

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO



MIRJAM STARIN

**IZDELAVA SAMO-MIKROEMULGIRAJOČIH SISTEMOV S
TALINO IZBRANE MODELNE UČINKOVINE**

**MANUFACTURE OF SELF-MICROEMULSIFYING DRUG
DELIVERY SYSTEMS WITH MELT OF SELECTED MODEL DRUG
COMPOUND**

Ljubljana, 2011

Diplomsko delo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo, Katedri za farmacevtsko tehnologijo pod mentorstvom prof. dr. Mirjane Gašperlin in somentorstvom asist. dr. Alenke Zvonar.

Zahvala

Zahvaljujem se prof. dr. Mirjani Gašperlin za vzpodbudo in nasvete pri pisanju diplomske naloge. Asist. dr. Alenki Zvonar in asist. Mirjam Gosenca se zahvaljujem za vso pomoč in usmerjanje pri praktičnemu delu in pri pisanju diplomske naloge. Hvala, ker ste bile na voljo kadarkoli sem vas potrebovala. Zahvaljujem se tudi družinskim članom za podporo in vzpodbudo.

Hvala.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelala pod vodstvom mentorice prof. dr. Mirjane Gašperlin in somentorice asist. dr. Alenke Zvonar.

Mirjam Starin

VSEBINA

1 POVZETEK	1
2 SEZNEM KRATIC IN OKRAJŠAV	3
3 UVOD	4
3.1 NA LIPIDIH OSNOVANI SISTEMI	4
3.1.1 KLASIFIKACIJSKI SISTEM NA LIPIDIH OSNOVANIH SISTEMOV	5
3.1.2 PSEVDO-TRIKOMPONENTNI FAZNI DIAGRAM (PTFD)	8
3.2 SAMO-MIKROEMULGIRAJOČI SISTEMI (SMES-i)	10
3.2.1 MEHANIZEM SAMO-MIKROEMULGIRANJA	11
3.3 SESTAVA SMES-ov	12
3.3.1 TRIGLICERIDI	13
3.3.2 MEŠANI GLICERIDI	14
3.3.3 POLARNA OLJA	14
3.3.4 LIPOFILNI EMULGATORJI	15
3.3.5 HIDROFILNI EMULGATORJI	15
3.3.6 SOTOPILA	16
3.3.7 OSTALE SESTAVINE	17
3.3.8 ZDRAVILNA UČIKOVINA	17
3.4 FORMULIRANJE SMES-ov	18
3.4.1 MEDSEBOJNO MEŠANJE POMOŽNIH SNOVI	18
3.4.2 KAPACITETA RAZTAPLJANJA	19
3.4.3 DOLŽINA VERIGE TRIGLICERIDOV	20
3.4.4 EMULGATORJI	21
3.4.5 ZDRAVILNA UČINKOVINA	21
4 NAMEN DELA	23
5 MATERIALI IN METODE	24
5.1 MATERIALI	24
5.2 METODE	27
5.2.1 IZDELAVA PSEVDO-TRIKOMPONENTNEGA FAZNEGA DIAGRAMA	27

5.2.2 SPREMLJANJE ČASOVNEGA POTEKA OBARJANJA MODELNE UČINKOVINE IZ SISTEMOV.....	29
6 REZULTATI IN RAZPRAVA.....	31
6.1 PSEVDO-TRIKOMPONENTNI FAZNI DIAGRAMI.....	31
6.2 SPREMLJANJE ČASOVNEGA POTEKA OBARJANJA MODELNE UČINKOVINE IZ SISTEMOV.....	43
6.2.1 STABILNOST BREZVODNIH SMES-ov.....	43
6.2.2 STABILNOST SMES-ov PO DODATKU VODE.....	47
7 SKLEPI	49
8 LITERATURA	51

