

**NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU FARMACEUTSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU
TO THE ACADEMIC COUNCIL OF THE FACULTY OF PHARMACY – UNIVERSITY
OF BELGRADE**

**KOMISIJI ZA POSLEDIPLOMSKE STUDIJE
TO THE COMMITTEE FOR POSTGRADUATE STUDIES**

Na sednici Nastavno-naučnog veća Farmaceutskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, održanoj 13.7.2015. godine imenovani su članovi Komisije za ocenu i odbranu završene doktorske disertacije kandidata Đorđa Medarevića, magistra farmacije, pod naslovom:

The Academic Council of the Faculty of Pharmacy, University of Belgrade on the meeting held on July 13, 2015 has nominated the Committee for evaluation and defence of doctoral dissertation of Đorđe Medarević, master of pharmacy entitled:

Karakterizacija i optimizacija binarnih i ternarnih čvrstih disperzija i ciklodekstrin-polimer sistema kao nosača u cilju poboljšanja brzine rastvaranja teško rastvorljive lekovite supstance

Characterization and optimization of binary and ternary solid dispersions and cyclodextrin-polymer systems as carriers with the aim of improving dissolution rate of poorly soluble drug

Komisija u sastavu/*Committee consisting of:*

1. Dr sc Svetlana Ibrić, mentor rada, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu-Farmaceutski fakultet/ *supervisor, full professor, University of Belgrade-Faculty of Pharmacy*
2. Dr sc Jelena Đuriš, docent, Univerzitet u Beogradu-Farmaceutski fakultet/*assistant professor, University of Belgrade-Faculty of Pharmacy*
3. Dr sc Kyriakos Kachrimanis, vanredni profesor, Farmaceutski fakultet, Aristotelov Univerzitet u Solunu, Grčka/*associate professor, School of Pharmacy, Aristotle University of Thessaloniki, Greece*

pregledala je priloženu disertaciju i podnosi Nastavno-naučnom veću Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu sledeći/

based on detailed review of the submitted dissertation, presents to the Academic Council of the Faculty of Pharmacy-University of Belgrade the following

IZVEŠTAJ/REPORT

A. PRIKAZ SADRŽAJA DOKTORSKE DISERTACIJE/THE CONTENT OF THE DOCTORAL DISSERTATION

Doktorska disertacija kandidata magistra farmacije Đorđa Medarevića, pod nazivom „*Karakterizacija i optimizacija binarnih i ternarnih čvrstih disperzija i ciklodekstrin-polimer sistema kao nosača u cilju poboljšanja brzine rastvaranja teško rastvorljive lekovite substance*”, napisana je na 168 strana i sadrži šest poglavlja: Uvod, Ciljeve rada, Eksperimentalni deo, sa rezultatima i diskusijom za svaku od tri faze istraživanja, Kritički osvrt na dobijene rezultate istraživanja, Zaključak i Literaturu. Na početku disertacije dat je sažetak rada na srpskom i engleskom jeziku, dok se na kraju rada nalaze Prilozi: Spisak publikovanih radova i saopštenja koji čine deo doktorske disertacije, Biografija autora i Rezultati iz doktorske disertacije koji su publikovani u međunarodnim naučnim časopisima. Disertacija je napisana jasnim i preglednim stilom i sadrži 41 sliku, 15 tabela i 170 literaturnih navoda.

Doctoral dissertation candidate Đorđe Medarević, master of pharmacy, entitled “Characterization and optimization of binary and ternary solid dispersions and cyclodextrin-polymer systems as carriers with the aim of improving dissolution rate of poorly soluble drug”, is written on 168 pages and comprises of six chapters: Introduction, The aims of research, Experimental part with results and discussion of three phases of the research, Critical review of the results of research, Conclusion and References. At the beginning of the dissertation a short abstract is given on both Serbian and English language, while dissertation ends with the Supplements: List of the papers published in the scientific journals and presented on the scientific meetings, Author biography and Results of the dissertation published in the scientific journals. Dissertation is written in a clear and concise style and contains 41 figures, 15 tables and 170 references.

U **Uvodnom delu** su date teorijske osnove koje su od značaja za predmet proučavanja doktorske disertacije. Uvodni deo disertacije se sastoji iz šest odeljaka. U prvom odeljku uvodnog dela izneti su osnovni principi na kojima se zasniva primena tehnike čvrstih disperzija sa ciljem povećanja rastvorljivosti i biološke raspoloživosti teško rastvorljivih lekovitih supstanci. Na koncizan i jasan način je prikazana klasifikacija čvrstih disperzija, u zavisnosti od fizičkog stanja lekovite supstance i polimera koji čini matriks čvrstih disperzija. Prikazane su i tehnike koje se primenjuju u izradi čvrstih disperzija, počev od onih najjednostavnijih, koje se primenjuju na laboratorijskom nivou, sve do tehnika koje omogućavaju izradu čvrstih disperzija u velikim količinama na industrijskom nivou. U ovom delu prikazane su i osnovne karakteristike poloksamera i Soluplus[®]-a, kao polimera odabranih za formulaciju čvrstih disperzija u istraživanju. Fizičko-hemijska karakterizacija predstavlja neodvojivi deo prilikom formulacije čvrstih disperzija, pa je u ovom odeljku dat kratak pregled najznačajnijih tehnika za fizičko-hemijsku karakterizaciju čvrstih disperzija. Takođe je dat kratak pregled trenutnih ograničenja primene čvrstih disperzija, zbog čega je još uvek mali broj preparata zasnovanih na čvrstim disperzijama našao svoje mesto na tržištu. Na kraju ovog odeljka dat je tabelarni prikaz preparata koji sadrže čvrste disperzije, koji su trenutno dostupni na tržištu. Drugi odeljak uvodnog dela posvećen je primeni ciklodekstrina kao ekscipijensa sa ciljem povećanja rastvorljivosti teško rastvorljivih lekovitih supstanci. Navedeni su najznačajniji predstavnici prirodnih ciklodekstrina i njihovih derivata i dat je pregled njihovih fizičko-hemijskih osobina koje su najznačajnije za primenu kao farmaceutskog ekscipijensa. Detaljno su prikazani mehanizmi nastanka inkluzionih kompleksa između lekovite supstance i ciklodekstrina i definisani su osnovni parametri koji karakterišu ravnotežnu reakciju nastanka lekovita supstanca-ciklodekstrin kompleksa i koji se kao takvi koriste za procenu solubilizacionog potencijala ciklodekstrina za različite lekovite supstance. U trećem odeljku uvodnog dela ukratko su prikazani osnovni teorijski principi na kojima se zasniva simulacija molekularne dinamike. Razumevanje navedenih principa predstavlja neophodan preduslov za primenu simulacije molekularne dinamike u cilju uspostavljanja veze između fenomena na mikroskopskom i makroskopskom nivou. Takođe su navedena i osnovna ograničenja simulacije molekularne dinamike kojih treba biti svestan prilikom tumačenja dobijenih rezultata i prikazani su primeri primene simulacije molekularne dinamike, relevantni za predmet istraživanja. Kako je u jednoj od faza istraživanja primenjena metodologija eksperimentalnog dizajna, u četvrtom odeljku uvodnog dela predstavljeni su osnovni principi na kojima se zasniva metodologija eksperimentalnog dizajna, uz navođenje karakteristika najčešće korišćenih tipova eksperimentalnog dizajna. Poseban akcenat je

stavljen na tehniku eksperimentalnog dizajna smeše, pošto je u istraživanju upravo korišćena ova tehnika eksperimentalnog dizajna. U narednom odeljku uvodnog dela navedeni su osnovni principi na kojima se zasniva primena tehnike veštačkih neuronskih mreža. Detaljno je prikazan proces razvoja modela veštačkih neuronskih mreža, sa svim faktorima koje je tom prilikom potrebno definisati (broj slojeva, broj neurona u svakom sloju, način na koji su neuroni povezani, izbor aktivacione funkcije i vrste algoritma za učenje mreže), uz prikaz postupka učenja veštačkih neuronskih mreža. U istom odeljku navedeni su i najčešće korišćeni tipovi veštačkih neuronskih mreža, kao i primeri primene veštačkih neuronskih mreža u farmaceutskoj tehnologiji. Poseban akcenat stavljen je na uporedni prikaz prednosti i nedostataka tehnika eksperimentalnog dizajna i veštačkih neuronskih mreža i mogućnosti njihove kombinovane primene, što je kasnije postavljeno kao jedan od predmeta istraživanja. U poslednjem segmentu uvodnog dela navedene su osnovne fizičko-hemijske i farmakološke karakteristike karbamazepina, koji je odabran kao model teško rastvorljive lekovite supstance koja će biti korišćena u istraživanju. Poseban osvrt je dat na do sada primenjene tehnike za poboljšanje brzine rastvaranja i biološke raspoloživosti karbamazepina, uz naglasak na pojavu polimorfizma, koji predstavlja jedan od ključnih faktora na koji je potrebno obratiti pažnju prilikom razvoja formulacija sa ciljem povećanja brzine rastvaranja karbamazepina.

*The **Introduction** contains theoretical bases relevant for the subject of doctoral dissertation. The introduction is organized in six parts. The first part of the introduction gives basic principles important for application of solid dispersions with the aim of improving solubility and bioavailability of poorly soluble drugs. Classification scheme of solid dispersions, depending on the physical state of both drug and polymer that constitutes solid dispersion matrix is given in clear and concise manner. Additionally, detailed description of the techniques for the preparation of solid dispersions is given, starting from the simplest ones for preparation of solid dispersions on the laboratory scale, to techniques that enable the production of solid dispersions in large quantities on an industrial scale. This part of the introduction also gives basic characteristics of Soluplus[®] and poloxamers as polymers selected for the formulation of solid dispersions in this research. Since physicochemical characterization is inevitable part during solid dispersion formulation, this section of the introduction gives a brief overview of the most important techniques for the physicochemical characterization of solid dispersions. A short overview of current limitations solid dispersion applications that are the reason for small number of such preparation on the market is also given in this part of the introduction. Table that provides overview of the preparation*

containing solid dispersions, currently available on the market, is given at the end of this part of introduction. The second part of the introduction is focused on the application of cyclodextrins as excipients with the aim of improving solubility of poorly soluble drugs. The properties of natural cyclodextrins as well as their polysynthetic derivatives that are the most important for their application as pharmaceutical excipients are given in this section of introduction. A detailed overview of the mechanisms of inclusion complex formation between drug and cyclodextrins is given, with definition of the parameters that characterized equilibrium reaction of inclusion complex formation and are used to assess solubilization potential of cyclodextrins for different drugs. The third part of the introduction gives briefly basic principles of molecular dynamics simulation. Understanding of these principles is necessary prerequisite for application of molecular dynamics simulation with the aim of establishing relationship between phenomena on microscopic and macroscopic level. This section of the introduction gives basic limitations of molecular dynamics simulation that should be aware of during interpretation of the results with examples of application of molecular dynamics simulation in the field relevant for the research topic. Since experimental design methodology was applied in one of the experimental phases, the fourth section of the introduction provides basic principles of experimental design methodology, stating the characteristics of the most commonly used types of experimental design. Particular emphasis is placed on the mixture experimental design, since this technique of experimental design was used in the research. Basic principles of the artificial neural networks are given in the next section of the introduction. The development of artificial neural networks model is described in details, with all factors that should be considered in this process (number of layers, number of neurons in each layer, the manner in which neurons are connected and selection of the activation function and learning algorithm) and overview of the learning procedure of artificial neural networks. The most frequently used types of artificial neural networks with examples of their using in pharmaceutical technology are mentioned in this part of introduction. Particular emphasis is given on the comparative overview of the advantages and disadvantages of experimental design and artificial neural networks and possibility for their combined use that was subsequently set as one of the subjects of research. In the last segment of introduction the most important physicochemical and pharmacological properties of carbamazepine, a poorly soluble drug substance selected for using in the research, are presented. A particular emphasis is given to the techniques for improving solubility and bioavailability of carbamazepine applied so far, with an emphasis on the polymorphism as

one of the key factors that should be considered during development of the formulation intended for improving carbamazepine dissolution rate.

