

**NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU FARMACEUTSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

KOMISIJI ZA POSLEDIPLOMSKE STUDIJE

Na sednici Nastavno-naučnog veća Farmaceutskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, održanoj 11.4.2019. godine imenovani su članovi Komisije za ocenu i odbranu završene doktorske disertacije kandidata Olivere Lavrić (devojačko Kaljević), magistra farmacije, pod naslovom:

**Farmaceutski razvoj tableta sa pulsним oslobađanjem karvedilola tehnikama
elektropredenja i oblaganja kompresijom**

Komisija u sastavu:

1. Dr sc Svetlana Ibrić, redovni profesor, mentor rada Univerzitet u Beogradu-Farmaceutski fakultet
2. Dr sc Jelena Đuriš, vanredni profesor, mentor rada, Univerzitet u Beogradu-Farmaceutski fakultet
3. Dr sc Vesna Radojević, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu-Tehnološko-metalurški fakultet

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

IZVEŠTAJ

A. PRIKAZ SADRŽAJA DOKTORSKE DISERTACIJE

Doktorska disertacija kandidata magistra farmacije Olivere Kaljević, pod nazivom „*Farmaceutski razvoj tableta sa pulsним oslobađanjem karvedilola tehnikama elektropredenja i oblaganja kompresijom*”, napisana je na 105 strana i sadrži pet poglavlja: Uvod, Ciljeve rada, Eksperimentalni deo, Rezultate i diskusiju za svaku od četiri faze

istraživanja, Zaključak i Literaturu. Na početku disertacije dat je sažetak rada na srpskom i engleskom jeziku, dok je na kraju rada data biografija autora i prilozi. Disertacija je napisana jasnim i preglednim stilom i sadrži 27 slika, 27 tabela i 119 literaturnih navoda.

U **Uvodnom delu** su date teorijske osnove koje su od značaja za predmet proučavanja doktorske disertacije. Uvodni deo disertacije se sastoji iz devet odeljaka. U prvom odeljku dat je kratak teorijski osvrt na oblasti obrađene u ovoj disertaciji. U drugom odeljku je dat uvid u farmaceutski razvoj preparata uz detaljno objašnjenje QbD pristupa (engl. *Quality by Design*). Potom je, u trećem odeljku, opisan proces upravljanja rizicima, gde je posebno objašnjen pristup inicijalne procene rizika, a potom i detaljno objašnjena primena konkretne tehnike za analizu rizika-FMEA (engl. *Failure mode and effect analysis*). Četvrti odeljak govori o razvoju novih terapijskih sistema koji bi omogućili povećanje efikasnosti terapije i poboljšanje komplijanse pacijenata. Zatim se, u petom odeljku, opisuju hronoterapija i hronoterapijski sistemi, kao sistemi sa pulsним oslobađanjem lekovite supstance, koji omogućavaju oslobađanje lekovite supstance u vidu pulsa nakon određenog vremena odlaganja oslobađanja (engl. *lag time*) Šesti odeljak govori o problematici koja se tiče teško rastvorljivih lekovitih supstanci, i mogućnostima za prevazilaženje ovog problema. Dat je pregled fizičko-hemijskih karakteristika karvedilola, koji je bio model supstance u istraživanju. Detaljno je opisan značaj čvrstih disperzija u cilju modifikacije brzine rastvaranja teško rastvorne lekovite supstance. Takođe, date su i najvažnije fizičko-hemijske osobine Soluplus[®] polimera, koji je korišćen za dobijanje čvrstih disperzija karvedilola. Sedmi odeljak govori o interakcijama koje se odvijaju u sistemu lekovita supstanca-polimer u čvrstim disperzijama i opisuju se različite metode za određivanje njihovog stepena mešanja. Na koncizan i jasan način prikazane su dve metode za određivanje stepena mešanja lekovite supstance i polimera. U osmom odeljku, opisana je tehnika elektrospredanja kao jedna od metoda za dobijanje čvrstih disperzija u formi polimernih nanovlakana. U ovom odeljku, takođe, je opisan i princip formiranja ternernog grafika rastvorljivosti za konkretni polimer, koji se može koristiti za dobijanje polimernih nanovlakana elektrospredanjem. Takođe, jasno su predstavljene metode koje se mogu koristiti u cilju karakterizacije nanovlakana. Poslednji, deveti odeljak, govori o tehnici oblaganja kompresijom, kao mogućnosti za dobijanje hronoterapijskih sistema. Opisani su različiti formulcioni i procesni parametri koji mogu uticati na karakteristike ovih tableta.

Ciljevi istraživanja su definisani kao farmaceutski razvoj tableta obloženih kompresijom u smislu ispitivanja različitih tehnika za proizvodnju tableta obloženih kompresijom i različitih tehnika za postizanje višeg stepena znanja o kritičnim atributima kako materijala, tako i procesa. Navedeni ciljevi su jasno definisani i na osnovu postavljenih ciljeva istraživanje je podjeljeno u četiri faze.

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

U **prvoj fazi** istraživanja ispitivan je stepen mešanja karvedilola i Soluplus[®]-a. Korišćene su metode za određivanje razlike ukupnog parametra rastvorljivosti karvedilola i Soluplus[®]-a, $\Delta\delta_i$ i određivanje *Flory-Huggins* interakcionog parametra, χ . U okviru određivanja $\Delta\delta_i$, detaljno je opisana *Stefanis-Panayiotou* metoda za određivanja parcijalnih parametara rastvorljivosti karvedilola, a potom i određivanje razlike ukupne rastvoljivosti karvedilola i polimera. U okviru kvantitativne metode, zasnovanoj na termalnoj analizi, opisana je izrada fizičkih smeša karvedilola i polimera i njihova karakterizacija diferencijalnom skenirajućom kalorimetrijom (DSC), u cilju izračunavanja interakcionog parametra χ .

