

# Utjecaj ulazne temperature na svojstva mikrosfera s donepezilom pripremljenih sušenjem raspršivanjem

---

Dvorski, Tea

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:305593>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-20**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



**Tea Dvorski**

**Utjecaj ulazne temperature na svojstva  
mikrosfera s donepezilom pripremljenih sušenjem  
raspršivanjem**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2022.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Farmaceutika Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za farmaceutsku tehnologiju pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Anite Hafner. Ovaj rad sufinancirala je Hrvatska zaklada za znanost projektom UIP-2017-05-4592.

*Zahvaljujem mentorici, prof. dr. sc. Aniti Hafner na pruženoj prilici, stručnom vodstvu, prenesenom znanju i pomoći prilikom izrade ovog diplomskog rada.*

*Hvala asistenciji Mirni Perkušić, mag. pharm. na prijateljskom pristupu, savjetima i pomoći prilikom izvođenja eksperimentalnog dijela rada. Hvala i ostalim djelatnicima Zavoda za farmaceutsku tehnologiju.*

*Također, hvala mojoj obitelji i prijateljima na pruženoj podršci tijekom cjelokupnog studiranja.*

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1 Proces sušenja raspršivanjem .....	1
1.2 Formulacijski parametri.....	2
1.3 Procesni parametri .....	6
1.3.1 Atomizacija.....	6
1.3.2 Otvoreni i zatvoreni ciklus.....	7
1.3.3 Smjer strujanja plinovitog medija za sušenje.....	7
1.3.4 Ostali procesni parametri .....	8
1.4 Kritični atributi kvalitete suhog praškastog produkta za nazalnu primjenu .....	10
1.5 Terapijski sustavi za nazalnu primjenu pripremljeni sušenjem raspršivanjem .....	11
2. OBRAZLOŽENJE TEME .....	14
3. MATERIJALI I METODE .....	16
3.1 Materijali .....	16
3.2 Metode .....	16
3.2.1 Priprema otopine za sušenje raspršivanjem .....	16
3.2.2 Priprava mikrosfera s donepezilom metodom sušenja raspršivanjem .....	16
3.2.3 Izračun iskorištenja .....	17
3.2.4 Određivanje uspješnosti uklapanja i sadržaja donepezila u mikrosferama.....	17
3.2.5 Određivanje raspodjele veličina čestica.....	19
3.2.6 Ispitivanje reoloških svojstava mikrosfera s donepezilom .....	19
3.2.7 Određivanje kuta raspršenja.....	19
3.2.8 Određivanje ostatka u kapsuli.....	20
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	21
4.1 Iskorištenje procesa pripreme mikrosfera s donepezilom metodom sušenja raspršivanjem .....	21
4.2 Uspješnost uklapanja i sadržaj donepezila u mikrosferama .....	22
4.3 Veličina mikrosfera s donepezilom .....	24
4.4 Reološka svojstva mikrosfera s donepezilom.....	25
4.5 Kut raspršenja mikrosfera s donepezilom .....	26
4.6 Ostatak mikrosfera s donepezilom u kapsuli.....	28
5. ZAKLJUČCI .....	29
6. POPIS KRATICA, OZNAKA I SIMBOLA .....	30
7. LITERATURA.....	32

8. SAŽETAK/SUMMARY .....	39
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/BASIC DOCUMENTATION CARD	

## 1. UVOD

### 1.1 Proces sušenja raspršivanjem

Sušenje raspršivanjem proces je prevođenja tekućeg sustava (otopina, emulzija i suspenzija) u suhi praškasti produkt (Ziaee i sur., 2019). Uzorak se pomoću peristaltičke pumpe dovodi do sapnice gdje se atomizira. Raspršene kapljice dolaze u kontakt sa zagrijanim plinovitim medijem za sušenje koji je najčešće zrak, otapalo isparava i formiraju se suhe čestice praškastog produkta. Produkt se izolira iz struje plinovitog medija za sušenje u ciklonu i skuplja u za to predviđenu posudu (Cal i Sollohub, 2009).

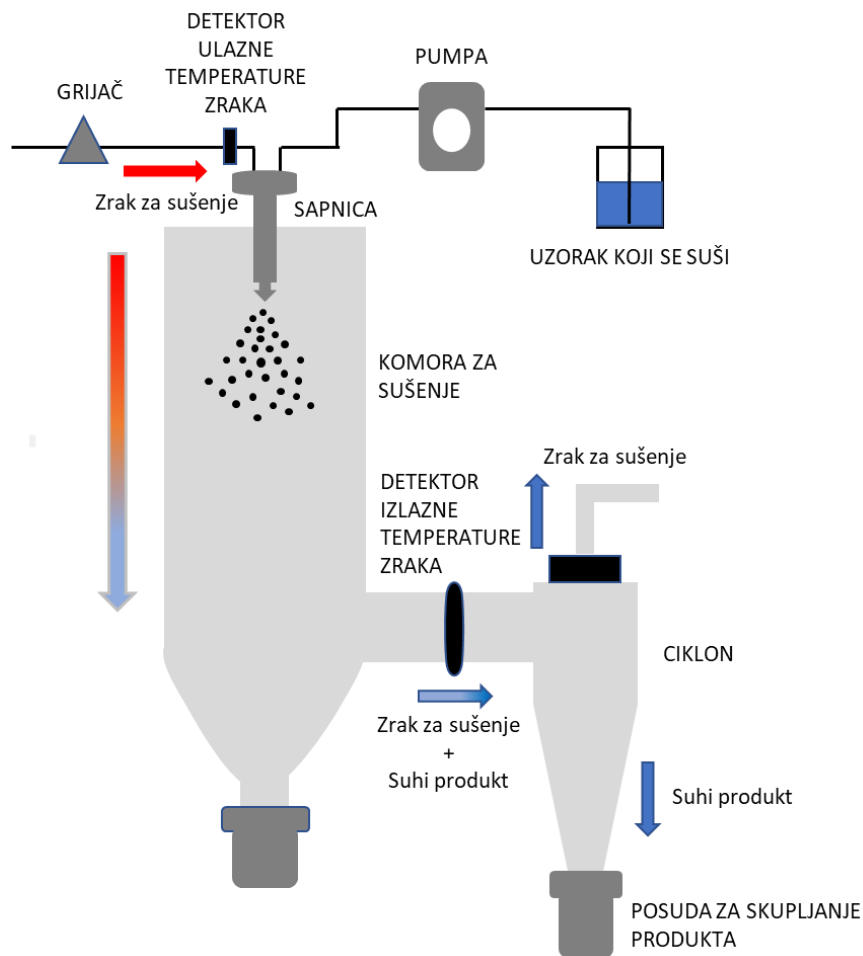
Dijelovi uređaja kroz koje zrak tijekom tog procesa prolazi i koji utječu na gibanje zraka su sljedeći ([www.buchi.com](http://www.buchi.com)):

1. otvor za uzimanje zraka
2. grijač zraka
3. senzor temperature ulaznog zraka
4. otvor za ulaz zagrijanog zraka u komoru za sušenje
5. komora za sušenje
6. senzor temperature izlaznog zraka
7. ciklon u kojem se produkt odvaja od struje zraka za sušenje
8. aspirator

Proces sušenja raspršivanjem shematski je prikazan na Slici 1.

Sušenje raspršivanjem je brz, reproducibilan i kontinuirani proces pripreve suhog produkta, jednostavnog uvećanja mjerila. Također, pruža mogućnost sušenja termolabilnih tvari. Razlog tome su kratko vrijeme doticaja kapljica/čestica sa zagrijanim plinom za sušenje i isparavanje otapala zbog kojeg njihova temperatura ne dostiže vrijednosti temperature kojoj su izložene. Nadalje, sušenje raspršivanjem omogućuje uklapanje lijekova unutar nosača različite veličine i strukture, poput polimernih nanočestica i mikročestica ili nanokompozita. Uklapanje štiti lijek od vanjskih čimbenika i može pridonijeti većoj bioraspoloživosti. Nedostatak sušenja raspršivanjem je ovisnost prinosa o količini produkta. U laboratorijskom mjerilu prinos je obično manji jer je količina uzorka nad kojim se provodi sušenje raspršivanjem manja te se znatnije osjeti gubitak zbog zaostajanja produkta na stijenkama komore za sušenje. Do izražaja dolazi i gubitak produkta zbog neučinkovitog odvajanja suhih čestica manjih od 2  $\mu\text{m}$  od izlaznog zraka, vrtloženjem u ciklonu.

Optimizacijom procesnih i formulacijskih parametara moguće je pripremiti praškasti produkt željene veličine čestica, oblika, površinskih svojstava i brzine otapanja. Posljedično tome, sušenje raspršivanjem vrlo je raširena metoda za dobivanje suhog produkta te se najviše koristi u farmaceutskoj, biokemijskoj i prehrambenoj industriji. No, optimizacija formulacijskih i procesnih parametara vrlo je kompleksna i zahtjeva značajnu količinu preliminarnih ispitivanja i utrošenog vremena (Ziaee i sur., 2019; Sosnik i Serementa, 2015).



**Slika 1.** Shematski prikaz sušenja raspršivanjem

## 1.2 Formulacijski parametri

Kvalitativni i kvantitativni sastav otopine za sušenje utječe na svojstva konačnog produkta kao što su prinos, uspješnost uklapanja, veličina čestica, morfologija, vlažnost i reološka svojstva (Henriques i sur., 2022).

Glavne sastavnice otopine za sušenje su djelatna tvar, otapalo i pomoćne tvari (Ziaee i sur., 2019). Otapalo se odabire s obzirom na topljivost lijeka i pomoćnih tvari. Voda je prvi izbor

kad god je to moguće. Netoksična je, ekološki prihvatljiva, jeftina i ne zahtjeva upotrebu inertnih plinova prilikom sušenja raspršivanjem. Osim vode upotrebljavaju se različita organska otapala kao što su metanol, etanol, izopropanol, aceton, diklormetan, tetrahidrofuran i etil acetat. Nedostatak organskih otapala je potencijalno zaostajanje u konačnom produktu; teško se uklanjaju i zaostale količine često prelaze dopuštene ICH (engl. *International Conference on Harmonization*) vrijednosti. Zbog slabe topljivosti djelatnih i pomoćnih tvari u upotrebi su često mješavine različitih otapala (Miller i sur., 2016; Singh i Mooter, 2016).

Zhang i suradnici (2020) istraživali su utjecaj omjera acetona i vode u smjesi otapala, na svojstva mikrosfera s enzalutamidom pripremljenih metodom sušenja raspršivanjem. Korištene su smjese acetona i vode u volumnim omjerima 10:0, 9:1, 8:2 i 7:3. Utvrđeno je da dodatak vode u otopinu za sušenje poboljšava miješanje enzalutamida s polimerom i održava enzalutamid u amorfnom obliku nakon procesa sušenja. Mikrosfere pripravljene iz čistog acetona kao otapala sferičnog su oblika, dok je prisutnost vode u otopini uzrokovala konkavan oblik i naboranu površinu čestica (Zhang i sur., 2020).

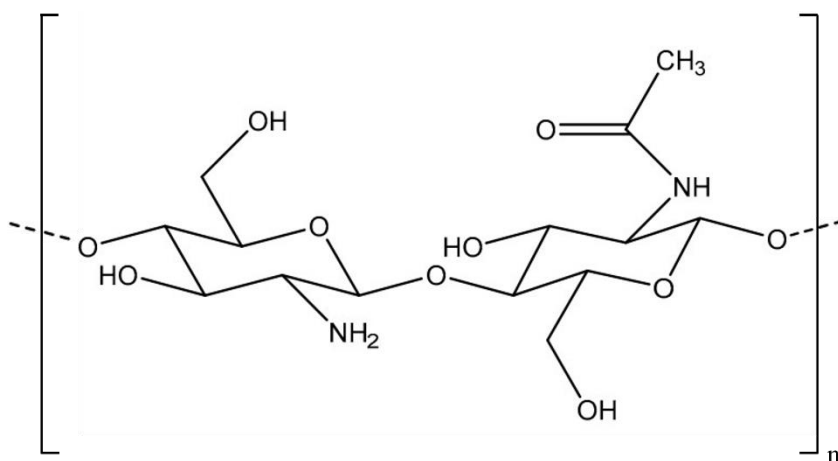
Ji i suradnici (2016) proučavali su utjecaj omjera etanola i vode na fizikalno-kemijska svojstva čestica lizozima pripremljenih metodom sušenja raspršivanjem. Povećanje udjela etanola u otopini za sušenje rezultiralo je smanjenjem prinosa. Sušenjem uzroka u kojem je korištena čista voda proizvedene su sferične, rupičaste čestice, dok su povećanjem udjela etanola proizvedene presavijene čestice naborane površine. Kao mogući uzroci spomenute morfologije navedeni su brže sušenje uzorka koji sadrži etanol (etanol isparava brže od vode) i manja topljivost lizozima u etanolu u usporedbi s vodom što rezultira ranijom precipitacijom (Ji i sur., 2016).

Važan parametar u pripremi mikrosfera sušenjem raspršivanjem odabir je odgovarajućeg polimera za uklapanje lijeka i njegov udio u sušenom uzorku (Singh i Mooter, 2016). Prirodni polimeri koji se često koriste u izradi mikrosfera su derivati celuloze, alginat i kitozan. Također, koriste se polimeri metakrilata, polikaprolaktona (PCL, engl. *polycaprolactone*), polilaktične (PLA, engl. *polylactic acid*) i poliglikolne kiseline (PGA, engl. *polyglycolic acid*) te njihovi kopolimeri (Bowey i Neufeld, 2010).

Kitozan je biorazgradljiv, biokompatibilan i netoksičan što ga čini dobrim izborom u formuliranju pripravaka za nazalnu primjenu (Akbarbaglu i sur., 2021). Kationski je polisaharid koji se sastoji od ponavljajućih jedinica N-acetil-D-glukozamina i D-glukozamina povezanih (1,4)- $\beta$ -glikozidnom vezom (Slika 2.) (Guerini i sur., 2022). Dobiva se izolacijom hitina te



njegovom djelomičnom deacetilacijom. Stupanj deacetilacije i molekulska masa određuju fizikalno-kemijska svojstva kao što su topljivost, molekulska konformacija i kemijske interakcije s ostalim komponentama sustava (Casettari i Illum, 2014). Sun i suradnici (2009) istraživali su utjecaj molekulske mase kitozana na svojstva mikrosfera metotreksata. Korišten je niskomolekularni (40 kDa), srednjemolekularni (480 kDa) i visokomolekularni (850 kDa) kitozan. Povećanje molekulske mase kitozana rezultiralo je povećanjem veličine mikrosfera i smanjenjem nasipne gustoće. Povećanje molekulske mase također rezultira većim produljenjem oslobađanja lijeka što može biti rezultat veće sposobnosti bubrenja i manje poroznosti trodimenzionalne strukture formiranog gela. Za očekivati je da će mukoadhezivnost biti najveća kod mikrosfera koje sadrže visokomolekularni kitozan. Međutim, najveća mukoadhezivnost zabilježena je kod mikrosfera koje sadrže srednjemolekularni kitozan. Naime, s porastom molekulske mase kitozana raste i mogućnost zaplitanja polimernog lanca. Zaplitanjem se smanjuje broj dostupnih amino skupina koje se mogu vezati za mucine te je posljedično mukoadhezivnost manja (Sun i sur., 2009). Odabir i udio polimera u uzorku može utjecati na vlažnost konačnog produkta. Nižić Nodilo i suradnici (2021) zapazili su da ostatna vlažnost mikrosfera s deksametazonom građenih od hipromeloze i pektina ovisi o omjeru polimernih sastavnica, odnosno raste s porastom udjela pektina u sastavu mikrosfera. To se može objasniti većom higroskopnošću pektina u odnosu na hipromelozu (Nižić Nodilo i sur., 2021).