Ciljevi istraživanja su definisani kao ispitivanje mogućnosti primene binarnih i ternarnih čvrstih disperzija, kao i binarnih lekovita supstanca-ciklodekstrin i ternarnih lekovita supstanca-ciklodekstrin-hidrofilni polimer sistema kao nosača za povećanje brzine rastvaranja teško rastvorljive model lekovite supstance karbamazepina. Navedeni ciljevi su jasno definisani i na osnovu postavljenih ciljeva istraživanje je podeljeno u tri faze.

The aims of the research are defined as evaluation of using of binary and ternary solid dispersions, as well as binary drug-cyclodextrin and ternary drug-cyclodextrin-hydrophilic polymer systems, as carriers for improving dissolution rate of poorly soluble drug carbamazepine. These aims are clearly defined and based on the defined aims the whole research is divided into three phases.

Ekseprimentalni deo. Eksperimenti koji čine doktorsku disertaciju realizovani su u okviru tri faze.

Experimental part. Experiments from this doctoral dissertation have been conducted in three phases.

U **prvoj fazi** istraživanja razmatrana je mogućnost izrade binarnih karbamazepin-poloksamer čvrstih disperzija primenom metoda topljenja. Za izradu navedenih binarnih čvrstih disperzija korišćeni su poloksamer 188 i poloksamer 407, dok su čvrste disperzije izrađivane u odnosima karbamazepin:poloksamer 1:1, 1:2 i 1:3. Opisan je postupak izrade čvrstih disperzija metodom topljenja. Dobijeni uzorci čvrstih disperzija su podvrgnuti detaljnoj fizičko-hemijskoj karakterizaciji sa ciljem utvrđivanja fizičkog stanja karbamazepina u disperziji, eventualnih polimorfni prelaza i karbamazepin-poloksamer interakcija. U navedenom delu doktorske disertacije detaljno su opisane sve eksperimentalne procedure vezane za fizičko-hemijsku karakterizaciju uzoraka primenom diferencijalne skenirajuće kalorimetrije (DSC), polarizacione mikroskopije na zagrejanoj ploči (eng. *hot-stage polarized light microscopy-HSM*), difrakcije X-zraka na prašku (eng. *powder X-ray diffraction-PXRD*) i infracrvene spektroskopije sa Furijeovom transformacijom (eng. *Fourier transform infrared spectroscopy-FT-IR*). Izrađeni uzorci čvrstih disperzija podvrgnuti su i ispitivanju brzine

rastvaranja sa ciljem sticanja uvida u stepen povećanja brzine rastvaranja karbamazepina iz čvrstih disperzija u odnosu na čist karbamazepin, kao i ispitivanju uticaja vrste poloksamera i odnosa karbamazepin:poloksamer na brzinu rastvaranja karbamazepina.

*In the **first phase** of research, the possibility to prepare binary carbamazepine-poloxamer solid dispersions by melting method was evaluated. Poloxamer 188 and poloxamer 407 were used for solid dispersions preparation, while solid dispersions were prepared in carbamazepine:poloxamer ratios 1:1, 1:2 and 1:3. The procedure of solid dispersions preparation is described in details. Obtained solid dispersion samples were undergone to detail physicochemical characterization with the aim of determining physical state of carbamazepine in the dispersion, eventual polymorphic transitions and carbamazepine-poloxamer interactions. In this part of the doctoral dissertation, all experimental procedures for samples physicochemical characterization using differential scanning calorimetry (DSC), hot-stage polarized light microscopy (HSM), powder X-ray diffraction (PXRD) and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) are described in details. Prepared samples were also undergone to dissolution testing with the aim to get insight into degree of drug dissolution rate improvement from solid dispersion formulations compared to pure carbamazepine as well as evaluation of the influence of poloxamer and carbamazepine:poloxamer ratio on carbamazepine dissolution rate.*

U **drugoj fazi** istraživanja ispitivana je mogućnost primene tehnika eksperimentalnog dizajna smeše i veštačkih neuronskih mreža u razvoju ternarnih karbamazepin-Soluplus[®]-poloksamer 188 čvrstih disperzija kao nosača za poboljšanje brzine rastvaranja karbamazepina. Čvrste disperzije su izrađivane metodom rastvaranja, uz variranje udela karbamazepina, Soluplus[®]-a i poloksamera 188 unutar unapred postavljenih granica ($20\% \leq \text{karbamazepin} \leq 50\%$, $30\% \leq \text{Soluplus}^{\circledR} \leq 80\%$, $0\% \leq \text{poloksamer 188} \leq 20\%$). Primenom D-optimalnog eksperimentalnog dizajna smeše i veštačkih neuronskih mreža, tipa višeslojnog perceptrona, ispitivan je uticaj udela navedenih komponenata čvrstih disperzija na brzinu rastvaranja karbamazepina, uz poređenje sposobnosti predviđanja dobijenih modela na test setu podataka. D-optimalni eksperimentalni dizajn smeše je korišćen pošto je postavljanjem navedenih granica za udele komponenata ternarne čvrste disperzije dobijen eksperimentalni prostor nepravilnog oblika u kome nisu primenljivi tzv. simetrični tipovi eksperimentalnog dizajna smeše, kao što su *simplex lattice* i *simplex centroid*. Arhitektura veštačkih neuronskih mreža tipa višeslojnog perceptrona, sa jednim slojem skrivenih neurona, odabrana je za istraživanje zbog svoje relativno jednostavne strukture i mogućnosti modelovanja izuzetno kompleksnih zavisnosti

između promjenljivih. Prilikom razvoja modela veštačkih neuronskih mreža korišćen je *back propagation* algoritam, pri čemu su varirani broj neurona u skrivenom sloju, vrednosti za brzinu učenja i *momentum*, a takođe su korišćene i različite aktivacione funkcije, sa ciljem dobijanja mreže sa najboljom sposobnošću za generalizaciju. Dobijeni uzorci ternarnih čvrstih disperzija su podvrgnuti fizičko-hemijskoj karakterizaciji primenom diferencijalne skenirajuće kalorimetrije (DSC), polarizacione mikroskopije na zagrejanjoj ploči, difrakcije X-zraka na prašku, FT-IR spektroskopije, kao i ispitivanju brzine rastvaranja karbamazepina sa ciljem utvrđivanja fizičkog stanja karbamazepina unutar matriksa čvrstih disperzija, eventualno prisutnih polimorfni prelaza, kao i mehanizama koji doprinose povećanju brzine rastvaranja karbamazepina iz izrađenih ternarnih čvrstih disperzija.

In the second phase of research, the possibility for application of mixture experimental design and artificial neural networks in the development of ternary carbamazepine-Soluplus[®]-poloxamer 188 solid dispersions as carriers for improving carbamazepine dissolution rate has been investigated. Solid dispersions were prepared by solvent casting method with variation in the proportions of carbamazepine, Soluplus[®] and poloxamer 188 within the predefined constraints ($20\% \leq \text{carbamazepine} \leq 50\%$, $30\% \leq \text{Soluplus}^{\text{®}} \leq 80\%$, $0\% \leq \text{poloxamer 188} \leq 20\%$). The influence of the proportions of mentioned solid dispersion components on carbamazepine dissolution rate was evaluated using D-optimal mixture experimental design and multi layer perceptron artificial neural networks, with comparison of predictability of obtained models on the test data set. D-optimal experimental design was used, since setting of such constraints for the proportions of ternary solid dispersion components resulted in irregular experimental space, where symmetrical mixture experimental designs, such as simplex lattice and simplex centroid are not applicable. Multi layer perceptron artificial neural network with one hidden layer was selected for the research due to its simple architecture and ability to model complex relationships between variables. During development of artificial neural network model, back propagation algorithm was used, with variations of the number of hidden neurons, learning rate and momentum values, as well as using of different activation functions, with the aim to obtain network with the highest generalization ability. Obtained solid dispersion samples were undergone to physicochemical characterization using differential scanning calorimetry (DSC), hot-stage polarized light microscopy, powder X-ray diffraction and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), as well as drug dissolution testing, with the aim of determining

carbamazepine physical state within the solid dispersions matrix and eventual polymorphic transitions.

U **trećoj fazi** istraživanja ispitivana je mogućnost primene karbamazepin-hidroksipropil- β -ciklodekstrin binarnih i karbamazepin-hidroksipropil- β -ciklodekstrin-hidrofilni polimer ternarnih sistema sa ciljem povećanja brzine rastvaranja karbamazepina. Prvo je vršena procena solubilizacionog kapaciteta hidroksipropil- β -ciklodekstrina za karbamazepin i mogućnosti povećanja solubilizacionog kapaciteta i efikasnosti kompleksiranja u sistemu karbamazepin-hidroksipropil- β -ciklodekstrin dodatkom malih količina hidrofilnih polimera (Soluplus[®], polivinilpirolidon K25-Kollidon[®] 25 i dva tipa hidroksipropilmetilceluloze različitog stepena supstitucije i viskoziteta-Metolose[®] 90SH-100 i Metolose[®] 65SH-1500). Simulacija molekularne dinamike je korišćena kako bi se stekao bolji uvid u interakcije između karbamazepina, hidroksipropil- β -ciklodekstrina i hidrofilnih polimera na molekulskom nivou. Nakon toga, binarni karbamazepin-hidroksipropil- β -ciklodekstrin i ternarni karbamazepin-hidroksipropil- β -ciklodekstrin-hidrofilni polimer sistemi su izrađivani tehnikom sušenja raspršivanjem iz vodenih rastvora. Na dobijenim uzorcima vršena je fizičko-hemijska karakterizacija primenom diferencijalne skenirajuće kalorimetrije, polarizacione mikroskopije na zagrejanjoj ploči, difrakcije X-zraka na prašku, FT-IR spektroskopije i skenirajuće elektronske mikroskopije (eng. *scanning electron microscopy-SEM*) u cilju procene promene fizičko-hemijskih karakteristika karbamazepina usled interakcija sa hidroksipropil- β -ciklodekstrinom i/ili hidrofilnim polimerom. Na dobijenim uzorcima vršeno je i ispitivanje brzine rastvaranja karbamazepina. Sve metode ispitivanja uporedno su sprovedene i na fizičkim smešama istovetnog sastava.

Sve metode korišćene u radu su u skladu sa savremenim standardima naučnoistraživačkog rada u naučnoj oblasti u kojoj je vršeno istraživanje. Prikazana metodologija omogućava dobijanje jasnih i nedvosmislenih rezultata kojim se ostvaruju postavljeni ciljevi istraživanja.

