

Mehanokemijska sinteza i karakterizacija inkluzijskog kompleksa loratadina i hidrokisipropil- β -ciklodekstrina

Cader, Mateja

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:536794>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-14**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO - MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Mateja Cader

**Mehanokemijska sinteza i karakterizacija
inkluzijskog kompleksa loratadina i
hidroksipropil- β -ciklodekstrina**

Diplomski rad

predložen Kemijskom odsjeku
Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu
radi stjecanja akademskog zvanja
magistre kemije

Zagreb, 2024. godina

Ovaj diplomski rad izrađen je u Zavodu za analitičku kemiju i Zavodu za anorgansku kemiju
Kemijskog odsjeka Prirodoslovno- matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod
mentorstvom prof. dr. sc. Nives Galić i izv. prof. dr. sc. Dominik Cinčić i neposrednim
voditeljstvom mag. chem. Marijane Pocrnić, i mag. chem. Lidije Posavec.

Zahvale

Zahvaljujem se prof. dr. sc. Dominik Cinčić na prilikama koje mi je pružio tijekom studija. Na entuzijazmu za moj angažman, inicijativi prilikom određivanja tematike mog diplomskog rada i svim savjetima, korekcijama te potpori tijekom pisanja istog. Zahvale prof. dr. sc. Galić na njenoj pristupačnosti, vremenu i znanju prenesenom tijekom pisanja ovog diplomskog rada. Hvala mojoj neposrednoj voditeljici Lidiji Posavec što je uvijek bila dostupna za moje sitne (i ne tako sitne) upite, za ugodne razgovore tijekom snimanja DSC-ova i na svoj pozitivi koju je unijela u pisanje ovog rada, kao i mojoj neposrednoj voditeljici Marijani Pocrnić za svo vrijeme uloženo u ispravljanje mog rada.

Također bi se htjela zahvaliti izv. prof. dr. sc. Jani Pisk što mi je pružila priliku za odlazak na Erasmus+ stručnu praksu i teti tehničarki Ljubici što me tako spontano prihvatila u labosu 115 tijekom pripreme kompleksa. Jedno veliko hvala mojoj Josipi što mi je bila motivacija i podrška tijekom cijelog diplomskog studija i studentske razmjene.

Hvala svim kolegama i prijateljima na ugodnom društvu tijekom ovih studentskih godina, za sve te male svakodnevne interakcije na dvosjedima, pred automatima za kavu, šetnjama niz brdo, organizacijama i tulumima.

Hvala mom Daliboru što je savršena protuteža mojoj impulzivnoj idealističnoj prirodi, što me uvijek zna smiriti i nasmijati te što je vjerovao u mene i kad ja nisam vjerovala u sebe.

Najveće hvala mojoj obitelji na svom strpljenju i blagosti tijekom mog studija, što su me podržavali u mojim odlukama i za njihov ponos na sve moje male i velike pobjede.

Sadržaj

| | |
|--|-------------|
| SAŽETAK | IX |
| ABSTRACT | XI |
| § 1. UVOD | 1 |
| § 2. LITERATURNI PREGLED | 3 |
| 2.1. Poboljšanje topljivosti slabo topivih lijekova | 3 |
| 2.1.1. <i>Poboljšanje topljivosti pripravom soli i kokristala aktivnih tvari</i> | 5 |
| 2.1.2. <i>Poboljšanje topljivosti kompleksiranjem molekula nosača i gosta</i> | 6 |
| 2.2. Ciklodekstrini | 6 |
| 2.2.1. <i>Priprema inkluzijskih kompleksa ciklodekstrina</i> | 8 |
| 2.2.2. <i>Mehanokemijska priprema</i> | 8 |
| 2.2.3. <i>Mehanokemijska priprema kompleksa ciklodekstrina</i> | 10 |
| 2.3. Karakterizacija inkluzijskih kompleksa u čvrstom stanju | 11 |
| 2.3.1. <i>Metode termičke analize</i> | 11 |
| 2.3.2. <i>Metode difrakcije rendgenskog zračenja</i> | 13 |
| 2.3.3. <i>Spektroskopske metode</i> | 14 |
| 2.3.4. <i>Skenirajuća elektronska mikroskopija</i> | 16 |
| 2.4. Loratadin | 17 |
| 2.4.1. <i>Priprema i karakterizacija kompleksa loratadina i ciklodekstrina</i> | 17 |
| § 3. EKSPERIMENTALNI DIO | 21 |
| 3.1. Materijali | 21 |
| 3.2. Instrumentne metode | 21 |
| 3.3. Priprema uzoraka loratadina i HPβCD | 22 |
| 3.4. Priprema uzoraka za analizu poboljšanja topljivosti | 23 |
| § 4. REZULTATI I RASPRAVA | 26 |
| 4.1. Karakterizacija uzoraka u čvrstom stanju | 26 |
| 4.1.1. <i>Mljevenje bez dodatka tekućine</i> | 26 |
| 4.1.2. <i>Mljevenje potpomognuto tekućinom</i> | 29 |
| 4.1.3. <i>Kristalnost uzoraka</i> | 32 |
| 4.2. Određivanje topljivosti uzoraka | 33 |
| § 5. ZAKLJUČAK | 35 |
| § 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA | 36 |
| § 7. LITERATURNI IZVORI | 37 |
| § 8. DODATAK | XIII |

§ 9. ŽIVOTOPIS XXIX



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno- matematički fakultet
Kemijski odsjek

Diplomski rad

SAŽETAK

MEHANOKEMIJSKA SINTEZA I KARAKTERIZACIJA INKLUZIJSKOG KOMPLEKSA LORATADINA I HIDROKSIPROPIL- β -CIKLODEKSTRINA

Mateja Cader

Loratadin (LOR) je antihistaminik niske topljivosti. Međutim, poznato je da mu se topljivost povećava kompleksiranjem s ciklodekstrinima. U ovom radu ispitana je mogućnost pripreve inkluzijskog kompleksa loratadina i (2-hidroksipropil)- β -ciklodekstrina mljevenjem u mlinu bez i uz dodatak male količine organskog otapala, te u različitim stehiometrijskim omjerima loratadina i ciklodekstrina. Pripremljeni uzorci analizirani su infracrvenom spektroskopijom, razlikovnom pretražnom kalorimetrijom i difrakcijom rendgenskog zračenja na praškastom uzorku. Dobivenim produktima i čistom loratadinu određena je topljivost u vodi i biorelevantnim medijima (pH 4,5 i 6,8) UV/VIS spektroskopijom i tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti.

(39 + xxx stranica, 11 slika, 5 tablica, 49 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj kemijskoj knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Horvatovac 102a, Zagreb i Repozitoriju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Ključne riječi: ciklodekstrini, inkluzijski kompleksi, loratadin, mehanokemijska aktivacija, topljivost.

Mentori: prof. dr. sc. Nives Galić i prof. dr. sc. Dominik Cinčić

Neposredni voditelji: Marijana Pocrnić, mag. chem. i Lidija Posavec, mag. chem.

Ocjenitelji:

doc. dr. sc. Nikola Cindro

izv. prof. dr. sc. Nikola Bregović

Zamjena: izv. prof. dr. sc. Vladimir Stilinović

Datum diplomskog ispita: 16.2.2024.



University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Chemistry

Diploma Thesis

ABSTRACT

MECHANOCHEMICAL SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF HYDROXYPROPYL- β -CYCLODEXTRIN INCLUSION COMPLEX WITH LORATADINE

Mateja Cader

Loratadine (LOR) is a low-solubility antihistamine. However, it is known that its solubility increases through complexation with cyclodextrins.

In this study, the possibility of preparing an inclusion complex of loratadine and (2-hydroxypropyl)- β -cyclodextrin was examined by grinding in a mill with and without the addition of a small amount of organic solvent, and in various stoichiometric ratios of loratadine and cyclodextrin. The prepared samples were analysed by infrared spectroscopy, differential scanning calorimetry, and X-ray powder diffraction. The solubility of the obtained products and pure loratadine was determined in water and biorelevant media (pH 4.5 and 6.8) using UV/VIS spectroscopy and high-performance liquid chromatography.

(39 + xxx pages, 11 figures, 5 tables, 49 references, original in Croatian)

Thesis deposited in Central Chemical Library, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, Zagreb, Croatia and in Repository of the Faculty of Science, University of Zagreb

Keywords; Cyclodextrins, complex characterization, inclusion complexes, loratadine, mechanochemical synthesis, solubility.

Mentors: Dr. Nives Galić, Professor and Dr. Dominik Cinčić, Professor
Assistant mentors: Marijana Pocrnić, mag. chem. i Lidija Posavec, mag. chem.

Reviewers:

1. Dr. Nikola Cindro, Assistant Professor
2. Dr. Nikola Bregović, Associate Professor
3. Substitute: Dr. Vladimir Stilinović, Associate Professor

Date of exam: 16.2.2024.

§ 1. UVOD

Prema IUPAC-ovoj zlatnoj knjizi topljivost je definirana kao analitički sastav zasićene otopine izražen u omjeru određenog otapala i određene otopljene tvari te se može izraziti fizikalnim veličinama kao što su koncentracija, molalnost, množinski udio, množinski omjer i drugih.¹ Kompleksiranje je metoda koja koristi nosače lijeka kako bi se prevladala inherentna ograničenja topljivosti aktivnih farmakoloških tvari. Ovaj proces temeljen je na uspostavi međumolekulskih interakcija (vodikovih veza, elektrostatskih interakcija, hidrofobnih interakcija i Van der Waalsovih interakcija) između aktivne tvari i liganda od interesa. Ograničena topljivost prirodnih oblika aktivnih tvari predstavlja ključnu prepreku u razvoju novih farmaceutskih pripravaka, što značajno utječe na uspješnost kliničkih istraživanja i terapijskih učinaka lijekova. Nedostatak topljivosti zahtijeva visoke koncentracije aktivnih tvari unutar farmaceutskih formulacija što zauzvrat negativno utječe na procese apsorpcije, biodostupnosti i terapijske djelotvornosti.^{2,3}

Loratadin (LOR) je aktivna tvar lijeka pod nazivom Claritine® koji se koristi za liječenje alergijskih reakcija te pripada drugoj generaciji antihistaminskih lijekova. Loratadin djeluje kao blokator histaminskih H1 receptora što znači da sprječava simptome koji se javljaju kao posljedica histaminske aktivnosti. Razlikuje se od ostalih antihistaminika time što ne uzrokuje pospanost.⁴⁻⁶

Ciklodekstrini (CD) su ciklički oligosaharidi sastavljeni od glukopiranoznih jedinica koje su povezane α -1,4-glikozidnom vezom⁷. Kompleksiranjem s ciklodekstrinom poboljšavaju se fizikalno-kemijska svojstva aktivnih tvari, njihova topljivost i biodostupnost, bez izazivanja kemijskih promjena tj. bez cijepanja ili nastajanja kemijskih veza unutar same molekule gosta. Kompleksi ciklodekstrina i aktivnih molekula su u dinamičkoj ravnoteži u otopini, što rezultira otpuštanjem ciljanih molekula razrjeđivanjem ili prisutnošću konkurentnih inkluzijskih molekula.^{7,8}

Mehanokemijske reakcije obuhvaćaju reakcije u čvrstom stanju i inducirane su primjenom mehaničke energije⁹ te su kao takve pronašle primjenu u različitim sferama od kristalnog inženjerstva materijala do nanotehnologije.¹⁰

Sve češća primjena mehanokemijske sinteze leži u uspješnosti stvaranja metal-ligand koordinacijskih veza kao i nekovalentnih interakcija poput vodikovih veza, halogenskih veza, $\pi \cdots \pi$ interakcija aromatskih sustava, itd.¹¹

Cilj ovog rada je istražiti mogućnost pripreme kompleksa loratadina i 2-hidroksipropil- β -ciklodekstrina mehanokemijskim pristupom te ispitati dolazi li do povećanja topljivosti loratadina pripremom njegovih inkluzijskih kompleksa sa 2-hidroksipropil- β -ciklodekstrinom u različitim stehiometrijskim omjerima (1:1, 1:2, 1:3, 1:5, 2:1, 3:1, 5:1) sa i bez dodatka substehiometrijskih količina tekućine. Uzorci pripremljeni mljevenjem u visokoenergijskom mlinu analizirat će se tehnikama diferencijalne pretražne kalorimetrije, infracrvene spektroskopije i difrakcije rendgenskog zračenja na praškastom uzorku. Topljivost loratadina u pripremljenim uzorcima ispitat će se u vodi i u simuliranim biorelevantnim medijima (simulirani intestinalni i simulirani duodenalni medij), a koncentracija otopljenog loratadina odredit će se prethodno validiranim metodama UV-Vis spektroskopije i tekućinske kromatografije visokog razlučivanja.

§ 2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Poboljšanje topljivosti slabo topivih lijekova

Prema IUPAC-ovoj zlatnoj knjizi topljivost je definirana kao analitički sastav zasićene otopine izražen u omjeru određenog otapala i određene otopljene tvari te se može izraziti fizikalnim veličinama kao što su koncentracija, molalnost, množinski udio, množinski omjer itd.¹ Ključna prepreka koja značajno utječe na ishode kliničkih istraživanja prirodnih oblika aktivnih tvari, tj. oblika tvari koji ostvaruje terapijski učinak na određenu tegobu neovisno o njegovim svojstvima i nuspojavama, jest ograničena topljivost istih.¹ Slaba topljivost također direktno rezultira lošom apsorpcijom lijeka što je uzrok smanjene biodostupnosti i farmakološke učinkovitosti. Postizanje željenog farmakološkog učinka aktivnih tvari koje su slabo topljive zahtijeva visoke koncentracije istih u formulaciji lijeka. Time se osigurava postizanje potrebne koncentracije lijeka na određenom mjestu djelovanja u odgovarajućem vremenskom okviru. Slaba topljivost direktno rezultira niskom apsorpcijom lijeka, što dalje dovodi do smanjene biodostupnosti i farmakološke učinkovitosti.²

Faktori koji utječu na topljivost bilo koje tvari su njezina fizikalna i kemijska svojstva. Fizikalna svojstva uključuju molekulsku masu, veličinu i oblik čestica te unutarnju strukturu tj. amorfnost ili kristalnost tvari, dok kemijska svojstva obuhvaćaju strukturu molekule i prisutnost određenih funkcijskih skupina. Osim samih svojstava tvari važno je razmotriti i faktore povezane s otapalom poput polarnosti, dielektrične konstante, pH vrijednosti te uvjete otapanja kao što su temperatura i tlak.¹² Dodatak surfaktanta i stabilizatora ima pozitivan utjecaj na topljivost tvari jer smanjuju površinski ili međupovršinski potencijal otapala tj. razliku u potencijalu koja se javlja između površine tvari i otapala ili na granici dvaju otapala.^{13,14} Amorfni spojevi pokazuju veću topljivost u vodi u usporedbi s kristalnim tvarima, dok kristalne tvari mogu postojati u različitim polimorfnim oblicima koji se međusobno razlikuju po svojoj

¹ Da bi se postigao željeni farmakološki učinak kod slabo topljivih aktivnih tvari nužne su velike količine dotičnih tvari u formulaciji lijeka kako bi se u odgovarajućem vremenu na mjestu djelovanja lijeka uspostavila njegova nužna koncentracija.

topljivosti.³ Sve ove karakteristike treba uzeti u obzir prilikom proučavanja topljivosti tvari i razvoja strategija za poboljšanje njihove biodostupnosti.

U svrhu poboljšanja topljivosti razvijene su različite metode koje uključuju fizikalne i kemijska ugađanja, priprava soli, kokristala i te inkluzijskih kompleksa. Odabir pristupa poboljšanju topljivosti temelji se na fizikalno-kemijskim svojstvima lijeka i konačnog izbora oblika doziranja.¹⁵

Fizikalne modifikacije tvari uključuju kontrolu veličine čestica i dizajn kristalnih struktura primjenom načela kristalnog inženjerstva. Procesi smanjenja veličine čestica omogućuju proizvodnju čestica prilagođenih morfoloških karakteristika i velike specifične aktivne površine čime povećavaju topljivost, a time i biodostupnost aktivne tvari. Dotični procesi lako se skaliraju na nivo industrijske proizvodnje.¹⁶ Topljivost također ovisi o količini tvari potrebnoj za stvaranje prezasićene otopine, koja je uvjetovana kemijskom prirodom spoja, te težnji usitnjenih čestica tvari da aglomeriraju.^{2,17} Kemijska modifikacija lijeka obuhvaća široki raspon reakcija uključujući reakcije ciljanih molekula, nositelja ili aktivne tvari, čiji je produkt molekula od interesa sa nadodanom ili uklonjenom funkcijskom skupinom optimalnije pH vrijednosti (kiselinsko-bazna ravnoteža) i hidrofilno-hidrofobne ravnoteže.¹⁸ Kada govorimo o poboljšanju topljivosti upotrebom nosača lijeka primjenjuju se tehnike poput kompleksiranja, stvaranja čvrstih disperzija, micelarnih sustava i samoemulgirajućih sustava dostave.²

2.1.1. Poboljšanje topljivosti pripremom soli i kokristala aktivnih tvari

Molekulski kristali predstavljaju uređene krutine čija stabilnost i struktura proizlaze iz kompleksne mreže međumolekulskih interakcija. Prema svom sastavu dijele na jednokomponentne i višekomponentne sustave. Jednokomponentni molekulski kristali sastoje se isključivo od jedne vrste molekula koje su organizirane u specifične motive poput lanaca, slojeva ili mreža. Njihova struktura i svojstva proizlaze iz međumolekulskih interakcija ostvarenih između istovrsnih molekula. Višekomponentni molekulski sustavi obuhvaćaju kristale sastavljene od dvije ili više različitih vrsta molekula te ih je moguće je razdijeliti na solvate, kokristale i soli. Ova raznolikost sastava dovodi do složenijih međumolekulskih interakcija tako utjecajući na krajnju strukturu i svojstva kristala.¹⁹

Kokristal je tvar koja u svojoj kristalnoj strukturi sadrži dvije ili više neutralnih molekula (koformera) uz uvjet da svaki od tih spojeva kristalizira zasebno.²⁰ Kristalna struktura kokristala razlikuje se od struktura koformera koji ga sačinjavaju. Ova razlika odražava se ne samo u unutarnjoj strukturi, već i u fizikalnim i kemijskim svojstvima kokristala koja se razlikuju od svojstava koformera kao zasebnih faza. Koformera u kokristalima mogu biti zastupljeni u različitim množniskim omjerima. Ova varijabilnost u omjerima omogućuje prilagodbu kokristala prema specifičnim zahtjevima ili željenim svojstvima što otvara put ka njihovoj raznolikoj primjeni u područjima farmacije, znanosti o materijalu i kemiji. Kokristali, isto kao i jednokomponentni sustavi, mogu tvoriti svoje polimorfe. Varijacije u strukturi polimorfa također rezultiraju različitim fizikalno-kemijskim svojstvima (među koje spada i ugađanje topljivosti) te dodatno proširuje njihov potencijal i doprinosi raznolikosti materijala u znanstvenim istraživanjima i industriji.²¹

Kiseli i/ili bazični lijekovi, koji mogu postojati u anionskim, kationskim i zwitterionskim oblicima, slabo su topljivi u vodi i shodno tome posjeduju nisku biodostupnost. Ova ograničenja mogu značajno utjecati na njihovu učinkovitost i terapijsku djelotvornost. Učinkovita strategija za prevladavanje tih problema jest priprema soli tj. sparivanje iona lijeka sa željenim protuionom. Stvaranje soli aktivnih tvari rezultira pozitivnim utjecajem na različite karakteristike iste uključujući njenu čistoću, zahtjevnost izolacije, stabilnost (kemijsku i fizikalnu), efikasnost proizvodnje i potencijalne nuspojave. Utjecaj na ove čimbenike postiže se modificiranjem fizikalnih svojstava lijeka što uključuje promjene u topljivosti, kristalnosti, higroskopnosti, talištu te veličini i obliku čestica.²²

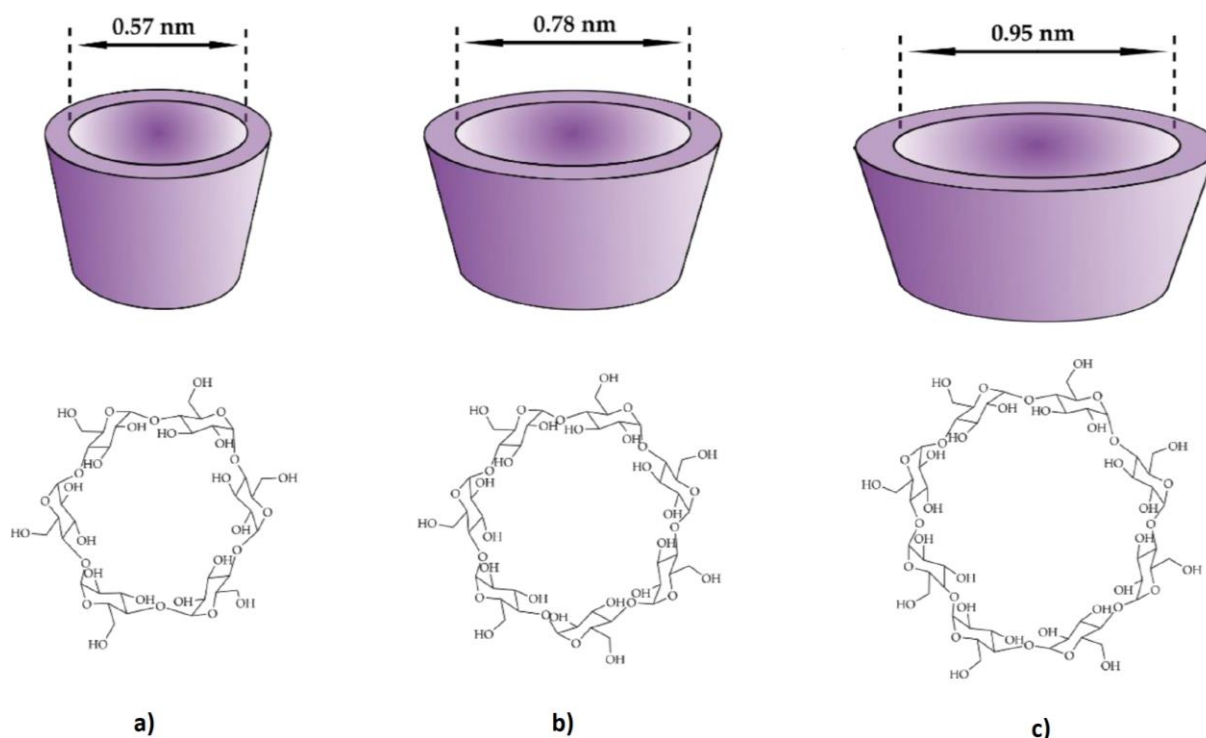
2.1.2. Poboljšanje topljivosti kompleksiranjem molekula nosača i gosta