U **drugoj fazi** istraživanja izrađena su polimerna vlakna Soluplus[®]-a impregniranih karvedilolom. Najpre je izvršeno određivanje regiona rastvorljivosti Soluplus[®]-a pomoću frakcionih parametara rastvorljivosti, što je omogućilo sužavanje izbora pogodnih rastvarača za ovaj polimer. Korišćeno je 15 različitih, najčešće upotrebljivanih rastvarača u farmaceutskoj industriji. Nakon ove faze, izvršena je procena mogućnosti elektropredenja rastvora koji su sažali Soluplus[®] u različitim rastvaračima. Rastvarači su izabrani na osnovu definisane oblasti rastvorljivosti Soluplus[®]-a, kao i na osnovu vrednosti njihove dielektrične konstante. Preliminarni proces elektropredenja izveden je za svaki rastvor koji je sadržao 20% m/m Soluplus[®]-a u određenom rastvaraču. Dalji izbor rastvarača za proces elektropredenja, baziran je na stabilnosti procesa elektropredenja, kao i na karakteristikama dobijenih vlakana. Potom je odabran optimalni rastvarač, i sproveden je proces elektropredenja rastvora Soluplus[®]-a i karvedilola u smeši rastvarača (aceton:hloroform (9:1 (m/m))). Izvršena je karakterizacija dobijenih nanovlakana Soluplus[®]-a impregniranih karvedilolom, i to skenirajuća elektronska mikroskopija, diferencijalna skenirajuća kalorimetrija, infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom, *in-vitro* ispitivanje brzine rastvaranja karvedilola iz dobijenih vlakana i određivanje sadržaja karvedilola u vlaknima.

U **trećoj fazi** istraživanja, vršen je razvoj formulacije tabletnih jezgara sa karvedilolom. U ovoj fazi, primenjena su dva pristupa. Prvi je podrazumevao primenu konvencionalnih ekscipijenasa (Ludipress[®], natrijum-skrobglukolat, krospovidon, natrijum-hlorid, manitol) i njihov uticaj na brzinu rastvaranja karvedilola iz tableta dobijenih direktnom kompresijom. Drugi pristup je podrazumevao upotrebu usitnjenih nanovlakana Soluplus[®]-a, impregniranih karvedilolom, u formulaciji tableta i njihovo komprimovanje. U ovoj fazi vršeno je upoređivanje profila brzine rastvaranja karvedilola iz različitih formulacija.

U **četvrtoj fazi** istraživanja, izvršen je razvoj formulacije tableta obloženih kompresijom. Najpre je izvršena inicijalna procena rizika u procesu dobijanja tableta obloženih kompresijom, gde su rangirani rizici po značaju (visoki, srednji i niski rizici) i rezultati predstavljeni u obliku dijagrama riblje kosti (engl. *Fish bone*). Potom je pristupljeno detaljnijoj analizi rizika korišćenjem tehnike FMEA. U ovu svrhu korišćen je RXpress[®] softverski paket. Definisano je ciljni profil kvaliteta proizvoda, kritični atributi materijala i procesni parametri, kao i kritični atributi kvaliteta proizvoda (engl. *Critical Quality Attributes CQAs*). Zatim su definisana potencijalna neizvršenja, tj. odstupanja u procesu oblaganja kompresijom i za svako od njih definisani su uzroci i efekti. Za svako odstupanje definisan je RPN (engl. *Risk priority number*) kroz dodeljivanje određene vrednosti za mogućnost pojave odstupanja, njegovu ozbiljnost i mogućnost detekcije, koje su definisane odgovarajućim skalama. Potom je izvršeno rangiranje svih odstupanja na osnovu izračunatih RPN vrednosti. Formulirano je i izrađeno 19 različitih formulacija tableta obloženih kompresijom. Za odgovarajuće formulacije je ispitivan uticaj udela pomoćnih supstanci u jezgru tableta, ili udela polimera u omotaču na CQAs obloženih tableta, korišćenjem eksperimentalnog dizajna (puni faktorski dizajn 2²).

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.

Dobijeni rezultati zajedno sa **diskusijom** i poređenjem dobijenih rezultata sa trenutno dostupnim literaturnim podacima prikazani su nakon svih faza eksperimentalnog dela.

Na kraju disertacije prikazani su **zaključci** u odnosu na prethodno postavljene ciljeve za svaku od sprovedenih faza istraživanja.

B. OPIS POSTIGNUTIH REZULTATA

U okviru **prve faze** istraživanja, izvršena je procena stepena mešanja karvedilola i Soluplus[®]-a. Korišćene su dve metode, određivanje razlike ukupne rastvorljivosti karvedilola i polimera, kao deo kvalitativne metode, i određivanje *Flory-Huggins* interakcionog parametra, kao jedna od kvantitativnih metoda. U okviru određivanja razlike ukupne rastvorljivosti, izvršeno je i određivanje parametara rastvorljivosti karvedilola korišćenjem *Stefanis-Panayiotou* metode, što je omogućilo izračunavanje ukupnog parametra rastvorljivosti karvedilola. Određena je razlika ukupne rastvorljivosti i dobijena vrednost je $5,1 \text{ Mpa}^{1/2}$, što na osnovu literaturnih podataka i granične vrednosti od $7,0 \text{ Mpa}^{1/2}$ za postojanje verovatnoće za mešanje komponentata, ukazuje da postoji velika verovatnoća da se karvedilol i Soluplus[®] mešaju. U cilju preciznijeg određivanja stepena mešanja primenjena je i kvantitativna metoda. Formirane su fizičke smeše karvedilola i Soluplus[®]-a (sa odgovarajućim udelom karvedilola) i potom su analizirani rezultati DSC analize (sniženje tačke topljenja) u cilju izračunavanja interakcionog parametra. Izračunati interakcioni parametar određen je kao nagib krive koja je dobijena linearnom regresijom odgovarajuće jednačine. Pokazana je linearnost date krive u opsegu do približno 30% udela karvedilola u fizičkim smešama. Vrednost izračunatog interakcionog parametra iznosila je $-2,3054$ što ukazuje na veliku verovatnoću mešanja karvedilola i Soluplus[®]-a. Takođe, analizom promene temperature početka topljenja karvedilola u ovim fizičkim smešama, u odnosu na udeo Soluplus[®]-a, pokazano je da sa povećanjem udela polimera dolazi do smanjenja temperature početka topljenja karvedilola, što takođe može ukazivati na mešanje ove dve komponente.