*The possibility of using binary carbamazepine-hydroxypropyl- β -cyclodextrin and ternary carbamazepine-hydroxypropyl- β -cyclodextrin-hydrophilic polymer systems in order to improve carbamazepine dissolution rate was evaluated in the **third phase** of research. At the beginning, solubilization capacity of hydroxypropyl- β -cyclodextrin for carbamazepine was assessed, followed with assessment of the possibility for improving solubilization capacity as well as complexation efficiency in carbamazepine-hydroxypropyl- β -cyclodextrin system with addition of low amounts of hydrophilic polymers (Soluplus[®], polyvinylpyrrolidone K25-*

Kollidon[®] 25 and two types of hydroxypropyl methylcellulose of different degree of substitution and viscosity-Metolose[®] 90SH-100 and Metolose[®] 65SH-1500). Molecular dynamics simulation was used to get better insight into interactions between carbamazepine, hydroxypropyl- β -cyclodextrin and hydrophilic polymers at the molecular level. After that binary carbamazepine-hydroxypropyl- β -cyclodextrin and ternary carbamazepine-hydroxypropyl- β -cyclodextrin-hydrophilic polymer systems have been prepared by spray drying from aqueous solutions. Obtained samples were undergone to physicochemical characterization using differential scanning calorimetry, hot-stage polarized light microscopy, powder X-ray diffraction, FT-IR spectroscopy and scanning electron microscopy (SEM) with the aim of assessment changes of physicochemical characteristics of carbamazepine due to interactions with hydroxypropyl- β -cyclodextrin and/or hydrophilic polymer. Carbamazepine release rate from prepared samples was also evaluated. All methods for characterization were carried out simultaneously on the physical mixtures of the same composition as spray dried formulation.

All methods used in the doctoral dissertation are in accordance with the contemporary standard of scientific work in this field of research. The presented methodology enables obtaining of clear and unambiguous results that meet defined aims of the research.

U okviru svake faze eksperimentalnog dela prikazani su dobijeni **rezultati**, zajedno sa **diskusijom** i poređenjem dobijenih rezultata sa trenutno dostupnim literaturnim podacima.

*Each section of the experimental part contains obtained **results** with the following **discussion** and comparison of the obtained results with the currently available literature data.*

Na kraju disertacije prikazan je **kritički osvrt na dobijene rezultate**, kao i **zaključci** u odnosu na prethodno postavljene ciljeve za svaku od sprovedenih faza istraživanja.

***Critical review of the results of research** and **conclusions** in relation to predefined aims for each of the research phases are given at the end of dissertation.*

B. OPIS POSTIGNUTIH REZULTATA/DESCRIPTION OF THE OBTAINED RESULTS

U okviru **prve faze** istraživanja, poloksamer 188 i poloksamer 407 su uspešno primenjeni u formulaciji binarnih čvrstih disperzija sa teško rastvorljivom lekovitom supstancom karbamazepinom. Binarne čvrste disperzije izrađivane su u masenim odnosima karbamazepin:poloksamer 1:1, 1:2 i 1:3, postupkom dispergovanja karbamazepina u otopljenom poloksameru, nakon čega je smeša hlađena do očvršćavanja, a zatim pulverizovana i prosejavana u cilju dobijanja praška ujednačene veličine čestica. U svim izrađenim uzorcima binarnih čvrstih disperzija, bez obzira na odnos karbamazepin:poloksamer, zabeleženo je prisustvo karbamazepina u kristalnom obliku. Veoma je značajno da je u svim uzorcima izrađenih čvrstih disperzija detektovano prisustvo polimorfnog oblika III karbamazepina, koji predstavlja najstabilniji polimorfni oblik karbamazepina i koji je kao takav prema Evropskoj farmakopeji jedino prihvatljiv za formulaciju farmaceutskih oblika. Pokazano je da se primenom diferencijalne skenirajuće kalorimetrije ne može odrediti fizičko stanje karbamazepina u karbamazepin-poloksamer binarnim čvrstim disperzijama pri odnosima karbamazepin:poloksamer 1:2 i 1:3, usled promene inicijalnog fizičkog stanja karbamazepina pod uticajem povišene temperature primenjene u ispitivanju. Primena polarizacije mikroskopije na zagrejanjoj ploči i difrakcije X-zraka na prašku omogućila je nedvosmisleno detektovanje kristalnog oblika karbamazepina u izrađenim čvrstim disperzijama. Primenom simulacije molekularne dinamike uočena je težnja molekula karbamazepina ka stvaranju intermolekulskih interakcija i agregaciji, što zajedno sa odsustvom karbamazepin-poloksamer interakcija zabeleženim primenom FT-IR spektroskopije, predstavlja moguće objašnjenje za uočenu kristalnu prirodu karbamazepina u čvrstim disperzijama. Formulacijom binarnih karbamazepin-poloksamer čvrstih disperzija postignuto je značajno povećanje brzine rastvaranja karbamazepina u poređenju sa čistim karbamazepinom. Tako se za 10 minuta ispitivanja rastvorilo više od 80% karbamazepina iz čvrstih disperzija izrađenih sa poloksamerom 188 i 57-67% karbamazepina iz čvrstih disperzija izrađenih sa poloksamerom 407, dok se iz uzoraka čistog karbamazepina rastvorilo tek oko 15% ove lekovite supstance. Primenom poloksamera 188 postignuto brže rastvaranje karbamazepina u odnosu na čvrste disperzije izrađene sa poloksamerom 407, pri čemu je za rastvaranje 90% od ukupne količine karbamazepina u uzorcima bilo potrebno oko 15 minuta u slučaju karbamazepin-poloksamer 188 čvrstih disperzija i do 60 minuta u slučaju karbamazepin-poloksamer 407 čvrstih disperzija. Sa povećanjem udela poloksamera

zabeleženo je smanjenje brzine rastvaranja karbamazepina, što može biti posledica termoreverzibilno gelirajućih osobina poloksamera i stvaranja gel sloja oko čestica karbamazepina. Veoma je značajno da je najveći stepen povećanja brzine rastvaranja karbamazepina postignut pri relativno visokim masenim udelima karbamazepina (50%), čime je olakšana formulacija finalnih farmaceutskih oblika pogodnih za peroralnu primenu. Zbog prisustva karbamazepina u termodinamički najstabilnijem kristalnom obliku, ne očekuju se problemi u obezbeđivanju dugoročne stabilnosti binarnih karbamazepin-poloksamer čvrstih disperzija, što često ograničava širu komercijalnu primenu čvrstih disperzija.

In the first phase of research, poloxamer 188 and poloxamer 407 have been successfully applied in the formulation of binary solid dispersions with poorly soluble drug carbamazepine. Binary solid dispersions have been prepared in carbamazepine:poloxamer mass ratios of 1:1, 1:2 and 1:3, by dispersing of carbamazepine in the molten poloxamer followed by mixture cooling until solidified and after that obtained product was pulverized and sieved in order to obtain powder of uniform particle size distribution. In all of the prepared binary solid dispersion samples, regardless carbamazepine:poloxamer ratio, the presence of crystalline carbamazepine was detected. It is of particular importance that in all of the solid dispersion samples the presence of polymorphic form III of carbamazepine was detected, which is the most stable polymorphic form of carbamazepine and according to European Pharmacopoeia, it is the only polymorphic form of carbamazepine acceptable for formulation of dosage forms. It has been shown that by using of differential scanning calorimetry it is not possible to determine carbamazepine physical state in binary carbamazepine:poloxamer solid dispersions in the carbamazepine-poloxamer ratios of 1:2 and 1:3, due to changes of the initial carbamazepine physical state upon heating during DSC analysis. Using of hot-stage polarized light microscopy and powder X-ray diffraction enable unequivocal detection of crystalline carbamazepine in the prepared solid dispersions. Application of molecular dynamics simulation showed tendency of carbamazepine molecules to intermolecular interactions and aggregation, which altogether with absence of carbamazepine-poloxamer interactions observed by FT-IR spectroscopy can explain crystalline nature of carbamazepine in the prepared solid dispersions. Formulation of binary carbamazepine-poloxamer solid dispersions significantly improved carbamazepine dissolution rate compared to pure carbamazepine. During the first 10 minutes of testing, more than 80% of carbamazepine was dissolved from poloxamer 188 solid dispersions and 57-67% from poloxamer 407 solid dispersions, while only 15% of carbamazepine was

dissolved from the samples of pure drug. Using of poloxamer 188 resulted in faster carbamazepine release, compared to poloxamer 407 solid dispersions, wherein for dissolution of 90% of total carbamazepine about 15 min was necessary in the case of carbamazepine-poloxamer 188 solid dispersions and up to 60 min in the case of poloxamer 407 solid dispersions. With increasing of poloxamer proportion, carbamazepine release rate decreased, which can be a consequence of thermoreversible gelation properties of poloxamer and formation of gel layer around carbamazepine particles. It is of particular importance that the highest improvement of carbamazepine dissolution rate was achieved with relatively high carbamazepine proportion in solid dispersion (50%), which facilitates formulation of final dosage forms suitable for oral route of administration. Due to presence of carbamazepine in its most stable crystalline form, problems in ensuring long-term stability of binary carbamazepine-poloxamer solid dispersions, that often limited their wider commercial applications, are not expected.

U **drugoj fazi** istraživanja, tehnike eksperimentalnog dizajna smeše i veštačkih neuronskih mreža prvi put su primenjene u kombinaciji u razvoju čvrstih disperzija. Navedene tehnike su uspešno primenjene u formulaciji ternarnih karbamazepin-Soluplus[®]-poloksamer 188 čvrstih disperzija. Iz izrađenih ternarnih čvrstih disperzija postignuto je značajno povećanje brzine rastvaranja karbamazepina u poređenju sa čistim karbamazepinom i odabranim uzorkom fizičkih smeša. Tako se kod 11 od 22 pripremljene formulacije u toku prvih 10 minuta ispitivanja rastvorilo više od 80% od ukupnog sadržaj karbamazepina u uzorcima. Željeno povećanje brzine rastvaranja karbamazepina postignuto je i kod ternarnih čvrstih disperzija sa relativno visokim udelima karbamazepina od oko 50%. Primenom D-optimalnog eksperimentalnog dizajna smeše i veštačkih neuronskih mreža tipa višeslojnog perceptrona razvijeni su modeli koji pokazuju zavisnost između udela komponenata u ispitivanim ternarnim čvrstim disperzijama i procenta rastvorenog karbamazepina nakon 10 (Q_{10}) i 20 min (Q_{20}). Primenom D-optimalnog eksperimentalnog dizajna smeše utvrđeno je da kubni model najbolje opisuje zavisnost između ispitivanih promenljivih, dok je u slučaju modela veštačkih neuronskih mreža, tipa višeslojnog perceptrona, kao model koji najbolje opisuje zavisnost između ispitivanih promenljivih identifikovana mreža sa tri neurona u skrivenom sloju, hiperboličnom aktivacionom funkcijom i vrednostima za brzinu učenja od 0,6 i *momentum* od 0,3. Pokazano je da na odabrane parametre (Q_{10} i Q_{20}) najveći uticaj imaju udeli karbamazepina i poloksamera 188. Za dobijene modele je pokazano da dobro opisuju zavisnost između ispitivanih promenljivih, pri čemu je model veštačkih neuronskih mreža

($R^2=0,978$) pokazao bolju sposobnost predviđanja na test setu podataka u odnosu na model dobijen primenom eksperimentalnog dizajna smeše ($R^2=0,741$). Fizičko-hemijskom karakterizacijom odabranih uzoraka ternarnih čvrstih disperzija pokazano je da je u svim uzorcima karbamazepin prisutan u kristalnom obliku i to u termodinamički najstabilnijem polimorfnom obliku III. Vrsta rastvarača korišćenog u izradi čvrstih disperzija pokazala je značajan uticaj na strukturu dobijenih disperzija, pri čemu je primenom metanola omogućen nastanak čvrste disperzije sa amorfnim karbamazepinom u kojima je udeo karbamazepina viši nego što je to moguće postići primenom etanola. Takođe, pokazano je da se dodatkom poloksamera 188 olakšava kristalizacija karbamazepina u ternarnim karbamazepin-Soluplus[®]-poloksamer 188 čvrstim disperzijama.