Kompleksiranje je proces povezivanja aktivne tvari s molekulama liganda putem slabijih interakcija poput vodikovih veza, elektrostatskih interakcija, hidrofobnih interakcija i Van der Waalsovih interakcija. U literaturi su dokumentirani različiti spojevi koji se mogu koristiti pri kompleksiranju radi poboljšanja topljivosti aktivne tvari u vodi, primjerice ciklodekstrini, ciklosoforosini i hitooligosaharidi.² Nastanak kompleksa ne samo da poboljšava topljivost aktivne tvari, već povećava stabilnost, maskira neugode okuse i mirise, smanjuje iritaciju koja se može pojaviti kao nuspojava konzumacije te omogućuje pripremu uzorka u obliku praha. Važno je napomenuti da kompleksiranje nije uvijek prikladno za formulacije s visokim dozama aktivne tvari. U takvim slučajevima alternativne tehnike ili nosači mogu se koristiti kako bi se postigao željeni terapijski učinak.^{23,24} U području supramolekulske kemije spontana interakcija molekula domaćina i gosta potaknuta je smanjenjem Gibbsove (slobodne) energije sustava. Stabilnost kompleksa domaćin-gost karakterizira se preko konstante kompleksacije (K_c). Ova konstanta, ključna za razumijevanje snage veze i određuje se korištenjem različitih kinetičkih i termodinamičkih tehnika. Kako bi se dodatno okarakterizirala i odredila stehiometrija kompleksa koriste se tehnike poput UV/VIS spektroskopije, fluorescencije, NMR spektroskopije, cirkularnog dikromizma, kalorimetrije i potencijometrijskih metoda. Rezultati navedenih tehnika koriste se za procjenu K_c i potvrdu stehiometrijskog omjera komponenata.²⁵

2.2. Ciklodekstrini

Ciklodekstrini (CD) su ciklički oligosaharidi sastavljeni od glukopiranoznih jedinica koje su povezane α -1,4-glikozidnom vezom. Prirodni ciklodekstrini su α -ciklodekstrin (α -CD), β -ciklodekstrin (β -CD) i γ -ciklodekstrin (γ -CD) koji redom sadrže: šest, sedam i osam podjedinica (slika 1.). Također postoje i derivati ciklodekstrina, poput 2-hidroksipropil- β -ciklodekstrina (HP β CD) i natrijeve soli sulfobutyleter- β -ciklodekstrina. Derivati β -CD često se koriste zbog jednostavnosti proizvodnje, niske cijene te odsutnosti mutagenosti, senzibilizacija i iritacija kože. Ciklodekstrini nastaju razgradnjom škroba enzimom ciklodekstringlukoziltransferaze. Vanjska je strana molekule ciklodekstrina hidrofилна zbog prisutnosti hidroksilnih skupina i glukoznog kisika te je razlog njegove dobre topljivosti u vodi. Unutarnji dio ciklodekstrina je

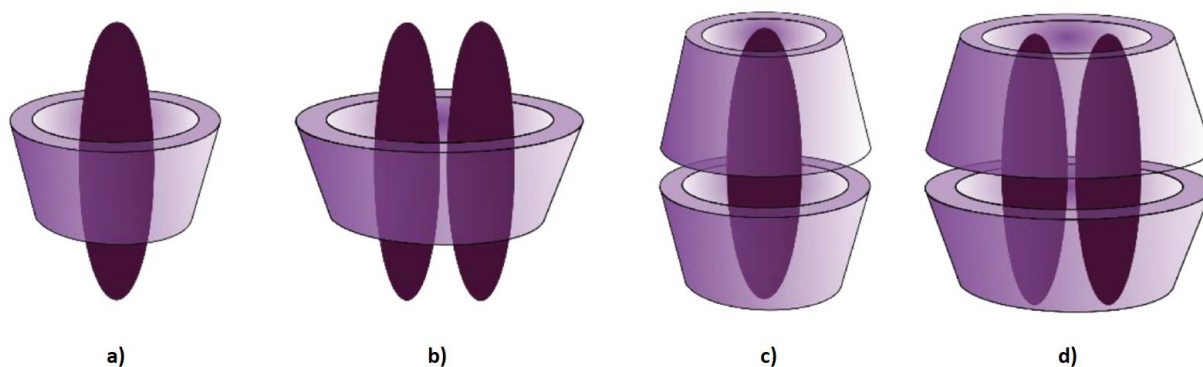
hidrofoban zbog prisutnosti eterskih kisika i atoma ugljika što omogućuje stvaranje inkluzijskih spojeva s različitim hidrofobnim molekulama.^{26,7}



Slika 1. Dimenzije šupljina i strukturne formule molekula a) α -CD, b) β -CD i c) γ -CD (ilustracija prilagođena prema izvorniku)²⁶

Inkluzijski kompleksi ciklodekstrina obično nastaju samo s molekulama gosta čija je polarnost manja od polarnosti vode i s molekulama koje odgovaraju veličini njihove hidrofobne šupljine. Međutim, ako je molekula gosta prevelika moguće je nastajanje inkluzijskih kompleksa uklapanjem samo dijelova molekule u šupljinu ili ugradnja molekule gosta u veliku kontinuiranu šupljinu nastalu nastavljanjem dvije molekule ciklodekstrina jedne na drugu. Najučestaliji stehiometrijski omjer molekule gosta spram molekula ciklodekstrina prilikom nastajanja kompleksa je 1:1, no uočeni su i drugi omjeri, primjerice 2:1, 1:2 i 2:2 (slika 2.). Zahvaljujući tim svojstvima, molekule ciklodekstrina mogu stvarati inkluzijske komplekse s mnogim lijekovima u vodenim otopinama. Kompleksiranjem s ciklodekstrinima poboljšavaju se fizikalno-kemijska svojstva aktivnih tvari, njihova topljivost i biodostupnost, bez izazivanja kemijskih promjena tj. bez cijepanja ili nastajanja kemijskih veza unutar same molekule gosta. Kompleksi ciklodekstrina i aktivnih molekula su u dinamičkoj ravnoteži u otopini, što rezultira otpuštanjem ciljanih molekula razrjeđivanjem ili prisutnošću konkurentnih inkluzijskih

molekula. U otopini kompleksi ciklodekstrina i aktivnih molekula ostvaruju dinamičku ravnotežu što znači da prilikom razrjeđenja otopine ili prisutnosti konkurentnih molekula koje također tvore inkluzijske komplekse sa ciklodekstrinom može doći do oslobađanja ciljanih molekula lijeka iz kompleksa sa ciklodekstrinom.⁸



Slika 2. Primjeri različitih kompleksa ciklodekstrina i molekula gosta a) 1:1, b) 2:1, c) 1:2 i d) 2:2 (ilustracija prilagođena prema izvorniku)²⁶

2.2.1. Priprema inkluzijskih kompleksa ciklodekstrina

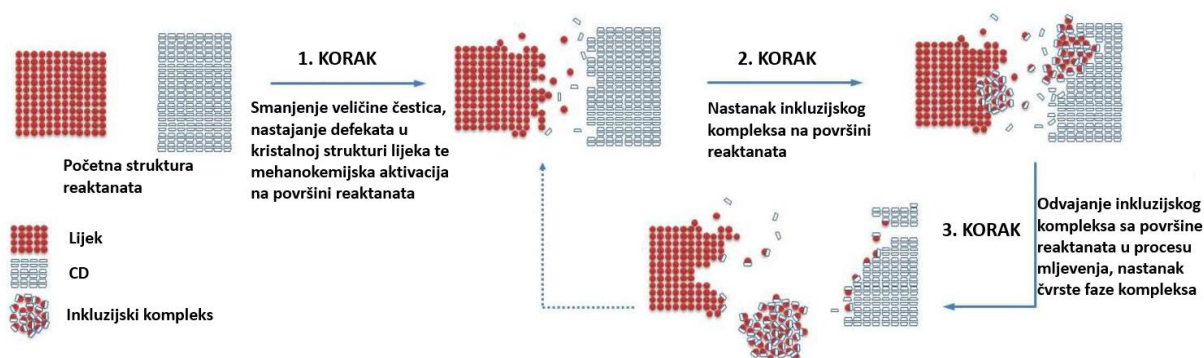
Za dobivanje kompleksa ciklodekstrina i aktivne tvari potrebno je odabrati najpogodniju metodu i eksperimentalne uvjete za svaki pojedini slučaj uzimajući u obzir karakteristike ciklodekstrina, molekule gosta te ciljeve kompleksacije. Metode kojima se pripremaju inkluzijski kompleksi ciklodekstrina su mehanokemijska priprema, liofilizacija, gnječenje, sutaloženje, upotreba mikrovalnog zračenja i korištenje superkritičnog CO₂.²⁷

2.2.2. Mehanokemijska priprema

Mehanokemijske reakcije obuhvaćaju reakcije u čvrstom stanju i inducirane su primjenom mehaničke energije. Osim što je mljevenje koristan alat za smanjenje veličine čestica također se koristi kao metoda sinteze te za ispitivanje različitih supramolekulskih i kovalentnih interakcija koje uvjetuju uređenost strukture materijala.¹¹ Ručno mljevenje pomoću tarionika i tučka te učinkovitije metode mljevenja pomoću kugličnih mlinova, oscilirajućih ili vibracijskih mlinova, najčešće su metode koje mogu inducirati mehanokemijske procese. Opisane tehnike poznate su u literaturi kao mljevenje bez dodatka tekućine (engl. neat grinding).²⁸ Mljevenje potpomognuto tekućinom (LAG) nadograđuje se na suhe metode mljevenja te koristi dodatak

manje količina otapala radi unapređenja ili kontroliranja reaktivnosti.²⁹ Obje metode mljevenja pokazale su se iznimno učinkovitim u procesu pripreme kokristala, soli i polimornih farmaceutskih spojeva²⁸, metalo-organskih mreža, polimernih disperzija te inkluzijskih kompleksa.¹¹

Sve češća primjena mehanokemijske sinteze leži u uspješnosti stvaranja metal-ligand koordinacijskih veza kao i nekovalentnih interakcija poput vodikovih veza, halogenskih veza, $\pi \cdots \pi$ interakcija aromatskih sustava, itd., čime se pruža mogućnost ne samo aktiviranja inače inertnih reaktanata, već i uključivanja i sustavnog proučavanja efekata oblikovanja supramolekulske strukture sintezom bez otapala.^{30,31} Iako ne postoje sustavna istraživanja koja izučavaju točan mehanizam nastanka produkta primjenom mehaničke energije predložen je mogući scenarij temeljen na općem mehanizmu u tri koraka opisanom za mehanokemijske reakcije, uzimajući u obzir i druge procese koji se odvijaju tijekom mehanokemijske aktivacije lijeka mljevenjem (slika 3.).¹¹



Slika 3. Shema nastanka produkta mehanokemijske sinteze (prilagođeno prema izvorniku)¹¹

Mehaničko mljevenje predstavlja važan postupak u farmaceutskoj industriji i inženjerstvu materijala te se često koristi za postizanje visokog stupnja homogenosti i povećanja reaktivnosti sustava u čvrstom stanju.¹¹

2.2.3. *Mehanokemijska priprema kompleksa ciklodekstrina*

Postupak podrazumijeva mljevenje smjese lijeka i ciklodekstrina čime uzorak prima pulseve mehaničke energije tijekom sudara materijala s metalnim kuglicama ili stijenkom posudice za mljevenje. Ovaj proces stvara intenzivne mikroskopske promjene u strukturi materijala. Pulsovi mehaničke energije izazivaju prijelaz iz stabilnog u metastabilno stanje sustava što potencijalno olakšava nastanak inkluzijskog kompleksa. U procesu mljevenja dio mehaničke energije pretvara se u toplinsku energiju koja potiče interakcije između reaktanata te pridonosi povećanoj reaktivnosti materijala. Termički inducirane interakcije stvaraju povoljne uvjete za inkluziju lijeka u ciklodekstrin. Dodatna energija unesena tijekom mljevenja dovodi do amorfizacije kristalnih materijala u smjesi. Ovaj proces započinje na površinskom sloju materijala i postupno se širi prema unutrašnjosti. Amorfizacija stvara aktivirani materijal pogodan za inkluziju u ciklodekstrin. Proces nastajanja inkluzijskog kompleksa može uključivati međufazne korake što uključuje stvaranje čvrste disperzije koja postupno prelazi u pravi inkluzijski kompleks u čvrstom stanju putem molekulske difuzije. Mljevenje igra ključnu ulogu u stvaranju početnih uvjeta za ovu fazu. Tijekom procesa mljevenja, čestice inkluzijskog kompleksa mogu se odvojiti od čestica prekursora čime se oslobađa površina za nastavak reakcije i nastanak stabilnog inkluzijskog kompleksa LAG se rijetko koristi pri pripremi inkluzijskih kompleksa s ciklodekstrinima, no može biti korisna metoda pri pripremi nanočestica slabo topljivih lijekova. Mljevenje se često pokazalo učinkovitijim od drugih tehnika, poput gnječanja ili isparavanja, u induciranju potpune amorfizacije lijekova u kombinaciji s ciklodekstrinom. U usporedbi s kompleksima pripremljenim drugim tehnikama, amorfni produkti dobiveni mljevenjem u nekim su slučajevima pokazali superiornu topljivost i svojstva otapanja. Čak i ako produkt mehanokemijske sinteze sadrži značajan udio preostale kristalne faze lijeka ona se u kombinaciji sa ciklodekstrinom lako može pretvoriti u inkluzijski kompleks nakon otapanja u vodi.¹¹

2.3. Karakterizacija inkluzijskih kompleksa u čvrstom stanju

Potpuna karakterizacija inkluzijskih kompleksa ciklodekstrina, kako u otopini tako i u čvrstom stanju, predstavlja izazovan zadatak koji zahtijeva upotrebu više analitičkih tehnika čiji se rezultati moraju kombinirati i procjenjivati u cjelini.²⁷ U ovom dijelu rada proći će se kroz tehnike koje se koriste za fizikalnu karakterizaciju kompleksa ciklodekstrina.

2.3.1. Metode termičke analize

Termička analiza obuhvaća skup tehnika koje omogućuju praćenje fizičkih i kemijskih svojstava uzorka (tvari ili smjese tvari) u ovisnosti o vremenu i/ili temperaturi. U sklopu ovih tehnika uzorak se podvrgava programiranim promjenama temperature u kontroliranoj atmosferi.³² Tijekom promjene temperature u uzorku se javljaju promjene fizičkih i/ili kemijskih svojstava koje se mjere putem različitih fizičko-kemijskih veličina. Rezultat termičke analize je grafički prikaz ovisnosti promatranog svojstva o temperaturi ili vremenu.³¹

Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (engl. *differential scanning calorimetry*, DSC) je tehnika koja se koristi za karakterizaciju tvari u čvrstom stanju te pruža uvid u njihova fizikalna svojstva. Jedno područje gdje se DSC često koristi je proučavanje interakcija između lijekova i ciklodekstrina u čvrstom stanju. DSC omogućuje istraživanje modifikacija u čvrstom stanju i interakcija između komponenti putem usporedne analize termičkih krivulja dobivenih analizom pojedinačnih komponenti, fizičkih smjesa i potencijalnih inkluzijskih spojeva. DSC krivulje ciklodekstrina prikazuju karakteristične signale gubitka vode i signale raspadanja, dok kristalne strukture tvari molekule gosta daju oštre signale taljenja. Razlike DSC krivulje potencijalnog kompleksa, u odnosu na krivulje fizičke smjese i čiste aktivne tvari, poput smanjenja veličine, proširenja ili pomaka signala taljenja lijeka mogu ukazivati na smanjenje kristalnosti lijeka kao rezultat interakcija s ciklodekstrinom. Osim toga omjer entalpija taljenja potencijalnog kompleksa u odnosu na čisti lijek može se koristiti za procjenu intenziteta interakcija između lijeka i ciklodekstrina. Potpuno nestajanje signala koji odgovara taljenju lijeka često se smatra dokazom uklapanja lijeka unutar šupljine ciklodekstrina, iako također može ukazivati na pretvorbu u amorfnu stanje ili postojanje interakcija izazvanih zagrijavanjem tijekom same analize. Promjene u području dehidracijskog pika ciklodekstrina mogu se pripisati interakcijama lijeka u čvrstom stanju, a ne formiranju inkluzijskog kompleksa. U slučajevima

nastajanja inkluzijskog kompleksa može se uočiti pomak pika tališta lijeka prema nižim temperaturama. Treba napomenuti da DSC analiza možda neće dati zadovoljavajuće rezultate kada je tvar molekule gosta amorfnu. Međutim varijacije u termičkom raspadu i dalje se mogu proučavati kako bi se odredila termalna stabilnost lijeka unutar šupljine ciklodekstrina.²⁷

Termogravimetrijska analiza (engl. *thermogravimetric analysis*, TGA) često se koristi u analizi inkluzijskih kompleksa ciklodekstrina kao komplementarna metoda DSC analizi. TGA se koristi za mjerenje promjena u težini uzorka u ovisnosti o temperaturi. Analizom termogravimetrijskih (engl. *thermogravimetric*, TG) krivulja čistih komponenata, fizičkih smjesa i potencijalnih kompleksa mogu se uočiti promjene u profilu smanjenja mase koje mogu ukazivati na novonastale međumolekulske interakcije ili nastajanje inkluzijskih kompleksa. U slučaju TG krivulja ciklodekstrina obično se uočavaju dva koraka gubitka mase. Prvi korak događa se na otprilike 100 °C i pripisuje se dehidraciji ciklodekstrina dok se drugi korak javlja iznad 300 °C i upućuje na njegov raspad. Očekuje se da stvaranje kompleksa poboljšava termalnu stabilnost lijekova unutar šupljine ciklodekstrina što rezultira drugačijom TG krivuljom u usporedbi sa slobodnim lijekom. Kombinirana upotreba metoda TGA i DSC pomaže u analizi inkluzijskih kompleksa ciklodekstrina pri čemu TGA pruža uvid u promjene težine, identifikaciju interakcija ili formiranje inkluzijskih kompleksa te procjenu termalne stabilnosti i stehiometrije kompleksa.²⁷

Temperaturno ovisna mikroskopija (engl. *hot stage microscopy*, HSM) učinkovita je metoda za proučavanje fizikalnih svojstava materijala u čvrstom stanju tijekom njihova prolaska kroz fazne promjene, strukturne promjene ili procese degradacije. Često se koristi zajedno s DSC kako bi pružila slikoviti uvid u termičke procese koji se opažaju na DSC krivuljama. Temperaturno ovisna mikroskopija pokazala se iznimno korisnom za potvrdu nastanka i karakterizaciju inkluzijskih kompleksa ciklodekstrina. Ukoliko se tijekom analize opažaju samo čestice koje svojim talištem i morfologijom odgovaraju prekursorima reakcije može se zaključiti da se radi o smjesi tvari molekule gosta i ciklodekstrina te da je izostao nastanak kompleksa. Koristi se za potvrdu prirode termičkih procesa, poput otapanja, prelaska jednog kristalnog oblika u drugi ili prijelaz amorfne u kristalnu tvar, vidljivih na DSC krivulji. Osim toga pomaže i u razaznavanju termičkih procesa koji su temperaturno vrlo bliski.²⁷

2.3.2. Metode difrakcije rendgenskog zračenja

Rendgenska difrakcija na kristalnom uzorku nedestruktivna je analitička metoda za strukturnu analizu i karakterizaciju kristala. Rendgenske zrake ogibaju se na elektronskom oblaku atoma kristalne rešetke. Reflektiranjem upadnog rendgenskog snopa na skupu ravnina kristala reflektirani dijelovi snopa izlaze van paralelno i međusobno interferiraju. Ova interferencija rezultira povećanjem amplitude difraktiranog zračenja što detektor bilježi kao difrakcijski maksimum određenog intenziteta. Položaj difrakcijskih maksimuma određen je kristalnom rešetkom, a intenzitet difrakcijskih maksimuma vrstom atoma i njihovim relativnim razmještajem u jediničnoj ćeliji. Bilježenjem intenziteta reflektiranog zračenja o upadnom kutu dobivamo difraktogram koji je karakterističan za svaki kristal.^{33,34}

Difrakcija rendgenskog zračenja na jediničnom kristalu (engl. *single-crystal X-ray diffraction*, SCXRD) analitička je tehnika koja pruža detaljne podatke potrebne za određivanje kristalne strukture spoja. Dobiveni podaci uključuju dimenzije jedinične ćelije, položaje atoma unutar kristalne rešetke te duljine i kutove kemijskih veza. Primjenom ove tehnike moguće je dobiti trodimenzionalnu strukturu cijele molekule i njenu konformaciju unutar kristalne strukture. Na žalost praktična primjena ove tehnike je ograničena prilikom proučavanja kompleksa ciklodekstrina zbog potrebe za kvalitetnim i stabilnim kristalima prikladnih dimenzija koje u većini slučajeva nije moguće dobiti.²⁷

Rendgenska difrakcija na polikristalnom uzorku (engl. *powder X-ray diffraction*, PXRD) široko je korištena tehnika u području karakterizacije materijala. Primjenjuje se za brzo identificiranje nepoznatih kristalnih tvari principom otiska prsta i određivanje stupnja kristalnosti ili amorfizacije uzoraka. Jedno od područja gdje PXRD nalazi značajnu primjenu je proučavanje ciklodekstrina i njihovih inkluzijskih kompleksa u obliku praha ili mikrokristala. Proučavanjem difraktograma uzoraka promatraju se promjene oblika njihovih difrakcijskih pikova, njihovi pomaci te promjene njihova relativna intenziteta. Ove varijacije upućuju na nastanak nove kristalne faze koja može biti rezultat formiranja inkluzijskog kompleksa, no također može ukazivati na promjene u kristalnoj strukturi uzrokovane prelaskom aktivne tvari u drugi polimorfni oblik. PXRD pruža dodatne informacije za interpretaciju rezultata dobivenih termičkim metodama. Pomaže definirati uzroke pomaka ili nestanka pika taljenja aktivne tvari koji mogu proizlaziti iz gubitka kristalnosti ili postojanje interakcija izazvanih zagrijavanjem uzorka tijekom same analize. Važno je napomenuti da PXRD nije prikladna za pružanje strukturnih informacija kada su produkti reakcije aktivne tvari i ciklodekstrina amorfni prahovi,

što se često događa u slučaju korištenja mehanokemijskih metoda ili metoda liofilizacije. U takvim slučajevima ovom metodom se nastanak inkluzijskog kompleksa ne može razlikovati od nastanka homogene smjese dviju amorfnihi komponenti. Iako PXRĐ u tim slučajevima ne može pružiti strukturne informacije njome se još uvijek može procijeniti intenzitet interakcija između lijeka i ciklodekstrina temeljem stupnja amorfizacije. PXRĐ brza je nedestruktivna i efektivna metoda za identificiranje kristalnih tvari, procjenu kristalnosti ili amorfizacije i karakterizaciju ciklodekstrina i njihovih inkluzijskih kompleksa. Iako možda ne pruža strukturne pojedinosti u slučaju amorfnihi prahova i dalje doprinosi razumijevanju interakcija lijek-CD te kvantificiranju kristalnosti lijeka u binarnim sustavima.²⁷