**Slika 2.** Struktura kitozana. Nacrtano pomoću programa Marvin JS, ChemAxon.

Osim polimera, u izradi otopine/suspencije za sušenje raspršivanjem mogu se koristiti i druge pomoćne tvari. Neke od njih koje se često primjenjuju su manitol, laktoza i trehaloza.

Russo i suradnici (2006) ispitivali su utjecaj različitih pomoćnih tvari na svojstva praškastog produkta s uklopljenim morfinom, dobivenog sušenjem raspršivanjem. U praškastom produktu koji je sadržavao laktozu ili trehalozu pronađen je manji broj aglomeriranih čestica nego u produktu koji je sadržavao manitol. Posljedično tome veličina čestica u praškastom produktu s manitolom bila je veća. Čestice koje su sadržavale laktozu bile su najmanje. Uzorci koji su sadržavali  $\beta$ -ciklodesktrin ili trehalozu nisu zadovoljili test stabilnosti (Russo i sur., 2006).

Perkušić i suradnici (2021) utvrdili su da mikrosfere s donepezilom koje sadrže manitol imaju bolja svojstva tečenja te da su prikladnija za nazalnu primjenu od mikrosfera s donepezilom koje sadrže laktozu (Perkušić i sur., 2021).

Sachetti i suradnici (2002) su sušenjem raspršivanjem čistog kofeina proizveli čestice igličastog oblika. Dodatkom manitola i povećanjem koncentracije manitola u otopini za sušenje čestice su poprimile sferičniji oblik i smanjena je aglomeracija. Upotrebom polimera hidroksipropilmetil celuloze (HPMC) postignut je gotovo sferični oblik mikrosfera. S druge strane dodatak polietilenglikola (PEG 6000) rezultirao je povećanom aglomeracijom čestica i tendencijom lijepljenja produkta za stijenke komore za sušenje, odnosno znatnim smanjenjem prinosa (Sachetti i sur., 2002).

Povećanjem udjela otopljenih tvari u sušenom uzorku povećava se veličina čestica (Miller i sur., 2016). Jedan od razloga je veći sadržaj otopljene tvari u manjem sadržaju otapala koje lakše ispari iz aerosoliziranih kapljica. Drugi razlog je moguće povećanje viskoznosti otopine za sušenje (posebice ako je u pitanju otopina polimera) i formacije većih kapljica prilikom atomizacije (Nagda i sur., 2012; Henriques i sur., 2022). Spomenutu uzročno-posljedičnu vezu između viskoznosti otopine i veličine čestica također su uočili Turan i Kahyaoglu (2020) kod mikrosfera pripremljenih iz ekstrakta borovnice (Turan i Kahyaoglu, 2020). Nagda i suradnici (2012) ispitivali su utjecaj vrste i udjela različitih polimera na svojstva mikrosfera s ketorolakom. Kao polimeri korišteni su karbopol, polikarbofil i kitozan. Povećanje udjela polimera u sušenom uzorku rezultiralo je povećanjem veličine čestica. Kod karbopolskih i kitozanskih mikrosfera značajno je povećan prinos, dok je kod polikarbofilnih mikrosfera primijećeno blago smanjenje prinosa (Nagda i sur., 2012). Trend povećanja prinosa s povećanjem udjela različitih polimera zapažen je i kod pripreme mikrosfera s propranololom (Harikarnpakdee i sur., 2006).

## 1.3 Procesni parametri

### 1.3.1 Atomizacija

Atomizacija je proces u kojem se tekući sustav raspršuje u fine kapljice u plinovitom mediju za sušenje (Aundhia i sur., 2011). Za atomizaciju se koriste rotacijski atomizatori, hidraulične (tlačne), pneumatske i ultrazvučne sapnice (Singh i Mooter, 2016). U laboratorijskom mjerilu u primjeni su najčešće bifluidna sapnica koja se ubraja u pneumatski tip raspršivača i ultrazvučna sapnica (Henriques i sur., 2022). Odabir atomizatora utječe na svojstva konačnog produkta, prvenstveno na morfologiju i veličinu čestica (Ziaee i sur., 2019).

Kod bifluidne sapnice atomizacija proizlazi iz trenja koje se javlja prilikom doticaja uzorka s komprimiranim zrakom (Cal i Sollohub, 2009). Prikladna je za proizvodnju sitnih čestica veličine 1 – 30  $\mu\text{m}$  (Henriques i sur., 2022), prema nekim izvorima 10 – 100  $\mu\text{m}$  (Ziaee i sur., 2019). Na veličinu čestica u najvećoj mjeri utječe tlak na sapnici i protok uzorka (Ziaee i sur., 2019). Pogodna je za sušenje visokoviskoznih uzoraka te je najučinkovitiji odabir za sušenje uzorka s ciljem proizvodnje vrlo sitnih čestica (Aundhia i sur., 2011). Nedostatak je relativno često začepljenje sapnice. Djelomično rješenje je postavljanje igle unutar sapnice koja se pomiče pod utjecajem komprimiranog zraka, no time se ujedno smanjuje i prostor za prolazak uzorka za sušenje što predstavlja nedostatak opisanog pristupa (Cal i Sollohub, 2009).

Ultrazvučna sapnica radi na principu pretvorbe zvučnih valova visoke frekvencije u mehaničku energiju koja se prenosi na uzorak što rezultira nastankom stojnih valova i atomizacijom uzorka ([www.sono-tek.com](http://www.sono-tek.com)). Veličina proizvedenih kapljica nešto je veća nego kod bifluidne sapnice te se kreće u rasponu 5 – 1000  $\mu\text{m}$ . Veličina ovisi o primijenjenoj frekvenciji – veća frekvencija rezultirat će manjim kapljicama i posljedično manjim suhim česticama. Prednost korištenja ultrazvučne sapnice je mogućnost pripreme čestica većeg promjera i/ili užeg raspona raspodjele veličine. Također, kapljice raspršene ultrazvučnom sapnicom imaju manju brzinu zbog čega se dulje zadržavaju u komori za sušenje što rezultira manjim udjelom vlage u konačnom produktu. Ultrazvučna sapnica je manje sklona začepljenju te ima mogućnost samočišćenja što uvelike olakšava samu izvedbu sušenja (Henriques i sur., 2022; Ziaee i sur., 2019). Turan i suradnici (2016) proveli su istraživanje utjecaja tipa sapnice korištene za raspršivanje uzorka pri pripravi mikrosfera ekstrakta borovnice. Ispitivanjima je utvrđeno da mikrosfere pripravljene korištenjem ultrazvučne sapnice bolje zadržavaju svoja fizičko-kemijska svojstva (antioksidativni učinak, sadržaj fenola i sadržaj antocijana) u usporedbi s mikrosferama pripremljenim uz korištenje konvencionalnih sapnica. Uklapanje ekstrakta borovnice je također bilo učinkovitije te su čestice bila uniformne, glatke površine i uske raspodjele veličina (Turan

i sur., 2016). Ruphuy i suradnici (2020) istraživali su uklapanje kurkumina i ibuprofena u mikrosfere koristeći glukan kvasca kao polimer. Ultrazvučnom sapnicom proizvedene su veće kapljice raspršenog uzorka u usporedbi s bifluidnom sapnicom, što je u konačnici rezultiralo učinkovitijim uklapanjem kurkumina i ibuprofena u mikrosfere. Osim ultrazvučne sapnice uklapanju je pridonio i veći udio suhe tvari u sušenom uzorku (Ruphuy i sur., 2020).

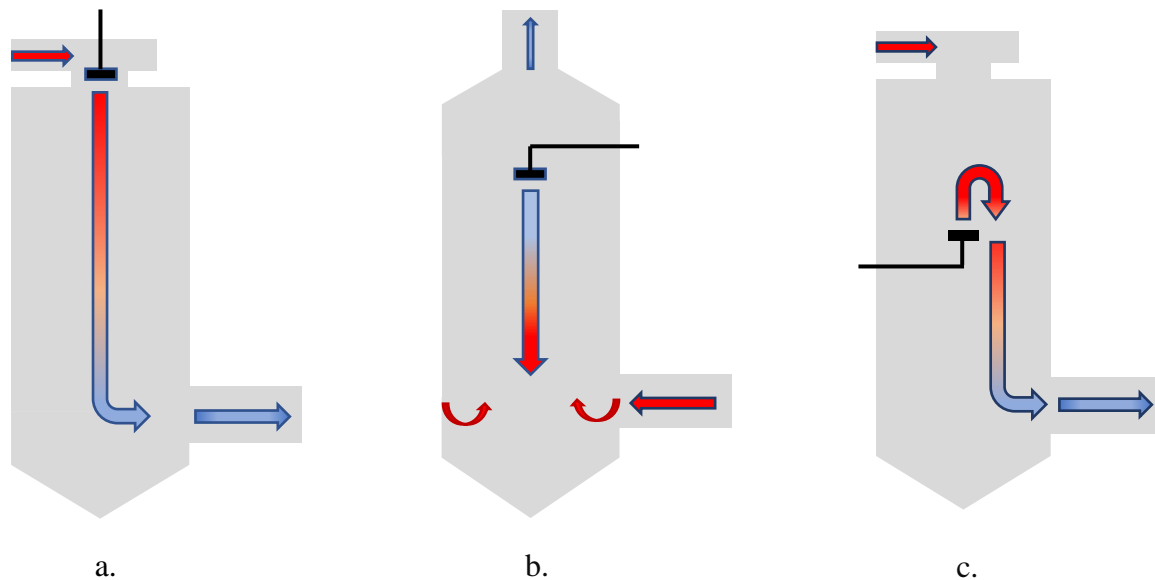
### **1.3.2 Otvoreni i zatvoreni ciklus**

Sušenje raspršivanjem može se provoditi u otvorenom ili zatvorenom ciklusu. U otvorenom ciklusu kao medij za sušenje najčešće se primjenjuje zrak koji se nakon prolaska kroz komoru za sušenje vraća u atmosferu. Kod zatvorenog ciklusa sušenja koriste se inertni plinovi (u većini slučajeva dušik) te se plin za sušenje reciklira i ponovno koristi. Zatvoreni ciklus primjenjuje se kad se želi izbjeći kontakt s kisikom, bilo zbog zapaljivih otapala u sustavu ili komponenata podložnih oksidaciji. Zatvoreni ciklus smanjuje rizik eksplozije zbog izloženosti visokim temperaturama i sprječava izlaganje atmosfere organskim otapalima te potencijalnim toksičnim produktima. Korištenjem zatvorenog ciklusa organska otapala mogu se uz primjenu kondenzora ukapljiti i ponovno koristiti što pridonosi ekonomičnosti (Ziaee i sur., 2019).

### **1.3.3 Smjer strujanja plinovitog medija za sušenje**

Uzimajući u obzir smjer strujanja zraka za sušenje i tekućeg sustava nad kojim se provodi sušenje, postoje tri načina izvedbe: istosmjerni (engl. *co-current*), protusmjerni (engl. *counter-current*) i kombinacija istosmjernog i protusmjernog načina (engl. *combined*). Najčešće se primjenjuje istosmjerni način sušenja. Ulaz plina za sušenje i sapnica nalaze se u gornjem dijelu komore za sušenje te se plin i tekući sustav nad kojim se provodi sušenje gibaju u istom smjeru. Raspršene kapljice dolaze u kontakt sa zagrijanim plinom kad sadrži najveću količinu vlage. Strujanjem raspršenih kapljica i medija za sušenje prema donjem dijelu komore, otapalo iz raspršenih kapljica isparava, a plinoviti medij se hladi zbog čega je konačan produkt u doticaju s plinom kad je on najhladniji. Takav način sušenja pogoduje sušenju termolabilnih tvari. Kod protusmjernog načina plinoviti medij i raspršene kapljice gibaju se u suprotnom smjeru – plin se uvodi u komoru za sušenje s donje strane, a tekući sustav raspršuje se odozgo. Produkt je u konačnici izložen višim temperaturama, ali je toplina efikasnije iskorištena. Kod kombiniranog načina sapnica je smještena u središtu komore za sušenje. Tekući sustav se ovisno o termičkoj stabilnosti raspršuje prema gore (termostabilni sustav) ili prema dolje (termolabilni sustav).

Plinoviti medij se uvodi iz gornjeg dijela komore za sušenje i giba se prema dolje. Shematski prikazi različitih izvedbi prikazani su na Slici 3. (Cal i Sollohub, 2009).



**Slika 3.** Shematski prikazi a. istosmjernog (engl. *co-current*), b. protusmjernog (engl. *counter-current*) i c. kombiniranog (engl. *combined*) načina sušenja raspršivanjem. Izrađeno pomoću PowerPoint programa i prilagođeno prema Cal i Sollohub, (2009).

### 1.3.4 Ostali procesni parametri

Procesni parametri kao što su rad aspiratora, vlažnost medija za sušenje, ulazna i izlazna temperatura, brzina protoka medija za sušenje, brzina dovođenja tekućeg sustava i koncentracija suhe tvari u tekućem sustavu u kompleksnom su međuodnosu. Njihov utjecaj na svojstva konačnog produkta međusobno je isprepleten te ponekad nije moguće zasebno promatrati dva određena parametra, a da se u obzir ne uzmu preostali. Usprkos spomenutom, utvrđene su određene uzročno-posljedične veze (Singh i Mooter, 2016).

Veća ulazna temperatura rezultira manjim sadržajem vlage u konačnom produktu. Povećani rad aspiratora rezultira većom izlaznom temperaturom te boljom separacijom čestica u ciklonu i posljedično većim prinosom (Nižić i sur., 2018). Međutim, tekući sustav nad kojim se provodi sušenje kraće se zadržava u komori za sušenje, stoga će konačni produkt biti vlažniji ([www.buchi.com](http://www.buchi.com)). Povećanjem rada pumpe (brzine dotoka uzorka) smanjuje se izlazna temperatura zbog većeg isparavanja otapala. To može rezultirati smanjenjem prinosa zbog nedovoljno dobro osušenih čestica i njihovog prianjanja za stijenke komore za sušenje (Nižić i

sur., 2018). Ako se ulazna temperatura i rad aspiratora održavaju konstantnim, a rad pumpe se smanji, konačni produkt sadržavat će manje vlage ([www.buchi.com](http://www.buchi.com)). Ostali utjecaji procesnih parametara prikazani su u Tablici 1.