1 POVZETEK

Med novimi zdravilnimi učinkovinami je vse večji delež v vodi slabo topnih spojin. Pri njihovem vnosu v telo s klasičnimi farmacevtskimi oblikami, kot so tablete in kapsule, pogosto zasledimo nezadostno in neponovljivo absorpcijo. Ena izmed takih spojin je tudi modelna učinkovina NDS 9. Njeno raztapljanje in s tem obseg absorpcije smo hoteli izboljšati z vgradnjo učinkovine v na lipidih osnovane sisteme, kot so samo-mikroemulgirajoči sistemi (SMES-i). Ti so definirani kot izotropne zmesi, sestavljene iz lipidov, emulgatorjev, koemulgatorjev in sotopil ter so termodinamsko stabilni. V stiku z vodnim medijem ob rahlem mešanju spontano tvorijo mikroemulzije tipa O/V. Njihova prednost je, da zadržujejo učinkovine v raztopljenem stanju ves čas zadrževanja v prebavnem traktu. Naš poglobitni cilj je bil izdelati SMES s čim višjo vsebnostjo zdravilne učinkovine, ki bi slednjo čim dlje časa ohranil v raztopljenem stanju tudi pri sobni temperaturi. V diplomskem delu smo zato izdelali več različnih SMES-ov. Za oljno fazo smo izbrali talino modelne učinkovine NDS 9 in njene zmesi z Miglyolom 812 ali izopropil miristatom. Kot površinsko aktivne snovi smo uporabili Tween 20, Capmul PG-8 in lecitin. Izdelane SMES-e smo ovrednotili glede na področje nastanka mikroemulzij v psevdo-trikomponentnih faznih diagramih. Slednje smo izdelali s titracijsko metodo, kjer smo segretim SMES-om na vodni kopeli dodajali na enako temperaturo segreto vodo. Izbrane SMES-e smo nato ovrednotili glede na čas, potreben za rekristalizacijo modelne učinkovine NDS 9 tako iz nerazredčenih sistemov, kot tudi po dodatku vode. Pojav kristalov in oborine med hranjenjem vzorca na sobni temperaturi smo ocenili vizualno. Najširše področje nastanka mikroemulzij smo določili pri sistemih (NDS 9 : IPM = 1 : 1)/Tween 20/voda in NDS 9/(Tween 20 : lecitin = 4 : 1)/voda. Glede na čas, potreben za rekristalizacijo učinkovine iz SMES-ov pri sobni temperaturi, se je za najboljšega izkazal sistem (NDS : IPM = 1 : 1)/(Tween 20 : Capmul PG-8 = 1 : 1), ki pa zaradi ozkega področja nastanka mikroemulzij ni bil optimalen. V primeru razredčenih sistemov smo najdaljši čas, potreben za oboritev NDS 9, določili za sistem (NDS 9 : IPM = 1 : 1)/Tween 20/voda. Z vidika čim višje vsebnosti NDS 9 v sistemu in ob sočasnem upoštevanju časa rekristalizacije učinkovine, tako iz nerazredčenih kot razredčenih SMES-ov, se je kot najboljši sistem izkazal NDS 9/(Tween 20 : lecitin = 4 : 1)/voda. Vključitev lecitina kot koemulgatorja je bistveno pripomogla k stabilnosti tega sistema, ki je zaradi zelo visoke vsebnosti učinkovine primeren tudi za industrijsko uporabo.

ABSTRACT

Among new drugs a constant increase in the number of poor water soluble drug candidate compounds can be observed. Their oral delivery with conventional dosage forms as tablets or capsules often exhibits insufficient absorption and high inter-subject variability. One of these compounds is also our model drug NDS 9. Our aim was to increase its solubility and absorption by using lipid-based drug delivery systems, such as self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDS). They are physically stable, isotropic mixtures of lipids, surfactants, co-surfactants and co-solvents and are able to spontaneously form O/V microemulsions under mild agitation following dilution with aqueous phase. The advantage of SMEDDS results from their ability to ensure that the drug remains in dissolved state throughout its transit within the gastrointestinal tract. The main objective of our work was to formulate SMEDDS with high NDS 9 content, which would preserve NDS 9 in dissolved state for a long period of time during storage at room temperature. Therefore several different SMEDDS were produced. The oil phase consisted of a melt of NDS 9 or its mixtures with Miglyol 812 or isopropyl myristate. Tween 20, Capmul PG-8 and lecithin were added as surfactants. Selected SMEDDS were evaluated with respect to their microemulsion existence field in pseudo-ternary phase diagrams. The latter were constructed by titration method by heating SMEDDS on the water bath and gradually diluting them with water, heated on the same temperature. We also evaluated time, needed for recrystallization of NDS 9 and its precipitation from initial and diluted SMEDDS, respectively. Formation of crystals and precipitates during storage at room temperature was detected by visual assessment. The widest microemulsion existence field was observed for (NDS 9 : IPM = 1 : 1)/Tween 20/water and NDS 9/(Tween 20 : lecithin = 4 : 1)/water systems. The best result regarding the time, needed for recrystallization of model drug from SMEDDS was observed for (NDS 9 : IPM = 1 : 1)/(Tween 20 : Capmul PG-8 = 1 : 1) system, which was not the most favorable, due to narrow microemulsion existence field. The longest time, needed for precipitation of the model drug from diluted systems was observed for (NDS 9 : IPM = 1 : 1)/Tween 20/water system. Considering microemulsion formation field as well as NDS 9 content and its recrystallization time when stored at room temperature, system NDS 9/(Tween 20 : lecithin = 4 : 1)/water was selected as the most perspective. All evaluated parameters were considerably improved by addition of lecithin as co-surfactant. This system with high NDS 9 load can be practically applicable also in the pharmaceutical industry.