2.3.3. Spektroskopske metode

Spektroskopske metode informacije o sustavu prikupljaju putem interakcije sustava s elektromagnetskim zračenjem koje može potjecati iz vanjskog izvora ili iz samog sustava.³⁵

Infracrvena (engl. *infrared*, IR) spektroskopija je metoda koja se temelji na interakciji tvari i elektromagnetskog zračenja u infracrvenom dijelu spektra. Apsorpcijom infracrvenog zračenja potiču se prijelazi između vibracijskih i rotacijskih stanja molekule, pri čemu molekula apsorbira infracrveno zračenje samo ako se tijekom vibracije mijenja električni dipolni moment molekule.³⁶ IR spektroskopija široko je korištena tehnika za ispitivanje kompleksa lijekova i ciklodekstrina. Analizom vibracijskih vrpca lijeka i ciklodekstrina, IR spektroskopija može pružiti uvid u inkluzijski proces i interakcije koje se odvijaju između molekula nosača i gosta u čvrstom stanju. Kako bi se nedvojbeno potvrdilo nastajanje kompleksa potrebno je provesti usporedbu vibracijskih spektara potencijalnog kompleksa s fizičkim smjesama lijeka i ciklodekstrina te čistim tvarima polaznih spojeva. Promjene u spektru poput nestanka, širenja, varijacija intenziteta i pomicanja valnih brojeva vrpca mogu ukazivati na formiranje kompleksa. Najveći nedostatak u slučaju analize kompleksa ciklodekstrina javlja se u ekvimolarnim sustavima ciklodekstrina i aktivne tvari gdje dolazi do preklapanja njihovih vrpca i time gubitka dijela podataka. U mnogim slučajevima podatke dobivene IR spektroskopijom nadopunjuju druge tehnike poput DSC i PXRĐ. Kombinirana upotreba ovih tehnika dodatno potvrđuje nastanak kompleksa i interakcije unutar čvrstih tvari.²⁷

Uređaj za snimanje IR spektara je IR spektroskop s Fourierovim transformacijama (engl. *Fourier-transform infrared spectroscopy*, FTIR). FTIR uređaji omogućuju cjenovnu

pristupačnost IR spektroskopije, odlikuju se visokom osjetljivošću i selektivnošću omogućujući precizno otkrivanje molekularnih interakcija te brzim prikupljanjem podataka mjerenja, što IR spektroskopiju čini primjenjivom i vremenski učinkovitim analitičkom tehnikom. Glavna mana je proces pripreme uzorka za analizu. S obzirom na zahtjeve metode snimanja, potrebna je priprema KBr pastila koja mora ispunjavati određene kriterije kako bi bila prikladna za analizu. To uključuje postizanje jednolike debljine, pravilnog oblika i pravilnog omjera uzorka i KBr. Ovakva priprema može dovesti do fizikalno-kemijskih interakcija između uzorka i matrice pastile. Visoki tlakovi koji su potrebni za prešanje pastile također predstavljaju problem jer mogu promijeniti unutarnju strukturu uzorka.²⁷

IR spektrometar s Fourierovim transformacijama uz modul za prigušenu totalnu refleksiju (engl. *attenuated total reflection*, ATR) omogućuje analizu uzoraka bez potrebe za posebnom pripremom, čime se izbjegavaju komplikacije uzrokovane pripremanjem KBr pastila. ATR tehnika radi na principu totalne unutarnje refleksije zračenja na granici faza koje čine uzorak i refleksijski kristal prilikom koje zrake djelomično prodiru u uzorak prije usmjeravanja natrag na detektor. Ovo prigušeno zračenje sadrži informacije o molekularnoj strukturi i kemijskom sastavu uzorka. Snimanje IR spektra ATR tehnikom pruža brz i jednostavan način analize uzoraka u isto vrijeme prevladavajući ograničenja KBr tehnike koja se javljaju kao posljedica pripreme uzorka što ATR tehniku čini praktičnom za identifikaciju i karakterizaciju različitih materijala i spojeva uključujući ciklodekstrine i njihove komplekse.²⁷

Za razliku od IR spektroskopije koja se temelji na apsorpciji IR zračenja, Ramanova spektroskopija temelji se na raspršenju monokromatskog UV, Vis ili NIR zračenja. U Ramanovoj spektroskopiji interakcijom zračenja i molekule polarizira se elektronski oblak oko jezgara te se opažaju isti načini vibriranja molekule i broj vibracija kao u IR spektroskopiji. Zahvaljujući različitim izbornim pravilima koja vrijede u IR i Ramanovoj spektroskopiji vibracijske vrpce, iako vrlo sličnog položaja u oba vibracijska spektra, razlikuju se prema intenzitetu. U nekim slučajevima, određene vibracijske vrpce potpuno izostaju čineći Ramanovu spektroskopiju idealnom komplementarnom metodom. Prednosti Ramanove spektroskopije u odnosu na IR spektroskopiju su da zahtijeva minimalnu ili nikakvu pripremu uzorka te da ne prikazuje vibracijske vrpce vode unutar spektra.³⁷ Nepostojanjem vibracijskih vrpca vode otvara se pristup svim ostalim vibracijskim vrpčama u području spektra od 1600 do 1700 cm^{-1} što je posebno korisno za komplekse ciklodekstrina budući da sami ciklodekstrini u svom sastavu sadrže vodu. Ramanova spektroskopija pruža uvid u vibracijske vrpce molekule

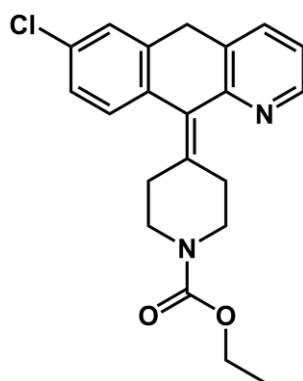
gosta koje su u IR spektroskopiji prekrivene vrpčama vode čime omogućuje lakšu identifikaciju nastanka ili izostanka željenog kompleksa. Ramanova spektroskopija otvara i potpuno novi set vibracijskih vrpce polarizabilnih, nepolarnih skupina molekule gosta koje se mogu pratiti.²⁷

2.3.4. Skenirajuća elektronska mikroskopija

Skenirajuća elektronska mikroskopija (engl. *scanning electron microscopy*, SEM) temelji se na fokusiranom snopu elektrona koji skenira uzorak. Interakcijom elektrona s atomima u uzorku, SEM pruža trodimenzionalnu topografiju snimane površine. Nedostatak SEM metode je provedba snimanja uzorka pod visokim vakuumom te potreba za kompleksnom i opsežnom obradom uzorka koja uključuje dehidraciju, fiksaciju i oblaganje snimanog uzorka metalnim slojem.³⁸ SEM je vrijedan alat koji se koristi u ispitivanju sustava lijek-ciklodekstrin i njihovih fizičkih smjesa dajući informacije o njihovim morfološkim aspektima. Iako SEM sam po sebi ne može konkluzivno odrediti nastanak inkluzijskog kompleksa može pružiti vrijedne informacije o interakcijama između komponenti lijeka i ciklodekstrina. Analizom morfoloških promjena uočenih na SEM slikama mogu se dobiti naznake o prisutnosti interakcija čvrstog stanja i formiranju novih čvrstih faza. Nadalje SEM analiza nadopunjuje druge tehnike poput DSC, PXRD i FTIR. Morfološke promjene uočene pomoću SEM metode također pružaju uvide u utjecaj različitih tehnika pripreme na fizikalno-kemijska svojstva i morfologiju lijekova. Pomoću tih informacija mogu se odrediti utjecaji različitih metoda sinteze na oblik i strukturu površine dobivenog produkta. Ove promjene u površinskoj morfologiji često se mogu pripisati transformaciji kristalne forme lijeka inducirane određenim tehnikama pripreme, stvaranju homogene amorfne smjese prekursora ili nastanku inkluzijskog kompleksa.²⁷

2.4. Loratadin

Loratadin je aktivna tvar lijeka pod nazivom Claritine® koji se koristi za liječenje alergijskih reakcija te pripada drugoj generaciji antihistaminskih lijekova. Kemijska struktura loratidina može se opisati kao benzocikloheptapiridin s kloridnom skupinom na poziciji 8 i 1-(etoksikarbonil)piperidin-4-iliden skupinom na poziciji 11 (slika 4.). Loratadin djeluje kao blokator histaminskih H1 receptora što znači da sprječava simptome koji se javljaju kao posljedica histaminske aktivnosti. Razlikuje se od ostalih antihistaminika time što ne uzrokuje pospanost. Derivat je azatadina, a dodatak karboksimetil esterske skupine čini ga polarnijim i manje bazičnim od njegova prekursora. Ta modifikacija sprječava prodiranje loratadin a kroz krvno-moždanu barijeru čime se sprječava njegov utjecaj na središnji živčani sustav. Loratadin se metabolizira u jetri, gdje se pretvara u metabolit četiri puta jačeg djelovanja. Poluvrijeme eliminacije loratadina iz organizma iznosi 8–14 sati, dok je poluvrijeme eliminacije metabolita 17–24 sata. To omogućuje lijeku da djeluje tijekom 24 sata, međutim zbog loše topljivosti u vodi i spore brzine otapanja, njegova sposobnost apsorpcije te dostupnost u organizmu nakon oralne primjene je niska i varijabilna. Stoga poboljšanje topljivosti i brzine otapanja loratadina ima važnu ulogu u kreiranju farmaceutskih formulacija lijeka.⁴⁻⁶



Slika 4. Strukturna formula loratadina

2.4.1. Priprema i karakterizacija kompleksa loratadina i ciklodekstrina

Loratadin je lijek čija je topljivost pH ovisna, te značajno pada pri višim pH vrijednostima.³⁹ Inkluzijski kompleksi loratidina i ciklodekstrina nude obećavajući pristup poboljšanju topljivosti, stabilnosti i biološke dostupnosti lijeka, čime se poboljšava njegova terapijska učinkovitost. U ovom dijelu rada pregledati će se i analizirati rezultati više istraživanja koja se

bave pripremom i karakterizacijom navedenih inkluzijskih kompleksa. Poseban naglasak bit će stavljen na metode pripreme i metode korištene za karakterizaciju formiranih kompleksa. U tablici 1 izložen je pregled dotičnih znanstvenih radova zajedno s istaknutim pojedinostima istraživanja koje uključuju vrstu korištenog ciklodekstrina, molarni omjer, način pripreme te metodu analize kompleksa u čvrstom stanju.

Omar i suradnici proveli su istraživanje u kojem su za stvaranje inkluzijskog kompleksa sa loratidinom koristili α -CD, β -CD, HP β CD i γ -CD. Kompleksi su pripremljeni metodom liofilizacije čiji su produkti uspoređivani s produktima fizičke smjese loratidina i korištenih ciklodekstrina. Pripremljeni su kompleksi stehiometrijskog omjera LOR:CD 1:1. Topljivost nastalih kompleksa spram čistog loratidina praćena je UV/VIS spektroskopijom, a karakterizacija u čvrstom stanju provedena je DSC analizom. Molekularnim modeliranjem predstavljene su optimizirane geometrije navedenih kompleksa. Na temelju rezultata dobivenih kombinacijom metoda autori su zaključili da je nastao inkluzijski kompleks.⁴⁰

U radu Rivas-Granizo i suradnika cilj je bio procijeniti fotostabilnost inkluzijskih kompleksa LOR s α -, β - i γ -CD. Kompleksi lijeka i ciklodekstrina pripremljeni su metodom isparavanja korištenjem rotavapora u omjerima 1:1, 1:2 i 1:3 te su analizirani pomoću TG i DSC metoda. Potom su otopine kompleksa izložene zračenju u komori za fotostabilnost u vremenskom periodu od 12 sati, a koncentracija preostale aktivne tvari kvantificirana je tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti. Rezultati ukazuju na dobru fotostabilnost kompleksa LOR/ α -CD i LOR/ γ -CD.⁴¹

Nacsa i suradnici doprinijeli su području objavljivanjem dva istraživačka rada koja se bave tematikom pripreme i karakterizacije inkluzijskih kompleksa loratidina i β -CD. U prvom radu objavljenom 2008. godine za stvaranje inkluzijskog kompleksa koristili su dimetil- β -CD (DIMEB). Komplekse su pripremili na dva načina: gnječenjem (engl. *kneading*) i pripremom potpomognutom mikrovalnim zračenjem. Pripremljeni su kompleksi stehiometrijskih omjera LOR:DIMEB 1:1, 1:2 i 1:3. Topljivost nastalih kompleksa spram čistog loratidina praćena je UV/VIS spektroskopijom, a karakterizacija u čvrstom stanju provedena je DCS, TG i FTIR metodama. Na temelju rezultata autori su zaključili da je u svim uzorcima došlo do nastanka inkluzijskog kompleksa. Od dvije korištene metode pripreme niti jedna se nije pokazala kao superiornija u kontekstu nastanka kompleksa, no metoda potpomognuta mikrovalnim zračenjem ubrzala je proces pripreme te bi bila pogodnija za skaliranje na industrijski nivo proizvodnje.⁴² U radu objavljenom 2009. godine istražen je utjecaj različitih prirodnih

ciklodekstrina i njihovih derivata na topljivost loratadina. Ustanovljeno je da DIMEB najviše poboljšava topljivost loratidina te je korišten u daljnjem istraživanju za pripremu kompleksa na dva načina: gnječenjem i sušenjem raspršivanjem (engl. *spray-drying*). Pripremljeni su produkti stehiometrijskih omjera LOR:DIMEB 1:1 i 1:2. Istraživanje brzine otapanja pokazalo je bolje rezultate u slučaju kompleksa stehiometrijskog omjera 1:2. Stoga je karakterizacija DSC, TG i FTIR metodama provedena samo na tom uzorku. Rezultati ukazuju na nastanak inkluzijskog kompleksa. Glavni cilj rada bio je poboljšati topljivost loratidina i učiniti je neovisnom o pH vrijednosti medija u čemu su autori i uspjeli.³⁹

Ramesh i suradnici pripremili su kompleks loratidina i natrijeve soli sulfobutileter- β -CD (SBE β CD) molarnog omjera 1:1 metodom liofilizacije. Topljivost kompleksa praćena je UV/VIS spektroskopijom, a karakterizacija u čvrstom stanju provedena je metodama PXRD, DSC i FTIR. Na osnovi dobivenih rezultata utvrdio se nastanak kompleksa. Autori poboljšanje topljivosti LOR nisu pripisali isključivo formiranju kompleksa, već i njegovoj amorfizaciji koja je nastupila kao posljedica nastanka kompleksa.⁴³

Lin i suradnici objavili su dva istraživačka rada s naglaskom na mehanokemijsku pripremu (engl. *co-grinding*) i karakterizaciju kompleksa loratidina sa β -CD i HP β CD. U radu objavljenom 2010. godine kompleksi su pripremljeni metodama isparavanja (engl. *co-evaporation*) i mljevenjem loratidina i HP β CD u stehiometrijskim omjerima 1:1 i 1:2. Topljivost kompleksa praćena je UV/VIS spektroskopijom, a karakterizacija u čvrstom stanju provedena je metodama DSC i FTIR. Posebna pažnja posvećena je praćenju FTIR spektara i pouzdanosti FTIR metode za kvantitativno praćenje nastanka inkluzijskog kompleksa. Nastanak kompleksa je praćen u vremenu tako da su u određenim intervalima uzimani uzorci mljevenja i analizirani DSC i FTIR metodama. Temeljem dobivenih rezultata zaključeno je da su kompleksi nastali korištenjem oba načina pripreme kompleksa. Također su uočeni bolji rezultati korištenjem ekvimolarnog omjera loratidina i HP β CD.⁴⁴

U radu objavljenom 2012. godine priređeni su kompleksi loratidina sa HP β CD i β -CD mljevenjem u stehiometrijskom omjeru 1:1. Topljivost kompleksa praćena je UV/VIS spektroskopijom, a karakterizacija u čvrstom stanju provedena je DSC i FTIR. Posebna pažnja posvećena je utjecaju mljevenja na nastanak kompleksa te rad sadrži vremenski ovisne DSC krivulje i FTIR spektre za pripremljene komplekse te DSC krivulje i FTIR spektre reaktanata. Na osnovi dobivenih rezultata utvrdio se nastanak kompleksa te doprinos amorfizacije loratidina njegovom nastajanju.⁴⁵

Tablica 1. Pregled radova koji se bave pripremom i karakterizacijom kompleksa loratadina

| Korišteni CD | Molarni omjer Lijek:CD | Način priprave kompleksa | Metoda analize kompleksa u čvrstom stanju | Reference |
|--|---------------------------|---|---|---------------------------------------|
| α -CD, β -CD, γ - CD, HP β CD | 1:1 | liofilizacija | DSC | Omar (2007) ⁴⁰ |
| α -CD, β -CD, γ - CD | 1:1, 1:2, 1:3 | isparavanje | TG, DSC | Rivas-Granizo (2015) ⁴¹ |
| DIMEB | 1:1, 1:2, 1:3 | gnječenje i priprema potpomognuta mikrovalnim zračenjem | TG, DSC, FTIR | Nacsa (2008) ⁴² |
| DIMEB | 1:1, 1:2 | gnječenje i sušenje raspršivanjem | TG, DSC, FTIR | Nacsa (2009) ³⁹ |
| SBEβCD | 1:1 | liofilizacija | DSC, FTIR | Ramesh (2020) ⁴³ |
| HPβCD | 1:1, 1:2 | isparavanje, mljevenje | DSC, FTIR | Lin (2010) ⁴² |
| HPβCD, β-CD | 1:1 | mljevenje | DSC, FTIR | Lin (2012) ⁴⁵ |

α -CD - α -ciklodekstrin, β -CD - β -ciklodekstrin, DIMEB - dimetil- β -CD, DSC - Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija, γ -CD - γ -ciklodekstrin, HP β CD - 2-hidroksipropil- β -ciklodekstrina, FTIR - IR spektrometar s Fourierovim transformacijama, SBE β CD - sulfobutileter- β -ciklodekstrin, TG – termogravimetrija

§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

Za eksperimente su korišteni loratadin (LOR) proizvođača Carbosynth (Ujedinjeno Kraljevstvo) te hidroksipropil β -ciklodekstrin (HP β CD) proizvođača Cyclolab (Mađarska). Simulirani duodenalni medij (pH 4,5) i simulirani intestinalni medij (pH 6,8) pripremljeni su prema postupku propisanom u 5.17.1. Europske farmakopeje (9. izd.).⁴⁶ Korišteni su acetonitril i metanol proizvođača J. T. Baker (SAD).

Za pripremu mobilne faze koja se koristi u postupku kromatografskog razdvajanja korišteni su amonijev acetat i octena kiselina visoke čistoće, proizvođača Sigma Aldrich te ultračista voda dobivena pomoću mili-Q Advantage A10 sustava za pročišćavanje (proizvođač Merck, Njemačka).

3.2. Instrumentne metode

Difraktogrami dobivenih kokristala snimljeni su na rendgenskom difraktometru *Malvern Panalytical Aeris*. Uzorci nastalih kompleksa ravnomjerno su nanoseni na silicijski nosač, a višak uzorka je uklonjen. Uzorci su prema potrebi usitnjeni u tarioniku ili pomoću metalne špatule. Za izvor zračenja korištena je rendgenska cijev s bakrenom anodom i valnim duljinama izlaznog snopa rendgenskog zračenja $\lambda(K_{\alpha 1}) = 1,54056 \text{ \AA}$ i $\lambda(K_{\alpha 2}) = 1,54439 \text{ \AA}$. Omjer intenziteta $K_{\alpha 1}/K_{\alpha 2}$ iznosio je 0,5, radni napon cijevi iznosio je 40 kV, a katoda je grijana strujom jakosti 15 mA. Difrakcijski maksimumi bilježeni su u području 2θ od 5° do 40° . Dobiveni difraktogrami obrađeni su i uspoređeni u programu *X'Pert Highscore Plus*.

DSC mjerenja izvedena su na DSC823^e modulu tvrtke Mettler-Toledo. Uzorci su stavljani u zatvorene aluminijske posudice (40 μ L) s jednom otvorenom rupicom na poklopcu i zagrijavani u protoku dušika (50 mL min⁻¹) od 25 °C do 300 °C brzinom od 10 °C min⁻¹. Prikupljanje podataka i analiza provedena je pomoću programa STAR^e Software 15.00.¹.

ATR spektroskopska analiza provedena je na *PerkinElmer Spectrum Two* spektrometru opremljenim s dijamantnim ATR dodatkom.

Analiza tekućinskom kromatografijom provedena je pomoću instrumenta *Agilent 1220 Infinity* proizvođača Agilent Technologies opremljenog binarnom pumpom, automatskim

uzorkovačem, termostatiranim odjeljkom za kolonu i detektorom varijabilne valne duljine. Kromatografsko razdvajanje provedeno je na koloni *Zorbax Eclipse XDB-C18* (5 μ m, 4,5 \times 250 mm) proizvođača Agilent Technologies. Mobilna faza sastojala se od acetonitrila i 10×10^{-3} mol L⁻¹ amonijevog acetata (pH podešen na 4,0 dodatkom octene kiseline) u omjeru 70:30 (v/v). Protok mobilne faze iznosio je 0,5 mL min⁻¹, a temperatura 40 °C. Valna duljina detekcije iznosila je 250 nm, a volumen injektiranja 10 μ L.

Apsorpcijski spektri snimljeni su pomoću *Specord 200* spektrometra proizvođača Analytik Jena (Njemačka). Raspon valnih duljina bio je 190–500 nm, s postavljenom širinom pukotina od 2 nm i brzinom snimanja od 10 nm s⁻¹. Korištene su konvencionalne kvarcne kivete ($l = 1$ cm).

3.3. Priprema uzoraka loratadina i HP β CD

U okviru ovog diplomskog rada mljevenjem u visokoenergijskom vibracijskom mlinu i u tarioniku (fizička smjesa) pripremljeni su uzorci loratadina s HP β CD u čvrstom stanju. Uzorci svih molarnih omjera pripremljeni su tehnikom mljevenja bez dodatka tekućine, dok su uzorci molarnog omjera 1:1 pripremljeni i tehnikom mljevenja uz dodatak male količine tekućine (50,0 μ L). U sklopu ovog rada korišteno je 10 različitih otapala: voda, metanol, etanol, propanol, 2-propanol, aceton, etil-acetat, tetrahidrofuran, heptan i acetonitril.

Čvrsti uzorci pripremljeni su na način da su navedene komponente prije tretiranja u mlinu, odnosno tarioniku, odvagane tako da je ukupna masa smjese komponenti iznosila ≈ 250 mg (Tablica 2.). Mljevenje je provedeno u kugličnom mlinu *Retsch MM200*, u čeličnim posudicama volumena 10 mL s dvije čelične kuglice promjera 7 mm, pri uvjetima mljevenja od 25 Hz i 30 min te pri normalnim laboratorijskim uvjetima (25 °C i relativna vlažnost 40–60 %).