U **drugoj fazi** istraživanja primenjena je tehnika elektropredenja za dobijanje polimernih nanovlakana Soluplus[®]-a impregniranih karvedilolom. Najpre je sprovedena preformulacija, tj. određivanje rastvarača pogodnog za rastvaranje Soluplus[®]-a, karvedilola i pogodnog za elektropredenje. Prvi korak je podrazumevao određivanje oblasti rastvorljivosti Soluplus[®]-a na ternernom dijagramu. Na osnovu frakcionih parametara rastvorljivosti 15 rastvarača je pozicionirano na ternernom dijagramu. Na osnovu toga je formirana oblast rastvorljivosti Soluplus[®]-a, koja omogućava izbor rastvarača za ovaj polimer samo na osnovu parametara rastvorljivosti, tj. njegovog pozicioniranja na ternernom grafiku. Rezultati vizuelne procene rastvorljivosti Soluplus[®]-a u ovim rastvaračima, pokazali su da je Soluplus[®] visoko rastvorljiv u acetonu, hloroformu, smeši aceton:hloroform (90:10 m/m) i smeši aceton:hloroform (70:30

m/m), u etanolu, metanolu, sirćetnoj kiselini i vodi. U sledećoj fazi su rastvarači iz mapirane oblasti rastvorljivosti Soluplus[®]-a razmatrani sa aspekta mogućnosti primene u procesu elektrospredjenja sa karvedilolom. Na osnovu analize podataka o dielektričnoj konstanti ovih 8 rastvarača, kao i rastvorljivosti karvedilola u njima, odabrano je 5 rastvarača (acetona, etanol, metanol, kao i smeša acetona i hloroforma u odnosu 90:10 (m/m) i 70:30 (m/m)) iz kojih su napravljeni 20% (m/m) rastvori Soluplus[®]-a i nakon toga je izvršeno preliminarno elektrospredjenje. Rezultati ove faze su pokazali da se za ispitivane rastvore, moraju koristiti različiti procesni parametri u cilju postizanja stabilnosti procesa elektrospredjenja (što je određeno na osnovu stabilnosti *Taylor-ove* kupe), ali je tek posmatranjem dobijenih vlakana pod optičkim mikroskopom, bilo moguće oceniti pogodnost određenog rastvarača za upotrebu u ovom procesu. Na osnovu rezultata dobijenih mikrografija, eliminisani su rastvarači kod kojih je dolazilo do pojave proširenja na vlaknima, ili do formiranja čestica umesto vlakana. Kao rezultat ove faze izabran je optimalan rastvarač za elektrospredjenje karvedilola i Soluplus[®]-a, i to je bila smeša acetona i hloroforma u odnosu 90:10 (m/m). Potom je sproveden proces elektrospredjenja 20% rastvora Soluplus[®]-a u acetona:hloroform (90:10) sa različitim koncentracijama karvedilola (5, 10, 20, 30, 40, 50%). Sprovedena je karakterizacija dobijenih vlakana. Rezultati SEM analize su pokazali da je površinska morfologija vlakana bila glatka, ali je trend pojavljivanja proširenja na vlaknima bio uočljiviji na formulacijama sa manjim udelom karvedilola. Takođe, pokazano je da su dobijena vlakna imala regularan, cilindričan oblik, i da je prosečan dijametar nanovlakna bio manji od 1 μm za sve formulacije. Rezultati DSC analize dobijenih nanovlakana su pokazali da su nanovlakna Soluplus[®]-a impregnirana karvedilolom, najverovatnije sadržala karvedilol u nekristalnom obliku, preciznije u amorfnoj formi, za opseg 1:1 karvedilol: Soluplus[®], što se moglo videti kao izostanak pika karvedilola na termogramima kod svih formulacija, ali i izostankom kristala karvedilola na površini vlakana posmatranih SEM-om. Rezultati FTIR analize su takođe pokazali odsustvo karakterističnih pikova karvedilola, što može ukazivati na njegovo fizičko stanje, na koje je ukazano DSC analizom. Na osnovu rezultata *in vitro* brzine rastvaranja karvedilola, pokazano je da je kod svih formulacija nanovlakana sa Soluplus[®]-om došlo do poboljšanja brzine rastvaranja karvedilola u odnosu na brzinu rastvaranja čistog karvedilola. Rezultati pokazuju da je se iz svih 6 formulacija oslobodilo više od 85% karvedilola u prvih 15 minuta ispitivanja, i više od 95% na kraju jednočasovnog ispitivanja brzine rastvaranja. Ovi rezultati su pokazali visok procenat rastvorenog karvedilola, što je najverovatnije posredovano formiranjem čvrstih disperzija elektrospredjenjem, ali i dostupnosti leka medijumu u formiranim vlaknima. Rezultati određivanja sadržaja karvedilola u vlaknima

pokazala su veliki stepen impregnacije karvedilola (87-94%). Dobijeni rezultati i stabilna *Taylor*-ova kupa u toku procesa elektropredenja, tj.stabilan proces, pokazali su da je ova kombinacija rastvarača i polimera Soluplus[®]-a, pogodna za svrhu dobijanja nanovlakana kao nosača za karvedilol.