2 SEZNEM KRATIC IN OKRAJŠAV

% (m/m) – delež, ki predstavlja število gramov topljenca v 100 g zmesi

% (m/v) – delež, ki predstavlja število gramov topljenca v 100 ml zmesi

BHA - butilhidroksianizol

BHT - butilhidroksitoluen

dv-TG – dolgo-verižni triglicerid

dv-glicerid – dolgo-verižni glicerid

FDA – Food and Drug Administration – Ameriška agencija za hrano in zdravila

GRAS – Generally Recognized as Safe – splošno priznано kot varno

HLB – hydrophile lipophile balance – hidrofilno lipofilno ravnotežje

IPM – izopropilmiristat

LD₅₀ – Lethal Dose, 50 % - smrtni odmerek, 50 %

LFCS – Lipid Formulation Classification System – klasifikacijski sistem na lipidih osnovanih sistemov

ME – mikroemulzija

PTFD – psevdo-trikomponentni fazni diagram

RO – reverzna osmoza

S(M)ES – samo-(mikro)emulgirajoči sistem

sdv-TG – srednje dolgo-verižni triglicerid

sdv-gliceridi – srednje dolgo-verižni glicerid

SES – samo-emulgirajoči sistem

SMES – samo-mikroemulgirajoči sistem

T – temperatura

TG - triglicerid

tip O/V – tip olje v vodi

tip V/O – tip voda v olju

USPNF 23 – U. S. Pharmacopoeia / The National Formulary – ameriška farmakopeja

WHO – World Health Organization – svetovna zdravstvena organizacija

ZU – zdravilna učinkovina

3 UVOD

3.1 NA LIPIDIH OSNOVANI SISTEMI

Mikroemulzije so primerni dostavni sistemi za v vodi netopne ali slabo topne učinkovine. Izraz mikroemulzija se je prvič pojavil pred približno 60 leti. Uporabila sta ga Hoar in Schulman. Od takrat so se mikroemulzije uporabljale v pralnih sredstvih, barvah, kozmetiki, agrikulturi, pijačah in za povečanje raztapljanja zdravilnih učinkovin (1).

Pri kroničnih obolenjih je še vedno najbolj priljubljeno peroralno zdravljenje. Pri razvoju novih zdravilnih učinkovin se povečuje delež lipofilnih in v vodi slabo topnih spojin, ki danes predstavljajo več kot 40 % vseh uporabljenih učinkovin. Njihov vnos v telo s klasičnimi trdnimi farmacevtskimi oblikami, predvsem s tabletami, je povezan z majhno in pogosto intra- in intervvariabilno biološko uporabnostjo (2–6). Topnost učinkovine v prebavnem traktu lahko povečamo s kemijsko in/ali fizikalno spremembo ter z razvojem ustrezne farmacevtske oblike. Eden izmed zanimivejših pristopov je vgradnja slabo vodotopnih učinkovin v na lipidih osnovane sisteme, kot so: oljne raztopine, emulzije, samo-(mikro)emulgirajoči sistemi. Njihova prednost je v tem, da vzdržujejo zdravilno učinkovino v raztopljenem stanju ves čas zadrževanja le-te v prebavnem traktu (7). Na razvoj teh farmacevtskih oblik so najverjetneje vplivale raziskave o vplivu hrane na absorpcijo slabo vodotopnih učinkovin. Absorpcija le-teh se je povečala ob hkratnem zaužitju obroka z visokim deležem maščob. Vse večje zanimanje za na lipidih osnovane sisteme v današnjem času pa je zlasti posledica uspešne registracije zdravil Sandimmune Neoral (ciklosporin A), Fortovase (sakvinavir), Norvir (ritonavir) in Agenerase (amprenavir) (2,3,5,8,9). Danes na lipidih osnovani sistemi v Veliki Britaniji, ZDA in na Japonskem predstavljajo 2–4 % vseh na trgu dostopnih zdravil (10).