Tablica 2. Eksperimentalni podaci za pripravu uzoraka loratadina i HP β CD

| Molarni omjer LOR: HP β CD | <i>m</i> (LOR)/mg | <i>m</i> (HP β CD)/mg | ukupna masa/mg |
|----------------------------------|-------------------|-----------------------------|----------------|
| 1:1 | 53,60 | 195,50 | 249,11 |
| 1:2 | 30,06 | 219,24 | 249,30 |
| 1:3 | 20,93 | 229,02 | 249,95 |
| 1:5 | 12,98 | 236,77 | 249,75 |
| 2:1 | 88,45 | 161,29 | 249,74 |
| 3:1 | 112,57 | 136,85 | 249,42 |
| 5:1 | 144,54 | 105,43 | 249,97 |

3.4. Priprema uzoraka za analizu poboljšanja topljivosti

Topljivost loratadina u pripremljenim uzorcima ispitana je u vodi i u simuliranim biorelevantnim medijima. Istraživanje se provelo vaganjem određene mase uzorka tako da masa loratadina bude 5 mg u vodi, odnosno 10 mg u simuliranom duodenalnom mediju (pH 4,5) i simuliranom intestinalnom mediju (pH 6,8) što osigurava dovoljan suvišak (tablica 4.). Analiza poboljšanja topljivosti nije provedena za simulirani želučani medij (pH 1,0) zbog dobre topljivosti čistog loratadina pri danim uvjetima.⁴⁷ Nakon vaganja uzorka u tikvici od 10 mL dodan je odgovarajući volumen otapala te su uzorci nakon 72 sata na tresilici filtrirani, razrijeđeni i analizirani spektrofotometrijski ili tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti, ukoliko je koncentracija loratadina bila preniska za spektrofotometrijsko određivanje. Otopine za spektrofotometrijsku analizu pripremljene su tako da je u tikvice od 5 mL otpipetirano 2 mL metanola i alikvot otopine uzorka, te su tikvice nadopunjene do oznake odgovarajućim medijem. Otopine za HPLC analizu pripremljene su tako da je u bočice od 1 mL otpipetirano 500 μ L uzorka i 500 μ L acetonitrila. U svakom uzorku odredila se koncentracija loratadina te se odredilo povećanje u odnosu na čisti loratadin. Uz uzorke

LOR/HP β CD ispitala se i topljivost sirovog loratadina te istog uzorka loratadina nakon 25 Hz i 30 min mljevenja u kugličnom mlinu (LOR_m). Metode kvantificiranja loratadina prethodno su validirane. Kalibracijska krivulja za određivanje masene koncentracije loratadina pomoću UV/VIS metode je $y = 0.0475x - 0.0355$ te $y = 43.128x - 0.253$ za određivanje masene koncentracije HPLC metodom. Volumeni priređenih uzoraka i alikvoti otopina uzoraka mogu se pronaći u tablici 4.

Tablica 3. Odvagane mase uzoraka loratadina i HP β CD pripremljenih mljevenjem za ispitivanja topljivosti u čvrstom stanju

| LOR:HP β CD | voda | | pH 6,8 | | pH 4,5 | |
|-------------------|-----------------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|
| | <i>m</i> (LOR)/ mg | <i>m</i> (uzorka)/ mg | <i>m</i> (LOR)/ mg | <i>m</i> (uzorka)/ mg | <i>m</i> (LOR)/ mg | <i>m</i> (uzorka)/ mg |
| 5:1 | 5,00 | 8,65 | 10,00 | 17,29 | 10,00 | 17,29 |
| 3:1 | | 11,08 | | 22,16 | | 22,16 |
| 2:1 | | 14,12 | | 28,24 | | 28,24 |
| 1:1 | | 23,24 | | 46,47 | | 46,47 |
| 1:2 | | 41,47 | | 82,94 | | 82,94 |
| 1:3 | | 59,71 | | 119,42 | | 119,42 |
| 1:5 | | 96,18 | | 192,36 | | 192,36 |

Tablica 4. Priprema uzoraka loratadina i LOR/HP β CD za istraživanje poboljšanja topljivosti u vodi i simuliranim biorelevantnim medijima

| Uzorak | $V_{\text{otpipetiranog uzorka}} / \text{mL}$ | $V_{\text{ukupni}} / \text{mL}$ | f.r. |
|-----------------------------------|---|---------------------------------|--------|
| pH 4,5 | | | |
| LOR | 0,5 | 1 | 2,00 |
| LOR _m | 0,5 | 1 | 2,00 |
| LOR:HPβCD | | | |
| 1:1 | 0,05 | 5 | 100,00 |
| 1:2 | 0,05 | 5 | 100,00 |
| 1:3 | 0,05 | 5 | 100,00 |
| 1:5 | 0,01 | 5 | 500,00 |
| 2:1 | 0,05 | 5 | 100,00 |
| 3:1 | 0,05 | 5 | 100,00 |
| 5:1 | 0,05 | 5 | 100,00 |
| 1:1 + MeOH | 0,05 | 5 | 100,00 |
| pH 6,8 | | | |
| LOR | 0,5 | 1 | 2,00 |
| LOR _m | 0,5 | 1 | 2,00 |
| LOR:HPβCD | | | |
| 1:1 | 0,05 | 5 | 100,00 |
| 1:2 | 0,05 | 5 | 100,00 |
| 1:3 | 0,05 | 5 | 100,00 |
| 1:5 | 0,025 | 5 | 200,00 |
| 2:1 | 0,1 | 5 | 50,00 |
| 3:1 | 0,3 | 5 | 16,67 |
| 5:1 | 0,3 | 5 | 16,67 |
| 1:1 + MeOH | 0,05 | 5 | 100,00 |
| voda | | | |
| LOR | 0,5 | 1 | 2,00 |
| LOR _m | 0,5 | 1 | 2,00 |
| LOR:HPβCD | | | |
| 1:1 | 0,1 | 5 | 50,00 |
| 1:2 | 0,1 | 5 | 50,00 |
| 1:3 | 0,1 | 5 | 50,00 |
| 1:5 | 0,05 | 5 | 100,00 |
| 2:1 | 0,1 | 5 | 50,00 |
| 3:1 | 0,025 | 1 | 40,00 |
| 5:1 | 0,025 | 1 | 40,00 |
| 1:1 + MeOH | 0,1 | 5 | 50,00 |

f.r. - faktor razrjeđenja

§ 4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu mehanokemijski su pripremljeni uzorci loratadina i HP β CD u molarnim omjerima 1:1, 1:2, 1:3, 1:5 te 2:1, 3:1 i 5:1 bez dodatka tekućine i 10 uzoraka omjera 1:1 uz dodatak različitih otapala s ciljem ispitivanja mogućnosti nastanka kompleksa mljevenjem u visokoenergijskom vibracijskom mlinu. Karakterizirana su svojstva uzoraka u čvrstom stanju koristeći PXRD, DSC i FTIR metode dok je poboljšanje topljivosti praćeno UV/VIS spektrofotometrijom i tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti.

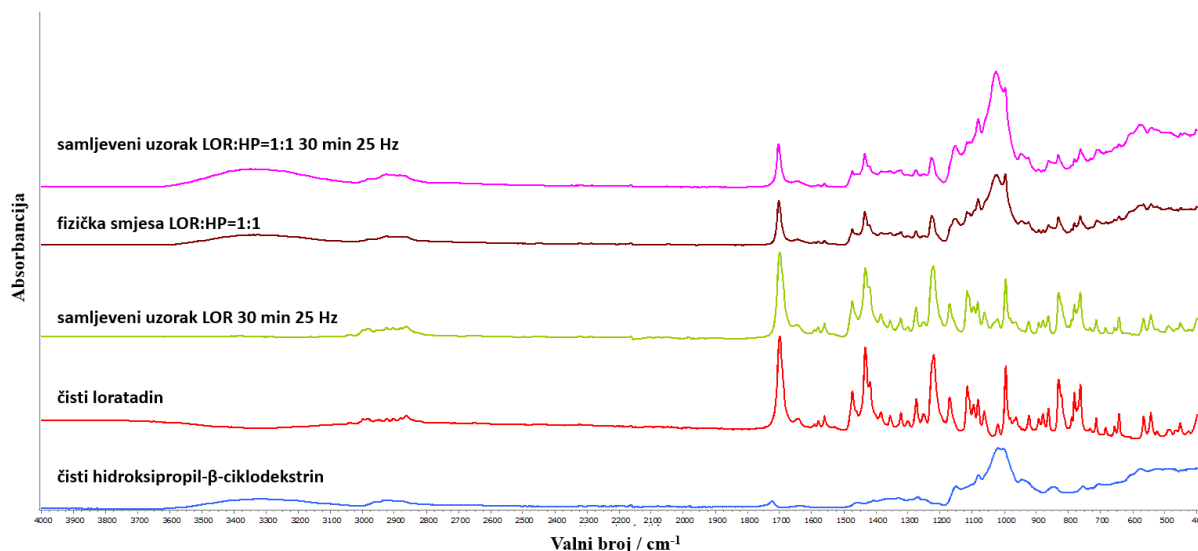
4.1. Karakterizacija uzoraka u čvrstom stanju

4.1.1. *Mljevenje bez dodatka tekućine*

Pripremljeni su uzorci LOR:HP β CD 1:1, 1:2, 1:3, 1:5 te 2:1, 3:1 i 5:1 bez dodatka tekućine koji su analizirani PXRD i ATR metodom (slike D3 – D6). Niti u jednom od difraktograma nije došlo do pojave novih difrakcijskih maksimuma što ukazuje na činjenicu da u pripremljenim uzorcima ne dolazi do nastanka nove kristalne faze. Kako se u uzorcima povećavao omjer HP β CD u odnosu na loratadin tako se smanjivao intenzitet difrakcijskih maksimuma koji odgovaraju loratadinu što je direktna posljedica smanjenja njegovog udjela u uzorku. U ATR spektrima niti za jedan slučaj nije došlo do pojave novih vrpca, iz čega se zaključuje da u uzorcima nije došlo do nastanka kompleksa. Uočeno smanjenje intenziteta C=O vibracijske vrpce (1700 cm^{-1}) posljedica je smanjenja udjela loratadina u smjesi.

Na slici 5. prikazani su ATR spektri čistog HP β CD, čistog sirovog loratadina, mljevenog loratadina te fizičke smjese (FS) LOR:HP β CD 1:1 i mljevenog uzorka LOR:HP β CD 1:1. Analiza ATR spektara sirovog i uzorka loratadina nakon 25 Hz i 30 min mljevenja u kugličnom mlinu pokazuje da pomaci vrpca nisu prisutni ili se kreću unutar raspona od 1 cm^{-1} , što se očekuje s obzirom na činjenicu da se radi o uzorku sirovog loratadina u oba slučaja (slike D1. i D2.). Maksimalan pomak C=O vibracijske vrpce (1700 cm^{-1}) u odnosu na čisti loratadin je u uzorku LOR:HP β CD 1:1 kada se vrpca pomiče sa 1700 cm^{-1} na 1703 cm^{-1} što je nedovoljan pomak da bi ukazivao na nastanak kompleksa. Pomak vrpce istezanja C=O i C=N (1643 cm^{-1}) mljevenog uzorka LOR:HP β CD 1:1 u odnosu na uzorak fizičke smjese iznosi 1 cm^{-1} (slika

D12.) što je neznatan pomak čime se potvrđuje da suhim mljevenjem uzorka LOR:HP β CD 1:1 ne dolazi do nastanka kompleksa.

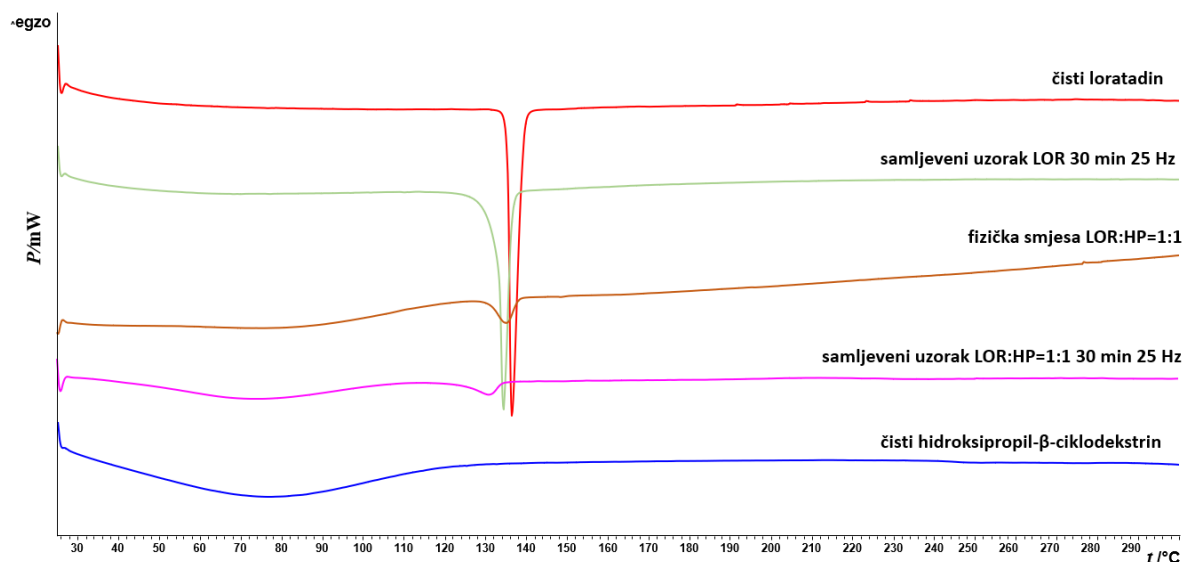


Slika 5. ATR spektri čistog HP β CD, čistog sirovog i mljevenog loratadina, fizičke smjese LOR:HP β CD 1:1 i mljevenog uzorka LOR:HP β CD 1:1

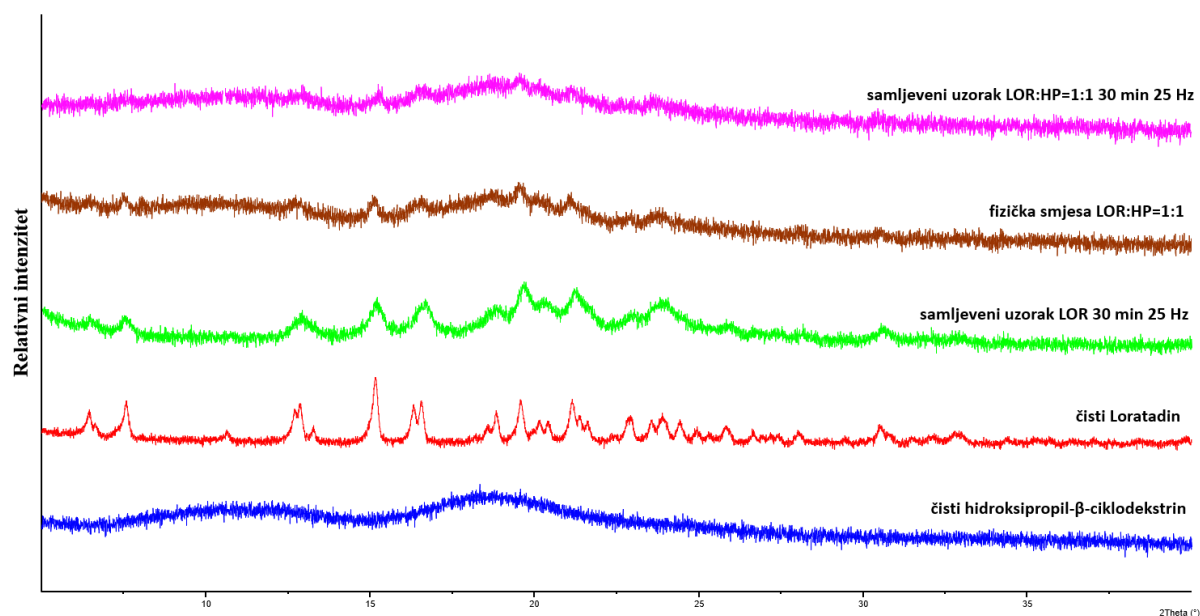
Usporedbom DSC krivulja gore navedenih uzoraka (slika 6.) može se primijetiti razlika u vrijednosti tališta čistog loratadina (136,27 °C) u odnosu na uzorke mljevenog loratadina (134,30 °C), fizičke smjese LOR:HP β CD 1:1 (135,18 °C) i mljevenog uzorka LOR:HP β CD 1:1 (130,93 °C). Dotična razlika posljedica je amorfizacije koja uzrokuje smanjenje uređenosti strukture tvari i shodno tome smanjuje vrijednost tališta. Krivulja tališta loratadina u slučaju samljevenog uzorka u velikoj mjeri zadržava svoj oblik no pokazuje pomak prema nižim temperaturama. Krivulje uzorka FS LOR:HP β CD 1:1 i uzorka mljevenog LOR:HP β CD 1:1 osim niže vrijednosti tališta pokazuju i promjenu oblika i intenziteta krivulje tališta što je također posljedica amorfizacije uzorka koja je veća od amorfizacije uzorka mljevenog loratadina te karakteristična za uzorke koje sadrže ciklodekstrin.²⁷ Integriranjem dotičnih krivulja u nastavku rada određena je točna vrijednost kristalnosti uzoraka koja dodatno argumentira dane tvrdnje (tablica 5.).

Ovi rezultati ATR spektara i DSC krivulja mljevenog uzorka LOR:HP β CD 1:1 razlikuju se od rezultata koje su dobili Lin i suradnici u njihovom radu iz 2010. godine.⁴⁴ U navedenom istraživanju snimani su vremenski ovisni IR spektri i DSC krivulje. ATR spektri pokazali su pomak C=O vibracijske vrpce prema nižim valnim duljinama (s 1703 cm⁻¹ na 1698 cm⁻¹) i smanjenje njenog intenziteta te nastanak nove vrpce pri valnoj duljini od 1676 cm⁻¹. Prateći

DSC krivulje već nakon 5 min mljevenja krivulja tališta loratadina je nestala što samo za sebe ne ukazuje na nastanak kompleksa, no u kombinaciji sa rezultatima IR-a dokazuje nastanak istog.⁴⁴ Potrebno je napomenuti kako dotičan rad ne navodi stupanj supstituiranosti HP β CD što je ključna informacija i moguć uzrok odstupanja rezultata ovog rada od rezultata istraživanja Lina i suradnika.



Slika 6. Usporedba DSC krivulja čistog HP β CD, čistog sirovog i mljevenog LOR sa FS LOR:HP β CD 1:1 i mljevenim uzorkom LOR:HP β CD 1:1



Slika 7. Usporedba difraktograma praškastog uzorka čistog HP β CD te čistog sirovog i mljevenog LOR sa FS LOR:HP β CD 1:1 i mljevenim uzorkom LOR:HP β CD 1:1

PXRD difrakcijski spektri (slika 7.) dodatno argumentiraju razliku u amorfizaciji već spomenutih uzoraka. Na slici 7 vidljivo je smanjenje intenziteta jasno definiranih difrakcijskih maksimuma loratadina koje je uočljivo već na uzorku mljevenog loratadina te jasno izraženo u uzorcima FS LOR:HP β CD 1:1 i mljevenog uzorka LOR:HP β CD 1:1 gdje su signali loratadina jedva primjetni.

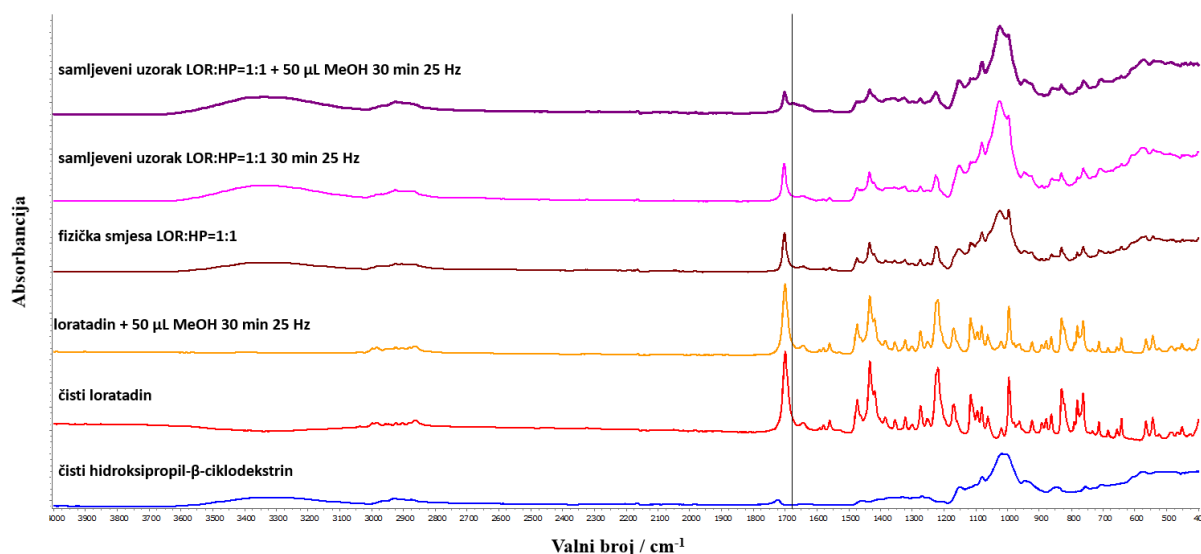
Lin i suradnici su pripremili kompleks LOR:HP β CD 1:1 mljevenjem loratidina i HP β CD na 15 Hz tijekom 15 minuta te su uzorak u obliku KBr pastile analizirali FTIR, a rezultate opisali u radu iz 2010. godine.⁴⁴ Kako bi se isključila mogućnost odstupanja rezultata dobivenih u ovom radu nastalih kao posljedica drugačijih uvjeta mljevenja ili metode analize također je pripremljen uzorak LOR:HP β CD 1:1 samljeven na 15 Hz tijekom 15 minuta te analiziran i ATR i FTIR-KBr metodom (slika D14.). Spektri snimljeni već spomenutim metodama međusobno se nisu razlikovali te se niti u jednom nije pojavila nova vrpca u odnosu na početne spojeve čime su se razlikovali od spektara koje su Lin i suradnici dobili u svom radu. Dobiveni rezultati dodatno podupiru mogućnost utjecaja stupnja supstituiranosti HP β CD na dobivanje kompleksa.

4.1.2. *Mljevenje potpomognuto tekućinom*

Pripremljeni su uzorci LOR:HP β CD 1:1 s dodatkom 10 različitih tekućina: vode, metanola, etanola, propanola, 2-propanola, acetona, etil-acetata, tetrahidrofurana, heptana i acetonitrila te im snimljeni difraktogrami. (slike D7 – D10). Niti u jednom od difraktograma nije uočena pojava novih difrakcijskih maksimuma što ukazuje na činjenicu da u pripremljenim uzorcima ne dolazi do nastanka nove kristalne faze. U ATR spektrima kompleksa pripremljenim korištenjem metanola i etanola uočena je nova vrpca te se istraživanje nastavilo s uzorcima mljevenim uz dodatak metanola budući da su nove vrpce u dva gore spomenuta uzorka bile identične.

