performance of Compritol 888 ATO either used by blending or by hot melt coating. *Int. J. Pharm* 262, 39-45.
- Jannin, V., Cuppok, Y., 2013. Hot-melt coating with lipid excipients. *Int. J. Pharm.* 457, 480-487.
- Ji, P., Wang, Y., Li, Z., Doddapaneni, S., Hertz, S., Furness, S., Sahajwalla, C.G., 2012. Regulatory review of acetaminophen clinical pharmacology in young pediatric patients. *J. Pharm. Sci.* 101, 4383-4389.
- Jiang, X.L., Zhao, P., Barrett, J.S., Lesko, L.J., Schmidt, S., 2013 Application of physiologically based pharmacokinetic modeling to predict acetaminophen metabolism and pharmacokinetics in children. *CPT Pharmacometrics Syst. Pharmacol.* 2, 1-9.
- Joiris, E., Di Martino, P., Berneron, C., Guyot-Hermann, A.M., Guyot, J.C., 1998. Compression behavior of orthorhombic paracetamol. *Pharm. Res.* 15, 1122-1130.
- Jones, H.M., Rowland-Yeo, K., 2013. Basic Concepts in Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling in Drug Discovery and Development. *CPT Pharmacometrics Syst. Pharmacol.* 2, e63.
- Jozwiakowski, M.J., Jones D.M., Franz, R.M., 1990. Characterization of a hot-melt fluid bed coating process for fine granules. *Pharm. Res.* 7, 1119-1126.
- Kaisersberger, E., 1989. DSC investigations of the thermal characterization of edible fats and oils. *Thermochim. Acta.* 151, 83-90.
- Kalantzi, L., Reppas, C., Dressman, J.B., Amidon, G.L., Junginger, H.E., Midha, K.K., Shah, V.P., Stavchansky, S.A., Barends, D.M., 2006. Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Acetaminophen (Paracetamol). *J. Pharm. Sci.* 95, 4-14.
- Karvekar, M., Khan, A.B., 2017. A Brief Review on Sustained Release Matrix Type Drug Delivery System. *J. Pharm. Res.* 16, 282-289.
- Kasongo, W.K., 2010. An investigation into the feasibility of incorporating didanosine into innovative solid lipid nanocarriers. PhD. Thesis, Faculty of Pharmacy, Rhodes University, Grahamstown, South Africa.
- Kaur, N., Narang, A., Bansal, A.K., 2018. Use of biorelevant dissolution and PBPK modeling to predict oral drug absorption. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 129, 222-246.
- Kaye, J.L., 2011. Review of paediatric gastrointestinal physiology data relevant to oral drug delivery. *Int. J. Clin. Pharm.* 33, 20-24.