**Tablica 1.** Utjecaj formulacijskih i procesnih parametara na izlaznu temperaturu i svojstva produkta sušenja raspršivanjem ([www.buchi.com](http://www.buchi.com))

Parametar	Rad aspiratora ↑	Vlažnost zraka ↑	Ulazna temperatura ↑	Protok komprimiranog zraka ↑	Dovod tekućeg sustava za sušenje ↑	Koncentracija suhe tvari ↑	Organsko otapalo umjesto vode ↑
Izlazna temperatura	↑↑ manji gubitak topline	↑	↑↑↑	↓ više hladnog zraka je potrebno zagrijati	↓↓ više otapala isparava	↑↑ manje otapala za isparavanje	↑↑↑ hlapljivije
Veličina čestica	/	/	/	↓↓↓ veća energija atomizacije	(↑) veća količina tekućeg sustava za raspršivanje	↑↑↑ više suhe tvari dostupno za formiranje čestica	(↓) manja površinska napetost
Vlažnost konačnog produkta	↑↑ kraće vrijeme zadržavanja sušenog tekućeg sustava u komori za sušenje	↑↑ viši parcijalni tlak zraka	↓↓ manja relativna vlažnost u zraku	/	↑↑ povećan sadržaj vlage u zraku – veći parcijalni tlak	↓ manje otapala za isparavanje – manji parcijalni tlak	↓↓↓ nema vode
Prinos	↑↑ učinkovitije odvajanje u ciklonu	(↓) prijanjanje za stjenke komore za sušenje zbog povećane vlažnosti	(↑) suši produkt i manje prijanjanje za stjenke komore za sušenje	/	(↑↓)	↑ učinkovitije razdvajanje većih čestica u ciklonu	↑↑ manje higroskopsnosti – olakšano sušenje

#### 1.4 Kritični atributi kvalitete suhog praškastog produkta za nazalnu primjenu

Nazalni put primjene lijekova sve se više istražuje (Wang i sur., 2019). Razlog tome je minimalna invazivnost, zaobilazak prvog prolaska kroz jetru i krvno-moždane barijere te povećanje bioraspoloživosti nazalno primijenjenog lijeka u odnosu na konvencionalne načine sistemske primjene lijekova (Fortuna i sur., 2022; Pires i sur., 2009). Bez obzira na navedeno, i dalje su prisutne određene prepreke koje je potrebno savladati kako bi se ostvarila odgovarajuća primjena i učinak. Forbes i suradnici (2020) potiču istraživanje optimizacije nazalne primjene lijekova i utvrđivanje kritičnih atributa kvalitete (Forbes i sur., 2020). Kritični atribut kvalitete (CQA, engl. *critical quality attributes*) može se definirati kao fizičko, kemijsko, biološko ili mikrobiološko svojstvo koje mora biti unutar određenih granica, raspona ili raspodjele kako bi se održala željena kvaliteta proizvoda (EMA, 2011). Neka od njih navedena su u nastavku.

Nazalna primjena lijekova ograničena je volumenom nosne šupljine koji je malen i iznosi oko 25 cm<sup>3</sup> (Agrawal i sur., 2018). Shodno tome, najveća količina praška koja se može primijeniti u nosnu šupljinu iznosi 10 – 25 mg po nosnici (Tiozzo Fasiolo i sur., 2018). Veličina čestica također je važno svojstvo. Kako bi se osiguralo odlaganje lijeka u nosnoj šupljini Europska agencija za lijekove i medicinske proizvode (engl. *European Medicines Agency*, EMA) navodi da glavnina aerosoliziranih čestica mora biti veća od 10 µm (EMA 2006). Čestice manje od navedene granice mogle bi dospjeti u pluća i izazvati neželjene učinke (Rathananand i sur., 2007). Tiozzo Fasiolo i suradnici (2018) navode da je optimalna veličina čestica 10 – 45 µm. Veličina od 45 µm navedena je kao gornja granica jer nosna valvula i donja nosna školjka mogu spriječiti prodor većih čestica u distalne dijelove nosne šupljine (Henriques i sur., 2022; Tiozzo Fasiolo i sur., 2018). Kako bi se izbjegla iritacija nosne sluznice, pH vrijednost formulacije treba biti jednaka pH vrijednosti nazalne sluznice koja iznosi 5 – 6,5. Lijek će ovisno o svojoj pK<sub>a</sub> vrijednosti biti u ioniziranom ili neioniziranom obliku što može utjecati na apsorpciju. Neionizirani lijek lakše se apsorbira (Schwarz i Merkel, 2019; Pires i sur., 2009).

Morfologija čestica može imati utjecaj na svojstva tečenja praškastog produkta. Između čestica glatke površine postoji veća dodirna površina čime do izražaja dolaze adhezijske sile. Jače adhezijske sile povezane su s aglomeracijom čestica i slabijim svojstvima tečenja. U slučaju naboranih čestica dodirna površina je manja što rezultira slabijom adhezijom. Međutim, kod čestica nepravilne površine zabilježeno je međusobno zapinjanje koje za posljedicu ima slabija svojstva tečenja (Henriques i sur., 2022; Walton i Mumford, 1999).

Ostali parametri koji utječu na apsorpciju nazalno primijenjenog lijeka su mukocilijarni klirens koji može smanjiti vrijeme zadržavanja lijeka na sluznici, slaba permeabilnost lijeka i enzimska degradacija (Agrawal i sur., 2018). Kod normalne mukocilijarne funkcije potrebno je 12 – 15 minuta da se nosna sluznica očisti od stranih tvari (Forbes i sur., 2020). Za povećanje mukoadhezivnosti dodaju se pomoćne tvari kao što su kitozan, želatina, škrob te različiti derivati celuloze (Tiozzo Fasiolo i sur., 2018). Mukoadhezivno svojstvo kitozana zasniva se na činjenici da su pri pH vrijednosti nižoj od 6,5 amino skupine kitozana pozitivno nabijene te kao takve stupaju u elektrostatsku interakciju s negativno nabijenim komponentama mucina. Djelomičnu ulogu u mukoadhezivnosti imaju vodikove veze i hidrofobne interakcije (Guerini i sur., 2022; Sogias i sur., 2008). Kako bi se poboljšala apsorpcija lijeka, koriste se pomoćne tvari s različitim mehanizmima djelovanja, primjerice, surfaktanti, žučne soli, masne kiseline i kelirajući agensi. Za sprječavanje enzimske razgradnje lijeka primjenjuju se inhibitori enzima kao što su bestatin i amastatin (Tiozzo Fasiolo i sur., 2018). Iz navedenog se može zaključiti da se upotrebljava širok raspon različitih pomoćnih tvari kako bi se poboljšala svojstva i učinci formulacije. Usprkos tome, iz sigurnosnih razloga preporuča se da pripravak sadrži što manje pomoćnih tvari te da one budu sigurne za primjenu kako bi se izbjegli toksični učinci na nosnu sluznicu (Tiozzo Fasiolo i sur., 2018).

### 1.5 Terapijski sustavi za nazalnu primjenu pripravljeni sušenjem raspršivanjem

Mikročestice (mikrosfere – u slučaju da su sferičnog oblika) vrlo se često koriste kao nosači lijeka za nazalnu primjenu. Njihove prepoznate prednosti su zaštita lijeka od enzimske razgradnje, mogućnost postizanja željenog profila oslobađanja odabirom odgovarajućeg polimera te veća stabilnost u odnosu na tekuće pripravke. Sušenje raspršivanjem često je korištena metoda u pripravi mikročestica (Lombardo i sur., 2021; Tiozzo Fassiolo 2018; Pires i sur., 2009). U Tablici 2. izdvojeni su rezultati odabranih istraživanja svojstava mikročestica za nazalnu primjenu pripravljenih metodom sušenja raspršivanjem.

**Tablica 2.** Svojstva izdvojenih praškastih sustava (mikročestica) za nazalnu primjenu ispitivanih u prethodne tri godine

Korišteni polimeri	Kritična svojstva	Zaključak	Literatura
<b>Meloksikam</b>			
<b>Kitozan</b>	<b>Prinos:</b> 29 – 48 % <b>Veličina čestica:</b> 2 – 4 μm <b>Morfologija:</b> površinska udubljenja (meloksikam + 0 TTP, meloksikam + 1 ml TPP)	Ulazna temperatura i rad pumpe nisu imali utjecaj na raspodjelu veličine čestica i morfologiju.	Bartos i sur., 2021



	otopine); sferične, glatke čestice (meloksikam + 2 ml TPP otopine) <b>Carrov indeks:</b> 17 – 29	TPP korišten je kao sredstvo za umrežavanje kako bi se povećala stabilnost. Dodatkom TPP otopine povećana je veličina čestica. Topljivost, difuzija i sposobnost bubrenja smanjuju se s povećanjem količine dodane TPP otopine.	
<b>Deksametazon</b>			
<b>Pektin/hipromeloza</b>  <b>Pomoćne tvari:</b> <b>laktoza ili manitol</b>	<b>Prinos:</b> 13,9 – 68,6 % <b>DL:</b> 1,4 – 33,5 % <b>EE:</b> 85,2 ± 4,8 – 101,9 ± 0,3 % <b>D<sub>v10</sub>:</b> 1,4 ± 0,0 – 2,6 ± 0,3 μm <b>D<sub>v50</sub>:</b> 2,2 ± 0,0 – 14,9 ± 3,4 μm <b>D<sub>v90</sub>:</b> 3,7 ± 0,0 – 42,9 ± 0,6 μm <b>Morfologija:</b> sferična, čestice glatke, valovite površine <b>Hausnerov omjer:</b> 1,14 ± 0,00 – 1,96 ± 0,18 <b>Kut raspršenja:</b> 19,6 ± 1,0 – 26,5 ± 0,3 ° <b>Ostatna vlaga:</b> 3,2 ± 0,8 – 9,1 ± 0,2 %	Mikrosfere deksametazona s manitolom pokazale su se kao najbolji izbor za nazalnu primjenu. Postignuto je produljeno oslobađanje i veća mukoadhezivnost u odnosu na sami lijek. Zapaženo je da se prinos povećava s povećanjem ulazne temperature te smanjenjem brzine dovođenja uzorka. Povećanje koncentracije hipromeloze i deksametazona rezultiralo je povećanjem veličine čestica. Dodatak manitola ili laktoze rezultirao je povećanjem kuta raspršenja i smanjenjem ostatka u kapsuli.	Nižić Nodilo i sur., 2021.
<b>(<sup>34</sup>Pro,<sup>35</sup>Phe)CGRP<sub>27-37</sub></b> <b>(Peptidni antagonist CGRP-a)</b>			
<b>Kitozan</b>	<b>Prinos:</b> 45 % <b>Prosječna veličina čestica:</b> 10,7 ± 1,36 μm <b>Morfologija:</b> sferična, varijabilna površinska struktura – prisutne čestice s glatkom površinom i one s grubom, naboranom površinom <b>Sadržaj vlage:</b> 8,2 %	Mikrosfere ( <sup>34</sup> Pro, <sup>35</sup> Phe)CGRP <sub>27-37</sub> s kitozonom pogodne su za nazalnu primjenu. Prilikom uklapanja i <i>in vitro</i> ispitivanja nije zabilježena razgradnja peptida.	von Mentzer i sur., 2020
<b>Astragalus polisaharid</b>			
<b>Kitozan</b>	<b>DL:</b> 9,11 – 21,50 % <b>Veličina čestica:</b> 40 – 60 μm <b>Morfologija:</b> uniformna, sferične čestice, različit stupanj naboranosti u ovisnosti o uvjetima sušenja <b>Sadržaj vlage:</b> 18,59 – 25,28 % <b>Nasipna gustoća:</b> 0,31 – 0,38 g/cm <sup>3</sup>	Optimizacijom parametara sušenja raspršivanjem dobivene su mikrosfere pogodne za nazalnu primjenu. <i>In vitro</i> ispitivanja pokazala su dobar profil oslobađanja lijeka. <i>In vivo</i> ispitivanja na animalnom modelu pokazala su potencijal sustava za umanjene simptoma alergijskog rinitisa.	Wang i sur., 2020
<b>Ropinirol</b>			
<b>Alginat</b>	<b>Prinos:</b> 70 % (ulazna temperatura 140 °C) <b>EE:</b> 101 – 106 % <b>Veličina čestica:</b> 2,5 – 4,4 μm <b>Morfologija:</b> udubljene i perforirane čestice (160 °C); sferične s pukotinama (120 °C)	Sušenje raspršivanjem pogodno je za izradu mikrosfera ropinirola za nazalnu primjenu. Ulazna temperatura i formulacijski parametri imali su značajan utjecaj na veličinu i morfologiju čestica.	Hussein i sur., 2019

		Povećanjem udjela polimera smanjila se brzina oslobađanja lijeka iz mikrosfera. Utvrđeno je da mikrosfere koje sadrže alginat i ropinirol u omjeru 90:10 ( <i>m/m</i> ) imaju najprikladnija svojstva.	
<b>Melatonin</b>			
<b>Pektin/hipromeloza u različitim omjerima</b>	<b>Prinos:</b> 47,1 – 65,0 % <b>D<sub>v10</sub>:</b> 5,4 ± 1,4 – 6,9 ± 0,8 μm <b>D<sub>v50</sub>:</b> 10,5 ± 2,6 – 14,6 ± 2,4 μm <b>D<sub>v90</sub>:</b> 17,3 ± 2,0 – 22,7 ± 1,5 μm <b>EE:</b> 96,7 ± 4,1 % – 103,2 ± 1,4 % <b>Morfologija:</b> Pektinske mikrosfere – uniformne veličine, sferične, naborane čestice; Mikrosfere građene od pektina i hipromeloze – polidisperzne veličine – manje čestice su smežurane, a veće glatke površine <b>Sadržaj vlage:</b> 2,0 ± 0,3 % – 5,2 ± 0,2 % (veća vlažnost pektinskih nego mikrosfera građenih od pektina i hipromeloze) <b>Bubrenje:</b> mikrosfere građene od pektina i hipromeloze bolje bubre u SNF-u od pektinskih mikrosfera Veći udio hipromeloze pridonosi mukoadhezivnosti.	Mikrosfere s melatoninom građene od pektina i hipromeloze pogodne su za nazalnu primjenu. Najmanji prinos ostvaren je kod omjera pektina i hipromeloze 1:3 ( <i>m/m</i> ). Imaju veliku uspješnost uklapanja. Hipromeloza u najvećoj mjeri povećava mukoadhezivnost. Melatonin se iz mikrosfera produljeno oslobađa – moguće je optimirati sastav kako bi se dobio željeni profil oslobađanja. Nedostatak je mala depozicija mikrosfera u turbinatnoj i olfaktornoj regiji nosne šupljine. Smjesa mikrosfera s laktozom kao inertnim nosačem karakterizirana je učinkovitijom depozicijom u ciljnim regijama nosne šupljine.	Nižić i sur., 2020