U ATR spektru uzorka LOR:HP β CD 1:1 dobivenog mljevenjem uz dodatak 50,0 μ L metanola uočena je nova vrpca na 1674 cm^{-1} . Kako bi se utvrdili da nova vrpca nastaje kao posljedica interakcije loratadina i HP β CD pripremljen je i snimljen uzorak loratadina koji je samljeven s dodatkom od 50,0 μ L metanola, čime se isključila mogućnost nastanka vrpce kao posljedice interakcije loratadina s metanolom. Osim pojave nove vrpce na slici 8. također se može primijetiti smanjenje intenziteta C=O vrpce u odnosu na mljeveni uzorak LOR:HP β CD 1:1, FS LOR:HP β CD 1:1, uzorak loratadina koji je samljeven s dodatkom od 50,0 μ L metanola

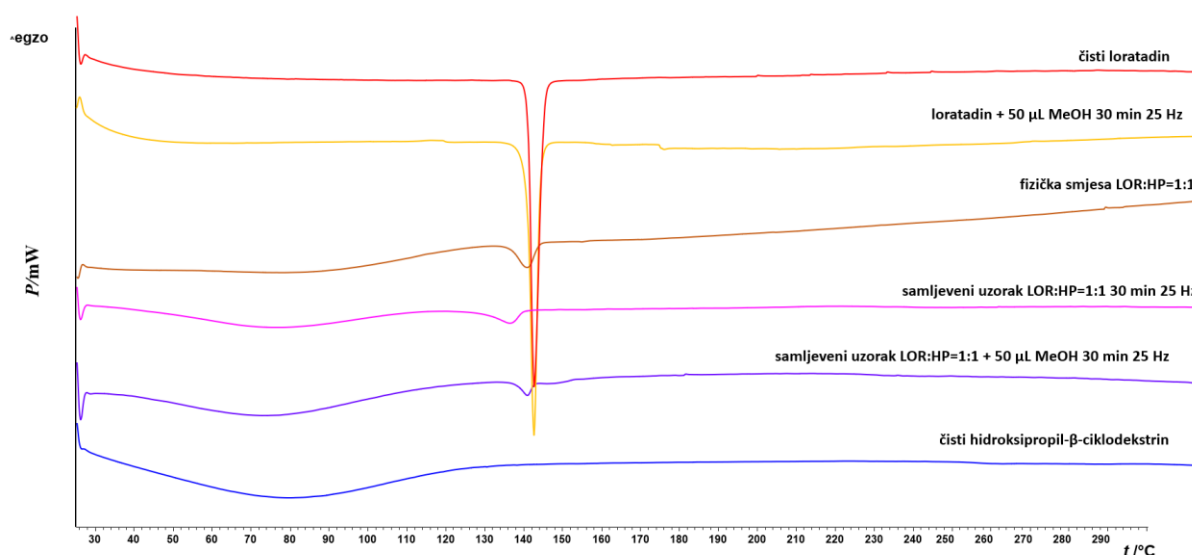
te sirovog loratadina. Pojava nove vrpce dokazana je i u ponovno pripremljenim uzorcima LOR:HP β CD 1:1 s dodatkom metanola (slika D11.) čime se potvrđuje reproducibilnost pokusa i shodno tome djelomičan nastanak kompleksa.



Slika 8. Usporedba ATR spektara čistog sirovog LOR te mljevenog LOR s dodatkom metanola i čistog HP β CD s FS LOR:HP β CD 1:1, mljevenim uzorkom LOR:HP β CD 1:1 i mljevenim uzorkom LOR:HP β CD 1:1 uz dodatak metanola

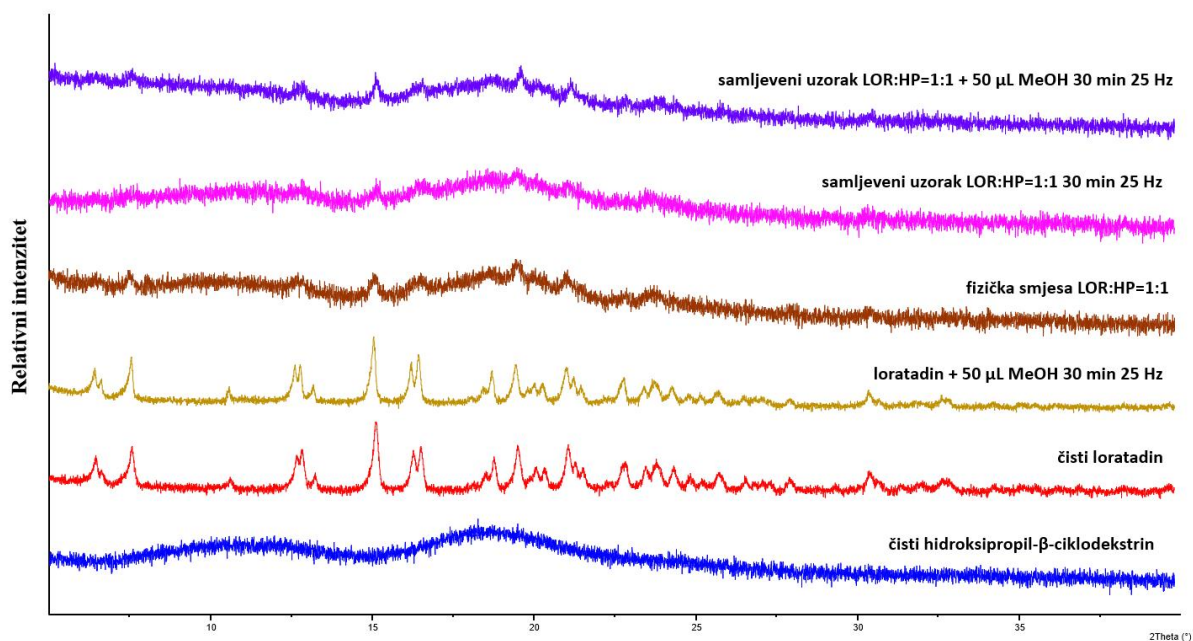
Analizom DSC krivulja određeno je talište loratadina u samljevenim uzorcima loratadina uz dodatak metanola (136,53 °C) i LOR:HP β CD 1:1 s dodatkom metanola (135,05 °C). Krivulja tališta loratadina u uzorku samljevenog loratadina uz dodatak metanola ostaje oštro definirana te pokazuje vrijednost neznatno višu od čistog loratadina. Talište loratadina u uzorku LOR:HP β CD 1:1 s dodatkom metanola vrlo je blisko talištu u uzorku fizičke smjese LOR:HP β CD 1:1 (135,18 °C). Uz to signal koji pripada talištu loratadina navedenih uzoraka ima sličan oblik u svim DSC krivuljama, no vrlo različitu površinu. Integriranjem površine krivulje koja odgovara vrijednosti entalpije taljenja, u slučaju uzorka fizičke smjese LOR:HP β CD 1:1 dobiva se vrijednost od 24,82 mJ, dok se za uzorak LOR:HP β CD 1:1 s dodatkom metanola dobiva vrijednost od 9,27 mJ. Ove vrijednosti će u nastavku ovog diplomskog rada bili iskorištene za računanje kristalnosti uzoraka (tablica 5.) te time pružiti dodatnu dimenziju interpretacije rezultata. Također je zanimljivo primijetiti da je talište loratadina u uzorku LOR:HP β CD 1:1 s dodatkom metanola primjetno više nego u uzorku bez dodanog metanola (130,93 °C), da se talište loratadina u uzorcima razlikuje za 4,12 °C te da im krivulje tališta poprimaju različite oblike.

Ovi rezultati dobiveni za uzorak LOR:HP β CD 1:1 s dodatkom metanola vrlo su slični rezultatima koje su Lin i suradnici dobili u svom već spomenutom radu.⁴⁴ Vrpca u ATR spektru uzorka dobivenog u sklopu ovog rada (1674 cm⁻¹) javlja se na vrlo bliskom valnom broju (1676 cm⁻¹) kao novonastala vrpca u radu Lina i suradnika, iako u slučaju uzorka dobivenog u ovom radu ne dolazi do pomaka C=O vrpce prema nižim valnim brojevima dolazi do znatnog smanjenja njenog intenziteta. Unatoč tome što uspoređujući DSC krivulje uzorka LOR:HP β CD 1:1 s dodatkom metanola i uzorka 1:1 iz Linovog rada ne dolazi do nestanka signala koji odgovara talištu loratadina u uzorku dobivenom u ovom radu, u usporedbi s ostalim dobivenim uzorcima u sklopu ovog rada njena površina je daleko manja što nam ukazuje na smanjen stupanj kristalnosti uzorka LOR:HP β CD 1:1 s dodatkom metanola te djelomičan nastanak inkluzijskog kompleksa.



Slika 9. Usporedba DSC krivulja sirovog loratadina te mljevenog loratadina s dodatkom metanola i čistog HP β CD-a s FS LOR:HP β CD 1:1, mljevenim uzorkom LOR:HP β CD 1:1 i mljevenim uzorkom LOR:HP β CD 1:1 uz dodatak metanola

Difraktogrami gore navedenih uzoraka (slika 10.) nam ne daju nikakve dodatne informacije osim dokaz o amorfizaciji sustava loratadina i HP β CD koje se događa nakon mljevenja u kugličnom mlinu. Difrakcijski maksimumi koji su oštro definirani u uzorku sirovog loratadina i uzorka mljevenog loratadina s dodatkom metanola se naziru u amorfnim smjesama uzoraka LOR:HP β CD 1:1 sa i bez dodatka metanola, čime se dokazuje prisutnost ostataka čistog loratadina nepromijenjene kristalne strukture u odnosu na početni spoj.



Slika 10. Usporedba difraktograma čistog sirovog LOR-a te mljevenog LOR-a s dodatkom metanola i čistog HPβCD-a s FS LOR:HPβCD 1:1, mljevenim uzorkom LOR:HPβCD 1:1 i mljevenim uzorkom LOR:HPβCD 1:1 uz dodatak metanola

4.1.3. Kristalnost uzoraka

Integriranjem signala koji odgovaraju taljenju loratadina u pripremljenim uzorcima (slike D15.–D25.) mogu se dobiti informacije o vrijednosti energije uložene u promjenu agregacijskog stanja loratadina. Tako dobivenu energiju potrebno je podijeliti s masom loratadina prisutnom u uzorku koja se računa uzimajući u obzir masu uzorka podvrgnutog DSC analizi i maseni udio loratadina u uzorku do kojeg je moguće doći iz molarnih omjera LOR i HPβCD. Poznavajući površinu signala taljenja loratadina direktno znamo i njegovu entalpiju taljenja. Stupanj kristalnosti vrijednost je koja nam govori o udjelu kristalne strukture u analiziranom uzorku i računa se prema formuli (1).⁴⁴

$$RDC_{LOR}(\%) = \frac{\Delta H_{uzorka}}{\Delta H_{LOR}} \times 100 \quad (1)$$

gdje je RDC stupanj kristalnosti, ΔH_{uzorka} entalpija taljenja loratadina u uzorku i ΔH_{LOR} promjena entalpije loratadina.

Usporedbom podataka u tablici 5. može se primijetiti da dodatkom metanola prilikom pripreme uzorka LOR:HPβCD 1:1 kristalnost uzorka pada sa 68,74 % na samo 22,05 %. Unatoč tolikoj razlici u kristalnosti uzorak LOR:HPβCD 1:1 uz dodatak metanola ima za 4,12 °C više

talište od istog bez dodatka metanola. Ova razlika je još jedan argument u korist nastanka kompleksa budući da bi smanjenje kristalnosti tvari rezultiralo smanjenjem tališta u odnosu na uređeniju strukturu iste, čime se može zaključiti da je procesom mljevenja nastala nova vrsta tvari tj. u našem slučaju kompleks loratadina i HP β CD.

Također je zanimljivo obratiti pažnju na razliku u talištu mljevenog loratadina sa i bez dodanog metanola gdje je, iako im je stupanj kristalnosti gotovo identičan, talište uzorka sa dodatnim metanolom čak za 2,23 °C više od uzorka bez metanola.

Tablica 5. Promjena entalpije i stupanj kristalnosti čistog LOR i uzoraka pripremljenim mljevenjem

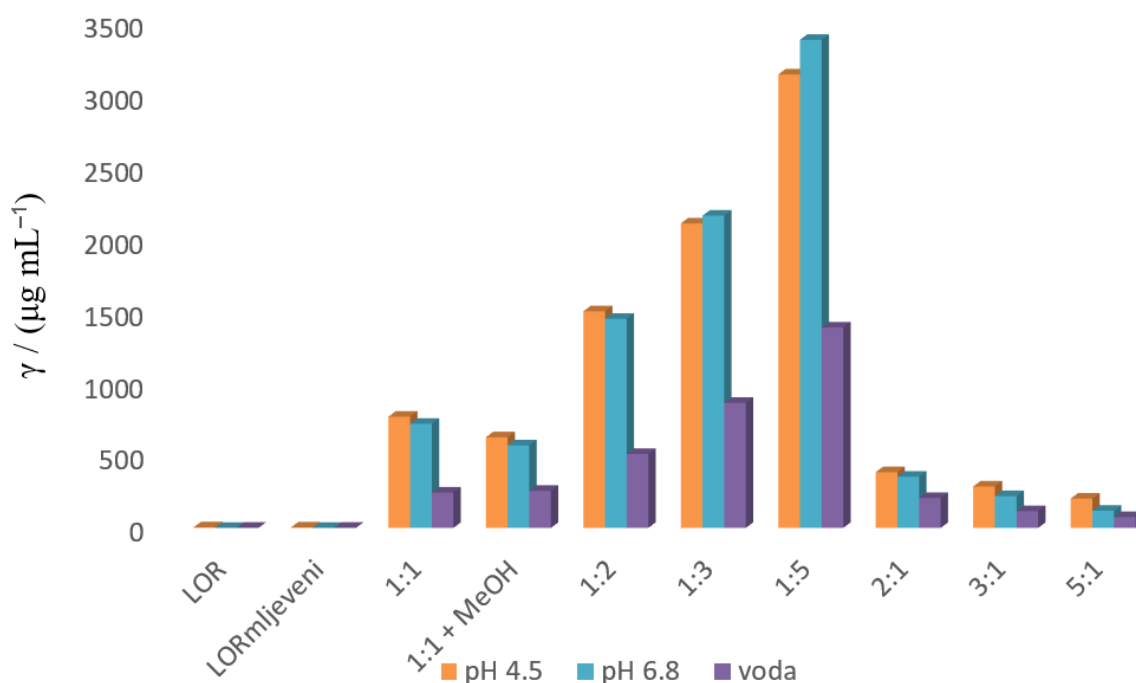
| uzorak | ΔH_{LOR} (J g ⁻¹) | RDC (%) |
|--|--|---------|
| LOR | 75,04 | 100,00 |
| uzorak | ΔH_{uzorka} (J g ⁻¹) | RDC (%) |
| mljeveni LOR 30 min 25 Hz | 66,68 | 88,86 |
| LOR + 50 μ L MeOH 30 min 25 Hz | 66,52 | 88,64 |
| FS LOR: HP β CD 1:1 | 51,58 | 68,74 |
| LOR: HP β CD 1:1 | 43,03 | 57,35 |
| LOR: HP β CD 1:1 + 50 μ L MeOH 30 min 25 Hz | 16,55 | 22,05 |

4.2. Određivanje topljivosti uzoraka

Određena je topljivost uzoraka loratadina pripremljenim mljevenjem u vodi i u simuliranim biorelevantnim medijima. Promatrajući sliku 11. jasno je vidljiv porast topljivosti LOR s porastom udjela HP β CD koji je izražajniiji pri nižim pH-vrijednostima. Najveće povećanje topljivosti dobili smo za uzorak LOR:HP β CD 1:5 u simuliranom intestinalnom mediju pH 6,8 u kojem se topljivost loratadina pokazala čak 4137 puta veća nego topljivost čistog loratadina u istom mediju. Najmanje povećanje topljivosti uočeno je u uzorku LOR:HP β CD 5:1 u vodi gdje je topljivost LOR bila 51 put veća nego li čistog loratadina u istom mediju. Najveće povećanje topljivosti u simuliranom duodenalnom mediju pH 4,5 također je određeno za uzorak LOR:HP β CD 1:5 gdje je loratadin pokazao čak 786 puta veću topljivost od čistog loratadina u istom mediju.

Ciklodekstrini, slično kao alifatski oligosaharidi, imaju sposobnost stvaranja neinkluzijskih kompleksa tj. ostvaruju međumolekulske interakcije putem hidroksilnih skupina koje se nalaze na vanjskoj površini ciklodekstrina i odgovarajućih funkcionalnih grupa na molekulama

lijekova. Inkluzijski i neinkluzijski kompleksi mogu koegzistirati unutar iste otopine shodno čemu poboljšanje topljivosti ne mora proizlaziti samo iz jedne vrste kompleksa, već ciklodekstrini mogu pridonositi povećanju topljivosti lijeka kroz različite vrste interakcija.^{48,49} Imajući to na umu treba uzeti u obzir da je u pripremljenom uzorku LOR:HP β CD 1:1 uz dodatak metanola došlo do djelomičnog nastanka inkluzijskog kompleksa. Topljivost loratadina u uzorku LOR:HP β CD 1:1 uz dodatak metanola nešto je slabija od topljivosti loratadina u uzorku 1:1 što se može objasniti nehomogenošću pripremljenih uzoraka. Ovu pretpostavku potkrepljuje činjenica velike razlike u kristalnosti fizičke smjese 1:1 u odnosu na čisti loratadin. Tako izražena amorfizacija fizičke smjese ne bi trebala biti rezultat miješanja.



Slika 11. Usporedba topljivosti loratadina ovisno o vrsti uzorka i pH-vrijednosti otopine

§ 5. ZAKLJUČAK

Temeljem provedenog istraživanja potvrđen je djelomičan nastanak inkluzijskog kompleksa između lijeka loratadina i nosača HP β CD u omjeru LOR:HP β CD 1:1 pomoću LAG metode dodatkom metanola, pri čemu je dodatak metanola također rezultirao značajnom amorfizacijom uzorka od 35,3%. Analiza kompleksa u čvrstom stanju korištenjem DSC, ATR i PXRD metoda pružile su ključne informacije o njegovim svojstvima. Ispitivanjem topljivosti loratadin dokazano je povećanje njegove topljivosti s rastućim stehiometrijskim omjerom HP β CD, posebice pri nižim pH-vrijednostima simuliranih biorelevantnih otapala. Također je utvrđeno da vrsta otapala korištenog u LAG metodi igra ključnu ulogu u nastanku kompleksa. Promatranjem rezultata u cjelini utvrđeno je da uz nastanak kompleksa postotak kristalnosti također značajno utječe na talište uzorka.

§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

α -CD - alfa ciklodekstrin

β -CD - beta ciklodekstrin

γ -CD - gama ciklodekstrin

ATR- prigušena totalna refleksija

CD - ciklodekstrin

DSC - diferencijalna skenirajuća kalorimetrija

FTIR - infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom

HSM - temperaturno ovisna mikroskopija (*eng.* hot stage microscopy)

HP β CD - hidroksipropil beta ciklodekstrin

LOR - loratadin

MPS - mukopolisaharidoza

PXRD - difrakcija rendgenskog zračenja na polikristalnom uzorku

SEM - skenirajuća elektronska mikroskopija

TG - termogravimetrijska

TGA - termogravimetrijska analiza

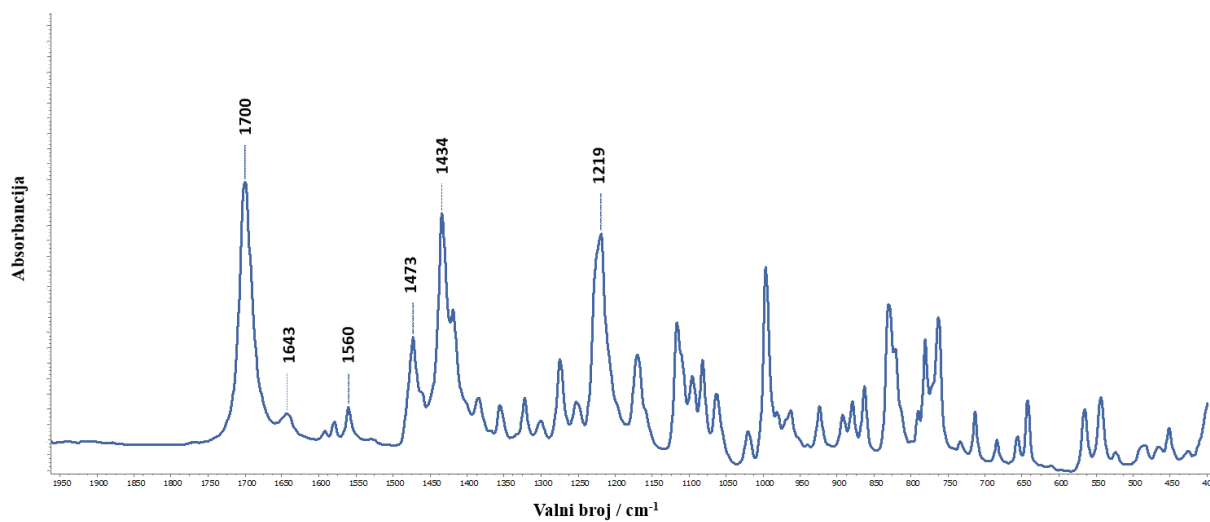
§ 7. LITERATURNI IZVORI

1. <https://goldbook.iupac.org/terms/view/S05740> (datum pristupa 20. siječnja 2024)
2. H. Jain, N. Chella, *Environ. Chem. Lett.*, **19** (2021) 111–121.
3. S. B. Murdande, M. J. Pikal, R. M. Shanker, R. H. Bogner, *Pharm. Dev. Technol.* **16** (2011) 187–200.
4. <https://www.nhs.uk/medicines/loratadine/> (datum pristupa 29. svibnja 2023.)
5. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Loratadine> (datum pristupa 29. svibnja 2023.)
6. J. Wang, R. Chang, Y. Zhao, J. Zhang, T. Zhang, Q. Fu, C. Chang, A. Zeng, *PharmSciTech.* **18** (2017) 2541–2550.
7. H. Kelemen, G. Hancu, S.A. Gâz-Florea, E. Nemes-Nagy, L.A. Papp, E. Mircia, *Acta Marisiensis, Ser. Med.*, **64** (2018) 70–76.
8. M. Jug, M. Bećirević–Laćan, *Farm. Glas.* **58** (2002) 189–204.
9. I. Colombo, G. Grassi, M. Grassi, *J. Pharm. Sci.*, 98(2009) 3961–3986
10. W. Jones, M.D. Eddleston, *Faraday Discuss.*, 170(2014) 9–34
11. M. Jug, P. A. Mura, *Pharmaceutics* **10** (2018) 1–22
12. M. N. Martinez, G. L. Amidon, *J. Clin. Pharmacol* **42** (2002) 620–643.
13. A. T. Serajuddin, *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **59** (2007) 603–616.
14. M. Peng, T.T. Duignan, X.S. Zhao, A.V. Nguyen, *J. Phys. Chem. B*, **124**(2020) 3195–3205.
15. Y. Kawabata, K. Wada, M. Nakatani, S. Yamada, S. Onoue, *Int. J. Pharm.* **420** (2011) 1–10.
16. P. Khadka, J. Ro, H. Kim, I. Kim, J.T. Kim, H. Kim, J. M. Cho, G. Yun, J. Lee, *Asian. J. Pharm. Sci.* **9** (2014) 304–316.
17. S. Aitipamula, R. Banerjee, A. K. Bansal, K. Biradha, M. L. Cheney, A. R. Choudhury, G. R. Desiraju, A. G. Dikundwar, R. Dubey, N. Duggirala, P. P. Ghogale, S. Ghosh, P. K. Goswami, N. R. Goud, R. R. K. R. Jetti, P. Karpinski, P. Kaushik, D. Kumar, V. Kumar, B. Moulton, A. Mukherjee, G. Mukherjee, A. S. Myerson, V. Puri, A. Ramanan, T. Rajamannar, C. M. Reddy, N. Rodriguez-Hornedo, R. D. Rogers, T. N. Guru Row, P. Sanphui, N. Shan, G. Shete, A. Singh, C. C. Sun, J. A. Swift, R. Thaimattam, T. S. Thakur,