- Kellens, M., Meeussen, W., Riekkel, C., Reynaers, H., 1990a. Time Resolved X-ray Diffraction Studies of the Polymorphic Behaviour of Tripalmitin Using Synchrotron Radiation. *Chem. Phys. Lipids*. 52, 79-98.
- Kellens, M., Meeussen, W., Reynaers, H., 1990b. Crystallization and Phase Transition Studies of Tripalmitin. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 55, 163-178.
- Kellens, M., Meeussen, W., Reynaers, H., 1992. Study of the Polymorphism and the Crystallization Kinetics of Tripalmitin-A Microscopic Approach. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69, 906-911.
- Kellens, M., Reynaers, H., 1992. Study of the Polymorphism of Saturated Monoacid Triglycerides I. Melting and Crystallization Behavior of Tristearin. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 94, 94-100.
- Kelley, M.T., Walson, P.D., Edge, J.H., Cox, S., Mortensen, M.E., 1992. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of ibuprofen isomers and acetaminophen in febrile children. *Clin. Pharmacol. Ther.* 52, 181-189.
- Khan, N., Craig, D.Q.M., 2004. Role of blooming in determining the storage stability of lipid-based dosage forms. *J. Pharm. Sci.* 93, 2962-2971.
- Khatkar, B.S., Devi, A., 2017. Thermo-Physical Properties of Fats and Oils. *IJETR*. 7, 45-50.
- Khobragade, D.S., Wankar, J., Patil, A.T., Potbhare, M.S., Lakhotiya, C.L., Umathe, S.N., 2014. A novel practical approach for enhancement of bioavailability of a poorly water soluble drug by hot melt coating technique. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 26, 258-263.
- Kienberger, D., 2014. Investigation of coating properties of lipids with focus on their stability using hot melt coating. MSc Thesis, Pharmaceutical Sciences, Graz University of Technology, Graz, Austria.
- Knežević, Z., Gosak D., Hraste, M., Rausl, D., Khan, M.Z., 2009. Application of hot-melt coating process for designing a lipid based controlled release drug delivery system for highly aqueous soluble drugs. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. 57, 464-471.
- Kostewicz, E.S., Aarons, L., Bergstrand, M., Bolger, M.B., Galetin, A., Hatley, O., Jamei, M., Lloyd, R., Pepin, X., Rostami-Hodjegan, A., Sjögren, E., Tannergren, C., Turner, D.B., Wagner, C., Weitschies, W., Dressman, J., 2014. PBPK models for the prediction of in vivo performance of oral dosage forms. *Eur. J. Pharm. Sci.* 57, 300-321.
- Koziolok, M., Alcaro, S., Augustijns, P., Basit, A.W., Grimm, M., Hens, B., Hoad, C.L., Jedamzik, P., Madla, C.M., Maliepaard, M., Marciani, L., Maruca, A., Parrott, N., Pávek, P., Porter, C.J.H., Reppas, C., van Riet-Nales, D., Rubbens, J., Stelova, M., Trevaskis, N.L., Valentová, K., Vertzoni, M., Čepo, D.V., Corsetti, M., 2019. The mechanisms of pharmacokinetic food-drug interactions - A perspective from the UNGAP group. *Eur. J. Pharm. Sci.* 134, 31-59.
- Kulah, G., Kaya, O., 2011. Investigation and scale-up of hot-melt coating of pharmaceuticals in fluidized beds. *Powder Technol.* 208, 175-184.
- Lennernäs, H., 2014. Human in vivo regional intestinal permeability: importance for pharmaceutical drug development. *Mol. Pharm.* 11, 12-23.

- Lin, L., Wong, H., 2017. Predicting Oral Drug Absorption: Mini Review on Physiologically-Based Pharmacokinetic Models. *Pharmaceutics*. 9, 41.
- Liu, B., Zhang, X., Wang, L., Hong, H., 2008. Fluidization of non-spherical particles: Sphericity, Zingg factor and other fluidization parameters. *Particuology*. 6, 125-129.
- Liu, X., Ward, R.M., 2019. Pharmacometrics in Pediatrics. *Ther. Innov. Regul. Sci.* 53, 579-583.
- Lopes, D.G., Garsuch, V., Becker, K., Paudel, A., Stehr, M., Zimmer, A., Salar-Behzadi, S., 2016. Improving the granule strength of roller compacted ibuprofen sodium for hot-melt coating processing. *Int. J. Pharm.* 510, 285-295.
- Lopes, D.G., Salar-Behzadi, S., Zimmer, A., 2017a. Designing Optimal Formulations for Hot-Melt Coating. *Int. J. Pharm.* 533, 357-363.
- Lopes, D.G., Koutsamanis, I., Becker, K., Scheibelhofer, O., Laggner, P., Haack, D., Stehr, M., Zimmer, A., Salar-Behzadi, S., 2017b. Microphase separation in solid lipid dosage forms as the cause of drug release instability. *Int. J. Pharm.* 517, 403-412.
- Lopez, F.L., 2017. Better medicines for children: Elucidating patient acceptability to guide flexible solid oral dosage form design. PhD. Thesis, School of Pharmacy, University, College London, UK.
- Lukacova, V., Parrott, N., Lave, T., Fraczekiewicz, G., Bolger, M.B., 2008. General approach to calculation of tissue:plasma partition coefficients for physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling. Poster Session presented at: 2008 AAPS National Annual Meeting and Exposition, November 16-20, 2008, Atlanta, GA.
- MacNaughtan, W., Farhat, I.A., Himawan, C., Starov, V.M., Stapley, A.G.F., 2006. A Differential Scanning Calorimetry Study of the Crystallization Kinetics of Tristearin-Tripalmitin Mixtures. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 83, 1-9.
- Madabushi, R., Wang, Y., Zineh, I., 2019. A Holistic and Integrative Approach for Advancing Model-Informed Drug Development. *CPT Pharmacometrics Syst. Pharmacol.* 8, 9-11.
- Maharaj, A.R., Edginton, A.N., 2014. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling and Simulation in Pediatric Drug Development. *CPT Pharmacometrics Syst. Pharmacol.* 3, e148.
- Martínez-Terán, M.E., Hoang-Thi, T.H., Flament, M.P., 2017. Multi-Particulate Dosage Forms for Pediatric Use. *Pediatr. Ther.* 7, 1-6.
- Mašić, I., Ilić, I., Dreu, R., Ibrić, S., Parojčić, J., Srčić, S., 2014. Melt granulation in fluidized bed: a comparative study of spray-on versus in situ procedure. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 40, 1, 23-32.
- Mason, L.R., Gunst, F.R., Hess, L.J., 2003. Designs and Analyses for Fitting Response Surfaces. In: Quigley, S. (Ed.), *Statistical Design and Analysis of Experiments: With Applications to Engineering and Science*, Second Edition. John Wiley & Sons, Inc., 568-613.
- Masters, K., 1979. In: Masters, K. (Ed.), *Spray Drying*. Leonard Hill Books, 702.
- Mentzer, D., 2014. Progress review of the European Paediatric Regulatory Framework after six years of implementation. *Int. J. Pharm.* 469, 240-243.
- Mesbah, A., Thomas, M., 2017. Preoperative Fasting in Children. *BJA Education*. 17, 346-350.