TPP = natrijev tripolifosfat (engl. *tripolyphosphate*)

DL = sadržaj lijeka (engl. *drug loading*)

EE = uspješnost uklapanja (engl. *entrapment efficiency*)

D<sub>v10</sub>, D<sub>v50</sub>, D<sub>v90</sub> = volumni promjeri

CGRP = kalcitonin gen-povezani peptid (engl. *calcitonin gene-related peptide*)

(<sup>34</sup>Pro, <sup>35</sup>Phe)CGRP<sub>27-37</sub> = peptidni antagonist humanog kalcitonin gen-povezanog peptida (CGRP-a)

SNF = simulirani nosni fluid (engl. *simulated nasal fluid*)

## 2. OBRAZLOŽENJE TEME

Procjenjuje se da više od 55 milijuna ljudi u svijetu živi s nekim oblikom demencije, od čega 60 – 70 % slučajeva čini Alzheimerova bolest ([www.who.com](http://www.who.com)). Znakovi i simptomi Alzheimerove bolesti obuhvaćaju gubitak pamćenja, dezorijentaciju u vremenu i prostoru, povlačenje i izbjegavanje socijalnih interakcija, promjene u ponašanju i osobnosti te poteškoće u komunikaciji, planiranju i rješavanju problema, izvršavanju rutinskih zadataka i prosuđivanju rizičnih situacija što uvelike utječe na kvalitetu života bolesnika i njegove obitelji (Atri, 2019). Alzheimerova bolest najčešće se liječi inhibitorima acetilkolinesteraze u koje se ubrajaju donepezil, rivastigmin i galantamin te blokatorom NMDA (N-metil-D-aspartat) receptora, memantinom (Cummings i sur., 2019). Donepezil značajno smanjuje neuropsihijatrijske simptome te poboljšava kognitivnu funkciju kod pacijenata s blagim do umjerenim stadijem. Zasad je dostupan samo u oralnim oblicima. Nedostaci oralne primjene obuhvaćaju metabolizam lijeka prvim prolaskom kroz jetru te podložnost enzimskoj razgradnji i sistemskom klirensu. Krvno-moždana barijera, P-glikoproteini, volumen raspodjele i vezanje lijeka za proteine plazme također mogu imati ograničavajući učinak na dostavu adekvatne doze u mozak. Nazalna primjena lijeka je neinvazivna te omogućuje zaobilazak navedenih barijera i izravnu dostavu lijeka iz nosne šupljine u mozak. Usto, pogodna je za starije bolesnike koji imaju problema s gutanjem (Agrawal i sur., 2018; Espinoza i sur., 2019). U usporedbi sa sprejevima i kapima, praškasti sustavi pružaju mogućnost duljeg zadržavanja u nosnoj šupljini zahvaljujući većoj otpornosti na mukocilijarni klirens (Trenkel i Scherließ, 2021). Metoda sušenja raspršivanjem vrlo je pogodna za pripremu praškastih sustava zbog mogućnosti optimizacije procesnih i formulacijskih parametara što omogućuje pripremu produkta željenih svojstava. S obzirom na kompleksnost utjecaja različitih parametara na pripremu i izravnu dostavu praškastih sustava iz nosne šupljine u mozak, potiče se njihovo daljnje istraživanje i razvoj.

Cilj ovog diplomskog rada bio je ispitati utjecaj ulazne temperature u procesu sušenja raspršivanjem na fizičko-kemijska svojstva mikrosfera s donepezilom za nazalnu primjenu.

Specifični ciljevi uključuju:

- pripremu mikrosfera s donepezilom za nazalnu primjenu metodom sušenja raspršivanjem pri različitim ulaznim temperaturama zraka za sušenje,
- određivanje svojstava pripremljenih mikrosfera s donepezilom kao što su iskorištenje procesa, uspješnost uklapanja donepezila, sadržaj donepezila u mikrosferama,

raspodjela veličine čestica, Hausnerov omjer, kut raspršenja, ostatak u kapsuli nakon aktivacije uređaja za raspršivanje,

- analizu utjecaja ulazne temperature zraka za sušenje na navedena svojstva pripremljenih mikrosfera s donepezilom.

### **3. MATERIJALI I METODE**

#### **3.1 Materijali**

Za izradu mikrosfera s donepezilom korištene su sljedeće tvari:

- donepezilklorid (dalje u tekstu donepezil; Carbosynth Ltd., UK)
- niskomolekularni kitozan (dalje u tekstu kitozan; Sigma-Adrich Chemie, Njemačka)
- manitol (Lach-Ner, Češka)
- pročišćena voda

#### **3.2 Metode**

##### **3.2.1 Priprema otopine za sušenje raspršivanjem**

Otopina za sušenje raspršivanjem pripravljena je miješanjem koncentrirane otopine kitozana s vodenim otopinama manitola i donepezila. Koncentrirana otopina kitozana (2 %, *m/V*) izrađena je otapanjem kitozana u 0,5 %-tnoj octenoj kiselini i miješanjem na magnetskoj miješalici tijekom 24 sata. Tako dobivena otopina filtrirana je korištenjem vakuumske pumpe kako bi se uklonila potencijalna onečišćenja. Koncentrirane otopine manitola (30 %, *m/V*) i donepezila (8 %, *m/V*) izrađene su otapanjem tvari u pročišćenoj vodi i miješanjem na magnetskoj miješalici. Koncentracije kitozana, manitola i donepezila u otopini za sušenje redom su iznosile 1,5 % (*m/V*), 6,0 % (*m/V*) i 0,4 % (*m/V*).

##### **3.2.2 Priprava mikrosfera s donepezilom metodom sušenja raspršivanjem**

Mikrosfere s uklopljenim donepezilom pripravljene su sušenjem raspršivanjem vodene otopine donepezila, kitozana i manitola. Korišten je uređaj BÜCHI Mini Spray Dryer B-290 (Büchi Labortechnik AG, Švicarska) s ultrazvučnom sapnicom (Büchi Labortechnik AG, Švicarska). Kao medij za sušenje korišten je zrak te je primijenjen otvoreni ciklus sušenja. Sušenje je provedeno pri četiri različite ulazne temperature zraka: 110, 125, 140 i 150 °C. Odgovarajuće izlazne temperature zraka iznosile su redom: 63, 69, 80 i 89 °C. Ostali parametri držani su konstantnim: rad peristaltičke pumpe za dovođenje uzorka do sapnice uređaja na 10 % kapaciteta, rad aspiratora na 100 % kapaciteta, protok zraka na 35 % i snaga ultrazvučne sapnice na 65 % kapaciteta. Formulacijski i procesni parametri pripreme mikrosfera s donepezilom prikazani su u Tablici 3.

**Tablica 3.** Formulacijski i procesni parametri pripreve mikrosfera s donepezilom metodom sušenja raspršivanjem

	<b>Uzorak 1</b>	<b>Uzorak 2</b>	<b>Uzorak 3</b>	<b>Uzorak 4</b>
<b>Koncentracija donepezila (%<i>, m/V</i>)</b>	0,4	0,4	0,4	0,4
<b>Koncentracija kitozana (%<i>, m/V</i>)</b>	1,5	1,5	1,5	1,5
<b>Koncentracija manitola (%<i>, m/V</i>)</b>	6,0	6,0	6,0	6,0
<b>Ulazna temperatura (°C)</b>	110	125	140	155
<b>Izlazna temperatura (°C)</b>	63	69	80	89
<b>Snaga sapnice (%)</b>	65	65	65	65
<b>Aspirator (%)</b>	100	100	100	100
<b>Pumpa (%)</b>	10	10	10	10
<b>Protok zraka (%)</b>	35	35	35	35

### 3.2.3 Izračun iskorištenja

Iskorištenje, *I* (%), izračunato je iz omjera mase dobivenog suhog praškastog produkta i teorijske mase suhe tvari u otopini za sušenje (7,9 g).

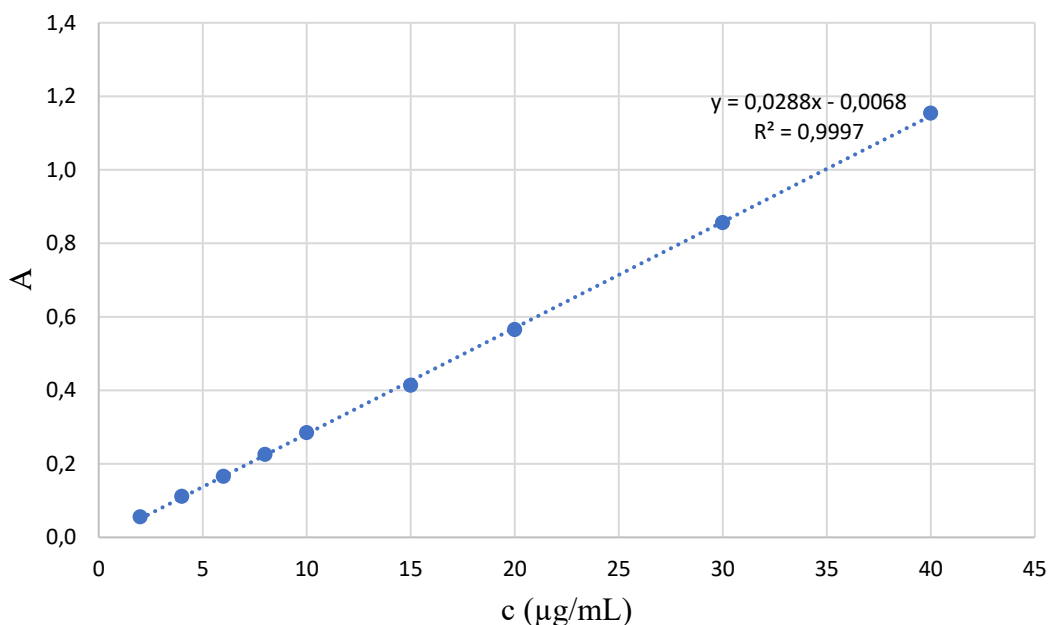
$$I (\%) = \frac{\text{masa dobivenog praškastog produkta (g)}}{\text{teorijska masa suhe tvari u otopini za sušenje (g)}} \times 100$$

### 3.2.4 Određivanje uspješnosti uklapanja i sadržaja donepezila u mikrosferama

Standardna otopina donepezila koncentracije 0,1 mg/ml pripravljena je otapanjem 5 mg donepezila u 50 ml deionizirane vode. U odmjernim tikvicama od 25 ml, pipetiranjem odgovarajućih volumena standardne otopine, pripremljen je niz radnih otopina čije su koncentracije redom iznosile 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 30 i 40 µg/ml. Radne otopine filtrirane su kroz filter veličine pora 0,2 µm (Chromafil® Xtra PES-20/25, Machqerey-Nagel GmbH & Co. KG, Njemačka). Apsorbancija svake radne otopine određena je spektrofotometrijski korištenjem uređaja UV-Visible Spectrophotometer Cary 50 Probe (Varian, SAD) pri valnoj duljini od 271 nm. Mjerenja su provedena u triplicatu. Jednadžba kalibracijskog pravca ( $y=0,0288x - 0,0068$ ;  $R^2 = 0,9997$ ) određena je iz prosječnih vrijednosti apsorbancija radnih otopina u ovisnosti o njihovoj koncentraciji. Kalibracijski pravac prikazan je na Slici 4.

U svrhu određivanja uspješnosti uklapanja i sadržaja lijeka u mikrosferama, 10 mg mikrosfera s donepezilom suspendirano je u 25 ml pročišćene vode. Suspenzije su podvrgnute dvosatnom soniciranju te filtrirane korištenjem filtra veličine pora 0,2 µm (Chromafil® Xtra PES-20/25,

Machqerey-Nagel GmbH & Co. KG, Njemačka). Sadržaj donepezila u filtriranim uzorcima određen je spektrofotometrijski korištenjem uređaja UV-Visible Spectrophotometer Cary 50 Probe (Varian, SAD), pri valnoj duljini od 271 nm. Koncentracija donepezila izračunata iz jednadžbe prethodno određenog kalibracijskog pravca:  $y=0,0288x - 0,0068$  ( $R^2 = 0,9997$ ). Apsorbancija svakog uzorka mjerena je u triplicatu i za izračun je korištena srednja vrijednost.



**Slika 4.** Kalibracijski pravac donepezila

Uspješnost uklapanja donepezila, (engl. *entrapment efficiency*, EE (%)) izračunata je iz omjera stvarne mase lijeka i teorijske mase lijeka u ispitivanoj količini mikrosfera prema jednadžbi:

$$EE (\%) = \frac{\text{stvarna masa lijeka u mikrosferama}}{\text{teorijska masa lijeka u mikrosferama}} \times 100$$

Sadržaj donepezila u mikrosferama (engl. *drug loading*, DL (%)) izračunat je iz omjera mase uklopljenog lijeka i mase ispitivanih mikrosfera prema jednadžbi:

$$DL (\%) = \frac{\text{masa uklopljenog lijeka u mikrosferama}}{\text{masa ispitivanih mikrosfera}} \times 100$$

### 3.2.5 Određivanje raspodjele veličina čestica

Raspodjela veličina čestica određena je pomoću uređaja Mastersizer 3000 opremljenog s Hydro SV ćelijom (Malvern Instruments Ltd., Ujedinjeno Kraljevstvo) pri čemu je korištena metoda laserske difrakcije. Suspenzija za analizu pripravljena je dispergiranjem manje količine mikrosfera u 10 mL 96 %-tnog etanola (V/V) uz trominutno soniciranje. Prvo je u ćeliju dodan sami 96 %-tni etanol kako bi se snimile i poništile pozadinske interferencije. Nakon toga je u ćeliju stavljena suspenzija mikrosfera u 96 %-tnom etanolu i provedeno je mjerenje veličine suspendiranih čestica. Analiza je provedena pri opskuraciji u rasponu od 10 do 20 %. Mjerenje je provedeno u pentaplikatu. Rezultati su izraženi volumnim promjerima  $D_{v10}$ ,  $D_{v50}$  i  $D_{v90}$ .