In the second phase of the research, mixture experimental design and artificial neural networks for the first time have been used in combination in the development of solid dispersions. These techniques have been successfully used in the development of ternary carbamazepine-Soluplus[®]-poloxamer 188 solid dispersions. Significantly improved carbamazepine dissolution rate was achieved from the prepared solid dispersions compared to both pure carbamazepine and selected sample of the physical mixture. Thus, from 11 of 22 prepared formulations, more than 80% of total carbamazepine was dissolved during first 10 min of testing. Desired improvement of carbamazepine dissolution rate was achieved even from solid dispersions with relatively high proportion of carbamazepine of about 50%. Models that shows relationship between proportions of components in the studied ternary solid dispersions and percent of dissolved carbamazepine after 10 (Q_{10}) and 20 minutes (Q_{20}) have been developed using D-optimal mixture experimental design and multi layer perceptron artificial neural networks. Using D-optimal mixture experimental design it was determined that cubic model best describes relationship between studied variables, while multilayer perceptron artificial neural network with three hidden neurons, hyperbolic activation function, learning rate of 0.6 and momentum of 0.3 was identified as the network that best describe relationship between studied variables. It has been shown that proportions of carbamazepine and poloxamer 188 have the highest influence on both of the studied parameters (Q_{10} and Q_{20}). It has been shown that obtained models well describe relationship between studied variables, wherein artificial neural network model ($R^2=0,978$) showed better predictability on test data set, compared to mixture experimental design model ($R^2=0,741$). Physicochemical characterization of the samples showed that in all samples carbamazepine was present in the crystalline form in its thermodynamically most stable polymorphic form III.

The type of solvent used in the solid dispersion preparation showed significant influence on the structure of obtained solid dispersions, wherein using of methanol enables formation of solid dispersion with amorphous carbamazepine with higher carbamazepine loading compared to solid dispersions prepared with ethanol. Furthermore, it has been shown that addition of poloxamer 188 facilitates crystallization of carbamazepine in the ternary carbamazepine-Soluplus[®]-poloxamer 188 solid dispersions.

Primenom hidroksipropil- β -ciklodekstrina, u **trećoj fazi** istraživanja, postignuto je značajno povećanje rastvorljivosti karbamazepina, pri čemu je postignut linearan rast rastvorljivosti karbamazepina (0,56-102,20 mmol/l) sa porastom koncentracije hidroksipropil- β -ciklodekstrina (0-40% m/v). Na osnovu dobijenog dijagrama fazne rastvorljivosti može se pretpostaviti da karbamazepin i hidroksipropil- β -ciklodekstrin grade inkluzioni kompleks u stehiometrijskom odnosu 1:1. Dodatak hidrofilnih polimera (Soluplus[®], Metolose[®] 90SH-100 i Metolose[®] 65SH-1500) doveo je do porasta rastvorljivosti karbamazepina u rastvorima hidroksipropil- β -ciklodekstrina od oko 1,5 puta, u odnosu na same vodene rastvore hidroksipropil- β -ciklodekstrina, dok dodatak Kollidon[®]-a 25 nije imao značajnog uticaja na rastvorljivost karbamazepina u rastvorima hidroksipropil- β -ciklodekstrina. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da je dodatak hidrofilnih polimera (Soluplus[®], Metolose[®] 90SH-100 i Metolose[®] 65SH-1500) efikasan način za povećanje efikasnosti kompleksiranja u sistemu karbamazepin-hidroksipropil- β -ciklodekstrin, pri čemu je postignuto povećanje efikasnosti kompleksiranja od 1,5 puta u odnosu na binarne karbamazepin-hidroksipropil- β -ciklodekstrin sisteme. Simulacijom molekularne dinamike u ternarnom karbamazepin-hidroksipropil- β -ciklodekstrin-hidroksipropilmetilceluloza sistemu pokazano je da specifične interakcije između molekula hidroksipropilmetilceluloze i molekula karbamazepina koji disosuju iz kompleksa sa hidroksipropil- β -ciklodekstrinom mogu biti odgovorne za povećanje rastvorljivosti karbamazepina u ternarnom sistemu u odnosu na binarni karbamazepin-hidroksipropil- β -ciklodekstrin sistem. Uočene interakcije najverovatnije sprečavaju formiranje dimera karbamazepina, što je prvi korak u procesima nukleacije i rasta kristala. Tehnikom sušenja raspršivanjem iz vodenih rastvora dobijeni su binarni karbamazepin-hidroksipropil- β -ciklodekstrin i ternarni karbamazepin-hidroksipropil- β -ciklodekstrin-hidrofilni polimer sistemi u obliku praška. Fizičko-hemijskom karakterizacijom dobijenih uzoraka pokazano je da je u svim formulacijama dobijenim sušenjem raspršivanjem, karbamazepin prisutan u amorfnom obliku, što može ukazati na formiranje inkluzionih kompleksa sa hidroksipropil- β -ciklodekstrinom. Uočeno je da između

karbamazepina i hidroksipropil- β -ciklodekstrina dolazi do intermolekulskih interakcija koje mogu imati značajnu ulogu u nastanku i stabilizaciji karbamazepin-hidroksipropil- β -ciklodekstrin inkluzionih kompleksa. Dobijeni eksperimentalni rezultati su potvrđeni i primenom simulacije vezivanja molekula karbamazepina i hidroksipropil- β -ciklodekstrina (tzv. *docking* simulacija). Iz binarnih i ternarnih formulacija izrađenih sušenjem raspršivanjem postignuto je značajno povećanje brzine rastvaranja karbamazepina, kako u odnosu na čistu lekovitu supstancu, tako i u odnosu na odgovarajuće fizičke smeše. Najveća brzina rastvaranja karbamazepina postignuta je iz formulacija binarnih karbamazepin-hidroksipropil- β -ciklodekstrin i ternarnih karbamazepin-hidroksipropil- β -ciklodekstrin-Soluplus[®] sistema, gde je celokupna količina karbamazepina rastvorena već nakon 5 minuta ispitivanja. Kod formulacija izrađenih sa oba tipa hidroksipropilmetilceluloze (Metolose[®] 90SH-100 i Metolose[®] 65SH-1500) zabeleženo nešto sporije i nepotpuno rastvaranje karbamazepina i to naročito kod formulacije izrađene sa tipom hidroksipropilmetilceluloze većeg viskoziteta (Metolose[®] 65SH-1500), gde je za rastvaranje više od 90% karbamazepina bilo potrebno oko 60 minuta.

*Using of hydroxypropyl- β -cyclodextrin significantly improved carbamazepine solubility in the **third** phase of research, wherein carbamazepine solubility linearly increased with increasing of hydroxypropyl- β -cyclodextrin concentration. Based on obtained phase solubility plot it can be assumed that carbamazepine and hydroxypropyl- β -cyclodextrin form inclusion complex in stoichiometric ratio of 1:1. Addition of hydrophilic polymers (Soluplus[®], Metolose[®] 90SH-100 and Metolose[®] 65SH-1500) led to significant increasing of carbamazepine solubility in the hydroxypropyl- β -cyclodextrin solutions, while addition of Kollidon[®] 25 didn't exhibit significant influence on carbamazepine solubility in hydroxypropyl- β -cyclodextrin solutions. Based on the obtained results it can be concluded that addition of hydrophilic polymers (Soluplus[®], Metolose[®] 90SH-100 and Metolose[®] 65SH-1500) is an effective way for improving of complexation efficiency in carbamazepine-hydroxypropyl- β -cyclodextrin system, with complexation efficiency 1.5 times higher compared to binary carbamazepine-hydroxypropyl- β -cyclodextrin system. Molecular dynamics simulation in ternary carbamazepine-hydroxypropyl- β -cyclodextrin-hydroxypropyl methylcellulose system showed that specific interactions between hydroxypropyl methylcellulose and carbamazepine molecules, which dissociate from complexes with hydroxypropyl- β -cyclodextrin may be responsible for increasing of carbamazepine solubility in ternary system compared to binary carbamazepine-hydroxypropyl- β -cyclodextrin system. Observed interactions probably prevent*

formation of carbamazepine dimmers, which is the first step in the processes of nucleation and crystal growth. Binary carbamazepine-hydroxypropyl- β -cyclodextrin and ternary carbamazepine-hydroxypropyl- β -cyclodextrin-hydrophilic polymer systems in powdered form were prepared by spray drying from aqueous solutions. Physicochemical characterization showed that in all of the formulations carbamazepine was present in the amorphous form, which can indicate on formation of inclusion complexes with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. It has been shown that intermolecular interactions between carbamazepine and hydroxypropyl- β -cyclodextrin occurred and these interactions can have significant role in stabilization of carbamazepine-hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complexes. Obtained experimental results have been additionally confirmed using docking simulation between carbamazepine and hydroxypropyl- β -cyclodextrin molecules. Significantly improved carbamazepine dissolution rate was achieved from binary and ternary spray dried formulations compared to both pure drug and corresponding physical mixtures. The highest carbamazepine dissolution rate was achieved from formulations of binary carbamazepine-hydroxypropyl- β -cyclodextrin and ternary carbamazepine-hydroxypropyl- β -cyclodextrin-Soluplus[®] systems, where the entire amount of carbamazepine was dissolved after 5 minutes of testing. Formulations prepared with both types of hydroxypropyl methylcellulose (Metolose[®] 90SH-100 and Metolose[®] 65SH-1500) exhibit somewhat slower and incomplete carbamazepine dissolution, particularly in the case of formulation prepared with hydroxypropyl methylcellulose type of higher viscosity (Metolose[®] 65SH-1500), where 60 minutes was necessary for dissolution of more than 90% of carbamazepine.

Nakon prikazanih rezultata sve tri faze istraživanja, kandidat je dao kritički osvrt na dobijene rezultate. U ovom delu izdvojene su formulacije, dobijene primenom sva tri ispitivana formulaciona pristupa, kod kojih je postignuto najbrže rastvaranje karbamazepina (više od 80% rastvorenog karbamazepina za prvih 10 minuta ispitivanja). Detaljno su prodiskutovani faktori koji utiču na izbor optimalnog formulacionog pristupa. Iako su se sva tri formulaciona pristupa pokazali efikasnim u povećanju brzine rastvaranja karbamazepina, prednost je data formulaciji binarnih i ternarnih čvrstih disperzija, zbog postizanja značajnog povećanja brzine rastvaranja karbamazepina čak i kod formulacija sa relativno visokim udelima karbamazepina (oko 50%), što je naročito značajno za visokodozirane lekovite supstance, kao što je karbamazepin. Zbog niskog udela karbamazepina (5,3-7,7%), formulacija binarnih lekovita supstanca-ciklodekstrin i ternarnih lekovita supstanca-ciklodekstrin-hidrofilni polimer sistema

predstavlja pogodan pristup za povećanje brzine rastvaranja niskodoziranih teško rastvorljivih lekovitih supstanci.

After presenting the results of all three phases of the research, candidate gave critical review of the obtained results. In this part, formulations, obtained using three studied formulation approaches, which exhibit the fastest carbamazepine dissolution rate (more than 80% of dissolved carbamazepine in the first 10 minutes) are presented. Factors that influence on the choice of optimal formulation approach are discussed in details. Although all three formulation approaches shown to be effective in improving carbamazepine dissolution rate, preference is given to formulation of binary and ternary solid dispersions due to achieving of significantly increased carbamazepine dissolution rate, even from formulations containing relatively high carbamazepine proportions (about 50%), which is particularly important for high dose drugs, such as carbamazepine. Due to low carbamazepine proportions (5.3-7.7%), formulations of binary drug-cyclodextrin and ternary drug-cyclodextrin-hydrophilic polymer systems represents suitable approach for improving solubility of low dose poorly soluble drugs.