U **trećoj fazi** istraživanja, izvršena je kompresija tableta koje su sadržale različite pomoćne materije i nanovlakna Soluplus[®]-a impregniranih karvedilolom. Izvršeno je ispitivanje brzine rastvaranja karvedilola iz ovih tableta, u cilju procene uticaja različitih tipova pomoćnih supstanci (superdezintegratori, osmotski aktivne supstance) na proces oslobađanja karvedilola. Zahtev za trenutno oslobađanje lekovite supstance (> 85% u toku 30 minuta) zadovoljen je za svih 6 formulacija tabletnih jezgara. Rezultati su pokazali da je postignuto trenutno oslobađanje iz tabletnih jezgara dobijenih korišćenjem konvencionalnih ekscipijenasa i kompresijom usitnjenih nanovlakana. Razlika u profilima postojala je u prvih 15 minuta oslobađanja, gde je kod formulacije tableta sa nanovlaknima oslobođeno više od 85% karvedilola, dok je kod ostalih formulacija ovaj procenat bio oslobođen nakon 30 minuta.

U **četvrtoj fazi** istraživanja razmatrane su formulacije tableta obloženih kompresijom, što je podrazumevalo procenu rizika. Svi parametri koji potencijalno mogu uticati na proces oblaganja kompresijom i CQAs obloženih tableta, predstavljeni su u obliku *Fish bone* dijagrama. Rezultati inicijalne procene rizika su pokazali da formulacija omotača tableta i završna kompresija predstavljaju visok rizik na CQAs (*lag time* i ukupnu količinu oslobođenog karvedilola). Pokazano je postupak centriranja jezgra visokog rizika na *lag time*, dok sastav i sila kompresije jezgra nose visok rizik za procenat oslobođenog karvedilola. Potom je sprovedena FMEA analiza, gde je najpre izvršeno mapiranje parametara, tj.povezivanje atributa kvaliteta i procesnih parametara sa CQAs za tablete obložene kompresijom. Definisana su potencijalna odstupanja koja su okarakterisana verovatnoćom događanja, ozbiljnošću tog odstupanja i mogućnošću njegove detekcije, i dodeljene su im odgovarajuće vrednosti za svaku od ovih kategorija i izračunate su RPN vrednosti. Rezultati su pokazali izuzetno visoke vrednosti RPN za nisku i visoku koncentraciju polimera, kompresiju tableta, kao i nisku koncentraciju natrijum-hlorida za *lag time* kao CQAs. Dok su odstupanja, i njihovi uzroci, sa visokim vrednostima za procenat oslobođenog karvedilola kao CQAs, bile niska koncentracija natrijum-hlorida, manitola, natrijum-skrobglikolata, zatim finalna kompresija, molekulska masa polimera i koncentracija polimera Polyox WSR N-60K. Odstupanja vezana za količinu oslobođenog karvedilola iz tabletnog jezgra su imala niske

RPN vrednosti, što ukazuje na njihov manji značaj u odnosu na ostala odstupanja. Potom je izvršena formulacija tableta (F1-F19) u više koraka, u cilju procene uticaja pomenutih odstupanja iz FMEA i u cilju razvoja formulacije obloženih tableta sa odgovarajućim karakteristikama. Formulirane su tablete i vršeno je ispitivanje brzine rastvaranja karvedilola. Najpre je ispitivan uticaj molekulske mase polimera (Polyox WSR Coagulant, Polyox WSR 301 i Polyox WSR N-60K) i rezultati su pokazali da obzira na to koju molekulsku masu ima izabrani polimer, upotrebljena količina polimera (80%), vodi ka predugom odlaganju oslobađanja lekovite supstance, što nije poželjno. Potom je izvršena modifikacija tabletnog omotača, gde je korišćeno 10, 20 i 30% polimera sa najmanjom molekulskom masom od ispitivanih iz prethodne faze (Polyox WSR N-60K) i rezultati su pokazali da formulacija sa 30% polimera može biti istaknuta kao ona sa najdužim *lag time*, što je poželjno, i upravo zbog toga ovaj polimer je izabran za detaljnije ispitivanje. Zatim je korišćen 2² eksperimentalni dizajn za procenu uticaja tipa dezintegratora (natrijum skrob glikolat - SSG i krosповidon - CP) koncentracije polimera na *lag time* i ukupnu količinu oslobođenog karvedilola, Q. Rezultati su pokazali da statistički značajan uticaj na *lag time* ima samo koncentracija Polyox WSR N-60K ($p < 0,05$). Uticaj ovog faktora na *lag time* je pozitivan, što se vidi kroz pozitivan predznak uz nezavisno promenljivu u jednačini. U slučaju Q, količine oslobođenog karvedilola, oba faktora imaju statistički značajan uticaj, tj. njihova promena utiče na smanjenje Q. Potom je sproveden eksperimentalni dizajn za procenu uticaja koncentracije natrijum.hlorida i SSG na *lag time* i Q. Rezultati eksperimentalnog dizajna su pokazali da koncentracija NaCl ima statistički značajan uticaj na obe zavisno promenljive (*lag time* i Q) ($p < 0,05$). Pokazano je da promena nivoa ovog faktora sa nižeg na viši, dovodi do smanjenja *lag time*, ali do povećanja Q. U slučaju SSG, rezultati su pokazali da za ispitivana dva nivoa koncentracije 0 i 10%, nema statistički značajnog uticaja na zavisne promenljive. Na kraju je eksperimentalnim dizajnom procenjen uticaj koncentracije manitola i Polyox WSR N-60K na praćene CQAs, *lag time* i Q. Rezultati su pokazali da koncentracija manitola ima statistički značajan uticaj na Q ($p < 0,05$), i to da sa povećanjem koncentracije manitola, dolazi do povećanja Q. Statistički značajan uticaj na *lag time* ima jedino koncentracija Polyoxa WSR N-60K, i to ima pozitivan uticaj, što je pokazano i u prethodnim rezultatima. Sa povećanjem koncentracije polimera, produžava se *lag time*. Rezultati pokazuju da koncentracija manitola nema statistički značajan uticaj na *lag time*. U poslednjoj fazi je vršeno ispitivanje brzine rastvaranja karvedilola iz obloženih tableta koja su u jezgru sadržala Soluplus[®]-karvedilol nanovlakna (1:1). U poređenju kritičnih atributa kvaliteta ovih tableta i tableta koje su u jezgru imale konvencionalne ekscipijense (SSG, NaCl), može se videti da je ovde *lag time*