### 3.2.6 Ispitivanje reoloških svojstava mikrosfera s donepezilom

Ispitivanje svojstava tečenja mikrosfera s donepezilom provedeno je indirektnom metodom (Nižić Nodilo i sur., 2021). Korištena je brizgalica volumena 5 mL čiji je vrh osiguran parafilmom. U brizgalicu je izvagano 300 mg praškastog produkta. Očitani su volumeni koji praškasti produkt zauzima. Brizgalica je zajedno s izvaganim sadržajem potresivana do konstantnog volumena (~ 100 puta), poslije čega je očitani volumeni nakon potresivanja. Mjerenja su provedena u triplikatu za svaki uzorak. Iz vrijednosti mase praškastog produkta u brizgalici, volumena prije potresivanja i volumena nakon potresivanja izračunate su vrijednosti nasipne gustoće prije potresivanja,  $\rho_{bulk}$  i nasipne gustoće nakon potresivanja,  $\rho_{tapped}$ , na temelju čega su izračunati Hausnerov omjer i Carrov indeks prema sljedećim jednadžbama:

$$\text{Hausnerov omjer} = \frac{\rho_{tapped}}{\rho_{bulk}}$$

$$\text{Carrov indeks (\%)} = \frac{\rho_{tapped} - \rho_{bulk}}{\rho_{bulk}} \times 100$$

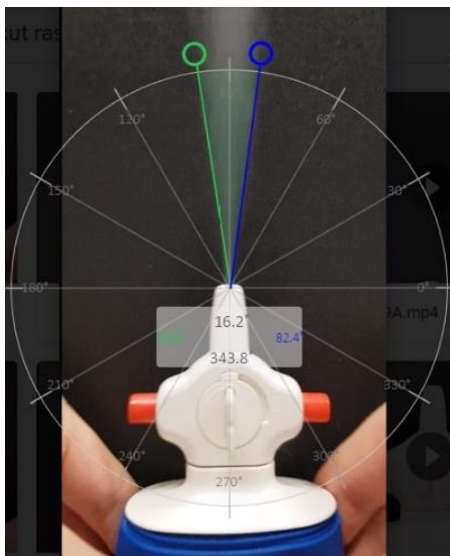
$\rho_{bulk}$  - nasipna gustoća prije potresivanja;  $\rho_{tapped}$  - nasipna gustoća nakon potresivanja

### 3.2.7 Određivanje kuta raspršenja

Za određivanje kuta raspršenja korišten je jednodozni nazalni insulfator (MIAT®, Monodose inhaler attenuator, Miat S. p. A., Italija), uređaj za nazalnu primjenu praška. U uređaj je umetnuta kapsula (veličina 3, Vcaps® Plus; Lonza, Švicarska) koja je sadržavala 15 mg praškastog produkta. Uređaj je postavljen ispred crne pozadine. Postupak raspršivanja sniman



je kamerom s konstantne udaljenosti. Izdvojene su fotografije u trenutku raspršivanja te je kut raspršenja izmjeren uz pomoć virtualnog kutomjera (Slika 5.). Mjerenja su provedena u triplikatu.



Slika 5. Mjerenje kuta raspršenja virtualnim kutomjerom

### 3.2.8 Određivanje ostatka u kapsuli

U svrhu određivanja ostatka u kapsuli, prije svakog mjerenja izvagana je prazna kapsula (veličina 3, Vcaps® Plus; Lonza, Švicarska). Zatim je u kapsulu odvagano 15 mg praškastog produkta. Nakon raspršivanja praškastog produkta iz MIAT® uređaja za raspršivanje, izmjerena je masa kapsule zajedno s preostalim sadržajem. Iz razlike mase kapsule nakon raspršivanja i mase prazne kapsule izračunat je ostatak u kapsuli prema sljedećoj jednadžbi:

$$\text{Ostatak u kapsuli (mg)} = m_{\text{kapsula+ostatak nakon raspršivanja}} - m_{\text{prazna kapsula}}$$

$m_{\text{kapsula+ostatak nakon raspršivanja}}$  – masa kapsule nakon raspršivanja;  $m_{\text{prazna kapsula}}$  – masa prazne kapsule

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

Ukupni rezultati provedenih ispitivanja prikazani su u Tablici 4.

**Tablica 4.** Fizičko-kemijska svojstva mikrosfera s donepezilom pripremljenih metodom sušenja raspršivanjem. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  SD ( $n=3$ , za veličinu čestica  $n=5$ ).

	Uzorak 1	Uzorak 2	Uzorak 3	Uzorak 4
Ulazna temperatura (°C)	110	125	140	155
Izlazna temperatura (°C)	63	69	80	89
Iskorištenje procesa (%)	54,5	60,6	66,0	55,5
EE (%)	97,9 $\pm$ 0,4	98,3 $\pm$ 2,6	97,5 $\pm$ 2,6	99,4 $\pm$ 2,0
DL (%)	4,96 $\pm$ 0,02	4,98 $\pm$ 0,13	4,94 $\pm$ 0,13	5,03 $\pm$ 0,10
Hausnerov omjer	1,24 $\pm$ 0,1	1,22 $\pm$ 0,1	1,15 $\pm$ 0,1	1,13 $\pm$ 0,1
Carrov indeks (%)	19,44 $\pm$ 4,81	17,86 $\pm$ 6,19	12,82 $\pm$ 4,44	11,11 $\pm$ 4,81
Kut raspršenja (°)	18,6 $\pm$ 1,0	18,6 $\pm$ 1,5	19,2 $\pm$ 0,2	17,5 $\pm$ 1,7
Ostatak u kapsuli (%)	1,1 $\pm$ 1,4	2,0 $\pm$ 0,7	0,0 $\pm$ 0,0	1,5 $\pm$ 0,3
$D_{v10}$ ( $\mu$ m)	9,5 $\pm$ 1,0	9,0 $\pm$ 1,0	9,9 $\pm$ 1,4	7,3 $\pm$ 0,5
$D_{v50}$ ( $\mu$ m)	35,7 $\pm$ 1,6	32,3 $\pm$ 2,1	31,7 $\pm$ 1,0	26,3 $\pm$ 0,9
$D_{v90}$ ( $\mu$ m)	72,7 $\pm$ 1,1	62,5 $\pm$ 1,1	61,9 $\pm$ 1,6	60,3 $\pm$ 0,7

EE – uspješnost uklapanja lijeka; DL – sadržaj lijeka u mikrosferama;  $D_{v10}$ ,  $D_{v50}$  i  $D_{v90}$  – volumni promjeri mikrosfera

### 4.1 Iskorištenje procesa pripreme mikrosfera s donepezilom metodom sušenja raspršivanjem

Mikrosfere s donepezilom pripravljene su metodom sušenja raspršivanjem. Cjelokupan postupak opisan je u potpoglavljima 3.2.1 i 3.2.2. Vrijednosti iskorištenja procesa bile su relativno visoke i iznosile su 54,5 – 66,0 % (Tablica 4.). Povećanje ulazne temperature od 110 °C do 140 °C rezultiralo je povećanjem iskorištenja procesa. Daljnje povećanje ulazne temperature na 155 °C nije rezultiralo očekivanim povećanjem iskorištenja procesa.

Pardeshi i suradnici (2012) pripravili su polimerne mikrosfere s valsartanom koristeći laboratorijski uređaj za sušenje raspršivanjem (LU222 Advanced, Labultima, Mumbai, India) i bifluidnu (0,7 mm) sapnicu. Ulazna temperatura iznosila je 70 i 90 °C, brzina dovođenja uzorka 6 – 10 ml/min i rad aspiratora 35 – 40 %. Hidroksipropilmetil celuloza (HPMC) korištena je kao polimer. Iskorištenje procesa iznosilo je 17,5 – 38 %. Jedan od navedenih uzroka relativno malog prinosa korištenje je malog volumena otopine za sušenje (100 ml). Iskorištenje procesa povećavalo se s povećanjem ulazne temperature (Pardeshi i sur., 2012). U izradi mikrosfera s donepezilom, za potrebe izrade ovog rada, korišten je jednak volumen otopine za sušenje te je iskorištenje bilo znatno veće. Pardeshi i suradnici (2012) u radu ne navode točne udjele pojedinih sastavnica, no mogući razlog većeg iskorištenja procesa sušenja raspršivanjem u slučaju izrade mikrosfera s donepezilom može biti veći udio čvrstih sastavnica u otopini za sušenje (Saha i sur., 2022; Ruphuy i sur., 2020; [www.buchi.com](http://www.buchi.com)).

Saha i suradnici (2022) pripravili su mikrosfere s ivermektinom koristeći Büchi B-290 uređaj s bifluidnom (0,7 mm) sapnicom. Rad aspiratora bio je podešen na 80 %, brzina dovođenja uzorka 1 ml/min i protok zraka na 670 l/h. Kao otapalo korišteni su etanol i voda (90:10). Primjenom ulazne temperature od 80 °C ostvareno iskorištenje procesa iznosilo je 42 – 47 %, dok je pri ulaznoj temperaturi od 100 °C iskorištenje procesa bilo 50 – 60 % (Saha i sur., 2022). Primjenom veće ulazne temperature dobiva se konačan produkt s manjim udjelom vlage. Posljedično tome produkt je manje ljepljiv te manje prianja uz stijenke komore za sušenje što u konačnici rezultira većim iskorištenjem procesa (Saha i sur., 2022; Nižić i sur., 2018). Saha i suradnici (2022) pokušali su tijekom preliminarnih studija pripremiti mikrosfere s ivermektinom pri 120 °C i 140 °C. Međutim, primjenom tako visokih temperatura priprema mikrosfera bila je neuspješna jer je produkt bio previše ljepljiv (Saha i sur., 2022). Uzrok manjeg iskorištenja procesa pri većoj ulaznoj temperaturi može biti nisko staklište produkta što može utjecati na povećanu ljepljivost produkta i njegovo prianjanje uz stijenke komore za sušenje (Ziaee i sur., 2017). Kao što je navedeno u uvodnom dijelu rada, još jedan uzrok manjeg prinosa pri većoj ulaznoj temperaturi može biti manja veličina čestica što za posljedicu ima neučinkovitije odvajanje produkta u ciklonu iz struje zraka (Sosnik i Serementa, 2015).

#### **4.2 Uspješnost uklapanja i sadržaj donepezila u mikrosferama**

Uspješnost uklapanja i sadržaj donepezila u mikrosferama određeni su prema jednadžbama navedenim u potpoglavlju 3.2.4. Uspješnost uklapanja bila je vrlo visoka te je iznosila  $97,5 \pm 2,6 - 99,4 \pm 2,0$  %. Sadržaj donepezila izražen je kao maseni udio lijeka u mikrosferama te je

iznosio  $4,94 \pm 0,13 - 5,03 \pm 0,10$  % (Tablica 4.) što je vrlo blizu teorijskom sadržaju lijeka (5,06 %). Iako nije uočena značajna razlika uspješnosti uklapanja i sadržaja donepezila u mikrosferama koje su pripremljene pri različitim ulaznim temperaturama, najveći postotak postignut je pri najvišoj primijenjenoj ulaznoj temperaturi sušenja od 155 °C.

Slične vrijednosti uspješnosti uklapanja postignute su u drugim istraživanjima. Beck-Broichsitter i suradnici (2016) vibracijskim sušenjem raspršivanjem pripremili su mikročestice sa sildenafilom. Kod pripreme većine mikročestica korišten je uređaj Büchi B-90 s 4,0 ili 7,0  $\mu\text{m}$  sapnicom. PLGA (kopolimer laktične i glikolne kiseline, engl. *poly(lactic-co-glycolic acid)*) je poslužio kao polimer, a aceton kao otapalo. Ulazna temperatura podešena je na 45 °C, izlazna je iznosila 25 – 30 °C, dok je brzina protoka medija za sušenje (dušik/ugljičkov dioksid) bila 100 l/min te dotok raspršivanog uzorka 100 %. Uspješnost uklapanja iznosila je  $90 \pm 10 - 102 \pm 6$  % (Beck-Broichsitter i sur., 2016). Jain i suradnici (2009) su kod pripreme mikrosfera sa sumatriptanom ostvarili uspješnost uklapanja 90,18 – 98,18 %. Koristili su laboratorijski uređaj za sušenje raspršivanjem (LU222 Advanced, Labultima, Mumbai, India) s bifluidnom sapnicom (0,7 mm). Kao polimer korišten je HPMC, a metanol i diklormetan kao otapala. Ulazna temperatura bila je postavljena na 75 – 85 °C, izlazna je iznosila 55 – 65 °C, rad aspiratora bio je 40 – 50 % i brzina rada pumpe 9 – 10 ml/min (Jain i sur., 2009). Nešto nižu uspješnost uklapanja postigli su Nagda i suradnici (2012). Kod mikrosfera s ketorolakom koje su sadržavale kitozan, uspješnost uklapanja iznosila je  $85,56 \pm 2,54$  i  $92,19 \pm 3,21$  % ovisno o masenom omjeru lijeka i polimera (1:4 i 1:5). Pri upotrebi karbopola ili polikarbofila uspješnost uklapanja bila je manja (Nagda i sur., 2012).

Donepezil se primjenjuje jedanput dnevno u dozi od 5 ili 10 mg ([www.halmed.com](http://www.halmed.com)). Za učinkovitu izravnu dostavu lijeka iz nosne šupljine u mozak, dovoljno je da 0,01 – 1 % oralne doze bude odloženo u olfaktornoj regiji nosne šupljine ili apsorbirano putem neurona (Erdo i sur., 2018). U istraživanju Perkušić i suradnika (2022a) najveći postotak postignute depozicije mikrosfera s donepezilom u olfaktornoj regiji nosne šupljine iznosio je  $65,5 \pm 0,2$  % primijenjene doze. Važno je napomenuti da je pri izradi mikrosfera s donepezilom korišten isti uređaj za sušenje raspršivanjem kao i u ovom radu. Formulacijski i procesni parametri također su bili slični. Uzorak kod kojeg je postignut navedeni postotak depozicije u olfaktornoj regiji pripremljen je sušenjem raspršivanjem otopine donepezila (0,4 %, *m/m*), manitola (6,0 %, *m/m*) i kitozana (1,5 %, *m/m*) pri ulaznoj temperaturi zraka od 110 °C, rad pumpe bio je podešen na 15 %, rad aspiratora na 100 % i rad ultrazvučne sapnice na 65 %. Uzimajući u obzir navedeno i činjenicu da se u nosnu šupljinu može primijeniti 10 – 25 mg praška po nosnici, postignuti

sadržaj lijeka u mikrosferama u ovom radu prikladan je za nazalnu primjenu donepezila (Perkušić i sur., 2022a; Tiozzo Fasiolo i sur., 2018).

### 4.3 Veličina mikrosfera s donepezilom

Veličina mikrosfera s donepezilom određena je metodom laserske difrakcije i izražena volumnim promjerima  $D_{v10}$ ,  $D_{v50}$  i  $D_{v90}$ . Vrijednosti  $D_{v10}$ ,  $D_{v50}$  i  $D_{v90}$  označavaju promjer od kojeg manje čestice zauzimaju 10, 50 i 90 % ukupnog volumena uzorka (Kulkarni i sur., 2016). Izmjerene vrijednosti  $D_{v10}$ ,  $D_{v50}$  i  $D_{v90}$  bile su, redom, u sljedećim rasponima:

- $7,3 \pm 0,5 - 9,9 \pm 1,4 \mu\text{m}$
- $26,3 \pm 0,9 - 35,7 \pm 1,6 \mu\text{m}$
- $60,3 \pm 0,7 - 72,7 \pm 1,1 \mu\text{m}$

(Tablica 4.)

Postotak mikrosfera s donepezilom u ukupnom uzorku koje su bile manje od  $10 \mu\text{m}$  za uzorke 1, 2, 3 i 4 iznosio je redom 7,9, 8,0, 8,8 i 9,9 %. Iz navedenog je vidljivo da je većina pripremljenih mikrosfera bila je veća od  $10 \mu\text{m}$  čime se smanjuje rizik depozicije lijeka u plućima i osigurava depozicija u nosnoj šupljini. Nadalje, uočeno je da povećanje temperature ulaznog zraka prilikom sušenja raspršivanjem rezultira smanjenjem veličine mikrosfera.