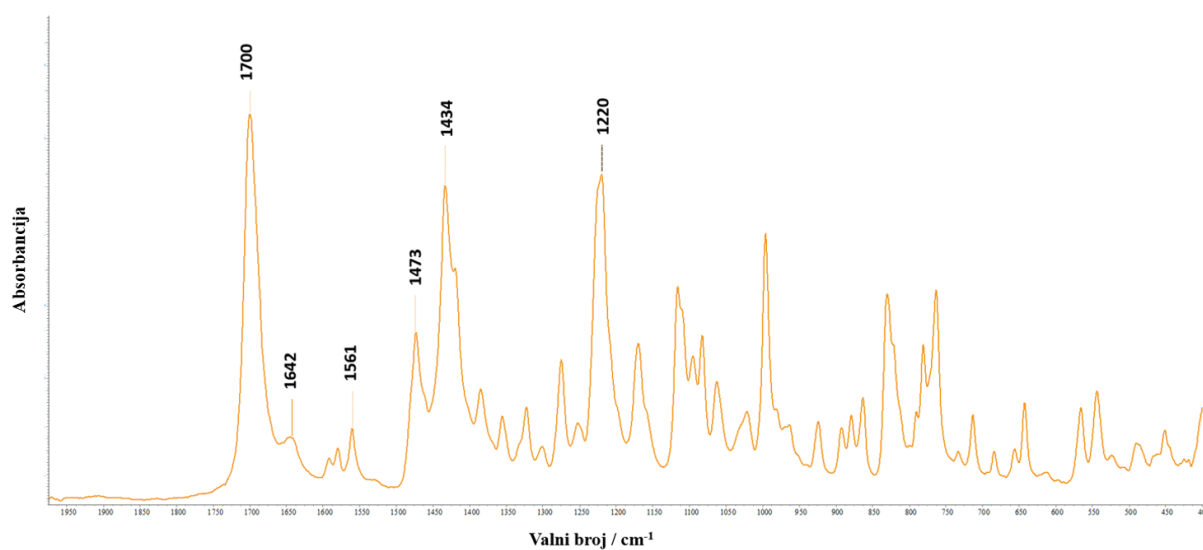
- R. K. Thaper, S. P. Thomas, S. Tothadi, V. R. Vangala, N. Variankaval, P. Vishweshwar, D. R. Weyna i M. J. Zaworotko, *Cryst. Growth Des.* **12** (2012) 2147- 2152.
18. N. Shan, M. J. Zaworotko, *Drug Discovery Today*, **13** (2008) 440-446
19. T. Friscic, W. Jones, *Cryst. Growth Des.*, **9**(2009) 1621-1637.
20. P. Ying, J. Yu, W. Su, *Advanced Synthesis & Catalysis*, **363**(2021) 1246-1271.
21. M. Karimi-Jafari, L. Padrela, G. M. Walker, D. M. Croker, *Cryst. Growth Des.*, **18**(2018) 6370–6387.
22. D.P. Elder, R. Holm, H.L. De Diego, *Int. J. Pharm.*, **453**(2013) 88-100.
23. H.H. Tønnesen, M. Másson, T. Loftsson, *Int. J. Pharm.*, **244**(2002) 127-135.
24. S. Tommasini, D. Raneri, R. Ficarra, M.L. Calabrò, R. Stancanelli, P. Ficarra, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **35**(2004) 379–387
25. R.K. Sanku, O.O. Karakus, M. Ilies, M.A. Ilies, *Am. Chem. Soc.*, **9**(2019) 187-221
26. D. Hasa, E. Carlino, W. Jones, *Cryst. Growth Des.* **16** (2016), 1772–1779.
27. Z. H. Loh, A. K. Samanta, P. W. S. Heng, *Asian. J. Pharm. Sci.* **10** (2015) 255–274.
28. M. A. Walker, A. Michael, "Improving solubility via structural modification." *Tactics in Contemporary Drug Design*, Springer, Berlin, Heidelberg, 2015, str. 69–106.
29. P. Saokham, C. Muankaew, P. Jansook, T. Loftsson, *Molecules* **23** (2018) 1161–1176.
30. P. Mura, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **113** (2015) 226–238.
31. J.G. Hernández, C. Bolm, *The Journal of organic chemistry*, **82**(2017) 4007–4019.
32. T. Frišćić, *Chem. Soc. Rev.*, **41** (2012) 3493–3510.
33. M. Rajić, *Termička analiza i kinetika termičkih procesa u kemiji čvrstog stanja*, Zagreb, 1998, str. 3–20.
34. B. Prugovečki, E. Meštrović, *Difrakcija rentgenskog zračenja u polikristalnom uzorku*, Skripta za internu upotrebu, Zagreb, 2011.
35. B. Kaitner, *Difrakcija rendgenskih zraka na monokristalu*, Upute za internu upotrebu, Zagreb, 1983.
36. IUPAC. *Compendium of Chemical Terminology ("Gold Book")*, 2 nd edition (sastavili A. D. McNaught i A. Wilkinson), Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1997.
37. B. Stuart, *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons, Chichester, 2004. str. 2–13
38. E. Smith, G. Dent, *Modern Raman Spectroscopy – A Practical Approach*, John Wiley and Sons, Chichester, 2005. str. 3–5

39. A. Pallares– Rusiñol, M. Bernuz, S. L. Moura, C. Fernández– Senac, R. Rossi, M. Martí, M. I. Pividori, Advances in exosome analysis. Advances in clinical chemistry, *Elsevier*, **112** (2023) 69– 117.
40. Á. Nacsa , O. Berkesi, P. Szabó-Révész, Z. Aigner, *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **64** (2009) 249–254.
41. L. Omar, M. I. El-Barghouthi, N. A. Masoud, A. A. Abdoh, M. M. Al Omari, M. B. Zughul, and A. A. Badwan, *J. Solution Chem.* **36** (2007) 605–616.
42. P. E. Rivas-Granizo, L. Giorgetti, H. Gomes Ferraz, *Int. J. Photoenergy* **2015** (2015).
43. A. Nacsa, R. Ambrus, O. Berkesi, P. Szabo-Revesz, and Z. Aigner, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **48** (2008) 1020–1023.
44. K. V. R. N. S. Ramesh, H. K. S. Yadav, O. Sarheed, T. S. Elmarsafawy, Q. Islam, *Asian J. Pharm.* **14** (2020) 634–644.
45. S. Y. Lin, C. H. Hsu, M. T. Sheu, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **53** (2010) 799–803.
46. H. L. Lin, S. Y. Lin, C. C. Lin, C. H. Hsu, T. K. Wu, Y. T. Huang, *Carbohydr. Polym.* **87** (2012) 512–517.
47. 5.17.1. Recommendations on Dissolution Testing, European Pharmacopeia 9.0, European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care, Strasbourg, Francuska, 2017, 761–763.
48. G. Popović, M. Čakar, D. Agbaba, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **49** (2009) 42–47.
49. M.E. Brewster, T. Loftsson, *Adv. Drug Delivery Rev.* **59** (2007) 645–666.

§ 8. DODATAK



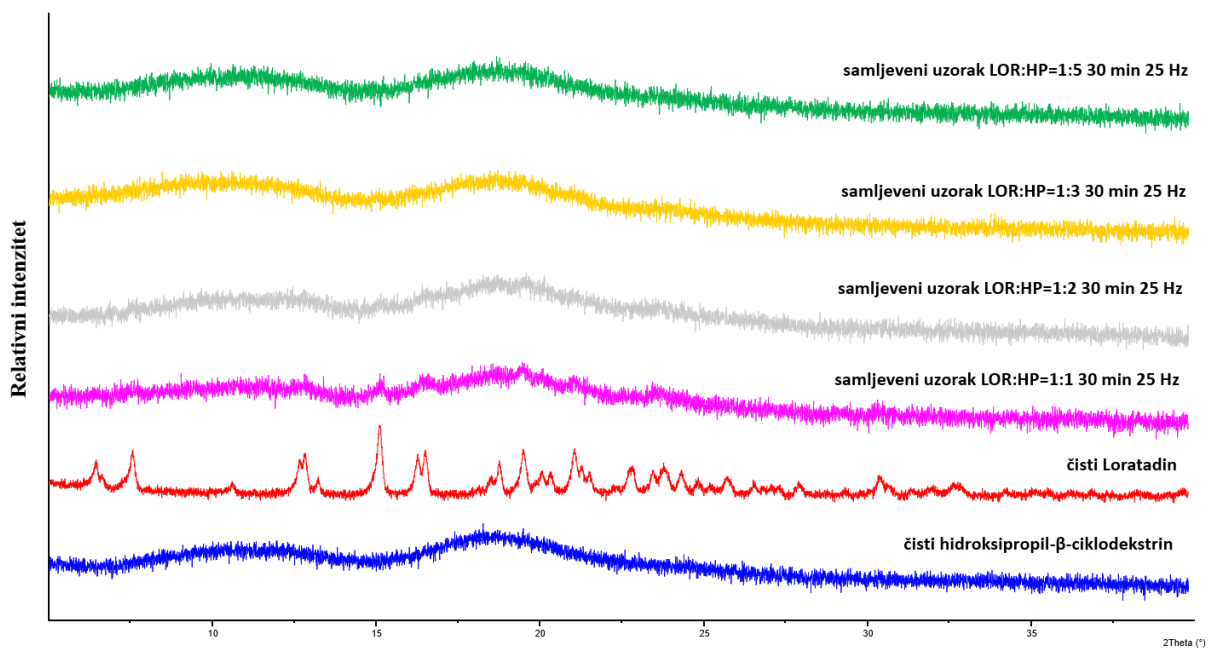
Slika D1. ATR spektar LOR u rasponu od 1950 do 400 cm⁻¹ sa označenim glavnim vrpčama



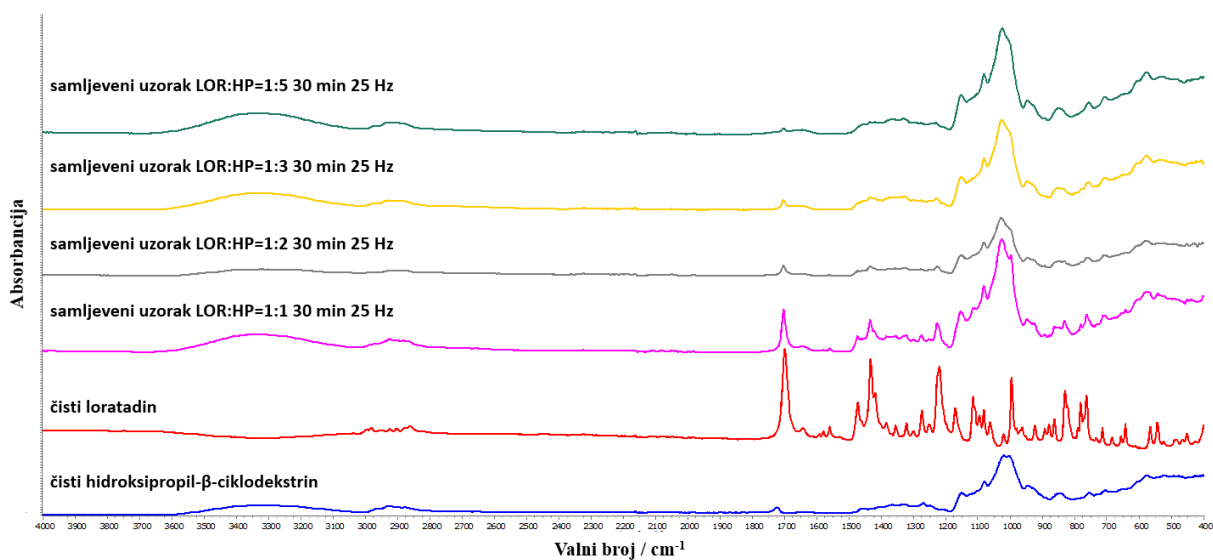
Slika D2. ATR spektar mljevenog LOR u rasponu od 1950 do 400 cm⁻¹ sa označenim glavnim vrpčama

Tablica D1. Asignacija glavnih vrpca LOR označenih na slici D1

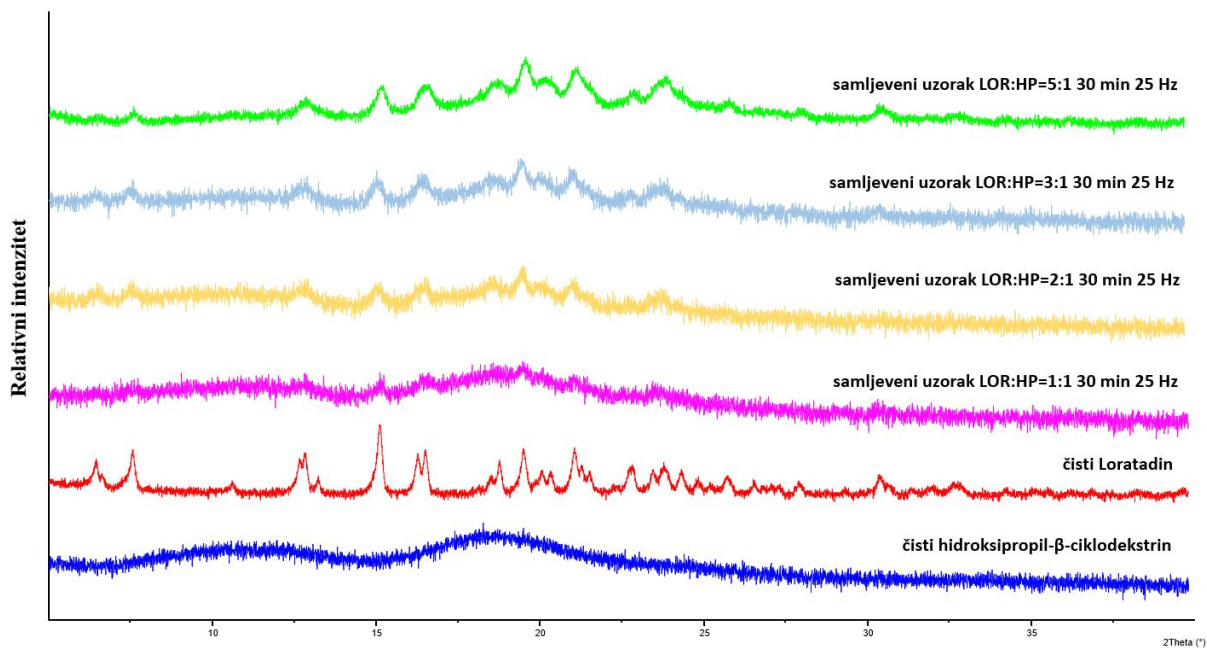
| Valni broj LOR / cm^{-1} | Asignacija vrpca |
|-----------------------------------|---------------------------|
| 1700 | $\nu \text{ C=O}$ |
| 1643 | $\nu \text{ C=N}$ |
| 1560 | $\nu \text{ C=C (benz.)}$ |
| 1473 | $\nu \text{ C=C}$ |
| 1434 | $\nu \text{ C=C}$ |
| 1219 | $\nu \text{ C-O}$ |



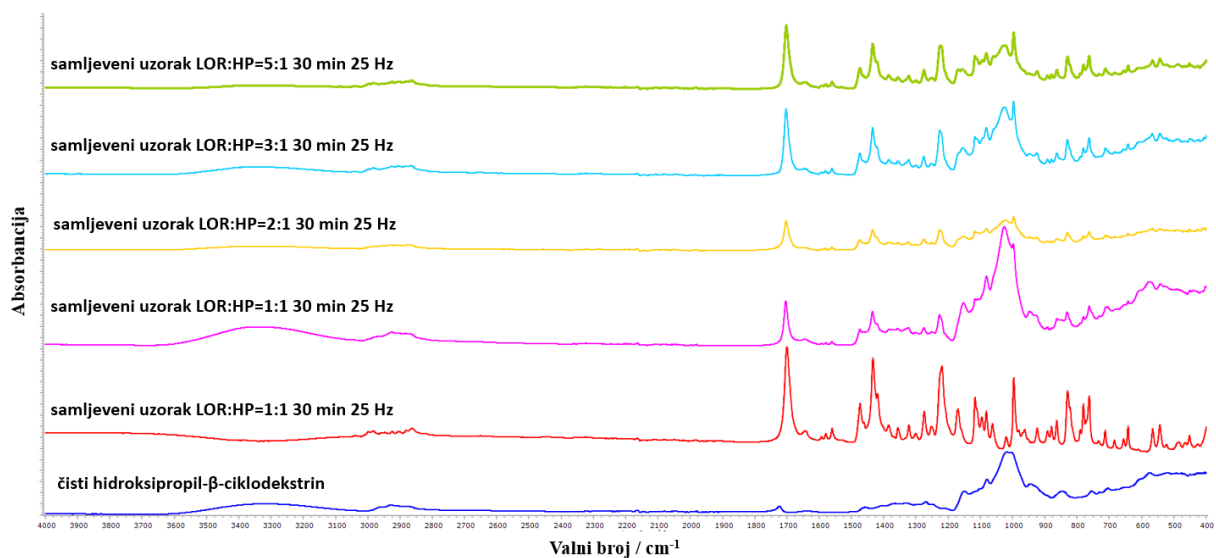
Slika D3. Usporedba difraktograma uzoraka molarnih omjera LOR:HPβCD 1:1, 1:2, 1:3 i 1:5 te uzoraka čistog LOR i HPβCD



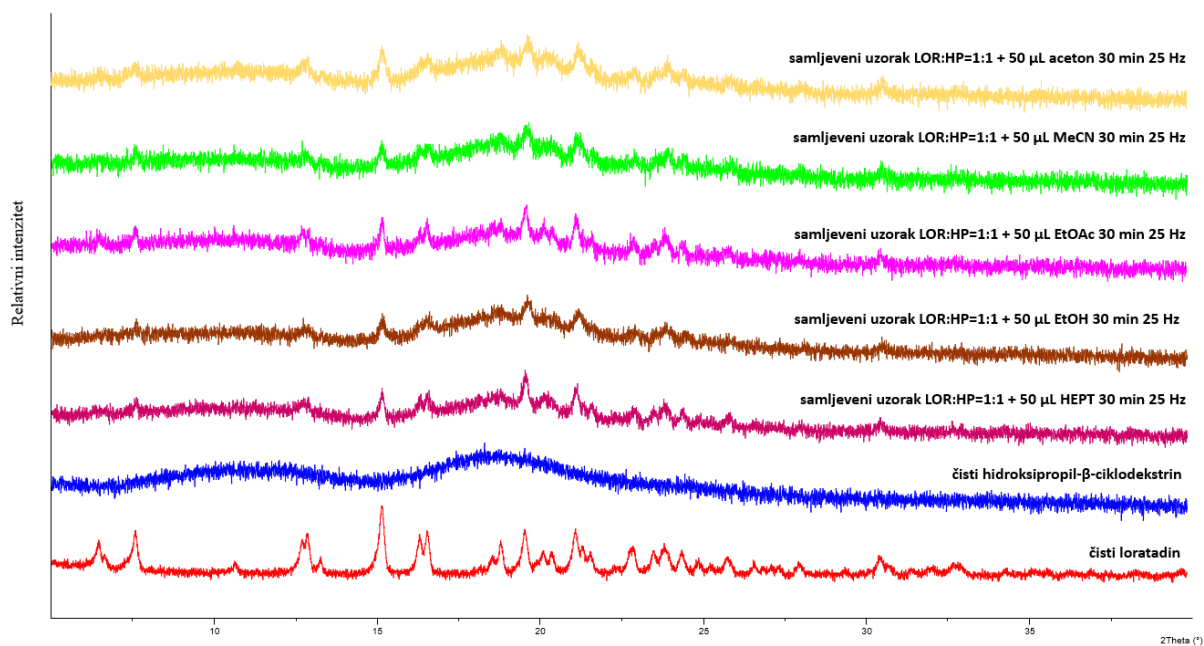
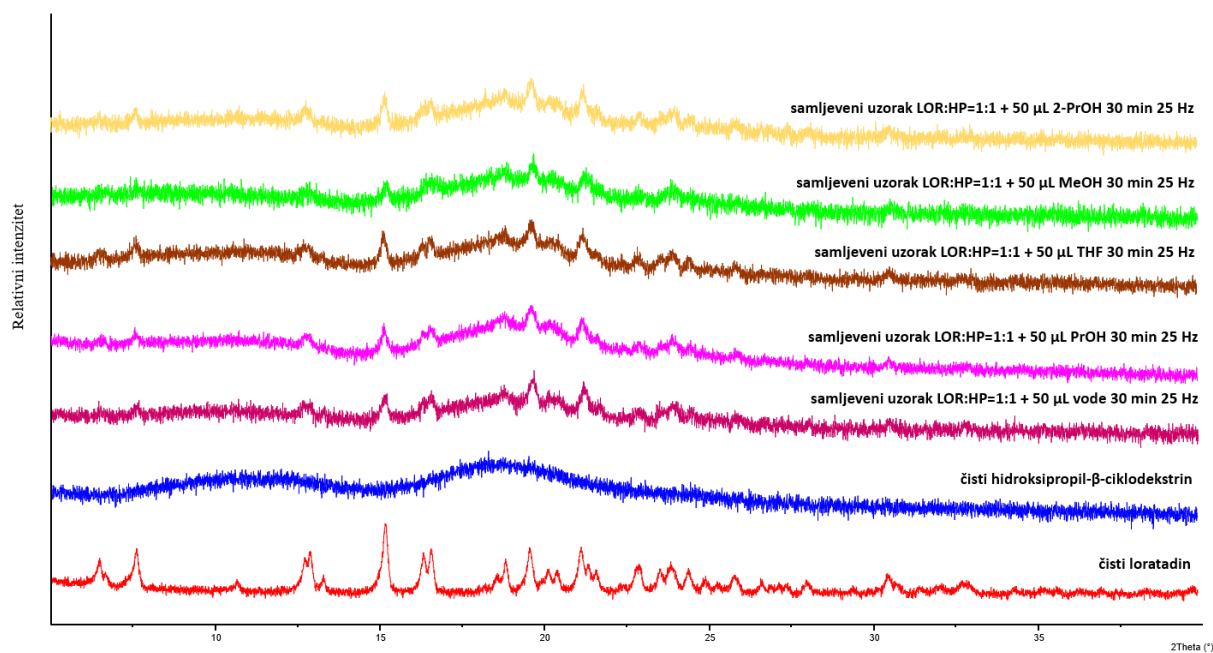
Slika D4. Usporedba ATR spektara uzoraka molarnih omjera LOR:HPβCD 1:1, 1:2, 1:3 i 1:5 te uzoraka čistog LOR i HPβCD