kraće od prethodnih. Što se tiče količine oslobođenog karvedilola, rezultati su pokazali da u slučaju tableta sa nanovlaknima u jezgru, Q iznosi približno 85%, u toku 8h trajanja ispitivanja brzine rastvaranja karvedilola iz obloženih tableta.

C. UPOREDNA ANALIZA REZULTATA SA PODACIMA IZ LITERATURE

Pulsni terapijski sistemi predstavljaju hronoterapijske sisteme kod kojih je oslobađanje lekovite supstance najčešće vremenski odloženo, što se u literaturi naziva pulsem (Bussemer i sar., 2001). Postoji brojni podaci u literaturi koji ukazuju na racionalnost hronoterapije. Međutim, u praksi se nedovoljno značaja pridaje činjenici da veliki broj bolesti pokazuje cirkadijalnu zavisnost, tes toga postoje brojne mogućnosti za istraživanje u oblasti hronoterapijskih sistema (Mandal i sar., 2010). Sam farmaceutski razvoj podrazumeva proces dizajniranja proizvoda odgovarajućeg kvaliteta i razvoj procesa proizvodnje koji će konzistentno obezbeđivati odgovarajuće karakteristike proizvoda (ICH Q8(R2), 2009). Vrlo je važna primena QbD koncepta u farmaceutskom razvoju preparata sa modifikovanim oslobađanjem lekovite supstance, budući da je kod ovakvih preparata veliki broj kritičnih atributa materijala i kritičnih procesnih parametara koji mogu uticati na modifikovano oslobađanje lekovite supstance. Kao model lekovita supstanca u istraživanju, korišćen je karvedilol. Prema Biofarmaceutskom sistemu klasifikacije, karvedilol se svrstava u klasu II (niska rastvorljivost – visoka permeabilnost). Karvedilol pokazuje pH zavisnu rastvorljivost: 832 mg/L u kiseloj sredini (pH 1,2) i 5,8 mg/L na pH 7,8 (Hamed et al., 2016). Intestinalna permeabilnost iznosi $1.94E-4$ cm/min (Rasool et al., 2015). Zbog svojih fizičko-hemijskih i farmakoloških osobina, karvedilol je pogodna lekovita supstanca za formulaciju hronoterapijskih sistema (Greenberg i sar., 2006). Tehnika oblaganja kompresijom je stara tehnika, ali zbog svojih prednosti u odnosu na ostale tehnike oblaganja, i dalje predstavlja atraktivnu metodu za formulaciju terapijskih sistema (Ozeki i sar., 2004). Tehnika elektrosprednja se u poslednje vreme intenzivno istražuje u oblasti farmaceutske industrije, i pogodna je upravo za lekovite supstance koje pokazuju slabu rastvorljivost, koju je moguće prevazici formiranjem čvrstih disperzija u formi polimernih nanovlakana (Pelipenko i sar., 2015).

U literaturi postoje podaci o razvoju različitih terapijskih sistema koji sadrže karvedilol kao aktivnu supstancu, a to su bukalne tablete (Yamsani i sar., 2007), tablete obložene kompresijom (Shah i sar., 2013), transdermalni terapijski sistemi (Ubaidulla i sar., 2007),

samonanoemulgujuće tablete karvedilola (Mahmud i sar., 2009), tečni farmaceutski oblici koji sadrže nanoemulzije karvedilola za oralnu primenu (Drais i Hussein, 2015), mikrosfere sa kontrolisanim oslobađanjem karvedilola (Agnihotri i Aminabhavi, 2005), nanovlakna za oromukozalnu primenu (Potrč i sar., 2015), nanovlakna i filmovi karvedilola (Krstić i sar., 2017). Nabrojani primeri predstavljaju terapijske sisteme sa karvedilolom dobijeni različitim postupcima. Ipak, u literaturi ne postoji veliki broj podataka o tabletama obloženim kompresijom koje sadrže karvedilol, iako su ovi terapijski sistemi pogodni za hronoterapiju. U literaturi nema podataka o tabletama dobijenih kompresijom nanovlakana karvedilola, kao ni uporedni podaci o brzini rastvaranja karvedilola iz tableta obloženih kompresijom i iz tableta koje sadrže nanovlakna karvedilola u jezgru obloženih tableta. Rezultati prikazani u disertaciji pokazuju da se ove dve tehnike, oblaganje kompresijom i elektropredenje, mogu uspešno upotrebiti za dobijanje terapijskih sistema sa pulsним oslobađanjem karvedilola, uz postizanje odgovarajućeg ciljanog kvaliteta proizvoda. Uticaj određenih ekscipijenasa na *lag time* kao CQAs tableta obloženih kompresijom, već je bio donekle očekivan. Jagdale i saradnici (2013) su pokazali da Polyox WSR205 i Polyox N12K imaju statistički značajan uticaj na proces oslobađanja bisoprolola, ali i da visoka koncentracija polimera dovodi do inhibiranja oslobađanja aktivne supstance. Lin i saradnici (2002) su pokazali da uticaj na *lag time* imaju ekscipijensi koji ulaze u sastav tabletnog jezgra (natrijum-skrobglikolat, natrijum-hlorid), pri čemu dolazi do skraćivanja *lag time*, sa povećanjem koncentracije ovih ekscipijenasa. Takođe su pokazali i da osobine lekovite supstance značajno utiču na proces njenog oslobađanja iz obloženih tableta. Elektropredenje se pokazalo kao relativno jednostavan proces za dobijanje čvrstih disperzija, a primeri u literaturi pokazuju da su nanovlakna karvedilola dobijena elektropredenjem imala veću brzinu rastvaranja u odnosu na čistu lekovitu supstancu (Potrč i sar., 2015). Nema literaturnih podataka o formulaciji plusnih terapijskih sistema sa nanovlaknima karvedilola.