C. UPOREDNA ANALIZA REZULTATA SA PODACIMA IZ LITERATURE/ COMPARISON OF THE OBTAINED RESULTS WITH THE PUBLISHED DATA

Formulacija preparata za peroralnu primenu sa teško rastvorljivim lekovitim supstancama predstavlja veliki problem u farmaceutskoj industriji usled niske biološke raspoloživosti ovih lekovitih supstanci, koja je ograničena njihovom niskom brzinom rastvaranja. Smatra se da oko 70% novosintetisanih lekovitih supstanci pokazuju nisku rastvorljivost u vodi, dok oko 40% preparata sa trenutnim oslobađanjem lekovite supstance prisutnih na tržištu sadrži lekovite supstance koje se mogu smatrati praktično nerastvorljivim u vodi (osnovna rastvorljivost manja od 100 µg/ml) (Takagi i sar., 2006). Povećanom udelu teško rastvorljivih lekovitih supstanci doprineo je razvoj tehnika sinteze hemijskih jedinjenja, koje danas omogućavaju sintezu veoma komplikovanih struktura koje često pokazuju vrlo nisku rastvorljivost, kao i sve veća primena visoko efikasnih tehnika ispitivanja (eng. *high throughput screening*) supstanci kandidata za novi lek (Lipinski i sar., 2001). Formulacija čvrstih disperzija i inkluzionih kompleksa lekovitih supstanci sa ciklodekstrinima spadaju među najčešće korišćene i najefikasnije metode za povećanje brzine rastvaranja i posledično biološke raspoloživosti teško rastvorljivih lekovitih supstanci, pa su stoga ova dva pristupa i

korišćena u istraživanju. Kao model lekovita supstanca u istraživanju je korišćen karbamazepin, s obzirom da je ova supstanca teško rastvorljiva (oko 170 mg/l na 25 °C) (Moneghini i sar., 2002), pokazuje polimorfizam i primenjuje se u relativno visokoj dozi, što sve predstavlja izazov u razvoju formulacije.

Formulation of dosage forms for peroral administration with poorly soluble drugs is one of the greatest problems in the pharmaceutical industry, since poorly soluble drugs exhibit low oral bioavailability limited with their low dissolution rate. It is considered that about 70% of newly synthesized drugs exhibit low aqueous solubility, while about 40% immediate release preparations on the market contain drugs practically insoluble in water (intrinsic solubility lower than 100 µg/ml) (Takagi et al., 2006). Increasing number of poorly soluble drugs is caused by development of synthesis techniques enabling synthesis of very complicated structures that exhibit poor aqueous solubility and increasing use of high throughput screening techniques of new drug candidates (Lipinski i sar., 2001). Formulation of solid dispersions and drug-cyclodextrin inclusion complexes is one of the mostly used and the most efficient method for improving dissolution rate and consequently bioavailability of poorly soluble drugs, therefore these two approaches are chosen for the research. Carbamazepine was chosen as a model drug, since this substance is poorly soluble (aqueous solubility is about 170 mg/l at 25 °C) (Moneghini et al., 2002), exhibit polymorphism and is administered in high doses that altogether presents a challenge in the formulation development.

Poloksameri predstavljaju pomoćne materije koje se često koriste kao emulgatori i solubilizatori, ali se danas zahvaljujući svom visokom solubilizacionom kapacitetu, niskoj temperaturi topljenja (<60°C) i povoljnom bezbednosnom profilu sve više koriste i u formulaciji čvrstih disperzija. Pokazano je da se formulacijom ibuprofena (Newa i sar., 2007, 2008), bikalutamida (Sancheti i sar., 2008), nifedipina (Chutimaworapan i sar., 2000) i etorikoksiba (Karekar i sar., 2009) u čvrste disperzije sa poloksamerima postiže značajno povećanje brzine rastvaranja lekovite supstance, što se objašnjava poboljšanim kvašenjem i solubilizacijom molekula lekovite supstance, smanjenjem veličine čestica lekovite supstance u disperziji i smanjenjem njihove aglomeracije, a u nekim slučajevima je zabeleženo i formiranje amornog oblika lekovite supstance (Newa i sar., 2007; Sancheti i sar., 2008; Karekar i sar., 2009; Shah i sar., 2007; Ghareeb i sar., 2009). Noviji radovi su pokazali da u čvrstim disperzijama lekovite supstance BMS-347070 sa poloksamerima, dobijenim sušenjem raspršivanjem, lekovita supstanca kristališe u obliku nanokristalne faze, što predstavlja

posledicu kinetike procesa kristalizacije u disperziji lekovita supstanca-polimer, odnosno ravnoteže između procesa nukleacije i rasta kristala (Yin i sar., 2005; Qian i sar., 2007). U literaturi za sada nisu dostupni podaci vezani za binarne čvrste disperzije karbamazepina sa poloksamerima. Rezultati prikazani u disertaciji pokazuju da se poloksameri mogu uspešno primeniti u izradi čvrstih disperzija sa karbamazepinom, čime se postiže značajno povećanje brzine rastvaranja karbamazepina. Uočeno prisustvo karbamazepina u kristalnom obliku u izrađenim čvrstim disperzijama je očekivano, s obzirom na relativno visoke udele karbamazepina koji su korišćeni i ograničen kapacitet poloksamera da u otopljenom stanju rastvaraju lekovitu supstancu, kao i težnju molekula karbamazepina ka međusobnoj agregaciji, koja je uočena primenom simulacije molekularne dinamike. Iako se odsustvo pikova topljenja lekovite supstance na dobijenim DSC termogramima često uzima kao dokaz prisustva amornog oblika lekovite supstance, ili čvrstih rastvora, rezultati prikazani u disertaciji su pokazali se ova tehnika ne može koristiti za pouzdano utvrđivanje fizičkog stanja lekovite supstance u slučaju binarnih karbamazepin-poloksamer čvrstih disperzija. Kako se poloksameri tope na znatno nižoj temperaturi od karbamazepina, postoji mogućnost da sa povišenjem temperature u toku DSC analize dođe do postepenog rastvaranja karbamazepina u otopljenom poloksameru. Tako je moguće da kada temperatura dostigne temperaturu topljenja karbamazepina, više nema dovoljno kristalnog karbamazepina kako bi se detektovao endotermni pik njegovog topljenja. Slično se može zaključiti i na osnovu dostupnih literaturnih podataka za sisteme rofekoksib-poloksamer 188 (Shah i sar., 2007) i karbamazepin-polietilenglikol (Zerrouk i sar., 2001, Nair i sar., 2002) u kojima je i pored odsustva pikova topljenja lekovite supstance na DSC termogramima, primenom dodatnih analitičkih tehnika pokazano da je lekovita supstanca prisutna u kristalnom obliku. Zabeleženo smanjenje brzine rastvaranja karbamazepina iz izrađenih binarnih čvrstih disperzija sa porastom masenog udela poloksamera može se objasniti termoreverzibilno gelirajućim osobinama poloksamera. Termoreverzibilno gelirajuće osobine poloksamera podrazumevaju formiranje gel sloja iznad određenih vrednosti temperature i koncentracije poloksamera i ove karakteristike poloksamera su detaljno opisane u literaturi (Sharma i Bhatia, 2004, Fusco i sar., 2006, Hsu i sar., 2009, Tian i sar., 2009). Razlog za smanjenje brzine rastvaranja karbamazepina sa povećanjem udela poloksamera može biti povećanje debljine i viskoziteta gel sloja, što dovodi do usporenja difuzije molekula karbamazepina u okolni medijum. Slični rezultati prethodno su opisani u slučaju čvrstih disperzija bikalutamida (Sancheti i sar., 2008) i albendazola (Castro i sar., 2010) sa poloksamerom 188. Veća brzina rastvaranja karbamazepina iz čvrstih disperzija izrađenih sa poloksamerom 188, u odnosu na

čvrste disperzije izrađene sa poloksamerom 407, može se objasniti hidrofилnijom prirodom ovog polimera, kao posledica većeg udela hidrofилnih etilenoksidnih segmenata u polimernom lancu. Na profilima brzine rastvaranja karbamazepina iz čvrstih disperzija izrađenih sa poloksamerom 407 uočava se i da nakon 10 minuta brzog rastvaranja karbamazepina dolazi do naglog usporavanja rastvaranja karbamazepina iz izrađenih čvrstih disperzija. Iako navedena pojava nije opisana u literaturi, može se pretpostaviti da je ona posledica formiranja dihidratnog oblika karbamazepina, prilikom kontakta anhidrovanog karbamazepina sa vodenim medijumom. Dobro je poznata činjenica da se dihidratni oblik karbamazepina odlikuje 1,5-1,6 puta nižom rastvorljivošću i brzinom rastvaranja u odnosu na anhidrovani oblik karbamazepina (Kobayashi i sar., 2000).

Poloxamers are excipients widely used as emulsifying and solubilizing agents and due to their high solubilization capacity, low melting point (<60°C) and favorable safety profile they are increasingly used in the solid dispersions formulation. It has been previously shown that dissolution rate of ibuprofen (Newa et al., 2007, 2008), bicalutamid (Sancheti et al., 2008), nifedipine (Chutimaworapan et al., 2000) and etoricoxib (Karekar et al., 2009) is significantly improved upon formulation of solid dispersions with poloxamers which is explained by improved wetting and drug solubilization by the carrier molecules, reduced in both drug particle size and particle agglomeration and in some cases formation of drug amorphous form occurred (Newa et al., 2007; Sancheti et al., 2008; Karekar et al., 2009; Shah et al., 2007; Ghareeb et al., 2009). Some recent papers have shown that model substance BMS-347070 crystallizes in the form of nanocrystalline phase within the solid dispersion in poloxamer prepared by spray drying, which is a consequence of kinetics of crystallization process in drug-polymer dispersion, i.e. equilibrium between processes of nucleation and crystal growth (Yin et al., 2005; Qian et al., 2007). There are no literature data regarding solid dispersions of carbamazepine with poloxamers. The results presented in the doctoral dissertation showed that poloxamers can be successfully used for the preparation of solid dispersions with carbamazepine, resulting in significantly improved carbamazepine dissolution rate. Observed presence of carbamazepine in the crystalline form in the prepared solid dispersions is expected due to use of relatively high proportions of carbamazepine and limited capacity of poloxamers in the molten state to dissolve drug substance, as well as tendency of carbamazepine molecules towards aggregation, which is observed using molecular dynamics simulation. Although absence of drug melting peaks on the DSC thermograms is often used as an indicator for the presence of drug amorphous form, or solid

solutions, the results presented in the dissertation showed that this technique cannot be used for reliable determination drug physical state in the case of binary carbamazepine-poloxamer solid dispersions. Since poloxamers melt at much lower temperature than carbamazepine, it is possible that with increasing of temperature during DSC analysis carbamazepine dissolves in the molten poloxamer. Therefore, it is possible that when the temperature achieves carbamazepine melting point, there is not enough carbamazepine left to detect endothermic peak of its melting. Similar can be concluded based on the available literature data for the systems rofecoxib-poloxamer 188 (Shah et al., 2007) and carbamazepine-polyethylene glycol (Zerrouk et al., 2001, Nair et al., 2002) in which, despite the absence of drug melting peaks on the DSC thermograms, additional analytical techniques showed the presence of carbamazepine in the crystalline form. Decrease in carbamazepine dissolution rate was observed with increasing in the proportion of poloxamer, which can be explained with thermoreversible gelation properties of poloxamers. Thermoreversible gelation properties imply formation of gel layer beyond certain temperatures and concentrations of poloxamers and these properties of the poloxamers are described in details in the literature (Cabana et al., 1997, Sharma and Bhatia, 2004, Fusco et al., 2006, Hsu et al., 2009, Tian et al., 2009). Increasing in the proportion of poloxamer caused decreasing of the carbamazepine dissolution rate probably due to increasing of the thickness and viscosity of the gel layer which led to deceleration of diffusion of carbamazepine molecules in the surrounding medium. Similar results have been previously described for solid dispersions of bicalutamide (Sancheti et al., 2008) and albendazole (Castro et al., 2010) with poloxamer 188. Higher carbamazepine dissolution rate from solid dispersions with poloxamer 188, compared to solid dispersions with poloxamer 407 can be ascribed to more hydrophilic nature of poloxamer 188, as a consequence of higher proportion of hydrophilic ethylene oxide segments in its polymeric chain. Dissolution profiles of carbamazepine from poloxamer 407 solid dispersions exhibit deceleration of carbamazepine dissolution rate after initial 10 minutes. Although this phenomenon hasn't been described previously in the literature, it can be assumed that it is a consequence of carbamazepine dihydrate formation upon contact with an aqueous medium. It is well known that carbamazepine dihydrate exhibits 1.5-1.6 times lower solubility and dissolution rate compared to anhydrous form of carbamazepine (Kobayashi et al., 2000).