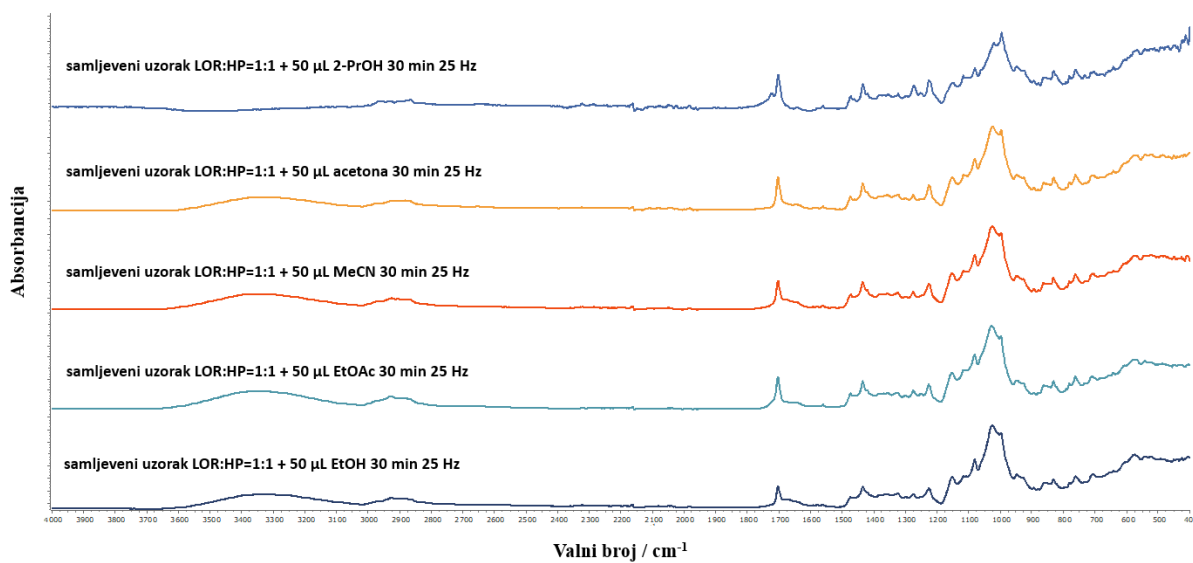


Slika D5. Usporedba difraktograma uzoraka molarnih omjera LOR:HPβCD 1:1, 2:1, 3:1 i 5:1 te uzoraka čistog LOR i HPβCD

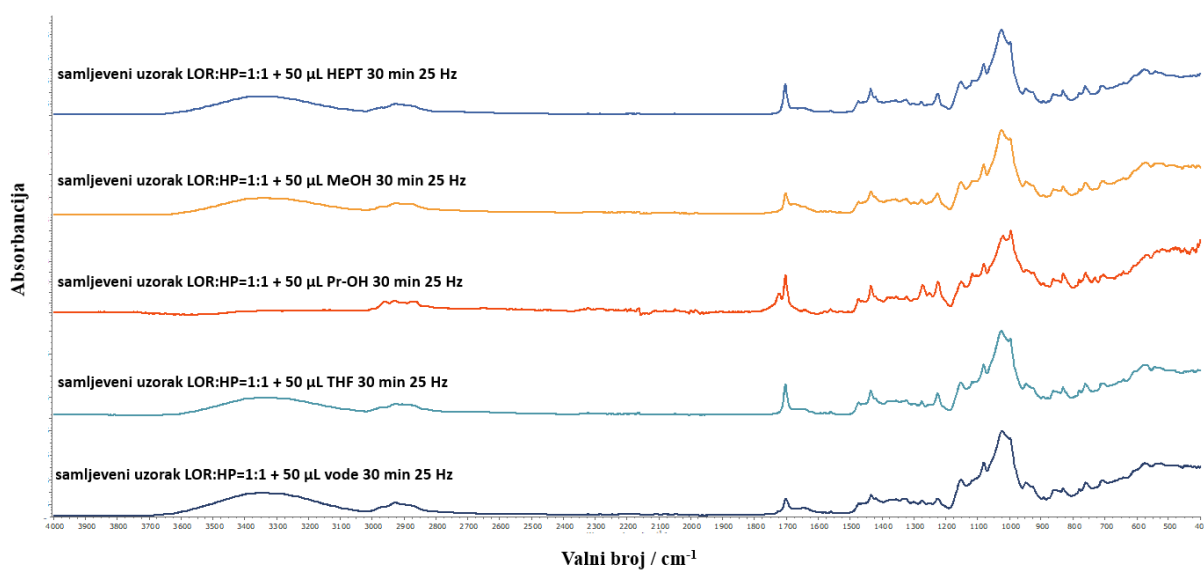


Slika D6. Usporedba ATR spektara uzoraka molarnih omjera LOR:HPβCD 1:1, 2:1, 3:1 i 5:1 te uzoraka čistog LOR i HPβCD

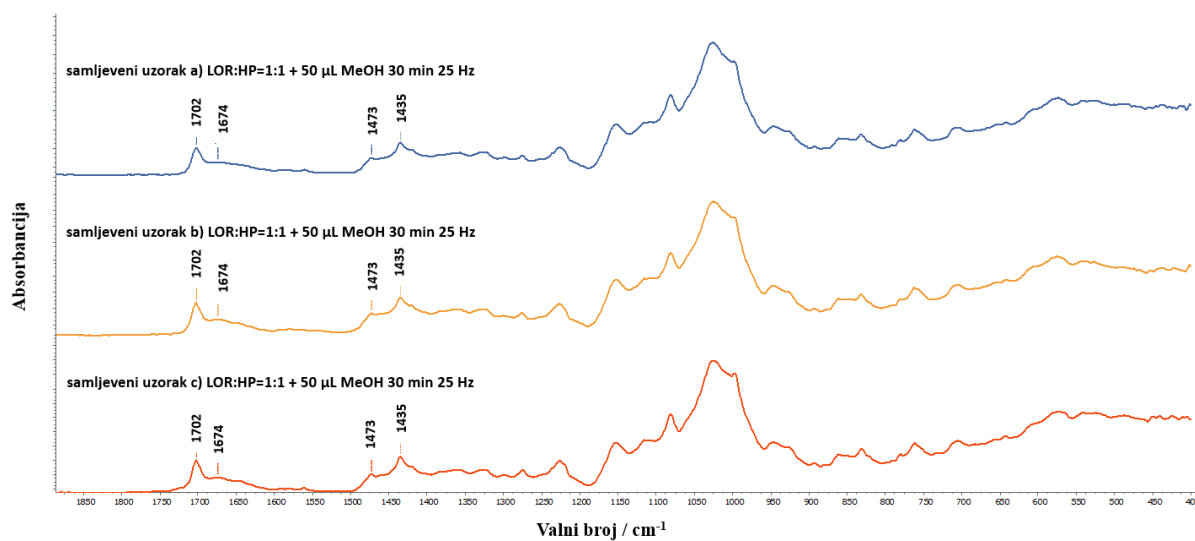
Slika D7. Usporedba difraktograma uzoraka molarnih omjera LOR:HP β CD 1:1 uz dodatak otapalaSlika D8. Usporedba difraktograma uzoraka molarnih omjera LOR:HP β CD 1:1 uz dodatak otapala



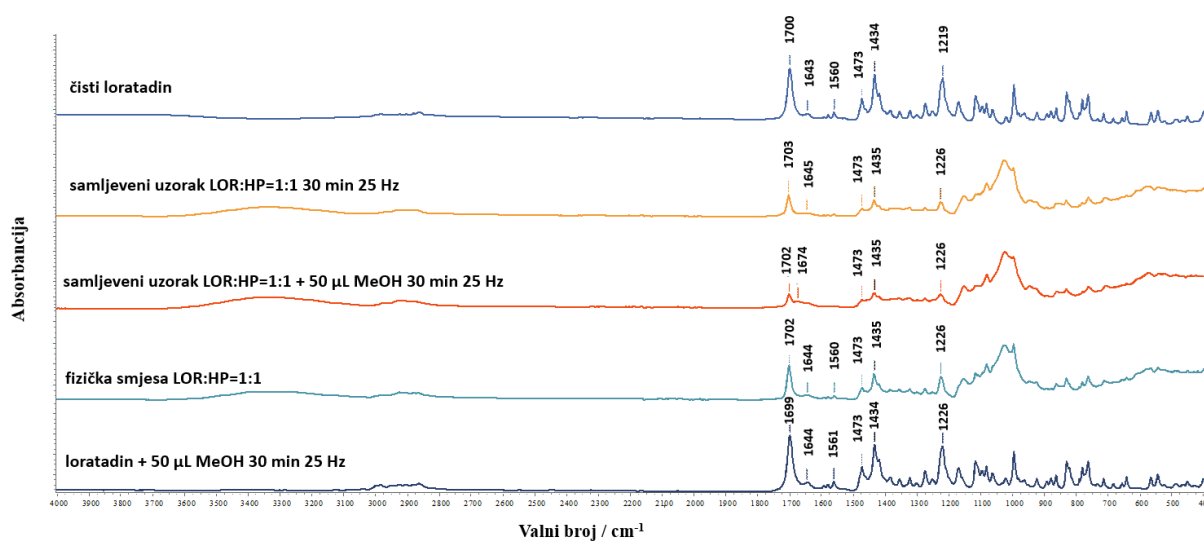
Slika D9. Usporedba ATR spektara molarnih omjera LOR:HPβCD 1:1 uz dodatak otapala propanola, propan-2-ola, etanola i metanola te uzoraka čistog LOR i HPβCD



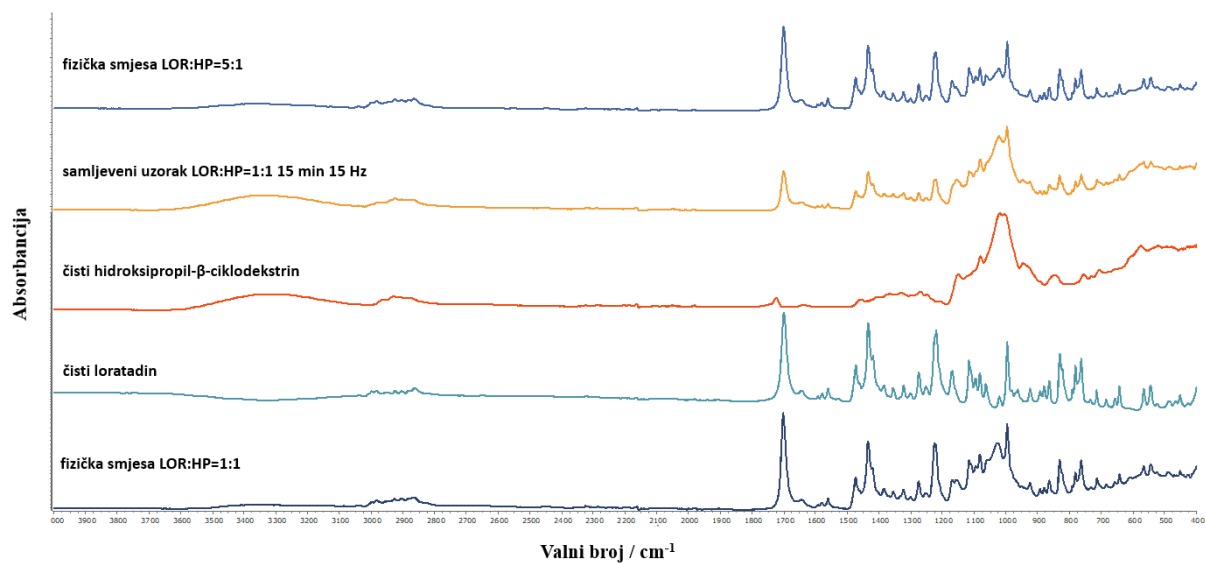
Slika D10. Usporedba ATR spektara molarnih omjera LOR:HPβCD 1:1 uz dodatak otapala acetona, acetonitrila, heptana, tetrahidrofurana, etil-acetata i vode te uzoraka čistog LOR i HPβCD



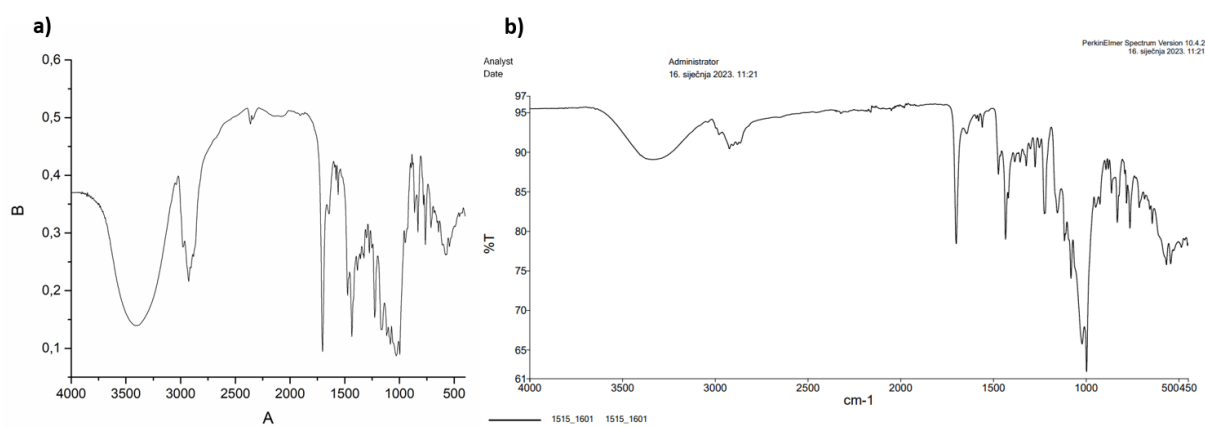
Slika D11. Usporedba ATR spektara više različitih uzoraka LOR:HPβCD 1:1 uz dodatak metanola, dokaz reproducibilnosti



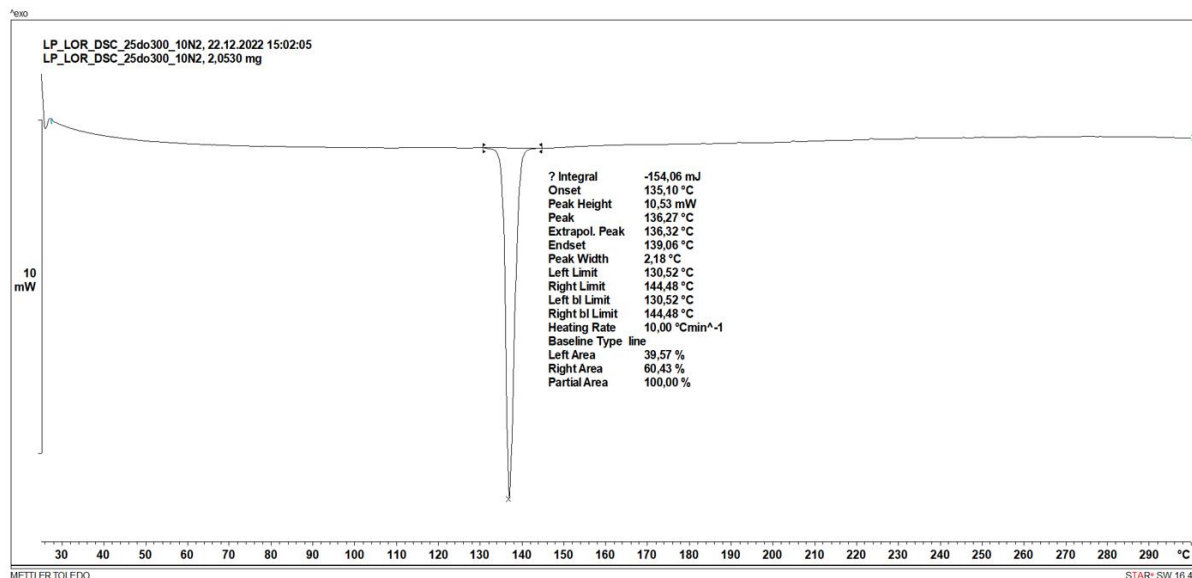
Slika D12. Usporedba ATR spektara čistog sirovog LOR te mljevenog LOR s dodatkom metanola i čistog HPβCD s FS LOR:HPβCD 1:1, mljevenim uzorkom LOR:HPβCD 1:1 i mljevenim uzorkom LOR:HPβCD 1:1 uz dodatak metanola sa oznakama vrijednosti ATR vrpca od interesa



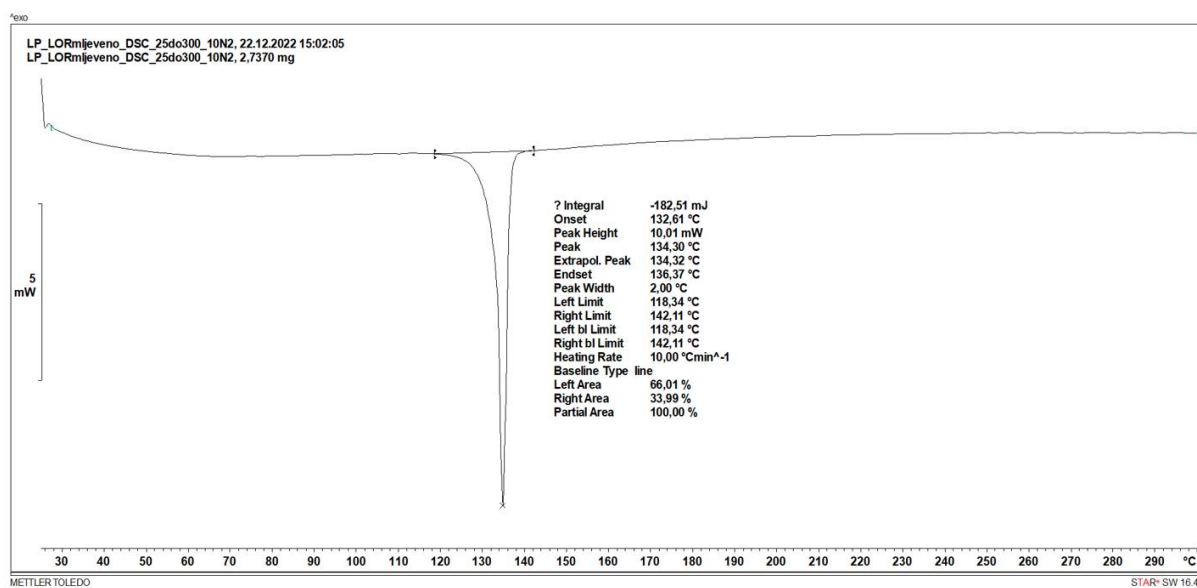
Slika D13. Usporedba ATR spektara čistog sirovog LOR te čistog HPβCD s mljevenim uzorkom LOR:HPβCD 1:1 na 15 min i 15 Hz te fizičkim smjesama LOR:HPβCD 1:1 i 1:5



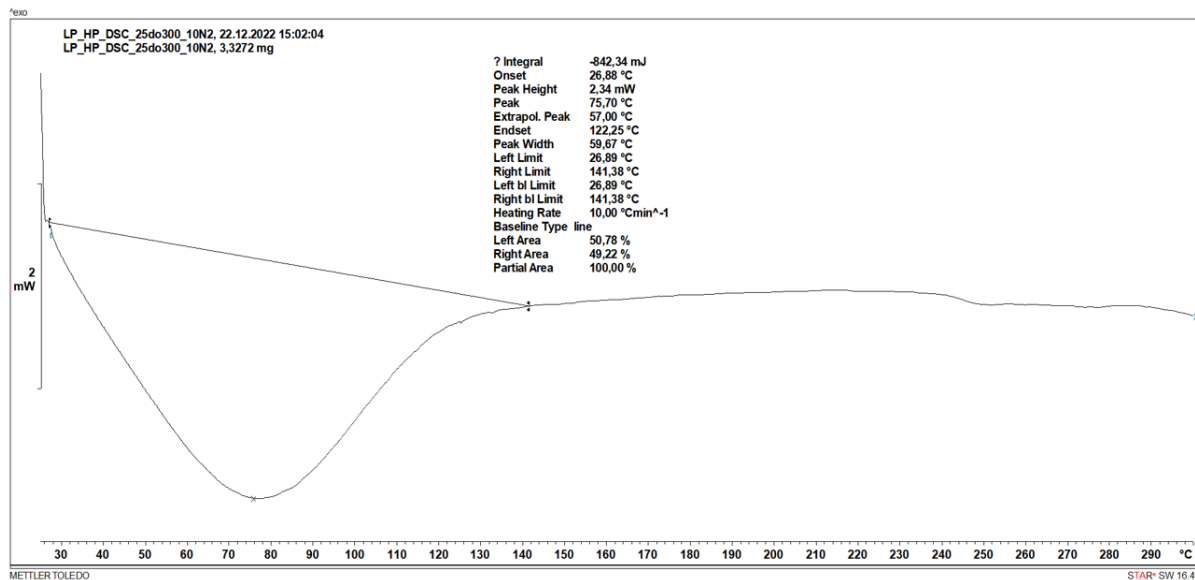
Slika D14. Usporedba ATR spektara mljevenog uzorka LOR:HPβCD 1:1 na 15 min i 15 Hz dobivenih a) FTIR-om (KBr pastila) i b) ATR