- Morin, C., Rosiaux, Y., 2018. High Shear Coating: A Versatile Taste-Masking Process. *On drug delivery*, 88, 10-13.
- Mörl, L., Heinrich, S., Peglow, M., 2007. Fluidized bed spray granulation. In: Salman, A.D., Hounslow, M.J., Seville, J.P.K. (Eds.), *Handbook of Powder Technology*, Volume 11. Elsevier Science, 21-188.
- Nacionalni registar lekova 2020. Agencija za lekove i medicinska sredstva Srbije, Beograd, 2020.
- Nassu, R.T., Gonçalves, L.A.G., 1999. Determination of melting point of vegetable oils and fats by differential scanning calorimetry (DSC) technique. *GRASAS ACEITES*. 50, 16-22.
- Nguyen, C.N., Christensen, J.M., Ayres, J.W., 2008. Formulation of Sustained-Release Verapamil HCl and Diltiazem HCl Semisolid Matrix Capsules. *Pharm. Dev. Technol.* 13, 115-125.
- Obach, R.S., Lombardo, F., Waters, N.J., 2008. Trend Analysis of a Database of Intravenous Pharmacokinetic Parameters in Humans for 670 Drug Compounds. *Drug Metab. Dispos.* 36, 1385-1405.
- Obiorah, B.A., 1978. Possible prediction of compression characteristics from pressure cycle plots. *Int. J. Pharm.* 1, 249-255.
- Osamura, T., Takeuchi, Y., Onodera, R., Kitamura, M., Takahashi, Y., Tahara, K., Takeuchi, H., 2016. Characterization of tableting properties measured with a multi-functional compaction instrument for several pharmaceutical excipients and actual tablet formulations. *Int. J. Pharm.* 510, 195-202.
- Osamura, T., Takeuchi, Y., Onodera, R., Kitamura, M., Takahashi, Y., Tahara, K., Takeuchi, H., 2018. Formulation design of granules prepared by wet granulation method using a multi-functional single-punch tablet press to avoid tableting failures. *Asian J. Pharm. Sci.* 13, 113-119.
- Oystar Hüttlin GmbH, 2004a. Process operating instructions, Rev. 01.
- Oystar Hüttlin GmbH, 2004b. Operating instructions Mycrolab, Rev. 01.
- Padsalgi, A., Bidkar, S., Jadhav, V. & Sheladiya, D., 2008. Sustained release tablet of theophylline by hot melt wax coating technology. *Asian J. Pharm.* 2, 26-29.
- Paixao, P., Gouveia, L.F., Morais, J.A.G., 2012. Prediction of the human oral bioavailability by using in vitro and in silico drug related parameters in a physiologically based absorption model. *Int. J. Pharm.* 429, 84-98.
- Paronen, P., Ilkka, J., 1996. Porosity-pressure functions. In: Alderborn, G., Nyström, C. (Eds.), *Pharmaceutical Powder Compaction Technology*. Marcel Dekker Inc., 55-75.
- Pepin, X.J.H., Parrott, N., Dressman, J., Delvadia, P., Mitra, A., Zhang, X., Babiskin, A., Kolhatkar, V., Suarez-Sharp, S., 2021. Current State and Future Expectations of Translational Modeling Strategies to Support Drug Product Development, Manufacturing Changes and Controls: A Workshop Summary Report. *J. Pharm. Sci.* 110, 555-566.
- Perucca, E., Richens, A., 1979. Paracetamol disposition in normal subjects and in patients treated with antiepileptic drugs. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 7, 201-206.