Samo-mikroemulgirajoči sistemi so izotropne zmesi večih pomožnih snovi, ki v vodnem mediju ob rahlem mešanju tvorijo mikroemulzije tipa O/V. Za tvorbo mikroemulzij je potrebna točno določena kombinacija pomožnih snovi (6). Področja nastanka različnih struktur (miceli, lamelarni miceli, kapljice tipa O/V ali V/O) najlažje ponazorimo s faznimi diagrami. Glede na število komponent v sistemu ločimo trikomponentne ali psevdotrikomponentne fazne diagrame. Območja posameznih faz lahko določimo vizualno ali pa z uporabo različnih analiznih metod (11). V izbrane samo-(mikro)emulgirajoče sisteme

nato vgradimo zdravilno učinkovino. Njen dodatek lahko različno vpliva na lastnosti sistema (2).

3.1.1 KLASIFIKACIJSKI SISTEM NA LIPIDIH OSNOVANIH SISTEMOV

Na lipidih osnovani sistemi je izraz za skupino sistemov, ki jim je skupno to, da vsebujejo lipidne komponente. Poleg mono-, di- in trigliceridov se za njihovo formuliranje uporabljajo tudi lipofilni emulgatorji, hidrofilni emulgatorji in hidrofilna sotpila. Za izdelavo samo-(mikro)emulgirajočih sistemov imamo zato veliko število možnih kombinacij pomožnih snovi. Leta 2000 je Pouton za lažje razumevanje lastnosti na lipidih osnovanih sistemov osnoval klasifikacijski sistem na lipidih osnovanih sistemov (Lipid Formulation Classification System – LFCS), ki ga je leta 2006 še nekoliko dopolnil. Pouton je omenjene sisteme razvrstil v štiri razrede glede na njihovo sestavo ter vpliv redčenja in prebave formulacije na možnost obarjanja vgrajene učinkovine. V preglednici I so navedene glavne značilnosti posameznih razredov na lipidih osnovanih sistemov (4,9).

Razred I predstavljajo sistemi, sestavljeni iz zdravilne učinkovine (ZU), raztopljeni v trigliceridih in/ali mešanih gliceridih. V to skupino uvrščamo tudi sisteme, v katerih je ZU raztopljena v emulzijah tipa O/V. Le-te so stabilizirane z emulgatorji v nizkih koncentracijah npr.: 1 % (m/v) polisorbata 60 ali 1,2 % (m/v) lecitina. Sistemi razreda I izkazujejo slabo zmožnost dispergiranja. Nastanek koloidne disperzije v prebavnem traktu je odvisen od prebave in vključevanja nastalih amfifilnih presnovnih produktov ter ZU v mešane micele. Za presnovo srednje dolgo-verižnih trigliceridov (sdv-TG-jev) in dolgo-verižnih trigliceridov (dv-TG-jev) so odgovorni encimi trebušne slinavke. Presnovni produkti sdv-TG-jev (monogliceridi in maščobne kisline (MK) z 8 ali 10 C-atomi) lahko obstajajo kot samostojna disperzija brez prisotnosti žolča. Nasprotno je pri presnovi dv-TG-jev pomembna prisotnost žolčnih kislin, ki pomagajo pri raztapljanju nastalih presnovnih produktov (prostih MK in 2-monogliceridov) znotraj mešanih micelov (7,12). Razred I obsega enostavne sisteme z učinkovinami, ki so dovolj lipofilne, da se v zahtevanem obsegu raztopijo v izbranem lipidu. Njihova biološka uporabnost je primerljiva z biološko uporabnostjo, ki jo zagotavljajo sistemi razreda II in III. Prednost razreda I je predvsem v njihovi varnosti in stabilnosti učinkovine, čeprav je občasno možno tudi obarjanje (9,12).