Da bi se ispitaо fenomen mešanja lekovite supstance i polimera, korišćene su dve metode. Marsac i saradnici (2006) opisuju veći broj kvantitativnih i kvalitativnih metoda za procenu stepena mešanja lekovite supstance i polimera. Međutim, procena stepena mešanja karvedilola, i amfifilnog polimera Soluplus[®]-a u literaturi nije opisana, što je predstavljalo izazov za dalju formulaciju čvrstih disperzija, odnosno polimernih nanovlakana. Rezultati obe metode su pokazali da postoji velika verovatnoća za mešanje karvedilola i Soluplus[®]-a. Sa druge strane, Soluplus[®] polimer je formulisan da bude pogodan za formiranje čvrstih disperzija sa teško rastvorljivim lekovitim supstancama jer je pokazano da omogućava njihovu solubilizaciju, povećavajući njihovu rastvorljivost i bioraspoloživost.

Da bi se dobila nanovlakna Soluplus[®]-a, bilo je potrebno odabrati određeni rastvarač pogodan za elektropredenje, ali i za rastvaranje polimera i karvedilola. U literaturi postoje podaci o različitim rastvorima Soluplus[®]-a za elektropredenje, pri čemu su kao rastvarači korišćeni etanol (Nagy i sar., 2012), aceton (Paaver i sar., 2014), hloroform (Bruni i sar., 2016). Poseban pristup, u ovoj disertaciji, predstavlja formiranje oblasti rastvorljivosti za Soluplus[®], što nije opisano u literaturi za ovaj polimer. U procesu elektropredenja rastvora Soluplusa[®] i karvedilola u smeši acetona i hloroforma (90:10), rezultati su pokazali da je moguće inkorporirati 50% karvedilola. U literaturi postoji podatak o većem procentu inkorporiranog karvedilola, ali manjem procentu oslobođenog karvedilola iz nanovlakana, što se može tumačiti različitim odnosom molekulske mase karvedilola i samog polimera (Potrč i sar., 2015). Karakterizacijom nanovlakana je pokazano da se sa povećanjem dela karvedilola smanjuje broj proširenja na vlaknima, što se na skenirajućoj elektronskoj mikrografiji uočava kao glatke površine vlakana bez nepravilnosti. U literaturi je pokazano da aceton kao rastvarač može dovesti do nastajanja proširenja (Augustine et al., 2016; Jaeger et al., 1998). DSC analizom nanovlakana pokazano je odsustvo karakterističnog pika karvedilola, što može ukazivati na postojanje njegovog nekristalnog, tj. amornog oblika, što su opisali Potrč i saradnici (2015). U literaturi postoji nekoliko istraživanja vezanih za tabletiranje nanovlakana (Poller i sar., 2017; Démuth i sar., 2015; Démuth i sar., 2017). Poller i saradnici (2017) su formulisali minitablete kompresijom nanovlakana polivinilpirolidona impregniranih prednizonom, dok su Démuth i saradnici (2017) ispitivali mogućnost tabletiranja praznih nanovlakana, tj. bez lekovite supstance. U disertaciji je vršeno tabletiranje nanovlakana koja su sadržala Soluplus[®] i karvedilol u odnosu 1:1. Poteškoće su se javile prilikom usitnjavanja nanovlakana, što može predstavljati problem za *scale up* u industriji. Uspešno formiranje tableta i rezultati koji pokazuju povećanu brzinu rastvaranja karvedilola iz ovih tableta, ukazuju na poboljšane karakteristike u odnosu na čistu lekovitu supstancu.

Inicijalna procena rizika i grafički prikaz (*Fish bone*) potencijalnih faktora koji mogu uticati na proces oblaganja kompresijom, i oslobađanje lekovite supstance iz tableta obloženih kompresijom su predstavljeni u disertaciji, što u literaturi nije dostupno, a može olakšati razvoj novih formulacija. Za detaljniju procenu i analizu rizika, korišćena je FMEA tehnika. Sva potencijalna odstupanja su rangirana, i u okviru farmaceutskog razvoja tableta obloženih kompresijom, rezultati ove analize daju smernice koje faktore i kako kontrolisati. Upotreba FMEA je opisana u literaturi. Fahmy i saradnici (2012) su ispitivali primenu FMEA u definisanju glavnih faktora koji utiču na *Design space* u procesu dobijanja ciprofloksacin-hidrochlorid tableta sa trenutnim oslobađanjem procesom roler kompakcije.