Kako je broj trenutno dostupnih polimera koji se mogu koristiti za izradu čvrstih disperzija ograničen, često ih je neophodno kombinovati, kako bi se postigle željene osobine disperzije u odnosu na mogućnost izrade, stabilnost disperzije i brzinu rastvaranja lekovite supstance

(Bley i sar., 2010). Formulacijom ternarnih karbamazepin-Soluplus[®]-poloksamer 188 čvrstih disperzija postignuto je značajno brže rastvaranja karbamazepina u odnosu na binarne karbamazepin-Soluplus[®] čvrste disperzije. Izrada binarnih čvrstih disperzija karbamazepina sa poloksamerom opisanim metodom rastvaranja ne bi bila moguća usled niske temperature topljenja poloksamera 188, koja otežava uklanjanje zaostalog etanola. Ovo takođe opravdava formulaciju ternarnih karbamazepin-Soluplus[®]-poloksamer 188 čvrstih disperzija. Izrada ternarnih karbamazepin-Soluplus[®]-poloksamer 188 čvrstih disperzija metodom rastvaranja nije do sada opisana u literaturi i može se smatrati naučnim doprinosom kandidata. Sličan sistem je nedavno opisan u čiji sastav ulazi poloksamer 407, umesto poloksamera 188, pri čemu je u izradi korišćen metod ekstruzije topljenjem. Ipak u navedenom radu je korišćen udeo karbamazepina do maksimalnih 30% (Đuriš i sar., 2014). Kako je karbamazepin visoko dozirana lekovita supstanca, izuzetno je važno da izrađene čvrste disperzije sadrže što veći udeo ove lekovite supstance, kako bi se omogućila formulacija finalnog farmaceutskog oblika koji je pogodan za primenu i sadrži terapijski relevantnu količinu lekovite supstance. U literaturi su opisane i binarne karbamazepin-Soluplus[®] čvrste disperzije izrađene korišćenjem kako ekstruzije topljenjem, tako i metoda rastvaranja (Lim, 2012). Rezultati navedene studije su pokazali da se trenutno oslobađanje karbamazepina postiže kod formulacija koje su sadržale do najviše 30% karbamazepina. Rezultati doktorske disertacije kandidata su pokazali da se formulacijom ternarnih karbamazepin-Soluplus[®]-poloksamer 188 čvrstih disperzija postiže trenutno oslobađanje karbamazepina i kod formulacija sa relativno visokim udelom karbamazepina od približno 50%. Kombinovana primena tehnika eksperimentalnog dizajna smeše i veštačkih neuronskih mreža u razvoju čvrstih disperzija nije do sada opisana u literaturi i može se smatrati jedinstvenim naučnim doprinosom ove disertacije. Upravo kombinovana primena ovih tehnika omogućava maksimalno iskorišćavanje prednosti pojedinačnih tehnika, uz prevazilaženje njihovih nedostataka. Primenom navedenih tehnika dobijeni su modeli koji omogućavaju sticanje uvida u uticaj udela karbamazepina, Soluplus[®]-a i poloksamera 188 na brzinu rastvaranja karbamazepina iz formulisanih ternarnih čvrstih disperzija. Dobijeni modeli takođe omogućavaju previđanje parametara odabranih kao pokazatelj brzine rastvaranja karbamazepina (Q_{10} i Q_{20}) za dati sastav ternarne čvrste disperzije. Na osnovu navedenih modela može se zaključiti da najveći uticaj na brzinu rastvaranja karbamazepina iz izrađenih ternarnih čvrstih disperzija imaju udeli karbamazepina i poloksamera 188, pri čemu se najveća brzina rastvaranja karbamazepina beleži kod čvrstih disperzija koje sadrže najniže udele karbamazepina i najviše udele poloksamera 188. U prethodnim radovima, Đuriš i saradnici (Đuriš i sar., 2014) i Tawde i saradnici (Tawde i sar.,

2012) su pokazali sinergistički uticaj Soluplus[®]-a i poloksamera na povećanje brzine rastvaranja karbamazepina i simvastatina iz izrađenih ternarnih čvrstih disperzija. Park i saradnici su u nedavno objavljenom istraživanju pokazali da je dodatak poloksamera 407 neophodan uslov za postizanje željenog povećanja brzine rastvaranja repamipida iz čvrstih disperzija izrađenih sa PVP-VA 64 kopolimerom. Pokazano je da se dodatkom poloksamera 407 omogućava stvaranje hidrofilnog okruženja unutar matriksa čvrste disperzije koje omogućava brže rastvaranje, dok PVP-VA 64 omogućava sprečavanje rekristalizacije rastvorene lekovite supstance iz superzasićenog rastvora (Park i sar., 2013). U slučaju filmova sa poli-ε-kaprolaktonom koji su sadržali čvrstu disperziju teško rastvorljive lekovite supstance, pokazano da je da se nakon inkorporiranja poloksamera 188 u sistem, u toku procesa rastvaranja uočava stvaranje velikog broj pora u matriksu kao posledica brzog rastvaranja hidrofilnog poloksamera 188 (Shen i sar., 2013). Tako se i slučaju ternarnih karbamazepin-Soluplus[®]-poloksamer 188 čvrstih disperzija povećanje brzine rastvaranja karbamazepina sa dodatkom poloksamera 188 može objasniti hidrofilnom prirodom i brzim rastvaranjem ovog polimera čije brzo rastvaranje za posledicu ima stvaranje velikog broja pora u matriksu čvrstih disperzija. Stvaranje pora i kanala usled brzog rastvaranja poloksamera 188 olakšava penetraciju vodenog medijuma i difuziju rastvorene lekovite supstance u okolni medijum. Na osnovu rezultata prikazanih u disertaciji, kao i rezultata dostupnih u literaturi može se zaključiti da je u slučaju formulacije čvrstih disperzija teško rastvorljivih lekovitih supstanci sa amorfnim polimerima (PVP, Soluplus[®], HPMC...) potrebno ozbiljno razmotriti dodatak brzo rastvorljivih hidrofilnih polimera (poloksameri, PEG) u cilju postizanja željenog povećanja brzine rastvaranja lekovite supstance. Rezultati fizičko-hemijske karakterizacije uzoraka ternarnih čvrstih disperzija pokazali su da je u svim uzorcima karbamazepin prisutan u kristalnom obliku. Uključivanjem poloksamera 188 u sastav ispitivanih ternarnih čvrstih disperzija dodatno se ubrzava kristalizacija karbamazepina. Naime kristali poloksamera 188 mogu delovati kao jezgra, koja ubrzavaju nukleaciju i posledičnu kristalizaciju karbamazepina. Takođe, sam poloksamer 188 deluje kao plastifikator povećavajući slobodnu zapreminu između polimernih lanaca Soluplus[®]-a, čime se snižava temperatura staklastog prelaza ovog polimera i olakšava rekristalizacija karbamazepina tokom izrade čvrstih disperzija.

Since number of currently available polymers that can be used for the preparation of solid dispersions is limited, it is often necessary to combine them to tailor their properties with regards to processability, stability and drug dissolution rate (Bley et al., 2010). Formulation

of ternary carbamazepine-Soluplus[®]-poloxamer 188 solid dispersions resulted in significantly higher carbamazepine dissolution rate, compared to binary carbamazepine-Soluplus[®] solid dispersions. Preparation of binary carbamazepine-poloxamer 188 solid dispersions using described solvent method won't be possible due to low melting point of poloxamer 188 that hinder removal of ethanol, which was used as a solvent. This also justifies formulation of ternary carbamazepine-Soluplus[®]-poloxamer 188 solid dispersions. Formulation of ternary carbamazepine-Soluplus[®]-poloxamer 188 solid dispersions by solvent casting method hasn't been described yet and therefore can be considered as scientific contribution of the candidate. Similar system has been recently described containing poloxamer 407, instead of poloxamer 188, wherein hot melt extrusion method was used for solid dispersion preparation. However in this previous study proportion of carbamazepine was varied up to 30% (Djuris et al., 2014). Since carbamazepine is high dose drug, it is of particular importance that prepared solid dispersions contain as much drug as possible to ensure formulation of final dosage form that is suitable for oral administration and contain therapeutically relevant amount of drug. There are also data in the literature regarding binary carbamazepine-Soluplus[®] solid dispersions prepared using both hot melt extrusion and solvent method (Lim, 2012). The results of this study have shown that immediate carbamazepine release can be achieved from formulations containing up to 30% of carbamazepine. The results of candidate's doctoral dissertation showed that immediate release of carbamazepine can be achieved by formulation of ternary carbamazepine-Soluplus[®]-poloxamer 188 solid dispersions, even in the case of formulations with relatively high carbamazepine loading of about 50%. Combined using of mixture experimental design and artificial neural networks in the solid dispersion development hasn't been described in the literature and can be considered as unique scientific contribution of this doctoral dissertation. Combined application of these techniques enables maximal utilization of the benefits of each technique, with overcoming of their disadvantages. Application of these techniques resulted in models that allow getting insight in the influence of proportions of carbamazepine, Soluplus[®] and poloxamer 188 on carbamazepine dissolution rate from the prepared solid dispersions. Obtained models also allow prediction of parameters selected as indicators of carbamazepine dissolution rate (Q_{10} and Q_{20}) for the given composition of ternary solid dispersions. Based on the obtained models, it can be concluded that proportions of carbamazepine and poloxamer 188 exhibit the largest influence on carbamazepine dissolution rate from ternary solid dispersions, whereby the highest carbamazepine dissolution rate was achieved from solid dispersions containing the lowest proportions of carbamazepine and the highest proportions of poloxamer 188. In