Perkušić i suradnici (2022a) metodom sušenja raspršivanjem pripravili su mikrosfere s donepezilom pomoću uređaja Büchi Mini Spray Dryer B-290 (Büchi, Switzerland) opremljenog s ultrazvučnom sapnicom. Raspodjela veličina mikrosfera određena je metodom laserske difrakcije pomoću uređaja Malvern Mastersizer 3000 (Malvern Instruments Ltd, UK). Također je uočeno da smanjenje ulazne temperature zraka rezultira povećanjem veličine mikrosfera. Moguće objašnjenje je veća kohezivnost i aglomeracija najmanjih čestica suhog produkta pripremljenog pri nižim ulaznim temperaturama sušenja, a uslijed većeg sadržaja ostatne vlage. Izmjerene vrijednosti  $D_{v10}$ ,  $D_{v50}$  i  $D_{v90}$  bile su vrlo slične vrijednostima izmjerenim za potrebe ovog rada te su redom bile u sljedećim rasponima:  $6,7 \pm 0,4 - 11,6 \pm 0,4 \mu\text{m}$ ,  $17,1 \pm 0,1 - 35,7 \pm 1,6 \mu\text{m}$  i  $34,1 \pm 0,2 - 72,7 \pm 1,1 \mu\text{m}$  (Perkušić i sur., 2022a).

Schaefer i Lee (2015) metodom sušenja raspršivanjem pripravili su mikročestice s katalazom pri različitim ulaznim temperaturama zraka (90, 110, 130 i  $160 \text{ }^\circ\text{C}$ ) koristeći uređaj ProCept 4 MB (ProCept Processing Equipment, Zelzate, Belgium) opremljen ultrazvučnom sapnicom.

Veličina čestica određena je metodom laserske difrakcije. Izmjereni  $D_{v50}$  je bio u rasponu 30 – 33  $\mu\text{m}$  (Schaefer i Lee, 2015).

Gavini i suradnici (2008) metodom sušenja raspršivanjem pripravili su mikrosfere s metoklopramidom. Za pripremu mikrosfera s metoklopramidom koristili su uređaj Mini Spray Dryer Büchi B-191 (Büchi Labortechnik AG, Flawil, Switzerland) opremljen bifluidnom (0,7 mm) sapnicom. Ulazna temperatura zraka iznosila je 120 °C, a izlazna 60 °C. Rad pumpe bio je postavljen na 13 %, rad aspiratora na 73 % te brzina raspršivanja sušene otopine na 8 ml/min. Raspodjela veličina čestica određena je metodom laserske difrakcije. Ovisno o vrsti i udjelu polimera u sušenoj otopini, vrijednosti  $D_{v50}$  pripremljenih mikrosfera s metoklopramidom iznosile su oko 6 – 9  $\mu\text{m}$  (Gavini i sur., 2008).

Navedeni izvori i rezultati određivanja raspodjele veličina mikrosfera s donepezilom u ovom radu potvrđuju činjenicu da upotreba ultrazvučne sapnice prilikom sušenja raspršivanjem rezultira većom veličinom pripremljenih čestica, u odnosu na upotrebu bifluidne sapnice.

#### **4.4 Reološka svojstva mikrosfera s donepezilom**

Prilikom razvoja praškastih sustava za nazalnu primjenu važno je provesti ispitivanja reoloških svojstava. Ona mogu utjecati na sposobnost raspršivanja pripravka, ujednačenost doziranja i geometriju oblaka aerosola te samim time na depoziciju pripravka u nosnoj šupljini (Bobičanec i Kobaš, 2020).

Reološka svojstva mikrosfera s donepezilom procijenjena su Hausnerovim omjerom i Carrovim indeksom. Hausnerov omjer bio je u rasponu  $1,13 \pm 0,1 - 1,24 \pm 0,1$ , dok je Carrov indeks iznosio  $11,11 \pm 4,81 - 19,44 \pm 4,81$  % (Tablica 4.). Na temelju spomenutih vrijednosti i kriterija navedenih u Tablici 5. svojstva tečenja pripremljenih mikrosfera s donepezilom okarakterizirana su kao dobra do zadovoljavajuća. Povećanje ulazne temperature sušenja rezultiralo je blagim padom vrijednosti oba parametra, odnosno poboljšanjem svojstava tečenja.

Mogući uzroci poboljšanja svojstva tečenja povećanjem ulazne temperature zraka su promjena morfologije mikrosfera i manji udio ostatne vlage. Hussein i suradnici (2019) su tijekom pripreme mikročestica s ropinirolom metodom sušenja raspršivanjem utvrdili da temperatura ulaznog zraka može imati utjecaj na morfologiju čestica. Pri ulaznoj temperaturi od 120 °C proizvedene su sferične mikročestice s površinskim fisurama i pukotinama, dok su čestice pripremljene pri 160 °C bile udubljene i perforirane. Primjenom ulazne temperature od 140 °C

postignuta je optimalna, sferična morfologija (Hussein i sur., 2019). Sferični oblik čestice osigurava najmanju moguću dodirnu površinu sa susjednim česticama. Upravo zbog toga čestice sferičnog oblika ostvaruju najveću sposobnost tečenja (Aulton i Taylor, ured., 2018).

Iako za potrebe izrade ovog rada nije provedeno ispitivanje morfologije pripremljenih mikrosfera, jedno od mogućih objašnjenja poboljšanja svojstava tečenja povećanjem ulazne temperature zraka uključuje mogući utjecaj ulazne temperature na sferičnost pripremljenih mikrosfera. Nadalje, udio ostatne vlage veći od 2 – 5 % može povećati koheziju čestica i rezultirati njihovom aglomeracijom te negativno utjecati na tečenje praškastog uzorka (Henriques i sur., 2022; Salade i sur., 2018). Kao što je već spomenuto u uvodnom dijelu, povećanje ulazne temperature zraka može rezultirati manjim udjelom ostatne vlage u konačnom produktu te samim time poboljšanim svojstvima tečenja.

**Tablica 5.** Klasifikacija svojstava tečenja praška s obzirom na vrijednosti Hausnerovog omjera i Carrovog indeksa (Ph. Eur. 9.0, 2016)

Hausnerov omjer	Carrov indeks (%)	Kategorija svojstva tečenja
1,00 – 1,11	$\leq 10$	odlično
1,12 – 1,18	11 – 15	dobro
1,19 – 1,25	16 – 20	zadovoljavajuće
1,26 – 1,34	21 – 25	moguće
1,35 – 1,45	26 – 31	loše
1,46 – 1,59	32 – 37	vrlo loše
> 1,60	> 38	vrlo, vrlo loše

#### 4.5 Kut raspršenja mikrosfera s donepezilom

Kut raspršenja mikrosfera s donepezilom iznosio je  $17,5 \pm 1,7 - 19,2 \pm 0,2$  ° (Tablica 4.). Najveći kut raspršenja zabilježen je primjenom ulazne temperature zraka od 140 °C, a najmanji pri 155 °C. Nije uočena značajna ovisnost kuta raspršenja o primijenjenoj ulaznoj temperaturi zraka prilikom sušenja raspršivanjem.

S obzirom na izmjerene vrijednosti kutova raspršenja pripravljene mikrosfere s donepezilom trebale bi postići adekvatnu depoziciju koja bi mogla osigurati izravnu dostavu lijeka iz nosne šupljine u mozak. Naime, postizanje željene depozicije praškastog sustava u nosnoj šupljini uvelike ovisi o kutu raspršenja (Gao i sur., 2020). Izravna dostava nazalno primijenjenog lijeka u mozak može se ostvariti putem olfaktornih neurona koji se nalaze u olfaktornoj regiji nosne

šupljine, ali i putem trigeminalnog živca koji najvećim dijelom inervira respiratornu regiju nosne šupljine (Nižić Nodilo i sur., 2021; Agrawal i sur., 2018). Pri kutu raspršenja manjem od 30 ° moguće je postići depoziciju 90 % primijenjene doze u turbinatnoj regiji nosne šupljine. Kako se kut raspršenja povećava sve veći udio primijenjenog praškastog sustava odlaže se u anteriornoj regiji nosne šupljine (Bobičanec i Kobaš, 2020; Gao i sur., 2020; Foo i sur., 2007). Bobičanec i Kobaš (2020) metodom sušenja raspršivanjem pripravili su mikrosfere s deksametazonom. Koristili su uređaj Büchi Mini Spray Dryer B-191 (Büchi, Flawil, Švicarska) s bifluidnom sapnicom (0,7 mm). Ulazna temperatura iznosila je 140 °C, izlazna temperatura 79 °C, protok komprimiranog zraka 650 NI/h, kapacitet aspiratora 50 %, a protok sušene otopine iznosio je 3,5 g/min. Za određivanje kuta raspršenja primijenjen je jednak postupak kao i za potrebe izrade ovog rada te je za raspršivanje praškastih sustava korišten jednodozni nazalni insuflator (MIAT® S. p. A, Italija). Izmjereni kutovi raspršenja bili su u rasponu  $17,3 \pm 0,9 - 28,4 \pm 0,6$  °. Uočeno je da raspršivanje praška s manjim Carrovim indeksom, odnosno boljim svojstvima tečenja, rezultira manjim kutom raspršenja (Bobičanec i Kobaš, 2020). Perkušić i suradnici (2021) metodom sušenja raspršivanjem pripravili su mikrosfere s donepezilom koje sadrže različite masene udjele laktoze ili manitola. Koristili su uređaj Büchi Mini Spray Dryer B-290 (Büchi, Switzerland) koji je opremljen ultrazvučnom sapnicom. Ulazna temperatura bila je podešena na 140 °C, rad pumpe na 5 %, rad aspiratora na 100 %, snaga ultrazvučne sapnice na 65 % te je brzina dotoka uzorka iznosila 3,3 ml/min. Kut raspršenja mikrosfera s donepezilom koje su sadržavale manitol, neovisno o masenom udjelu manitola, iznosio je oko 17,5 ° (Perkušić i sur., 2021). Perkušić i suradnici (2022b) koristeći isti uređaj te varijacijom procesnih i formulacijskih parametara, pripravili su mikrosfere s donepezilom. Osim kuta raspršenja, određivali su uspješnost dostave mikrosfera u olfaktornu i turbinatnu regiju nosne šupljine. Kut raspršenja bio je u rasponu  $22,5 \pm 0,2 - 28,3 \pm 0,9$  °. Udio doze donepezila koji je uspješno dostavljen u olfaktornu regiju iznosio je  $13,9 \pm 1,9 - 65,5 \pm 0,2$  %, a u turbinatnu  $19,4 \pm 5,8 - 47,6 \pm 6,8$  % (Perkušić i sur., 2022b).

Osim kuta raspršenja, na profil nazalne depozicije praškastog sustava utječu kut primjene, položaj glave i način disanja za vrijeme primjene, dubina umetanja vrha uređaja za primjenu u nosnu šupljinu, primijenjeni volumen praškastog sustava, geometrija praškastog sustava pri raspršivanju iz uređaja te svojstva same formulacije (Gao i sur., 2020).



#### 4.6 Ostatak mikrosfera s donepezilom u kapsuli

Prilikom aktivacije jednodoznog nazalnog insuflatora (MIAT® S. p. A, Italija) gotovo sav sadržaj kapsule bio je raspršen te je ostatak u kapsuli iznosio  $0,0 \pm 0,0 - 0,3 \pm 0,1$  mg, odnosno samo  $0,0 \pm 0,0 - 2,0 \pm 0,7$  % primijenjene doze je zaostalo u kapsuli (Tablica 4.). Ulazna temperatura zraka pri sušenju raspršivanjem nije znatno utjecala na vrijednosti ostatka mikrosfera s donepezilom u kapsuli.

U istraživanju Nižić i suradnika (2020), ostatak mikrosfera s melatoninom u kapsuli nakon raspršivanja pri protoku udahnutog zraka od 0 l/min iznosio je  $12,7 \pm 2,6$  %, odnosno  $10,3 \pm 0,7$  % pri protoku udahnutog zraka od 20 l/min. Za pripravu mikrosfera s melatoninom korišten je uređaj Büchi Mini Spray Dryer B-191 (Büchi, Flawil, Switzerland) opremljen s bifluidnom sapnicom (0,7 mm). Srednji promjer pripremljenih mikrosfera s melatoninom bio je značajno manji od srednjeg promjera mikrosfera s donepezilom pripremljenih za potrebe izrade ovog rada (Nižić i sur., 2020). Nadalje, Bobičanec i Kobaš (2020) postigli su vrlo visoku ( $97,2 \pm 2,0 - 99,2 \pm 0,7$  %) učinkovitost isporuke praškastih sustava koji su sadržavali laktozu monohidrat GranuLac®, sorbitol ili manitol kao nosače mikrosfera s deksametazonom. Srednji promjer pripremljenih mikrosfera s deksametazonom bio je manji u usporedbi sa srednjim promjerom mikrosfera pripremljenih za potrebe izrade ovog rada. Međutim, s obzirom na ostvarenu visoku učinkovitost isporuke pretpostavljeno je da su velika ukupna površina i kohezivne sile uzrokovale aglomeraciju mikrosfera s deksametazonom (Bobičanec i Kobaš 2020). U istraživanju koje su proveli Nižić Nodilo i sur. (2021) svojstva tečenja smjese mikrosfera s deksametazonom i manitolom prema vrijednostima Hausnerovog omjera mogu se opisati kao moguća. No, usprkos relativno visokom Hausnerovom omjeru, ostatak u kapsuli iznosio je samo oko 1,7 %. Na temelju navedenog potvrđeno je da, iako farmakopejska klasifikacija (Ph. Eur. 9.0, 2016) svojstava tečenja dobro opisuje slobodno tečenje prašaka, nije nužno primjenjiva za opisivanje prašaka koji se primjenjuju raspršivanjem (Nižić Nodilo i sur., 2021).