Razvoj tableta sa karvedilolom sa pulsним oslobađanjem prikazan u ovoj disertaciji, koji je uključivao: određivanje stepena mešanja karvedilola i Soluplus[®]-a, određivanje parametara rastvorljivosti karvedilola *Stefanis-Panayiotou* metodom, mapiranje oblasti rastvorljivosti Soluplus[®] polimera na ternernom grafiku u fazi preformulacije nanovlakana, tabletiranje nanovlakana Soluplus[®]-a impregniranih karvedilolom, primena FMEA tenike u procesu oblaganja kompresijom, oblaganje kompresijom nanovlakana dobijenih elektropredenjem, **nije opisan u literaturi i može se smatrati jedinstvenim naučnim doprinosom ove disertacije.**

Literatura

1. Agnihotri, S. A., & Aminabhavi, T. M. (2005). Development of novel interpenetrating network gellan gum-poly (vinyl alcohol) hydrogel microspheres for the controlled release of carvedilol. *Drug development and industrial pharmacy*, 31(6), 491-503.
2. Augustine, R., Kalarikkal, N., & Thomas, S. (2016). Clogging-free electrospinning of polycaprolactone using acetic acid/acetone mixture. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 55(5), 518-529.
3. Bruni, G., Maggi, L., Tammaro, L., Di Lorenzo, R., Friuli, V., Maietta, M., ... & Marini, A. (2016). Electrospun fibers as potential carrier systems for enhanced drug release of perphenazine. *International journal of pharmaceutics*, 511(1), 190-197.
4. Bussemer, T., Otto, I., & Bodmeier, R. (2001). Pulsatile drug-delivery systems. *Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 18(5).
5. Démuth, B., Farkas, A., Szabó, B., Balogh, A., Nagy, B., Vágó, E., ... & Bertels, J. (2017). Development and tableting of directly compressible powder from electrospun nanofibrous amorphous solid dispersion. *Advanced Powder Technology*, 28(6), 1554-1563.
6. Draiss, H. K., & Hussein, A. A. (2015). Formulation and characterization of carvedilol nanoemulsion oral liquid dosage form. *Int J Pharm Pharm Sci*, 7(12), 209-216.
7. Fahmy, R., Kona, R., Dandu, R., Xie, W., Claycamp, G., & Hoag, S. W. (2012). Quality by design I: application of failure mode effect analysis (FMEA) and Plackett–Burman design of experiments in the identification of “main factors” in the formulation and process design space for roller-compacted ciprofloxacin hydrochloride immediate-release tablets. *AAPS PharmSciTech*, 13(4), 1243-1254.
8. Greenberg, B. H., Mehra, M., Teerlink, J. R., Ordroneau, P., McCollum, D., & Gilbert, E. M. (2006). COMPARE: comparison of the effects of carvedilol CR and carvedilol IR on left ventricular ejection fraction in patients with heart failure. *The American journal of cardiology*, 98(7), 53-59.
9. Guideline, I. H. T. (2005, November). Quality risk management Q9. In *International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use*.
10. Hamed, R., Awadallah, A., Sunoqrot, S., Tarawneh, O., Nazzal, S., AlBaraghthi, T., ... & Abbas, A. (2016). pH-dependent solubility and dissolution behavior of carvedilol—case example of a weakly basic BCS class II drug. *AAPS PharmSciTech*, 17(2), 418-426.

11. Jaeger, R., Bergshoef, M. M., Battle, C. M. I., Schönherr, H., & Julius Vancso, G. (1998, February). Electrospinning of ultra-thin polymer fibers. In *Macromolecular symposia* (Vol. 127, No. 1, pp. 141-150). Basel: Hüthig & Wepf Verlag.
12. Jagdale, S. C., Bari, N. A., Kuchekar, B. S., & Chabukswar, A. R. (2013). Optimization studies on compression coated floating-pulsatile drug delivery of bisoprolol. *BioMed research international*, 2013.
13. Krstić, M., Radojević, M., Stojanović, D., Radojević, V., Uskoković, P., & Ibrić, S. (2017). Formulation and characterization of nanofibers and films with carvedilol prepared by electrospinning and solution casting method. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 101, 160-166.
14. Lin, S. Y., Lin, K. H., & Li, M. J. (2002). Influence of excipients, drugs, and osmotic agent in the inner core on the time-controlled disintegration of compression-coated ethylcellulose tablets. *Journal of pharmaceutical sciences*, 91(9), 2040-2046.
15. Mahmoud, E. A., Bendas, E. R., & Mohamed, M. I. (2009). Preparation and evaluation of self-nanoemulsifying tablets of carvedilol. *AAPS pharmSciTech*, 10(1), 183-192.
16. Mandal, A. S., Biswas, N., Karim, K. M., Guha, A., Chatterjee, S., Behera, M., & Kuotsu, K. (2010). Drug delivery system based on chronobiology—A review. *Journal of controlled release*, 147(3), 314-325.
17. Nagy, Z. K., Balogh, A., Vajna, B., Farkas, A., Patyi, G., Kramarics, Á., & Marosi, G. (2012). Comparison of electrospun and extruded Soluplus®-based solid dosage forms of improved dissolution. *Journal of pharmaceutical sciences*, 101(1), 322-332.
18. Ozeki, Y., Ando, M., Watanabe, Y., & Danjo, K. (2004). Evaluation of novel one-step dry-coated tablets as a platform for delayed-release tablets. *Journal of controlled release*, 95(1), 51-60.
19. Paaver, U., Tamm, I., Laidmäe, I., Lust, A., Kirsimäe, K., Veski, P., ... & Heinämäki, J. (2014). Soluplus Graft copolymer: potential novel carrier polymer in electrospinning of nanofibrous drug delivery systems for wound therapy. *BioMed research international*, 2014.
20. Pelipenko, J., Kocbek, P., & Kristl, J. (2015). Critical attributes of nanofibers: Preparation, drug loading, and tissue regeneration. *International journal of pharmaceutics*, 484(1), 57-74.
21. Poller, B., Strachan, C., Broadbent, R., & Walker, G. F. (2017). A minitab formulation made from electrospun nanofibers. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 114, 213-220.
22. Potrč, T., Baumgartner, S., Roškar, R., Planinšek, O., Lavrič, Z., Kristl, J., & Kocbek, P. (2015). Electrospun polycaprolactone nanofibers as a potential oromucosal delivery system for poorly water-soluble drugs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 75, 101-113.
23. Rasool, M. F., Khalil, F., & Läer, S. (2015). A Physiologically Based Pharmacokinetic Drug–Disease Model to Predict Carvedilol Exposure in Adult and Paediatric Heart Failure Patients by Incorporating Pathophysiological Changes in Hepatic and Renal Blood Flows. *Clinical pharmacokinetics*, 54(9), 943-962.
24. Shah, R., Patel, S., Patel, H., Pandey, S., Shah, S., & Shah, D. (2013). Formulation development of carvedilol compression coated tablet. *Pharmaceutical development and technology*, 18(4), 906-915.
25. Ubaidulla, U., Reddy, M. V., Ruckmani, K., Ahmad, F. J., & Khar, R. K. (2007). Transdermal therapeutic system of carvedilol: effect of hydrophilic and hydrophobic matrix on in vitro and in vivo characteristics. *AAPS PharmSciTech*, 8(1), E13-E20.