- Picker-Freyer, K.M., 2008. Tablet Production Systems. In: Gad, S.C. (Ed.), *Pharmaceutical Manufacturing Handbook: Production and Processes*, 1053-1098.
- Pitt, K.G., Heasley, M.G., 2013. Determination of the tensile strength of elongated tablets. *Powder Technol.* 238, 169-175.
- Pitt, K.G., Webber, R.J., Hill, K.A., Dey, D., Gamlen, M.J., 2015. Compression prediction accuracy from small scale compaction studies to production presses. *Powder Technol.* 270, 490-493.
- Pivette, P., Faivre, V., Brubach, J.B., Daste, G., Ollivon, M., Lesieur, S., 2014. Polymorphism of glyceryl behenates: from the individual compounds to the pharmaceutical excipient. *Chem. Phys. Lipids.* 183, 191-203.
- Poulin, P., Theil, F.P., 2002. Prediction of Pharmacokinetics Prior to In Vivo Studies. 1. Mechanism-Based Prediction of Volume of Distribution. *J. Pharm. Sci.* 91, 129-156.
- Prescott, L.F., 1980. Kinetics and metabolism of paracetamol and phenacetin. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 10, 291S-298S.
- Qu, L., Stewart, P.J., Hapgood, K.P., Lakio, S., Morton, D.A.V., Zhou, Q.T., 2017. Single-step Coprocessing of Cohesive Powder via Mechanical Dry Coating for Direct Tablet Compression. *J. Pharm. Sci.* 106, 159-167.
- Rawlins, M.D., Henderson, D.B., Hijab, A.R., 1977. Pharmacokinetics of paracetamol (acetaminophen) after intravenous and oral administration. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 11, 283-286.
- Rhodes, M., 2008. *Introduction to particle technology*, 2nd edition. Monash University, Australia: John Wiley & Sons Ltd.
- Romsing, J., Ostergaard, D., Senderovitz, T., Drozdzievicz, D., Sonne, J., Ravn, G., 2001. Pharmacokinetics of oral diclofenac and acetaminophen in children after surgery. *Paediatr. Anaesth.* 11, 205-213.
- Rosiaux, Y., Forest, A., Girard, J.M, Deleglise, C., Sheehan, L., Marchaud, D., 2018. High shear blending with glyceryl distearate provides individually coated drug particles for effective taste masking. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 48, 437-449.
- Rosiaux, Y., Jannin, V., Hughes, S., Marchaud, D., 2014. Solid lipid excipients - Matrix agents for sustained drug delivery. *J. Control. Release.* 188, 18-30.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Owen, S.C. (Eds.), 2006. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 5th edition. Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association.
- Rubinstein, M.H., 1988. Tablets. In: Aulton, M.E., Aulton, M.E. (Eds.), *Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design*. Churchill Livingstone, 304-321.
- Ruperto, N., Carozzino, L., Jamone, R., Freschi, F., Picollo, G., Zera, M., Della Casa Alberighi, O., Salvatori, E., Del Vecchio, A., Dionisio, P., Martini, A., 2011. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of paracetamol and ketoprofen lysine salt for pain control in children with pharyngotonsillitis cared by family pediatricians. *Ital. J. Pediatr.* 37, 48.