## 5. ZAKLJUČCI

- Mikrosfere s donepezilom te manitolom i niskomolekularnim kitozonom kao pomoćnim tvarima uspješno su pripravljene metodom sušenja raspršivanjem upotrebom ultrazvučne sapnice pri ispitivanim procesnim i formulacijskim parametrima.
- Ostvareno je relativno visoko iskorištenje procesa u rasponu 54,5 – 66,0 %, ovisno o primijenjenoj ulaznoj temperaturi zraka za sušenje. Povećanje ulazne temperature zraka za sušenje do 140 °C rezultiralo je povećanjem iskorištenja procesa.
- Postignuta je visoka uspješnost uklapanja donepezila koje je iznosila  $97,5 \pm 2,6 - 99,4 \pm 2,0$  %. Također, izmjerene vrijednosti sadržaja donepezila u mikrosferama ( $4,94 \pm 0,13 - 5,03 \pm 0,10$ ) bile su blizu teorijskoj vrijednosti (5,06 %).
- $D_{v10}$ ,  $D_{v50}$  i  $D_{v90}$  vrijednosti bile su redom u rasponima  $7,3 \pm 0,5 - 9,9 \pm 1,4$  μm;  $26,3 \pm 0,9 - 35,7 \pm 1,6$  μm i  $60,3 \pm 0,7 - 72,7 \pm 1,1$  μm. Većina čestica bila je veća od 10 μm. Smanjenje ulazne temperature zraka za sušenje rezultiralo je povećanjem veličine mikrosfera s donepezilom.
- Povećanje ulazne temperature zraka za sušenje rezultiralo je poboljšanjem svojstava tečenja mikrosfera s donepezilom od zadovoljavajućih do dobrih prema farmakopejskoj klasifikaciji.
- Kut raspršenja mikrosfera s donepezilom iznosio je  $17,5 \pm 1,7 - 19,2 \pm 0,2$  ° što odgovara dostavi praškaste formulacije iza nosne valvule.
- Nakon aktivacije jednodoznog nazalnog insuflatora ostatak u kapsuli iznosio je  $0,0 \pm 0,0 - 2,0 \pm 0,7$  %, ukazujući na mogućnost dostave adekvatne doze lijeka u nosnu šupljinu.

## 6. POPIS KRATICA, OZNAKA I SIMBOLA

(<sup>34</sup>Pro,<sup>35</sup>Phe)CGRP<sub>27-37</sub> - peptidni antagonist humanog kalcitonin gen-povezanog peptida (CGRP-a)

° – stupanj

°C – stupanj Celzijev

A – apsorbancija

c – koncentracija

CGRP – kalcitonin gen-povezani peptid (engl. *calcitonin gene-related peptide*)

CQA – kritični atributi kvalitete (engl. *critical quality attributes*)

DL – sadržaj lijeka (engl. *drug loading*)

D<sub>v</sub>10, D<sub>v</sub>50, D<sub>v</sub>90 – volumni promjeri – vrijednosti D<sub>v</sub>10, D<sub>v</sub>50 i D<sub>v</sub>90 označavaju promjer od kojeg manje čestice zauzimaju 10, 50 i 90 % ukupnog volumena uzorka

EE – uspješnost uklapanja (engl. *entrapment efficiency*)

EMA – Europska agencija za lijekove i medicinske proizvode (engl. *European Medicines Agency*)

HPMC – hidroksipropilmetil celuloza

I – iskorištenje

ICH – engl. *International Council of Harmonization*

kDa – kilodalton

MIAT® – jednodozni nazalni insulfator (engl. *Monodose inhaler attenuuator*)

m<sub>kapsula+ostatak nakon raspršivanja</sub> – masa kapsule nakon raspršivanja

m<sub>prazna kapsula</sub> – masa prazne kapsule

NMDA – N-metil-D-aspartat

PCL – polikaprolakton (engl. *polycaprolactone*)

PEG – polietilen glikol

PGA – poliglikolna kiselina (engl. *polyglycolic acid*)

$pK_a$  – negativni logaritam konstante disocijacije kiseline

PLA – polilaktična kiselina (engl. *polylactic acid*)

PLGA – kopolimer laktične i glikolne kiseline (engl. *poly(lactic-co-glycolic acid)*)

SNF – simulirani nosni fluid (engl. *simulated nasal fluid*)

TTP – natrijev tripolifosfat (engl. *tripolyphosphate*)

UK – Ujedinjeno Kraljevstvo

$\beta$  – beta

$\rho_{\text{bulk}}$  – nasipna gustoća prije potresivanja

$\rho_{\text{tapped}}$  – nasipna gustoća nakon potresivanja

## 7. LITERATURA

Agrawal M, Saraf S, Saraf S, Antimisiaris SG, Chougule MB, Shoyele SA, Alexander A. Nose-to-brain drug delivery: An update on clinical challenges and progress towards approval of anti-Alzheimer drugs. *J Controlled Release*, 2018, 281, 139–177.

Akbarbaglu Z, Peighambaroust SH, Sarabandi K, Jafari SM. Spray drying encapsulation of bioactive compounds within protein-based carriers; different options and applications. *Food Chem*, 2021, 359, 129965.

Atri A. The Alzheimer's Disease Clinical Spectrum. *Med Clin North Am*, 2019, 103(2), 263–293.

Aulton ME, Taylor K. Aulton's pharmaceuticals : The design and manufacture of medicines. 5th ed. London: Elsevier, 2018, str. 191.

Aundhia CJ, Raval JA, Patel MM, Shah NV, Chauhan SP, Sailor GU, Javia AR, Mahashwari RA. Spray Drying in the Pharmaceutical Industry – A Review. *Indo Am J Pharm Res*, 2011, 2(1), 125-138

Bartos C, Varga P, Szabó-Révész P, Ambrus R. Physico-Chemical and In Vitro Characterization of Chitosan-Based Microspheres Intended for Nasal Administration. *Pharmaceutics*, 2021, 13(5), 608.

Baza lijekova, 2022., [www.halmed.hr](http://www.halmed.hr), pristupljeno 10.10.2022

Beck-Broichsitter M, Bohr A, Aragão-Santiago L, Klingl A, Kissel T. Formulation and process considerations for the design of sildenafil-loaded polymeric microparticles by vibrational spray-drying. *Pharm Dev Technol*, 2016, 22(6), 691-698.

Bobičanec S, Kobaš M. Mikrosfere s deksametazonom u praškastom inertnom nosaču: karakterizacija farmaceutskog oblika i depozicija u silikonskom modelu nosne šupljine, rad za dodjelu rektorove nagrade Sveučilišta u Zagrebu, 2020

Bowey K, Neufeld RJ. Systemic and Mucosal Delivery of Drugs within Polymeric Microparticles Produced by Spray Drying. *BioDrugs*, 2010, 24(6), 359-377.

Cal K, Sollohub K. Spray Drying Technique. I: Hardware and Process Parameters. *J Pharm Sci*, 2009, 99(2), 575-586.

Casettari L, Illum L. Chitosan in nasal delivery systems for therapeutic drugs. *J Controlled Release*, 2014, 190, 189–200.

Cummings JL, Tong G, Ballard C. Treatment Combinations for Alzheimer's Disease: Current and Future Pharmacotherapy Options. *J Alzheimer's Dis*, 2019, 67(3), 779-794.

Dementia, 2022., [www.who.int](http://www.who.int), pristupljeno 17.10.2022.

European Pharmacopoeia 9.0, Methods of Analysis, Flowability, 01/2008:20916, 2016, 321-322; Powder flow, 01/2010:20936, 2016, 362- 365.

European Medicines Agency. ICH Guideline Q11 on development and manufacture of drug substances (chemical entities and biotechnological/biological entities), European Medicines Agency: London, UK, 2011, 1-27.

European Medicines Agency. Guideline on the pharmaceutical quality of inhalation and nasal products. European Medicines Agency: London, UK, 2006, 1-27.

Erdő F, Bors LA, Farkas D, Bajza Á, Gizurarson S. Evaluation of intranasal delivery route of drug administration for brain targeting. *Brain Res Bull*, 2018, 143, 155-170.

Espinoza LC, Silva-Abreu M, Clares B, Rodríguez-Lagunas MJ, Halbaut L, Cañas M-A, Calpena AC. Formulation Strategies to Improve Nose-to-Brain Delivery of Donepezil. *Pharmaceutics*, 2019, 11(2), 64.

Foo MY, Cheng Y-S, Su W-C, Donovan MD. The Influence of Spray Properties on Intranasal Deposition. *J Aerosol Med*, 2007, 20(4), 495-508.

Forbes B, Bommer R, Goole J, Hellfritsch M, De Kruijf W, Lambert P, Caivano G, Regard A, Schiaretti F, Trenkel M, Vecellio L, Williams G, Sonvico F, Scherließ R. A consensus research agenda for optimising nasal drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv*, 2020, 17(2), 127-132.

Fortuna A, Schindowski K, Sonvico F. Editorial: Intranasal Drug Delivery: Challenges and Opportunities. *Front Pharmacol*, 2022, 13.

Gao M, Shen X, Mao S. Factors influencing drug deposition in the nasal cavity upon delivery via nasal sprays. *J Pharm Investig*, 2020, 50(3), 251-259.

Gavini E, Rassu G, Muzzarelli C, Cossu M, Giunchedi P. Spray-dried microspheres based on methylpyrrolidinone chitosan as new carrier for nasal administration of metoclopramide. *Eur J Pharm Biopharm*, 68(2), 2008, 245-252.

Guerini M, Condrò G, Perugini P. Evaluation of the Mucoadhesive Properties of Chitosan-Based Microstructured Lipid Carrier (CH-MLC). *Pharmaceutics*, 2022, 14(1), 170.

Harikarnpakdee S, Lipipun V, Sutanthavibul N, Ritthidej GC. Spray-dried mucoadhesive microspheres: Preparation and transport through nasal cell monolayer. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2006, 7(1), E79-E88.

Henriques P, Fortuna A, Doktorovová S. Spray dried powders for nasal delivery: Process and formulation considerations. *Eur J Pharm Biopharm*, 2022, 176, 1-20.

Hussein N, Omer H, Ismael A, Albed Alhnan M, Elhissi A, Ahmed W. Spray-dried alginate microparticles for potential intranasal delivery of ropinirole hydrochloride: development, characterization and histopathological evaluation. *Pharm Dev Technol*, 2019, 25(3), 290-299.

Innovation by Design: What Makes Ultrasonic Nozzles Unique?, [www.sono-tek.com](http://www.sono-tek.com), pristupljeno 30.8.2022.

Jain SA, Chauk DS, Mahajan HS, Tekade AR, Gattani SG. Formulation and evaluation of nasal mucoadhesive microspheres of Sumatriptan succinate. *J Microencapsul*, 2009, 26(8), 711-721.

Ji S, Thulstrup PW, Mu H, Hansen SH, van de Weert M, Rantanen J, Yang M. Effect of ethanol as a co-solvent on the aerosol performance and stability of spraydried lysozyme. *Int J Pharm*, 2016, 513(1-2), 175-182.

Kulkarni VS, Shaw C. Miscellaneous Physical, Chemical, and Microbiological Test Methods. Essential Chemistry for Formulators of Semisolid and Liquid Dosages, 2016, 193-221.

Lombardo R, Musumeci T, Carbone C, Pignatello R. Nanotechnologies for intranasal drug delivery: an update of literature. *Pharm Dev Technol*, 2021, 26(8), 824-845.

Miller DA, Ellenberger D, Gil M. Spray-Drying Technology. Formulating Poorly Water Soluble Drugs, 2016, 337-452.

Nagda CD, Chotai NP, Nagda DC, Patel SB, Patel UL. Preparation and Characterization of Spray-Dried Mucoadhesive Microspheres of Ketorolac for Nasal Administration. *Curr Drug Deliv*, 2012, 9(2), 205-218.

Nižić L, Keser S, Duvnjak Romić M, Hafner A. Utjecaj parametara sušenja raspršivanjem na svojstva alginatnih mikročestica. *Farm glasnik*, 2018, 74(9), 619-632.

Nižić L, Potaš J, Winnicka K, Szekalska M, Erak I, Gretić M, Jug M, Hafner A. Development, characterisation and nasal deposition of melatonin-loaded pectin/hypromellose microspheres. *Eur J Pharm Sci*, 2020, 141, 105115.

Nižić Nodilo L, Ugrina I, Špoljarić D, Amidžić Klarić D, Jakobušić Brala C, Perkušić M, Pepić I, Lovrić J, Saršon V, Safundžić Kučuk M, Zadavec D, Kalogjera L, Hafner A. A Dry Powder Platform for Nose-to-Brain Delivery of Dexamethasone: Formulation Development and Nasal Deposition Studies. *Pharmaceutics*, 2021, 13(6), 795.

Pardeshi CV, Rajput PV, Belgamwar VS, Tekade AR. Formulation, optimization and evaluation of spray-dried mucoadhesive microspheres as intranasal carriers for Valsartan. *J Microencapsul*, 2012, 29(2), 103-114.

Perkušić M, Nižić Nodilo L, Ugrina I, Špoljarić D, Jakobušić Brala C, Pepić I, Lovrić J, Matijašić G, Gretić M, Zadavec D, Kalogjera L, Hafner A. Tailoring functional spray-dried powder platform for efficient donepezil nose-to-brain delivery. *Int J Pharm*, 2022a, 624, 122038.

Perkušić M, Nižić Nodilo L, Ugrina I, Špoljarić D, Jakobušić Brala C, Pepić I, Zadavec D, Kalogjera L, Hafner A. Development of nasal donepezil powder platform employing statistical design, *FIGON & EUFEPS European Medicines Days 2022 Book of Abstracts*, Leiden, Nizozemska, 2022b, 60.

Perkušić M, Nižić Nodilo L, Pepić I, Jakobušić Brala C, Gretić M, Zadavec D, Kalogjera L, Hafner A. Formulation parameters in the development of powder platform for donepezil hydrochloride nasal delivery. *Proceedings 13th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology*, Gdanjsk, Poljska, 2021, 98.

Pires A, Fortuna A, Alves G, Falcão A. Intranasal drug delivery: how, why and what for? *J Pharm Sci*, 2009, 12(3), 288-311.



Rathananand M, Kumar DS, Shirwaikar A, Kumar R, Sampath Kumar D, Prasad RS. Preparation of mucoadhesive microspheres for nasal delivery by spray drying. *Indian J Pharm Sci*, 2007, 69, 651-657.

Ruphuy G, Saloň I, Tomas J, Šalamúnová P, Hanuš J, Štěpánek F. Encapsulation of poorly soluble drugs in yeast glucan particles by spray drying improves dispersion and dissolution properties. *Int J Pharm*, 2020, 576, 118990.

Russo P, Sacchetti C, Pasquali I, Bettini R, Massimo G, Colombo P, Rossi A. Primary Microparticles and Agglomerates of Morphine for Nasal Insufflation. *J Pharm Sci*, 2006, 95(12), 2553-2561.

Sacchetti C, Artusi M, Santi P, Colombo P. Caffeine microparticles for nasal administration obtained by spray drying. *Int J Pharm*, 2002, 242(1-2), 335-339.

Saha T, Sinha S, Harfoot R, Quiñones-Mateu ME, Das SC. Manipulation of Spray-Drying Conditions to Develop an Inhalable Ivermectin Dry Powder. *Pharmaceutics*, 2022, 14(7), 1432.

Salade L, Wauthoz N, Vermeersch M, Amighi K, Goole J. Chitosan-coated liposome dry-powder formulations loaded with ghrelin for nose-to-brain delivery. *Eur J Pharm Biopharm*, 2018, 129, 257-266.

Schaefer J, Lee G. Making large, flowable particles of protein or disaccharide in a mini-scale spray dryer. *Pharm Dev Technol*, 2015, 1-9.

Schwarz B, Merkel OM. Nose-to-brain delivery of biologics. *Ther Deliv*, 2019, 10(4), 207-210.