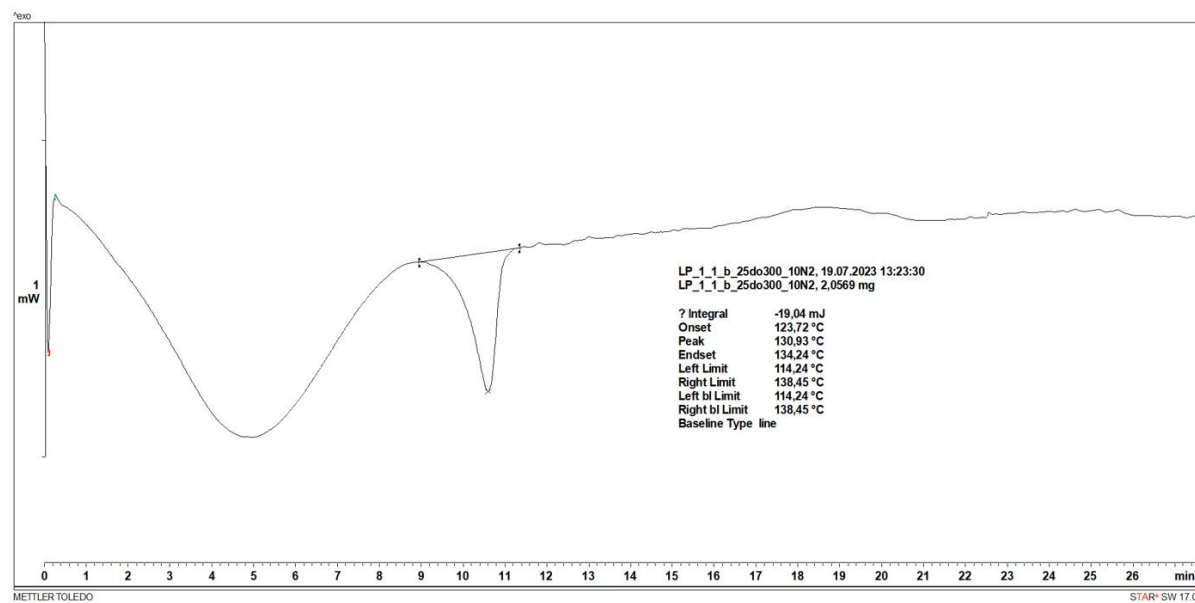
Slika D15. DSC krivulja LOR



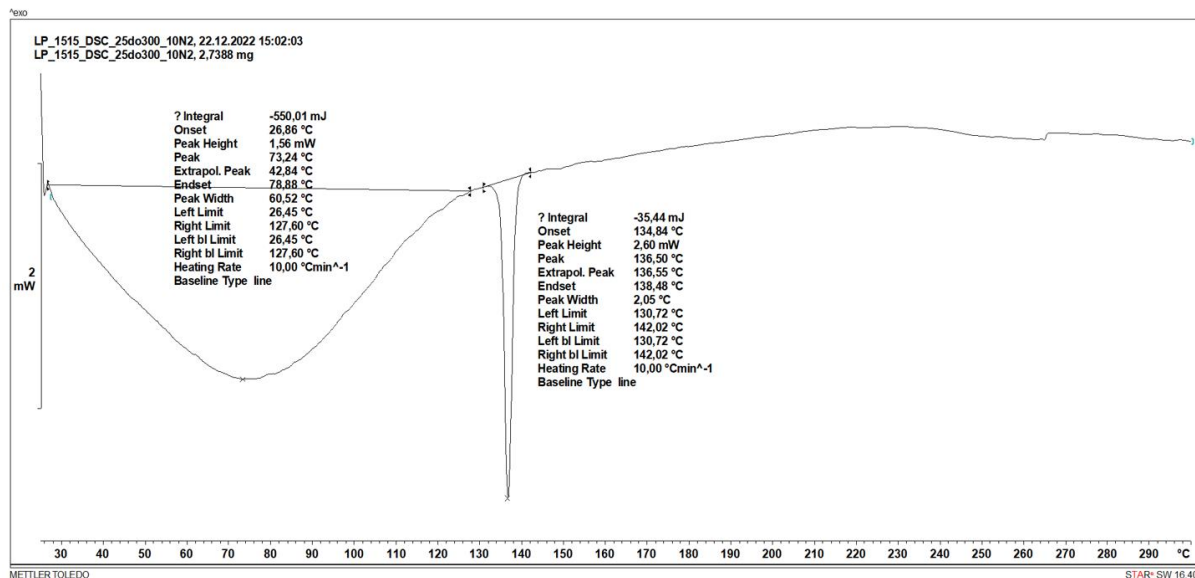
Slika D16. DSC krivulja mješevnog LOR



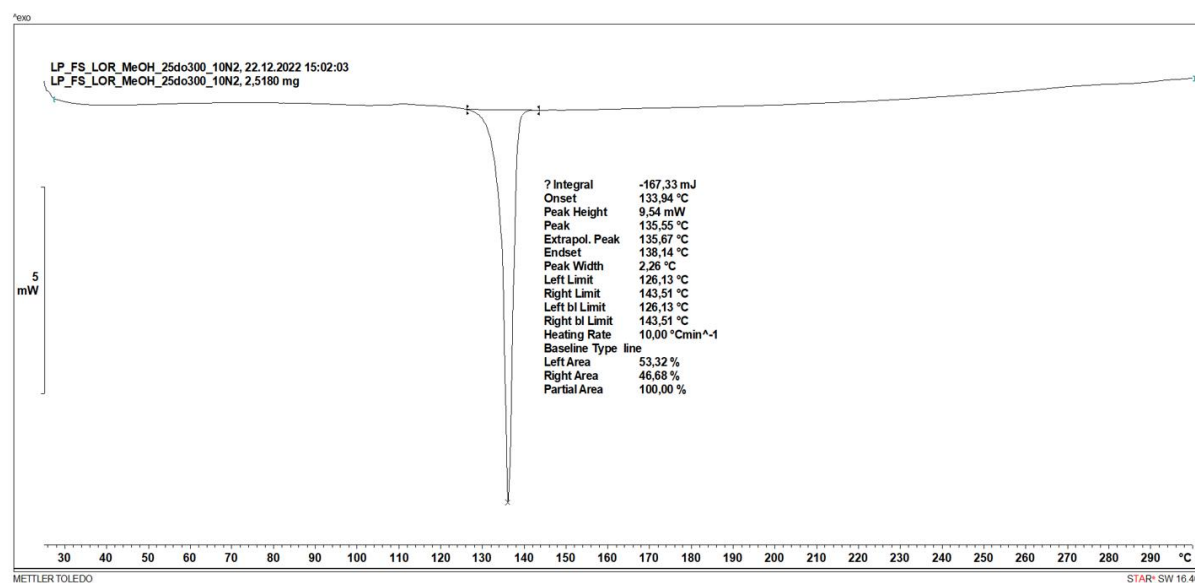
Slika D17. DSC krivulja HPβCD



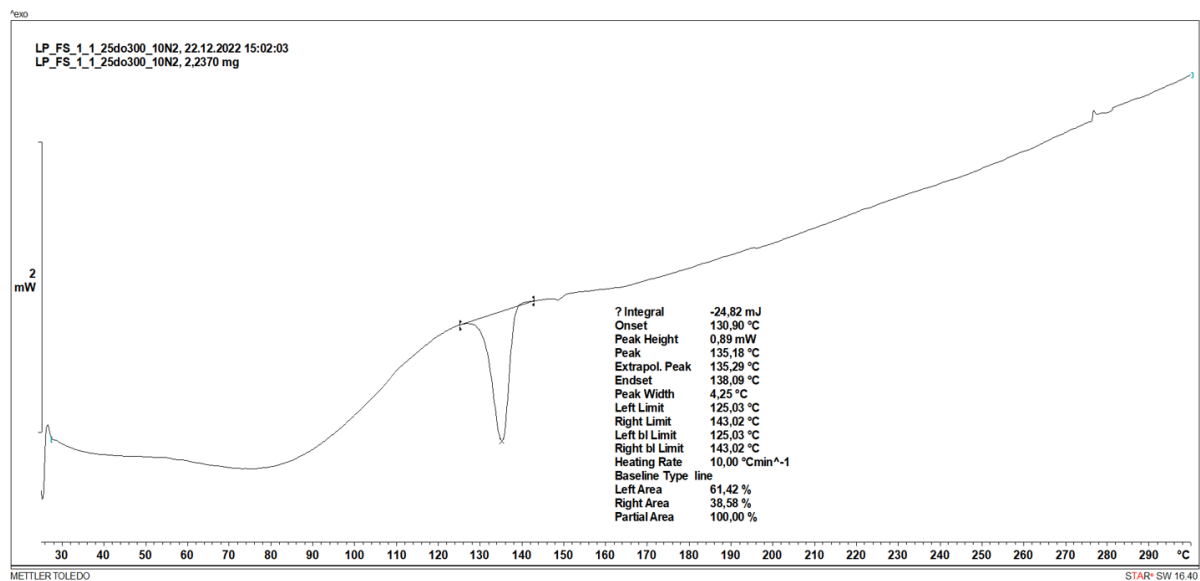
Slika D18. DSC krivulja uzorka LOR:HPβCD 1:1



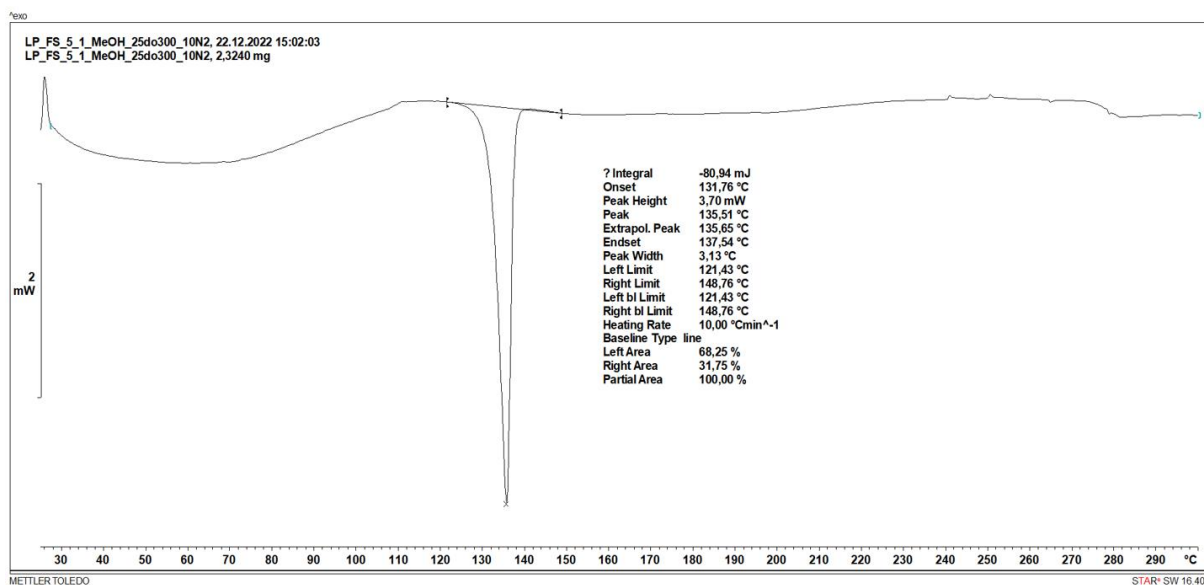
Slika D19. DSC krivulja uzorka LOR:HPβCD 1:1 15min na 15Hz



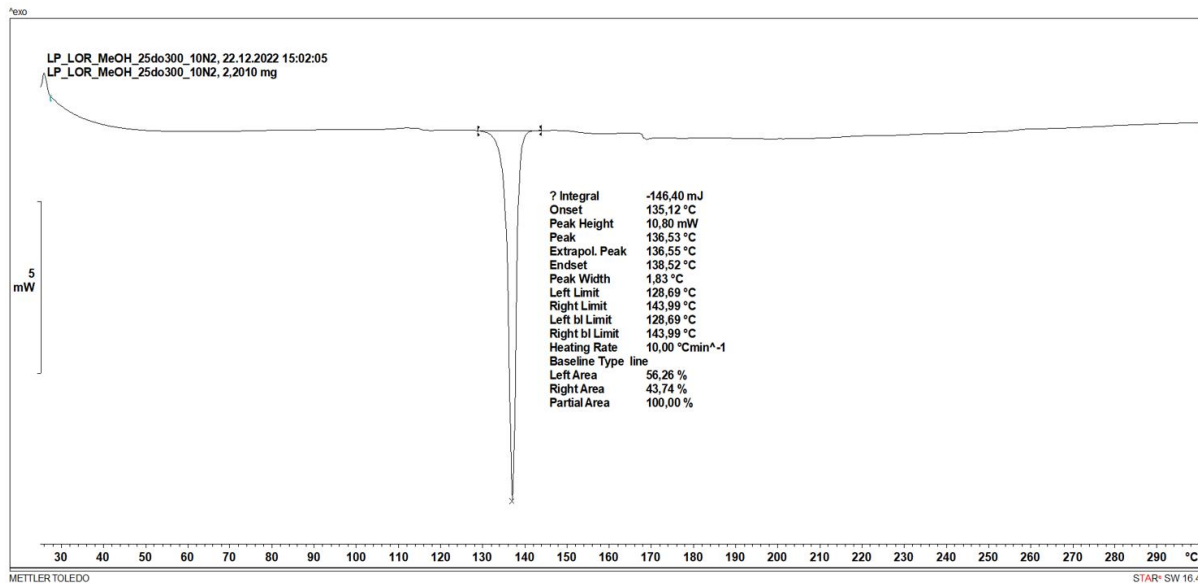
Slika D20. DSC krivulja uzorka LOR:HPβCD 1:1 uz dodatak metanola



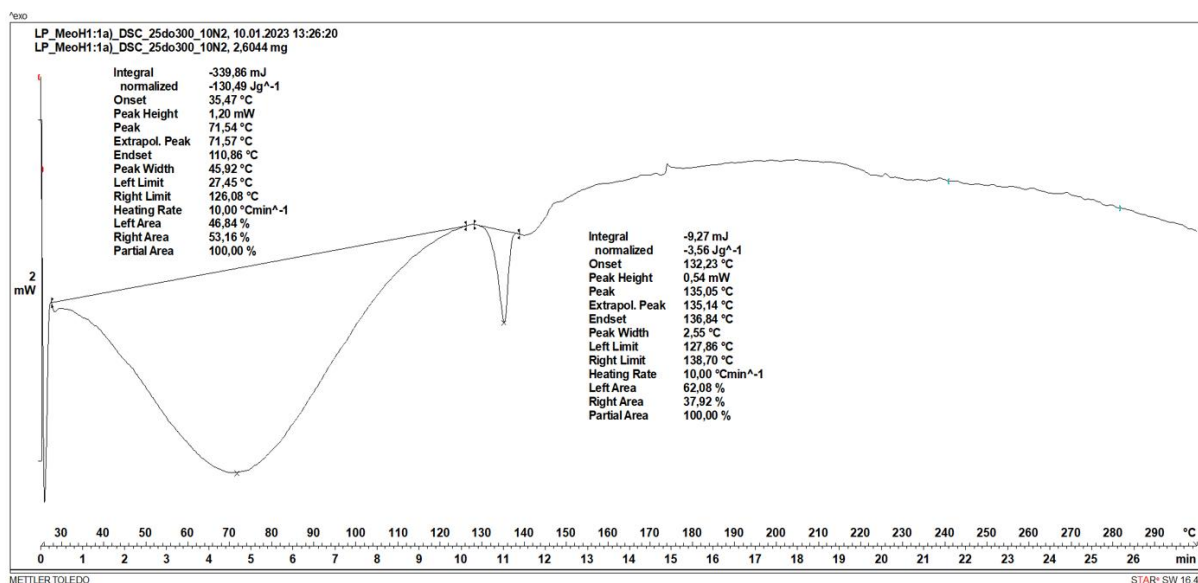
Slika D21. DSC krivulja fizičke smjese LOR:HPβCD 1:1



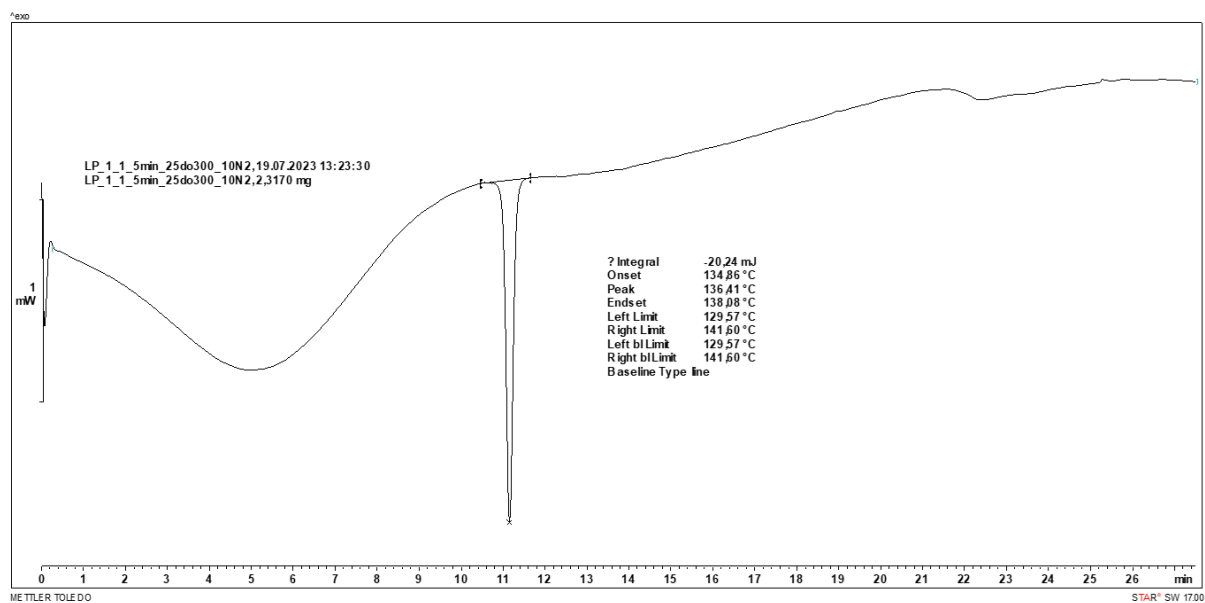
Slika D22. DSC krivulja fizičke smjese LOR:HPβCD 5:1



Slika D23. DSC krivulja samljevenog LOR uz dodatak metanola



Slika D24. DSC krivulja uzorka LOR:HPβCD 1:1 uz dodatak metanola

Slika D25. DSC krivulja uzorka LOR:HP β CD 1:1 mljevenog bez kuglica na 5 min i 25 Hz

Tablica D2. Povećanje topljivosti LOR u uzorcima s HP β CD različitih stehiometrijskih omjera u vodi i simuliranim biorelevantnim medijima

| uzorak LOR:HP β CD | γ / ($\mu\text{g mL}^{-1}$) | γ/γ_0 |
|-----------------------------|--------------------------------------|-------------------|
| pH 4,5 | | |
| LOR | 4,00 | 1,00 |
| LOR _m | 3,88 | 0,97 |
| 1:1 | 771,79 | 192,73 |
| 1:1 + MeOH | 629,26 | 157,14 |
| 1:2 | 1503,16 | 375,37 |
| 1:3 | 2112,84 | 527,62 |
| 1:5 | 3146,32 | 785,70 |
| 2:1 | 386,95 | 96,63 |
| 3:1 | 287,58 | 71,81 |
| 5:1 | 203,37 | 50,78 |
| pH 6,8 | | |
| LOR | 0,82 | 1,00 |
| LOR _m | 0,76 | 0,93 |
| 1:1 | 722,11 | 882,09 |
| 1:1 + MeOH | 572,42 | 699,24 |
| 1:2 | 1450,95 | 1772,40 |
| 1:3 | 2166,32 | 2646,26 |
| 1:5 | 3386,53 | 4136,81 |
| 2:1 | 355,47 | 434,23 |
| 3:1 | 221,16 | 270,16 |
| 5:1 | 119,05 | 145,43 |
| voda | | |
| LOR | 1,46 | 1,00 |
| LOR _m | 1,44 | 0,98 |
| 1:1 | 245,68 | 168,44 |
| 1:1 + MeOH | 257,79 | 176,74 |
| 1:2 | 513,68 | 352,18 |
| 1:3 | 868,21 | 595,24 |
| 1:5 | 1390,32 | 953,19 |
| 2:1 | 207,37 | 142,17 |
| 3:1 | 115,89 | 79,45 |
| 5:1 | 74,80 | 51,28 |

Tablica D3. Set podataka očitanih iz DSC krivulja i korišten za izračun kristalnosti uzoraka te konkretne vrijednosti kristalnosti uzoraka

| uzorak | odvaga uzorka (mg) | w(LOR) (%) | masa lijeka u uzorku (mg) | T_{onset} (°C) | T_{peak} (°C) | AUC (mJ) | ΔH_{norm} (J g ⁻¹) | RDC (%) |
|--|--------------------|------------|---------------------------|-------------------------|------------------------|----------|---|---------|
| LOR | 2,05 | 100,00 | 2,05 | 135,10 | 136,27 | 154,06 | 75,04 | 100,00 |
| LOR: HPβCD =1:1 | 2,06 | 21,51 | 0,44 | 123,72 | 130,93 | 19,04 | 43,03 | 57,35 |
| FS LOR + 50 μL MeOH | 2,52 | 100,00 | 2,52 | 133,94 | 135,55 | 167,33 | 66,45 | 88,56 |
| mljeveni LOR 30 min 25 Hz | 2,74 | 100,00 | 2,74 | 132,61 | 134,3 | 182,51 | 66,68 | 88,86 |
| LOR + 50 μL MeOH 30 min 25 Hz | 2,20 | 100,00 | 2,20 | 135,12 | 136,53 | 146,40 | 66,51 | 88,64 |
| LOR: HPβCD =1:1 15 minuta na 15Hz | 2,74 | 21,51 | 0,59 | 134,84 | 136,50 | 35,44 | 60,16 | 80,17 |
| FS LOR:HP=1:1 | 2,24 | 21,51 | 0,48 | 130,90 | 135,18 | 24,82 | 51,58 | 68,74 |
| LOR: HPβCD =1:1 + 50 μL MeOH 30 min 25 Hz | 2,60 | 21,51 | 0,56 | 132,23 | 135,05 | 9,27 | 16,55 | 22,05 |
| uzorak LOR: HPβCD =1:1 5 min 25Hz bez kuglica | 2,32 | 21,51 | 0,50 | 134,86 | 136,41 | 20,24 | 40,61 | 54,12 |

§ 9. ŽIVOTOPIS

Osobni podatci

Ime i prezime: Mateja Cader

Datum rođenja: 24.12.1997.

Mjesto rođenja: Zagreb

Obrazovanje

2004–2012 Osnovna škola Josipa Račića, Zagreb

1012–2016 I. gimnazija, Zagreb

2016–2021 Preddiplomski studij kemije, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu

2023 Stručna praksa za studente (LCC CNRS Toulouse, Toulouse, Francuska Republika, Erasmus+)

Nagrade i priznanja

2019 Rektorova nagrada za društveno koristan rad u akademskoj i široj zajednici Nagradu dodjeljuje Sveučilište u Zagrebu. Nagrada dodijeljena za projekt: Dan karijera - WorkIn' Science.

Sudjelovanja u popularizaciji znanosti

2018–2019 Otvoreni dan kemije

Sudjelovanja na znanstvenim skupovima

1. M. Cader, L. Posavec, M. Pocrnić, D. Cinčić, N. Galić, *Mehanokemijska sinteza i karakterizacija inkluzijskog kompleksa loratadina hidroksipropil- β -ciklodekstrina*, 8. Simpozij studenata kemičara, Zagreb, 21. listopada 2023., Zbornik radova str. 35.

Radno iskustvo

| | |
|-------------|--|
| 2021 | Studentski posao na odjelu za fizikalnu karakterizaciju, Pliva Hrvatska d.o.o. |
| 2021–2024 | Instruktorica kemije, Einstrukcije |
| 2024 – sada | Mjeritelj, Metroteka d.o.o. |