- Salar-Behzadi, S., Corzo, C., Schaden, L., Laggner, P., Zimmer, A., 2019. Correlation between the solid state of lipid coating and release profile of API from hot melt coated microcapsules. *Int. J. Pharm.* 565, 569-578.
- Sato, K., Kuroda, T., 1987. Kinetics of Melt Crystallization and Transformation of Tripalmitin Polymorphs. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 64, 124-127.
- Sato, K., Ueno, S., 2014. Physical properties of fats in food. In: Rajah, K.K. (Ed.), *Fats in food technology*. Wiley-Blackwell, 1-38.
- SimulationPlus, Inc., 2019. GastroPlus™ Manual, May 2019 – Version 9.7.
- Sinchaipanid, N., Junyaprasert, V., Mitrevej, A., 2004. Application of hot-melt coating for controlled release of propranolol hydrochloride pellets. *Powder Tech.* 141, 203-209.
- Smith, S., Collaku, A., Heaslip, L., Yue, Y., Starkey, Y., Clarke, G., Kronfeld, N., 2012. A new rapidly absorbed paediatric paracetamol suspension. A six-way crossover pharmacokinetic study comparing the rate and extent of paracetamol absorption from a new paracetamol suspension with two marketed paediatric formulations. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 38, 372-379.
- Souliman, S., Blanquet, S., Beyssac, E., Cardot, J.M., 2006. A level A in vitro/in vivo correlation in fasted and fed states using different methods: Applied to solid immediate release oral dosage form. *Eur. J. Pharm. Sci.* 27, 72-79.
- Statelova, M., Holm, R., Fotaki, N., Reppas, C., Vertzoni, M., 2020. Successful Extrapolation of Paracetamol Exposure from Adults to Infants After Oral Administration of a Pediatric Aqueous Suspension Is Highly Dependent on the Study Dosing Conditions. *AAPS J.* 22, 126.
- Stillhart, C., Vučićević, K., Augustijns, P., Basit, A.W., Batchelor, H., Flanagan, T.R., Gesquiere, I., Greupink, R., Keszthelyi, D., Koskinen, M., Madla, C.M., Matthys, C., Miljuš, G., Mooij, M.G., Parrott, N., Ungell, A.L., de Wildt, S.N., Orlu, M., Klein, S., Müllertz, A., 2020. Impact of gastrointestinal physiology on drug absorption in special populations—An UNGAP review *Eur. J. Pharm. Sci.* 147, 105280.
- Stillings, M., Havlik, I., Chetty, M., Clinton, C., Schall, R., Moodley, I., Muir, N., Little, S., 2000. Comparison of the pharmacokinetic profiles of soluble aspirin and solid paracetamol tablets in fed and fasted volunteers. *Curr. Med. Res. Opin.* 16, 115-124.
- Stocker, E., Becker, K., Hate, S., Hohl, R., Schiemenz, W., Sacher, S., Zimmer, A., Salar-Behzadi, S., 2017. Application of ICH Q9 Quality Risk Management Tools for Advanced Development of Hot Melt Coated Multiparticulate Systems. *J. Pharm. Sci.* 106, 278-290.
- Stoltenberg, I., Winzenburg, G.G., Breikreutz, J., 2011. Solid Oral Dosage Forms For Children – formulations, excipients and acceptance issues. *Eur. Ind. Pharm.* 8, 4-7.
- Strougo, A., Eissing, T., Yassen, A., Willmann, S., Danhof, M., Freijer, J., 2012. First dose in children: Physiological insights into pharmacokinetic scaling approaches and their implications in paediatric drug development. *J. Pharmacokinet. Pharmacodyn.* 39, 195-203.
- Sudke, S.G., Sakarkar, D.M., 2017. Design of Modified Release Multiunit Drug Delivery System for the Effective Treatment of Gastroesophageal Diseases using Hot-melt Coating. *Asian J. Pharm.* 11, S113-S120.