26. Yamsani, V., Gannu, R., Kolli, C., Rao, M., & Yamsani, M. (2007). Development and in vitro evaluation of buccoadhesive carvedilol tablets. *Acta Pharmaceutica*, 57(2), 185-197.

D. OBJAVLJENI REZULTATI KOJI ČINE DEO DISERTACIJE

Radovi objavljeni u naučnim časopisima međunarodnog značaja

I. Radovi objavljeni u međunarodnim časopisima

1. Kaljević O, Đuriš J, Đurić Z, Ibrić S. Application of failure mode and effects analysis in quality by design approach for formulation of carvedilol compression coated tablets. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 32 (2016) 56-63 **(M23)**
2. Kaljević, O., Djuris, J., Čalija, B., Lavrič, Z., Kristl, J., & Ibrić, S. (2017). Application of miscibility analysis and determination of Soluplus solubility map for development of carvedilol-loaded nanofibers. *International Journal of Pharmaceutics*, 533(2), 445-454. **(M21)**

II. Predavanja po pozivu sa međunarodnog skupa štampanih u izvodu (M32)

1. Đuriš J, Kaljević O, Đurić Z, Ibrić S. Savremeni pristup formulaciji preparata sa modifikovanim oslobađanjem – hronoterapijski sistemi. II Kongres farmaceuta Crne Gore sa međunarodnim učešćem, Bečići/Crna Gora, Maj 2015.

III. Radovi saopšteni na međunarodnim skupovima štampani u celini (M33)

1. Kaljević O, Medarević Dj, Đuriš J, Ibrić S. Optimization of tablet formulation with pulsatile release of carvedilol using experimental design. 10th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology, Portorož/Slovenia, September 18 – 20, 2014. *Farm vestn.* 2014; 65:139-140.

IV. Radovi saopšteni na međunarodnim skupovima štampani u izvodu (M34)

1. Kaljevic O, Djuris J, Djuric Z, Ibric S. Development of carvedilol compression coated tablet formulation using experimental design. 6th BBBB Conference on Pharmaceutical Sciences: Strategies to Improve the Quality and Performance of Modern Drug Delivery Systems. Helsinki, Finland, September 10-12, 2015. Abstract book. p. 56.
2. Kaljević O, Djuris J, Đurić Z, Ibrić S. Ispitivanje uticaja manitola i Polyox N60K na profil oslobađanja karvedilola iz tableta obloženih kompresijom primenom eksperimentalnog dizajna. Drugi kongres farmaceuta Crne Gore sa međunarodnim učešćem, 28-31. maj 2015, Budva. *Knjiga sažetaka* 223-224.

V. Saopštenja sa skupova nacionalnog značaja štampana u izvodu (M64)

1. Kaljević O, Đuriš J, Đurić Z, Ibrić S. Ispitivanje uticaja manitola i Polyox N60K na profil oslobađanja karvedilola iz tableta obloženih kompresijom primenom eksperimentalnog dizajna. VI Kongres farmaceuta Srbije sa međunarodnim učešćem. Beograd, 15-19. oktobar 2014. Zbornik sažetaka, 396-397.

E. ZAKLJUČAK - OBRAZLOŽENJE NAUČNOG DOPRINOSA DISERTACIJE

Doktorska disertacija kandidata Olivere Lavrič (devojačko Kaljević), magistra farmacije, fokusirana je na farmaceutski razvoj terapijskih sistema sa pulsним oslobađanjem karvedilola korišćenjem dve različite tehnike, oblaganja kompresijom i elektropređenja, 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 razvoj terapijskih sistema sa pulsним oslobađanjem karvedilola, odnosno formiranje čvrstih disperzija lekovite supstance i polimera i stepen njihovog mešanja u sistemu, i dobijanje pomenutih sistema primenom elektropređenja, ali i formiranje tableta obloženih kompresijom na osnovu procene rizika u samom procesu. 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 intenzivno proučava poslednjih nekoliko godina, kandidat je uspeo da da originalan doprinos u rešavanju ispitivanih problema. Sve ovo je potkrepljeno činjenicom da su rezultati ove doktorske disertacije do sada publikovani u dva rada u međunarodnim naučnim časopisima.

Na osnovu svega izloženog, može se zaključiti da je kandidat ispunio postavljene ciljeve u doktorskoj disertaciji pod nazivom „**Farmaceutski razvoj tableta sa pulsним oslobađanjem karvedilola tehnikama elektropredenja i oblaganja kompresijom**“, te predlažemo Nastavno-naučnom veću Farmaceutskog fakulteta da prihvati Izveštaj i omogući kandidatu mag. farm. Oliveri Kaljević odbranu doktorske disertacije.

Beograd

24.05.2019.

Članovi komisije

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

Dr sc Jelena Đuriš, mentor rada, vanredni profesor,
Univerzitet u Beogradu-Farmaceutski fakultet

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