the previous studies Djuris et al. (Đuriš et al., 2014) and Tawde et al. (Tawde et al., 2012) showed that Soluplus and poloxamer exhibit synergistic effect on improving dissolution rate of carbamazepine and simvastatin from prepared ternary solid dispersions. Park et al. recently showed that addition of poloxamer 407 is necessary prerequisite to achieve desired increase of repamipide dissolution rate from solid dispersions prepared with PVP-VA 64 copolymer. It has been shown that poloxamer 407 enables formation of hydrophilic environment inside the solid dispersion matrix, allowing faster drug release, while PVP-VA 64 prevents recrystallization of dissolved drug from supersaturated solutions (Park et al., 2013). In the case of poly-ε-caprolactone films containing solid dispersion of poorly soluble drug, it has been shown that after incorporation of poloxamer 188 in the system large number of pores is formed in the matrix during dissolution process, as a consequence of fast dissolving of hydrophilic poloxamer 188 (Shen et al., 2013). Therefore, in the case of ternary carbamazepine-Soluplus[®]-poloxamer 188 solid dispersions, increasing of carbamazepine dissolution rate with addition of poloxamer 188 can be explained with hydrophilic nature of this polymer, which fast dissolution caused formation of large number of pores within the solid dispersion matrix (Park et al., 2013). Formation of pores and channels due to fast dissolution of poloxamer 188 facilitate penetration of aqueous medium and diffusion of dissolved drug into surrounding medium. Based on the results presented in the dissertation and data available in the literature, it can be concluded that addition of fast dissolving polymers (poloxamers, PEG) should be seriously considered in the formulation of solid dispersions with amorphous polymers (PVP, Soluplus[®], HPMC...) in order to provide the desired increase of drug dissolution rate. Physicochemical characterization of the selected solid dispersion samples showed the presence of crystalline carbamazepine in all solid dispersions. Including of poloxamer 188 in the composition of solid dispersions further enhance carbamazepine crystallization. Namely, crystals of poloxamer 188 can act as nuclei that accelerate nucleation and consequential crystallization. Additionally, poloxamer 188 acts as plasticizer by increasing free volume between polymeric chains of Soluplus[®], thus lowering its glass transition temperature and facilitating carbamazepine recrystallization during solid dispersions preparation.

Niska efikasnost kompleksiranja predstavlja jedan od najvećih problema prilikom razvoja formulacija sa ciklodekstrinima. Niska efikasnost kompleksiranja, uz veliku molekulsku masu ciklodekstrina dovodi do toga da formulacije sa ciklodekstrinima imaju masu koja prevazilazi granice prihvatljive za farmaceutske oblike za peroralnu primenu. Na osnovu rezultata

prikazanih u disertaciji, može se zaključiti da Soluplus[®] i oba ispitivana tipa hidroksipropilmetilceluloze (Metolose[®] 90SH-100 i Metolose[®] 65SH-1500) ispoljavaju sinergistički efekat sa hidroksipropil- β -ciklodekstrinom na solubilizaciju karbamazepina i dovode do povećanja efikasnosti kompleksiranja od približno 1,5 puta. Sa druge strane dodatak polivinilpirolidona (Kollidon[®] 25) nije pokazao značajniji uticaj na efikasnost kompleksiranja u sistemu karbamazepin-hidroksipropil- β -ciklodekstrin. Dobijeni rezultati odgovaraju literaturnim podacima vezanim za uticaj hidroksipropilmetilceluloze i polivinilpirolidona na efikasnost kompleksiranja u sistemu karbamazepin-hidroksipropil- β -ciklodekstrin (Kou i sar., 2011). Uticaj Soluplus[®]-a na efikasnost kompleksiranja u sistemima lekovita supstanca-ciklodekstrin još uvek nije ispitan, pa se dobijeni rezultati mogu smatrati naučnim doprinosom ove doktorske disertacije. Primenom ispitivanih hidrofilnih polimera omogućeno je dobijanje amorfnih inkluzionih kompleksa karbamazepina sa hidroksipropil- β -ciklodekstrinom sa višim udelom karbamazepina u odnosu na binarne karbamazepin-hidroksipropil- β -ciklodekstrin sisteme. Mehanizam kojim se objašnjava povećanje solubilizacionog kapaciteta ciklodekstrina za lekovite supstance, sa dodatkom hidrofilnih polimera, nije još uvek u potpunosti razjašnjen. Rezultati prikazani u disertaciji, dobijeni primenom simulacije molekularne dinamike, pokazuju da molekuli hidroksipropilmetilceluloze stupaju u interakciju sa molekulima karbamazepina koji disosuju iz kompleksa sa hidroksipropil- β -ciklodekstrinom, čime sprečavaju njihovu kristalizaciju iz rastvora. Iako se navedeni rezultati ne mogu uzeti kao nepobitan dokaz ispitivanog fenomena, oni svakako doprinose njegovom boljem razumevanju. Primenom metoda fizičko-hemijske karakterizacije zabeleženo je da je, kako u binarnim, tako i u ternarnim formulacijama dobijenim sušenjem raspršivanjem karbamazepin prisutan u amorfnom obliku, što ukazuje na inkluziju karbamazepina u šupljinu hidroksipropil- β -ciklodekstrina. Ova tvrdnja je dodatno potkrepljena rezultatima fizičko-hemijske karakterizacije uzoraka fizičkih smeša koji su pokazali prisustvo karbamazepina u kristalnom obliku. Značajno povećanje brzine rastvaranja karbamazepina postignuto je kako iz formulacija izrađenih sušenjem raspršivanjem, tako i iz izrađenih fizičkih smeša, pri čemu je u početnoj fazi zabeleženo znatno brže oslobađanje karbamazepina iz formulacija dobijenih sušenjem raspršivanjem. Poređenjem ovih rezultata sa rezultatima prikazanim u doktorskoj disertaciji može se zaključiti da su rezultati navedeni u doktorskoj disertaciji u skladu sa literaturnim podacima (Choudhury i Nelson, 1992, Kou i sar., 2011).

Low complexation efficiency is one of the major problems during development of formulations containing cyclodextrins. Low complexation efficiency together with the high molecular weight of cyclodextrins lead to increase in formulation bulk beyond the level acceptable for oral administration. Based on the results presented in the dissertation, it can be concluded that Soluplus[®] and both types of hydroxypropyl methylcellulose (Metolose[®] 90SH-100 and Metolose[®] 65SH-1500) exhibit synergistic effect with hydroxypropyl- β -cyclodextrin on solubilization of carbamazepine leading to 1.5 times increasing of complexation efficiency. On the other hand, addition of polyvinylpyrrolidone (Kollidon[®] 25) didn't show significant effect on complexation efficiency in carbamazepine-hydroxypropyl- β -cyclodextrin system. Obtained results comply with literature data regarding the influence of hydroxypropyl methylcellulose and polyvinylpyrrolidone on the complexation efficiency in carbamazepine-hydroxypropyl- β -cyclodextrin system (Kou et al., 2011). The influence of Soluplus[®] on complexation efficiency in drug-cyclodextrin hasn't been investigated yet and therefore can be considered as scientific contribution of this doctoral dissertation. Using of the tested hydrophilic polymers enabled formation of inclusion complexes of carbamazepine with higher carbamazepine content, compared to binary carbamazepine-hydroxypropyl- β -cyclodextrin systems. Mechanisms responsible for increasing of solubilization capacity of cyclodextrins with addition of hydrophilic polymers are still not completely clear. The results presented in dissertation, obtained using molecular dynamics simulation, show that hydroxypropyl methylcellulose molecules interacts with carbamazepine molecules that dissociate from complexes with hydroxypropyl- β -cyclodextrin, thus preventing crystallization of dissolved carbamazepine. Although presented results cannot be taken as irrefutable proof of the investigated phenomenon, they certainly contribute to better understanding of the investigated phenomenon. Physicochemical characterization of the samples showed amorphous nature of carbamazepine in both binary and ternary formulations prepared by spray drying that indicate inclusion of carbamazepine in hydroxypropyl- β -cyclodextrin cavity. This claim is further supported by the results of physicochemical characterization of physical mixture samples that showed presence of crystalline carbamazepine. Significant increasing of carbamazepine dissolution rate was achieved from spray dried formulation as well as from physical mixtures, wherein in the initial phase, carbamazepine dissolved faster from spray dried formulations. After comparison of these literature data with the results presented in doctoral dissertation it can be concluded that results in doctoral dissertation are in accordance with literature data (Choudhury and Nelson, 1992, Kou et al., 2011).

Literatura/References

1. Bley H, Fussnegger B, Bodmeier R. Characterization and stability of solid dispersions based on PEG/polymer blends. *Int J Pharm.* 2010; 390(2):165-173.
2. Castro SG, Bruni SS, Lanusse CE, Allemandi DA, Palma SD. Improved Albendazole Dissolution Rate in Pluronic 188 Solid Dispersions. *AAPS PharmSciTech.* 2010; 11(4):1518-1525.
3. Choudhury S, Nelson KF. Improvement of oral bioavailability of carbamazepine by inclusion in 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *Int J Pharm.* 1992; 85:175-180.
4. Chutimaworapan S, Ritthidej GC, Yonemochi E, Oguchi T, Yamamoto K. Effect of Water-Soluble Carriers on Dissolution Characteristics of Nifedipine Solid Dispersions. *Drug Dev Ind Pharm.* 2000; 26(11):1141–1150.
5. Đuris J, Ioannis N, Ibric S, Djuric Z, Kachrimanis K. Effect of composition in the development of carbamazepine hot-melt extruded solid dispersions by application of mixture experimental design. *J Pharm Pharmacol.* 2014; 66(2):232-243.
6. Fusco S, Borzacchiello A, Netti PA. Perspectives on: PEO-PPO-PEO triblock copolymers and their biomedical applications. *J Bioact Compat Pol* 2006; 21(2):149-164.
7. Ghareeb MM, Abdulrasool AA, Hussein AA, Noordin MI. Kneading Technique for Preparation of Binary Solid Dispersion of Meloxicam with Poloxamer 188. *AAPS PharmSciTech.* 2009; 10(4):1206-1215.
8. Hsu SH, Leu YL, Hu JW, Fang JY. Physicochemical characterization and drug release of thermosensitive hydrogels composed of a hyaluronic acid/pluronic F127 graft. *Chem Pharm Bull.* 2009; 57(5):453-458.
9. Karekar P, Vyas V, Shah M, Sancheti P, Pore Y. Physicochemical investigation of the solid dispersion systems of etoricoxib with poloxamer 188. *Pharm Dev Techn.* 2009; 14(4): 373-379.
10. Kobayashi Y, Ito S, Itai S, Yamamoto K. Physicochemical properties and bioavailability of carbamazepine polymorphs and dihydrate. *Int J Pharm* 2000; 193(2):137-146.