Razred II pogosto imenujemo samo-emulgirajoči sistemi (SES-i). To so izotropne zmesi lipidov in lipofilnih emulgatorjev s HLB vrednostjo nižjo od 12. Slednji izboljšajo topnost učinkovine v formulaciji in pospešujejo emulgiranje le-te v vodnem mediju. Med tipične formulacije uvrščamo mešanico sdv-TG-jev in polisorbata 85 ali mešanico sdv-TG-jev in Tagata TO. Ti sistemi v vodnem okolju tvorijo fine emulzije tipa O/V z velikostjo kapljic med 100 in 300 nm. Nastale emulzije so opalescentne. Samo-emulgiranje običajno dosežemo pri koncentraciji emulgatorjev nad 25 % (m/m). Optimalna koncentracija emulgatorja je v območju 30–40 %. Če je koncentracija višja od 50 %, je proces emulgiranja upočasnen. Vzrok za to je nastanek viskoznega sloja tekočih kristalov na medfazi olje/voda. Ti sistemi z visokim deležem emulgatorja tvorijo zelo stabilne emulzije. Za njihov nastanek je potrebna velika energija, zato jih ne uvrščamo med SES-e. Pripravljene zmesi lahko polnimo v trdne ali mehke želatinaste kapsule (7,9,12). Za sisteme razreda II je manjše zanimanje kot za ostale sisteme. Posledično na trgu ne najdemo predstavnika te skupine. Eden izmed vzrokov so uporabljeni emulgatorji, ki jih ne zasledimo na seznamu neaktivnih sestavin, ki ga vodi FDA (12).

Preglednica I: Klasifikacijski sistem na lipidih osnovanih sistemov. Preglednica zajema njihovo sestavo, velikost kapljic, značilnosti, prednosti ter slabosti (4,7,12).

	Razred I	Razred II	Razred IIIA	Razred IIIB	Razred IV
Sestava (%)					
Lipidi	100	40–80	40–80	< 20	–
Lipofilni emulgatorji	–	20–60	–	–	0–20
Hidrofilni emulgatorji	–	–	20–40	20–50	30–80
Sotopila	–	–	0–40	20–50	0–50
Velikost kapljic	Groba emulzija	(100–250) nm	(100–250) nm	(50–100) nm	< 50 nm
Značilnosti	Za dispergiranje je potrebna prebava	SES-i, ki ne vsebujejo vodotopnih komponent	SES-i, ki vsebujejo vodotopne komponente	SMES-i, ki vsebujejo vodotopne komponente in nizke deleže lipidov	Formulacija brez lipidov; vsebuje samo emulgatorje in sotopila
Prednosti	Status GRAS*; enostavnost	Pri redčenju malo verjetnosti za izgubo kapacitete raztapljanja	Bistre ali skoraj bistre disperzije; absorpcija učinkovine brez prebave	Bistre disperzije; absorpcija učinkovine brez prebave	Velika kapaciteta raztapljanja za številne učinkovine
Slabosti	Majhna kapaciteta raztapljanja, razen za zelo lipofilne učinkovine	Motne disperzije tipa O/V	Možna izguba kapacitete raztapljanja pri redčenju; težja prebava	Verjetna izguba kapacitete raztapljanja pri redčenju	Izguba kapacitete raztapljanja pri redčenju, slaba prebava

V razred III po definiciji uvrščamo sisteme, ki poleg zmesi lipidov vsebujejo še hidrofilne emulgatorje s HLB vrednostjo nad 12 in hidrofilna sotopila, kot so etanol, propilenglikol ter polietilenglikol. Emulgatorji in sotopila izboljšajo topnost hidrofobne ZU. Zaradi številnih pomožnih snovi in njihovih kombinacij je ta skupina na lipidih osnovanih

* GRAS – Generally Recognized as Safe (splošno priznано kot varno). To je oznaka Ameriške agencije za hrano in zdravila, ki označuje, da je snov varna pod pogoji namenjenimi njeni uporabi (13).