- Templeton, I.E., Jones, N.S., Musib, L., 2018. Pediatric Dose Selection and Utility of PBPK in Determining Dose. *AAPS J.* 20, 31.
- Thabet, Y., Klingmann, V., Breitreutz, J., 2018. Drug formulations: standards and novel strategies for drug administration in pediatrics. *J. Clin. Pharmacol.* 58, S26-S35.
- Trofimiuk, M., Wasilewska, K., Winnicka, K., 2019. How to Modify Drug Release in Paediatric Dosage Forms? Novel Technologies and Modern Approaches with Regard to Children's Population. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 3200.
- Tye, C.K., Sun, C.C., Amidon, G.E., 2005. Evaluation of the Effects of Tableting Speed on the Relationships between Compaction Pressure, Tablet Tensile Strength, and Tablet Solid Fraction. *J. Pharm. Sci.* 94, 465-472.
- van Riet-Nales, D.A., Schobben, A., Vromans, H., Egberts, T., Rademaker, C., 2016. Safe and effective pharmacotherapy in infants and preschool children: importance of formulation aspects. *Arch. Dis. Child.* 101, 662-669.
- Verscheijden, L.F.M., Koenderink, J.B., Johnson, T.N., de Wildt, S.N., Russel, F.G.M., 2020. Physiologically-based pharmacokinetic models for children: Starting to reach maturation? *Pharmacol. Ther.* 211, 107541.
- Villiger, A., Stillhart, C., Parrott, N., Kuentz, M., 2016. Using Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modelling to Gain Insights into the Effect of Physiological Factors on Oral Absorption in Paediatric Populations. *AAPS J.* 18, 933-947.
- Walsh, J., Cram, A., Woertz, K., Breitreutz, J., Winzenburg, G., Turner, R., Tuleu, C., 2014. Playing hide and seek with poorly tasting paediatric medicines: Do not forget the excipients. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 73, 14-33.
- Wang, J.J., Guillot, M.A., Bateman, S.D., Morris, K.R., 2004. Modelling of Adhesion in Tablet Compression. II. Compaction Studies Using a Compaction Simulator and an Instrumented Tablet Press. *J. Pharm. Sci.* 93, 407-417.
- Wang, Y., OTS/CDER/OMTP/FDA. PBPK Current Status and Challenges: A Regulatory Perspective. Development of Best Practices in Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling to Support Clinical Pharmacology Regulatory Decision-Making. Silver Spring, MD, November 18, 2019.
- Wankhade, R., Sakarkar, D.M., 2015. Application of Cow Ghee as an excipient in Hot – Melt Coating agent in controlled release rifampicin plus isoniazid capsule formulations. *Int. J. MediPharm Res.* 1, 19-26.
- Wong, P.C.H., Heng, P.W.S., Chan, L.W., 2016. Viscosity-temperature relationship of lipidbased excipients amenable spray congealing: derivation of a rheological parameter with good correlation to particle size. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 118, 1062-1073.
- Yu, L.X., Lipka, E., Crison, J.R., Amidon, G.L., 1996. Transport approaches to the biopharmaceutical design of oral drug delivery system: prediction of intestinal absorption, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 19, 359-376.

- Zajicek, A., Fossler, M.J., Barrett, J.S., Worthington, J.H., Ternik, R., Charkoftaki, G., Lum, S., Breikreutz, J., Baltezor, M., Macheras, P., Khan, M., Agharkar, S., MacLaren, D.D., 2013. A report from the pediatric formulations task force: perspectives on the state of child-friendly oral dosage forms. *AAPS J.* 15, 1072-1081.
- Zhang, Y., Huo, M., Zhou, J., Zou, A., Li, W., Yao, C., Xie, S., 2010. DDSolver: An Add-In Program for Modeling and Comparison of Drug Dissolution Profiles. *AAPS J.* 12, 263-271.
- Zuppa, A.F., Hammer, G.B., Barrett, J.S., Kenney, B.F., Kassir, N., Mouksassi, S., Royal, M.A., 2011. Safety and population pharmacokinetic analysis of intravenous acetaminophen in neonates, infants, children, and adolescents with pain or fever. *J. Pediatr. Pharmacol. Ther.* 16, 246-261.

7. PRILOZI

7.1. Spisak radova i saopštenja koji čine deo doktorske disertacije

Rad objavljen u vrhunskom međunarodnom časopisu (M21):

1. Milanovic, A., Aleksic, I., Ibric, S., Parojcic, J., Cvijic, S., 2020. Tableting of hot-melt coated paracetamol granules: Material tableting properties and quality characteristics of the obtained tablets. *Eur. J. Pharm. Sci.* 142, 105121.

Rad objavljen u istaknutom međunarodnom časopisu (M22):

1. Milanovic, A., Aleksic, I., Ibric, S., Parojcic, J., Cvijic, S., 2018. Hot-melt coating with Precirol ATO 5 in a fluidized-bed apparatus: Application of experimental design in the optimization of process parameters. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 46, 274-284.

Saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u izvodu (M34):

1. Milanović, A., Radoičić, M., Perović, M., Cvijić, S. Hot-melt coating in fluidized bed apparatus: method development and coating agent selection. 6th BBBB Conference on Pharmaceutical Sciences, 10-12. septembar 2015, Helsinki, Finska
2. Milanovic, A., Masic, I., Parojcic, J., Ibric, S., Cvijic, S. Hot-melt coating of paracetamol granules in a modified fluid bed system: Influence of process parameters on granules mechanical properties. 11th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology. 19-22. mart 2018, Granada, Španija
3. Milanović, A., Aleksić, I., Cvijić, S. Hot-melt coating of paracetamol granules in a modified fluid bed system: Influence of process parameters on drug release properties. EUFEPS Annual Meeting 2018. 24-26. maj 2018, Atina, Grčka
4. Milanović, A., Bujišić, M., Drezdić, K., Drobnjak, J., Aleksić, I., Cvijić, S. Characterization of tableting properties for hot melt coated granules. 12th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology and Regulatory Affairs. 20-22. septembar 2018, Segedin, Mađarska
5. Milanović, A., Bujišić, M., Cvijić, S. Pharmaceutical technical properties of tablets obtained from hot-melt coated granules. III Kongres farmaceuta Crne Gore sa međunarodnim učešćem. 09-12. maj 2019, Bečići, Crna Gora
6. Milanović, A., Cvijić, S. Paediatric PBPK modeling: Prediction of drug exposure following oral dosing of different paracetamol formulations in fasted and fed states. III. Symposium of Young Researchers on Pharmaceutical Technology, Biotechnology and Regulatory Science (online symposium). 20-22. januar 2021, Segedin, Mađarska

Saopštenja sa skupa nacionalnog značaja štampana u izvodu (M64):

1. Milanović, A., Bujišić, M., Drezdić, K., Drobnjak, J., Aleksić, I., Cvijić, S., 2018. Ispitivanje pogodnosti granulata obloženog topljenjem za komprimovanje u tablete definisane debljine. VII Kongres farmaceuta Srbije sa međunarodnim učešćem. 10-14. oktobar 2018, Beograd, Srbija. *Arh. farm.* 68, 346-347.

7.2. Biografija autora

Ana Milanović rođena je 18.02.1983. godine u Beogradu. Osnovnu školu „Radoje Domanović” završila je u Beogradu 1997. godine, a zatim i Zemunsku gimnaziju, prirodno-matematički smer, 2001. godine, sa dodeljenom diplomom „Vuk Karadžić”. Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu, profil diplomirani farmaceut, upisala je školske 2001/2002. godine, a diplomirala 28.12.2006. godine sa opštim uspehom 9,13 u toku studija i ocenom 10 na diplomskom ispitu.

Pripravnički staž obavila je u Apoteci „Beograd” u toku 2007/2008. godine, a stručni ispit za diplomiranog farmaceuta položila je marta 2008. godine. Od aprila 2008. godine zaposlena je u Agenciji za lekove i medicinska sredstva i to u Nacionalnoj kontrolnoj laboratoriji do januara 2010. godine, a od marta 2010. godine u Sektoru za medicinska sredstva.

Doktorske akademske studije iz farmaceutske tehnologije na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu upisala je školske 2013/2014. godine. Kao student doktorskih studija, oktobra 2018. godine pohađala je kurs u organizaciji UNGAP COST akcije CA16205 pod nazivom „*The fundamentals of formulating with functional lipid excipients for modulating drug release, increasing solubility and enhancing bioavailability*”.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора: Ана Милановић

Број индекса: 15/13

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом


Оптимизација поступка облагања топљењем у уређају типа флуидизирајућег система:

израда и карактеризација гранула са модификованим ослобађањем парацетамола

- 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.

У Београду, 29.04.2021.

Потпис аутора



Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора: Ана Милановић

Број индекса: 15/13

Студијски програм: Фармацеутска технологија

Наслов рада: Оптимизација поступка облагања топљењем у уређају типа флуидизирајућег система: израда и карактеризација гранула са модификованим ослобађањем парацетамола

Ментор: Др сц. Сандра Цвијић, ванредни професор

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања 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.

У Београду, 29.04.2021.

Потпис аутора



Изјава о коришћењу

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

Оптимизација поступка облагања топљењем у уређају типа флуидизирајућег система:

израда и карактеризација гранула са модификованим ослобађањем парацетамола

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).

У Београду, 29. 04. 2021.

Потпис аутора



1. **Ауторство.** Дозвољаваате 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.** Дозвољаваате 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.** Дозвољаваате 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.** Дозвољаваате 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.** Дозвољаваате 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.** Дозвољаваате 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.