Singh A, Van den Mooter G. Spray drying formulation of amorphous solid dispersions. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 100, 27-50.

Sogias IA, Williams AC, Khutoryanskiy VV. Why is Chitosan Mucoadhesive? *Biomacromolecules*, 2008, 9(7), 1837-1842.

Sosnik A, Seremeta KP. Advantages and challenges of the spray-drying technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers. *Adv Colloid Interface Sci*, 2015, 223, 40-54.

Sun Y, Cui F, Shi K, Wang J, Niu M, Ma R. The Effect of Chitosan Molecular Weight on the Characteristics of Spray-Dried Methotrexate-Loaded Chitosan Microspheres for Nasal Administration. *Drug Dev Ind*, 2009, 35(3), 379-386.

Tatar Turan F, Cengiz A, Sandıkçı D, Dervisoglu M, Kahyaoglu T. Influence of an ultrasonic nozzle in spray-drying and storage on the properties of blueberry powder and microcapsules. *J Sci Food Agric*, 2016, 96(12), 4062-4076.

Tatar Turan F, Kahyaoglu T. The effect of an ultrasonic spray nozzle on carbohydrate and protein-based coating materials for blueberry extract microencapsulation. *J Sci Food Agric*, 2020, 101(1), 120-130. doi:10.1002/jsfa.10622.

Tiozzo Fasiolo L, Manniello MD, Tratta E, Buttini F, Rossi A, Sonvico F, Bortolotti F, Russo P, Colombo G. Opportunity and challenges of nasal powders: Drug formulation and delivery. *Eur J Pharm Sci*, 2018, 113, 2-17.

Training Papers Spray Drying, Buchi Labortechnik AG, Switzerland, [www.buchi.com](http://www.buchi.com), pristupljeno 15.9.2022.

Trenkel M, Scherließ R. Nasal Powder Formulations: In-Vitro Characterisation of the Impact of Powders on Nasal Residence Time and Sensory Effects. *Pharmaceutics*, 2021, 13(3), 385.

von Mentzer B, Russo AF, Zhang Z, Kuburas A, Killoran PM, D'Aloisio V, Nizic L, Capel V, Kendall DA, Coxon CR, Hutcheon GA. A CGRP receptor antagonist peptide formulated for nasal administration to treat migraine. *J Pharm Pharmacol*, 2020, 72(10), 1352-1360.

Walton DE, Mumford CJ. Spray Dried Products—Characterization of Particle Morphology. *Chem Eng Res Des*, 1999, 77(1), 21-38.

Wang S, Sun Y, Zhang J, Cui X, Xu Z, Ding D, Zhao L, Li W, Zhang W. Astragalus Polysaccharides/Chitosan Microspheres for Nasal Delivery: Preparation, Optimization, Characterization, and Pharmacodynamics. *Front pharmacol*, 2020, 11.

Wang Z, Xiong G, Tsang WC, Schätzlein AG, Uchegbu IF. (2019). Nose-to-Brain Delivery. *J Pharmacol Exp Ther*, 2019, 370(3), 593-601.

Zhang X, Rao Q, Qiu Z, Lin Y, Zhang L, Hu Q, Chen T, Ma Z, Gao H, Luo D, Zhao J, Ouyang D, Zhang ZJ, Li Q. Using Acetone/Water Binary Solvent to Enhance the Stability and

Bioavailability of Spray Dried Enzalutamide/HPMC-AS Solid Dispersions. *J Pharm Sci*, 2020, 110(3), 1160-1171.

Ziaee A, Albadarin AB, Padrela L, Femmer T, O'Reilly E, Walker G. Spray drying of pharmaceuticals and biopharmaceuticals: Critical parameters and experimental process optimization approaches. *Eur J Pharm Sci*, 2019, 127, 300-318.

Ziaee A, Albadarin AB, Padrela L, Faucher A, O'Reilly E, Walker G. Spray drying ternary amorphous solid dispersions of ibuprofen – An investigation into critical formulation and processing parameters. *Eur J Pharm Biopharm*, 2017, 120, 43-51.

## 8. SAŽETAK/SUMMARY

Metoda sušenja raspršivanjem pogodna je za pripremu praškastih sustava za nazalnu primjenu zbog mogućnosti optimizacije procesnih i formulacijskih parametara te pripreve produkta željenih svojstava. Zbog svojih prednosti, nazalni put primjene lijekova sve se više istražuje te se potiču daljnja istraživanja kritičnih atributa kvalitete nazalnih formulacija lijeka kako bi se osigurala optimalna primjena i učinkovitost.

Cilj ovog diplomskog rada bio je pripremiti mikrosfere s donepezilom za nazalnu primjenu metodom sušenja raspršivanjem te ispitati ovisnost fizičko-kemijskih svojstava mikrosfera o ulaznoj temperaturi u proizvodnom procesu. Mikrosfere s donepezilom uspješno su pripravljene sušenjem raspršivanjem otopine donepezila (0,4 %,  $m/V$ ), manitola (6,0 %,  $m/V$ ) i kitozana (1,5 %,  $m/V$ ) pri ulaznoj temperaturi od 110, 125, 140 i 155 °C, snazi sapnice od 65 %, radu aspiratora od 100 %, radu pumpe od 10 % te protoku zraka od 35 %. Iskorištenje procesa iznosilo je 54,5 – 66,0 %. Postignuta je visoka uspješnost uklapanja donepezila u rasponu  $97,5 \pm 2,6$  –  $99,4 \pm 2,0$  % te je sadržaj lijeka ( $4,94 \pm 0,13$  –  $5,03 \pm 0,10$  %) bio blizu teorijske vrijednosti (5,06 %). Volumni promjeri  $D_{v10}$ ,  $D_{v50}$  i  $D_{v90}$  bili su redom u rasponima  $7,3 \pm 0,5$  –  $9,9 \pm 1,4$   $\mu\text{m}$ ,  $26,3 \pm 0,9$  –  $35,7 \pm 1,6$   $\mu\text{m}$  i  $60,3 \pm 0,7$  –  $72,7 \pm 1,1$   $\mu\text{m}$ . Povećanje ulazne temperature zraka za sušenje rezultiralo je povećanjem iskorištenja procesa (do 140 °C), smanjenjem veličine mikrosfera s donepezilom i poboljšanjem svojstava tečenja. Za sve pripravljene mikrosfere s donepezilom i neovisno o ulaznoj temperaturi u procesu sušenja, kut raspršenja ( $17,5 \pm 1,7$  –  $19,2 \pm 0,2$  °) i ostatak mikrosfera u kapsuli nakon raspršivanja ( $0,0 \pm 0,0$  –  $2,0 \pm 0,7$  % nominalne doze) pokazuju potencijal za učinkovitu dostavu adekvatne doze donepezila u nosnu šupljinu.

Spray drying presents a suitable method for the preparation of nasal powder formulations offering the possibility of optimizing process and formulation parameters to gain the product with desired properties. Nasal route of drug delivery is being increasingly investigated due to its recognized advantages, thus further research of critical quality attributes of nasal drug formulations is encouraged to ensure optimal drug administration and efficacy.

The aim of this study was to prepare spray-dried microspheres for nasal donepezil delivery and to investigate the influence of inlet air temperature in the production process on the physico-chemical properties of the microspheres. Donepezil-loaded microspheres were successfully prepared by spray drying of a donepezil (0.4%, *m/V*), mannitol (6.0%, *m/V*) and chitosan (1.5%, *m/V*) solution at inlet temperature of 110, 125, 140 and 155 °C, nozzle power of 65 %, aspirator rate of 100 %, pump rate of 10 % and air flow of 35 %. The process yield ranged between 54.5 and 66.0 %. Drug entrapment efficiency was high ( $97.5 \pm 2.6 - 99.4 \pm 2.0$  %) and drug loading ( $4.94 \pm 0.13 - 5.03 \pm 0.10$  %) was close to the theoretical value (5.06 %). Volume diameters  $D_{v10}$ ,  $D_{v50}$  and  $D_{v90}$  ranged from  $7.3 \pm 0.5$  to  $9.9 \pm 1.4$   $\mu\text{m}$ ,  $26.3 \pm 0.9$  to  $35.7 \pm 1.6$   $\mu\text{m}$  and  $60.3 \pm 0.7$  to  $72.7 \pm 1.1$   $\mu\text{m}$ , respectively. Increase of the inlet air temperature resulted with an increase in process yield (up to 140 °C), a reduction in size distribution of donepezil-loaded microspheres and an improvement of flow properties. For all donepezil-loaded microspheres, regardless of inlet-air temperature in the production process, spray cone angle ( $17.5 \pm 1.7 - 19.2 \pm 0.2$  °) and percentage of microspheres retained within the capsule upon aerosolization ( $0.0 \pm 0.0 - 2.0 \pm 0.7$  % of the nominal dose) indicate the potential for effective delivery of adequate donepezil dose to the nasal cavity.

## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Studij: Farmacija  
Zavod za farmaceutsku tehnologiju  
Ulica kneza Domagoja 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

### UTJECAJ ULAZNE TEMPERATURE NA SVOJSTVA MIKROSFERA S DONEPEZILOM PRIPRAVLJENIH SUŠENJEM RASPRŠIVANJEM

Tea Dvorski

#### SAŽETAK

Metoda sušenja raspršivanjem pogodna je za pripremu praškastih sustava za nazalnu primjenu zbog mogućnosti optimizacije procesnih i formulacijskih parametara te pripreme produkta željenih svojstava. Zbog svojih prednosti, nazalni put primjene lijekova sve se više istražuje te se potiču daljnja istraživanja kritičnih atributa kvalitete nazalnih formulacija lijeka kako bi se osigurala optimalna primjena i učinkovitost.

Cilj ovog diplomskog rada bio je pripremiti mikrosfere s donepezilom za nazalnu primjenu metodom sušenja raspršivanjem te ispitati ovisnost fizičko-kemijskih svojstava mikrosfera o ulaznoj temperaturi u proizvodnom procesu. Mikrosfere s donepezilom uspješno su pripravljene sušenjem raspršivanjem otopine donepezila (0,4 %,  $m/V$ ), manitola (6,0 %,  $m/V$ ) i kitozana (1,5 %,  $m/V$ ) pri ulaznoj temperaturi od 110, 125, 140 i 155 °C, snazi sapnice od 65 %, radu aspiratora od 100 %, radu pumpe od 10 % te protoku zraka od 35 %. Iskorištenje procesa iznosilo je 54,5 – 66,0 %. Postignuta je visoka uspješnost uklapanja donepezila u rasponu  $97,5 \pm 2,6$  –  $99,4 \pm 2,0$  % te je sadržaj lijeka ( $4,94 \pm 0,13$  –  $5,03 \pm 0,10$  %) bio blizu teorijske vrijednosti (5,06 %). Volumni promjeri  $D_{v,10}$ ,  $D_{v,50}$  i  $D_{v,90}$  bili su redom u rasponima  $7,3 \pm 0,5$  –  $9,9 \pm 1,4$   $\mu\text{m}$ ,  $26,3 \pm 0,9$  –  $35,7 \pm 1,6$   $\mu\text{m}$  i  $60,3 \pm 0,7$  –  $72,7 \pm 1,1$   $\mu\text{m}$ . Povećanje ulazne temperature zraka za sušenje rezultiralo je povećanjem iskorištenja procesa (do 140 °C), smanjenjem veličine mikrosfera s donepezilom i poboljšanjem svojstava tečenja. Za sve pripravljene mikrosfere s donepezilom i neovisno o ulaznoj temperaturi u procesu sušenja, kut raspršenja ( $17,5 \pm 1,7$  –  $19,2 \pm 0,2$  °) i ostatak mikrosfera u kapsuli nakon raspršivanja ( $0,0 \pm 0,0$  –  $2,0 \pm 0,7$  % nominalne doze) pokazuju potencijal za učinkovitu dostavu adekvatne doze donepezila u nosnu šupljinu.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 40 stranica, 5 grafičkih prikaza, 5 tablica i 67 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Nazalna primjena, donepezil, mikrosfere, ulazna temperatura, metoda sušenja raspršivanjem

Mentor: **Dr. sc. Anita Hafner**, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Anita Hafner**, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

**Dr. sc. Maja Ortner Hadžiabdić**, izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

**Dr. sc. Bisera Jurišić Dukovski**, asistentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: listopad 2022.

## Basic documentation card

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
Study: Pharmacy  
Department of Pharmaceutical Technology  
Ulica kneza Domagoja 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

### INFLUENCE OF THE INLET TEMPERATURE ON THE PROPERTIES OF THE SPRAY-DRIED DONEPEZIL-LOADED MICROSPHERES

Tea Dvorski

#### SUMMARY

Spray drying presents a suitable method for the preparation of nasal powder formulations offering the possibility of optimizing process and formulation parameters to gain the product with desired properties. Nasal route of drug delivery is being increasingly investigated due to its recognized advantages, thus further research of critical quality attributes of nasal drug formulations is encouraged to ensure optimal drug administration and efficacy.

The aim of this study was to prepare spray-dried microspheres for nasal donepezil delivery and to investigate the influence of inlet air temperature in the production process on the physico-chemical properties of the microspheres. Donepezil-loaded microspheres were successfully prepared by spray drying of a donepezil (0.4%, *m/V*), mannitol (6.0%, *m/V*) and chitosan (1.5%, *m/V*) solution at inlet temperature of 110, 125, 140 and 155 °C, nozzle power of 65 %, aspirator rate of 100 %, pump rate of 10 % and air flow of 35 %. The process yield ranged between 54.5 and 66.0 %. Drug entrapment efficiency was high ( $97.5 \pm 2.6 - 99.4 \pm 2.0$  %) and drug loading ( $4.94 \pm 0.13 - 5.03 \pm 0.10$  %) was close to the theoretical value (5.06 %). Volume diameters  $D_{v10}$ ,  $D_{v50}$  and  $D_{v90}$  ranged from  $7.3 \pm 0.5$  to  $9.9 \pm 1.4$   $\mu\text{m}$ ,  $26.3 \pm 0.9$  to  $35.7 \pm 1.6$   $\mu\text{m}$  and  $60.3 \pm 0.7$  to  $72.7 \pm 1.1$   $\mu\text{m}$ , respectively. Increase of the inlet air temperature resulted with an increase in process yield (up to 140 °C), a reduction in size distribution of donepezil-loaded microspheres and an improvement of flow properties. For all donepezil-loaded microspheres, regardless of inlet-air temperature in the production process, spray cone angle ( $17.5 \pm 1.7 - 19.2 \pm 0.2$  °) and percentage of microspheres retained within the capsule upon aerosolization ( $0.0 \pm 0.0 - 2.0 \pm 0.7$  % of the nominal dose) indicate the potential for effective delivery of adequate donepezil dose to the nasal cavity.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 40 pages, 5 figures, 5 tables and 67 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Nasal drug administration, donepezil, microspheres, inlet temperature, spray drying

Mentor: **Anita Hafner, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Anita Hafner, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

**Maja Ortner Hadžiabdić, Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

**Bisera Jurišić Dukovski, Ph.D.** *Assistant*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: October 2022.