11. Kou W, Cai C, Xu S, Wang H, Liu J, Yang D, Zhang T. In vitro and in vivo evaluation of novel immediate release carbamazepine tablets: complexation with hydroxypropyl- β -cyclodextrin in the presence of HPMC. *Int J Pharm.* 2011; 409(1-2):75-80.
12. Lim H. Dissolution and Solubility Enhancement of the Poorly Water Soluble Drug by Forming Solid Dispersion with a Novel Polymeric Solubilizer (Soluplus[®]). PhD Thesis. University of Maryland, Baltimor, SAD, 2012.
13. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* 2001; 46(1-3):3-26.
14. Moneghini M, Voinovich D, Perissutti B, Princivale F. Action of Carriers on Carbamazepine Dissolution. *Pharm Dev Technol.* 2002; 7(3):289-296.
15. Nair R, Gonen S, Hoag SW. Influence of polyethylene glycol and povidone on the polymorphic transformation and solubility of carbamazepine. *Int J Pharm.* 2002; 240(1-2):11-22.
16. Newa M, Bhandari KH, Li DX, Kwon TH, Kim JA, Yoo BK, Woo JS, Lyoo WS, Yong CS, Choi HG. Preparation, characterization and in vivo evaluation of ibuprofen binary solid dispersions with poloxamer 188. *Int J Pharm.* 2007; 343(1-2):228-237.
17. Newa M, Bhandari KH, Oh DH, Kim YR, Sung JH, Kim JO, Woo JS, Choi HG, Yong CS. Enhanced Dissolution of Ibuprofen Using Solid Dispersion with Poloxamer 407. *Arch Pharm Res.* 2008; 31(11):1497-1507.
18. Park CW, Tung NT, Rhee YS, Kim JY, Oh TO, Ha JM, Chi SC, Park ES. Physicochemical, pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluations of novel ternary solid dispersion of rebamipide with poloxamer 407. *Drug Dev Ind Pharm* 2013; 39(6):836-844.
19. Qian F, Tao J, Desikan S, Hussain M, Smith RL. Mechanistic Investigation of Pluronic[®] Based Nano-crystalline Drug-polymer Solid Dispersions. *Pharm Res.* 2007; 24(8):1551-1560.
20. Sancheti PP, Vyas VM, Shah M, Karekar P, Pore YV. Development and characterization of bicalutamide-poloxamer F68 solid dispersion systems. *Pharmazie.* 2008; 63(8):571-575.

21. Shah T, Amin AF, Parikh JR, Parikh RH. Process Optimization and Characterization of Poloxamer Solid Dispersions of a Poorly Water-soluble Drug. *AAPS PharmSciTech*. 2007; 8(2):E1-E7
22. Sharma PK, Bhatia SR. Effect of anti-inflammatories on Pluronic[®] F127: micellar assembly, gelation and partitioning. *Int J Pharm*. 2004; 278(2):361-377.
23. Shen Y, Lu F, Hou J, Shen Y, Guo S. Incorporation of paclitaxel solid dispersions with poloxamer 188 or polyethylene glycol to tune drug release from poly(ϵ -caprolactone) films. *Drug Dev Ind Pharm* 2013; 39(8):1187-1196.
24. Takagi T, Ramachandran C, Bermejo M, Yamashita S, Yu LX, Amidon GL. A provisional biopharmaceutical classification of the top 200 oral drug products in the United States, Great Britain, Spain, and Japan. *Mol Pharmaceut*. 2006; 3(6):631-643.
25. Tawde V, Chivate A, Potnis V, Mahajan N, Schmeller T. Solubility Enhancement of Simvastatin with Use of Novel Polymeric Solubilizer Soluplus[®]. 39th CRS Annual Meeting, July 15-18, 2012, Quebec City, Canada, 2012.
26. Tian JL, Zhao YZ, Jin Z, Lu CT, Tang QQ, Xiang Q, Sun CZ, Zhang L, Xu YY, Gao HS, Zhou ZC, Li XK, Zhang Y. Synthesis and characterization of Poloxamer 188-grafted heparin copolymer. *Drug Dev Ind Pharm*. 2010; 36(7):832-838.
27. Yin SX, Franchini M, Chen J, Hsieh A, Jen S, Lee T, Hussain M, Smith R. Bioavailability enhancement of a COX-2 inhibitor, BMS-347070, from a nanocrystalline dispersion prepared by spray-drying. *J Pharm Sci*. 2005; 94(7):1598-1607.
28. Zerrouk N, Toscani S, Gines-Dorado JM, Chemtob C, Ceólin R, Dugué J. Interactions between carbamazepine and polyethylene glycol (PEG) 6000: characterisations of the physical, solid dispersed and eutectic mixtures. *Eur J Pharm Sci*. 2001; 12(4):395-404.

D. OBJAVLJENI REZULTATI KOJI ČINE DEO DISERTACIJE/PUBLISHED RESULTS WHICH ARE PART OF THE DOCTORAL DISSERTATION

Radovi objavljeni u naučnim časopisima međunarodnog značaja

1. Medarević Dj, Kachrimanis K, Djurić Z, Ibrić S. Influence of hydrophilic polymers on the complexation of carbamazepine with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *Eur J Pharm Sci.* 2015; 78:273-285. (M21) *IF 3,350/2014*

2. Medarević Dj, Kachrimanis K, Mitrić M, Djuriš J, Djurić Z, Ibrić S. Dissolution rate enhancement and physicochemical characterization of carbamazepine-poloxamer solid dispersions. *Pharm Dev Technol.* 2015; *in press*, doi:10.3109/10837450.2014.996899 (M23) *IF 1,202/2014*

3. Medarević DP, Kleinebudde P, Djuriš J, Djurić Z, Ibrić S. Combined application of mixture experimental design and artificial neural networks in the solid dispersion development. *Drug Dev Ind Pharm.* 2015; *in press*, doi:10.3109/03639045.2015.1054831 (M23) *IF 2,101/2014*

Radovi u naučnim časopisima (M53)/Papers published in scientific journals (M53)

1. Medarević Đ, Ibrić S, Đuriš J, Đurić Z. Primena čvrstih disperzija u farmaceutskoj tehnologiji: postupci izrade i metode karakterizacije/*Solid dispersion application in pharmaceutical technology: methods of preparation and characterization.* *Arh. farm.* 2013; 63:473-493.

Saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u celini (M33)

1. Medarević Dj, Kachrimanis K, Mitrić M, Ibrić M. Preparation and characterization of carbamazepine-poloxamer solid dispersions. 9th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Lisbon/Portugal, March 31-April 3, 2014.

2. Medarević Đ, Kleinebudde P, Bekčić K, Đurić Z, Ibrić S. Application of mixture experimental design and artificial neural networks in the development of ternary carbamazepine-Soluplus®-poloxamer 188 solid dispersions. 10th Central European

Symposium on Pharmaceutical Technology, Portorož/Slovenia, September 18 – 20, 2014.
Farm vest. 2014; 65:63-65. (oral presentation)

3. Medarević Đ, Kleinebudde P, Djuris J, Đurić Z, Ibrić S. Physicochemical characterization of ternary carbamazepine-Soluplus®-poloxamer 188 solid dispersions. 10th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology, Portorož/Slovenia, September 18 – 20, 2014. Farm vestn. 2014; 65:166-168.

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

1. Medarević Đ, Ibrić S, Đurić Z. Uticaj dodatka hidrofilnih polimera na solubilizaciju karbamazepina hidropsipropil- β -ciklodekstrinom i efikasnost kompleksiranja/*The influence hydrophilic polymers addition on the solubilization of carbamazepine with hydroxypropyl- β -cyclodextrin and complexation efficiency*. VI Kongres farmaceuta Srbije sa međunarodnim učešćem/*VI Serbian Congress of Pharmacy with international participation*. Beograd, 15-19. oktobar 2014/Belgrade, October 15-19, 2014. Zbornik sažetaka/*Abstract book*, 383-385. (nagrađen rad u okviru poster sesije/*awarded paper in the poster session*)

**E. ZAKLJUČAK - OBRAZLOŽENJE NAUČNOG DOPRINOSA DISERTACIJE/
CONCLUSION-JUSTIFICATION OF SCIENTIFIC CONTRIBUTION OF THE
DOCTORAL DISSERTATION**

Doktorska disertacija kandidata Đorđa Medarevića, magistra farmacije fokusirana je na razvoj tehnika za povećanje brzine rastvaranja teško rastvorljive model lekovite supstance, što predstavlja tematiku koja je veoma aktuelna i značajna, kako sa aspekta naučnoistraživačkog rada, tako i sa aspekta farmaceutske industrije. Detaljnom analizom priložene doktorske disertacije Komisija je konstatovala da je disertacija prikazana na jasan i pregledan način i da su svi postavljeni ciljevi doktorske disertacije u potpunosti realizovani. Eksperimentni su organizovani i sprovedeni u skladu sa savremenim standardima u proučavanoj naučnoj oblasti što je omogućilo dobijanje rezultata kojima se ostvaruju prethodno postavljeni ciljevi doktorske disertacije. Kandidat je u doktorskoj disertaciji na sveobuhvatan način razmotrio tri različita pristupa za povećanje brzine rastvaranja teško rastvorljive model lekovite supstance

karbamazepina. Na kraju doktorske disertacije prikazani su zaključci koji su izvedeni na osnovu dobijenih rezultata i podataka dostupnih u literaturi. I pored toga što se oblast koju je kandidat istraživao veoma intezivno proučava poslednjih nekoliko godina, sa velikim brojem pratećih publikacija, kandidat je uspeo da dâ originalan doprinos u rešavanju ispitivanih problema. Sve ovo je potkrepljeno činjenicom da su rezultati ove doktorske disertacije do sada publikovani u okviru tri rada u međunarodnim naučnim časopisima, jednom radu u naučnom časopisu, tri saopštenja sa međunarodnih skupova, od kojih je jedno usmeno izlaganje i jednim saopštenjem sa skupa nacionalnog značaja.

Doctoral dissertation of candidate Đorđe Medarević, master of pharmacy, is focused on the development of techniques for improving dissolution rate of poorly soluble drug, which presents a topic that is relevant and important for both research work and pharmaceutical industry. After detailed review of submitted doctoral dissertation, Committee ascertains that dissertation is presented in clear and concise manner and that all defined aims of doctoral dissertation are fully accomplished. All experiments are organized and conducted in accordance with contemporary standards in the studied research field, which enabled obtaining results that are realized predefined aims of dissertation. In this doctoral dissertation, candidate has considered in a comprehensive manner three different approaches for improving dissolution rate of carbamazepine as model of poorly soluble drug. At the end of doctoral dissertation, conclusions are given based on the obtained results and available literature data. Although investigated research field is highly intensively studied during the last few years, resulting in large number of publications, candidate succeeded to give an original contribution in solving of the studied problems. This is supported with the fact that up to now the results of this doctoral dissertation are published in three papers in international scientific journals, one paper in scientific journal, three short papers presented on the international meetings, including one oral presentation and one short paper presented on the national meeting.

Na osnovu svega izloženog, može se zaključiti da je kandidat ispunio postavljene ciljeve u doktorskoj disertaciji pod nazivom „**Karakterizacija i optimizacija binarnih i ternarnih čvrstih disperzija i ciklodekstrin-polimer sistema kao nosača u cilju poboljšanja brzine**

rastvaranja teško rastvorljive lekovite supstance“, te predlažemo Nastavno-naučnom veću Farmaceutskog fakulteta da prihvati Izveštaj i omogući kandidatu mag. farm. Đorđu Medareviću odbranu doktorske disertacije.

*Based on the above consideration, it can be concluded that candidate fulfill defined aims of doctoral dissertation entitled „**Characterization and optimization of binary and ternary solid dispersions and cyclodextrin-polymer systems as carriers with the aim of improving dissolution rate of poorly soluble drug**“, and therefore we advise the Academic Council of the Faculty of Pharmacy-University of Belgrade to accept this Report and permits candidate Đorđe Medarević defense of this doctoral dissertation.*

Beograd/Belgrade,
20/08/2015.

Članovi komisije/*Committee members*

Dr sc Svetlana Ibrić, mentor rada, redovni profesor,
Univerzitet u Beogradu-Farmaceutski fakultet/
*supervisor, full professor, University of Belgrade-
Faculty of Pharmacy*

Dr sc Jelena Đuriš, docent, Univerzitet u Beogradu-
Farmaceutski fakultet/*assistant professor, University of
Belgrade-Faculty of Pharmacy*

Dr sc Kyriakos Kachrimanis, vanredni profesor,
Farmaceutski fakultet, Aristotelov Univerzitet u Solunu,
Grčka/*associate professor, School of Pharmacy, Aristotle
University of Thessaloniki, Greece*