sistemov najbolj raznolika. Pri dispergiranju teh sistemov v vodnem mediju nastanejo kapljice s premerom pod 100 nm. Disperzije so na pogled optično bistre ali rahlo opalescentne. Razred III lahko razdelimo na dva podrazreda. V podrazred IIIA uvrščamo SES-e, iz katerih pri redčenju nastanejo emulzije. V podrazred IIIB pa uvrščamo samo-mikroemulgirajoče sisteme (SMES-e), iz katerih pri redčenju nastanejo mikroemulzije. Podrazred IIIB ima v primerjavi s podrazredom IIIA višji delež hidrofilnih emulgatorjev ter sotopil in nižji delež lipidov. V prebavnem traktu zato predstavljajo večje tveganje za obarjanje ZU iz sistema zaradi izgube kapacitete raztapljanja pri redčenju. Večina na trgu prisotnih na lipidih osnovanih sistemov spada v razred III. Najbolj znan primer samo-mikroemulgirajočega sistema je Sandimmune Neoral (ciklosporin A) (7,9,12).

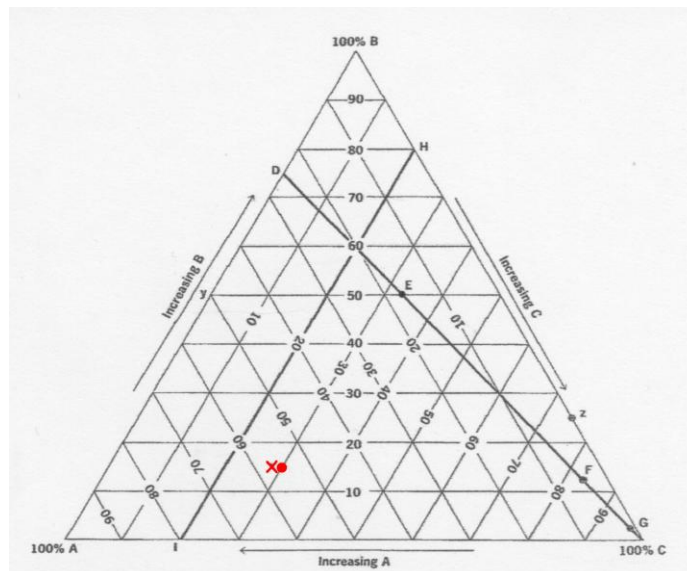
Zadnje čase se smernice nagibajo v razvoj sistemov, ki so sestavljeni predvsem iz hidrofilnih emulgatorjev in sotopil. V klasifikacijskem sistemu na lipidih osnovanih sistemov jih uvrščamo v razred IV. Sistemi v tej skupini ne vsebujejo lipidov. V primerjavi s prejšnjimi skupinami je ta najbolj hidrofilna. V vodnem mediju tvorijo zelo fine disperzije, koloidnih velikosti, kar omogoča hitrejše sproščanje učinkovine in večjo absorpcijo. Zaradi visokega deleža emulgatorjev in sotopil je omogočena večja topnost hidrofobnih ZU. Hkrati pa odsotnost lipidov ter visok delež površinsko aktivnih snovi predstavljata veliko nevarnost za izgubo kapacitete raztapljanja sistema po dispergiranju v prebavnem traktu. V splošnem velja, da se ZU, raztopljeni samo v sotopilih obori, ko se sistem dispergira v vodnem mediju. Edina prednost oboritve je, če pri tem nastane suspenzija z drobnimi kristalnimi ali amorfnimi delci. Problem je zanesljivost nastanka take suspenzije. Bolj smiselna je vgradnja ZU v zmes samih emulgatorjev. Na ta način se lahko izognemo obarjanju učinkovine pri razredčenju sistema. Sprememba kapacitete raztapljanja sistema, ki vsebuje samo emulgatorje, je zanemarljiva ob dispergiranju v vodi. Na trgu je prisotnih več predstavnikov razreda IV, predvsem so to HIV proteazni zaviralci v obliki kapsul (12).

3.1.2 PSEVDO-TRIKOMPONENTNI FAZNI DIAGRAM (PTFD)

Fazni diagrami ponazarjajo razmerje med obnašanjem faz večkomponentnega sistema in njegovo sestavo. Obnašanje faz enostavnega sistema (pri konstantnem tlaku in

temperaturi), sestavljenega iz olja, emulgatorja in vode, opišemo s pomočjo trikomponentnega faznega diagrama. Slednji ima obliko enakostraničnega trikotnika (11).

Interpretacija trikomponentnega faznega diagrama je razložena na primeru slike 1.



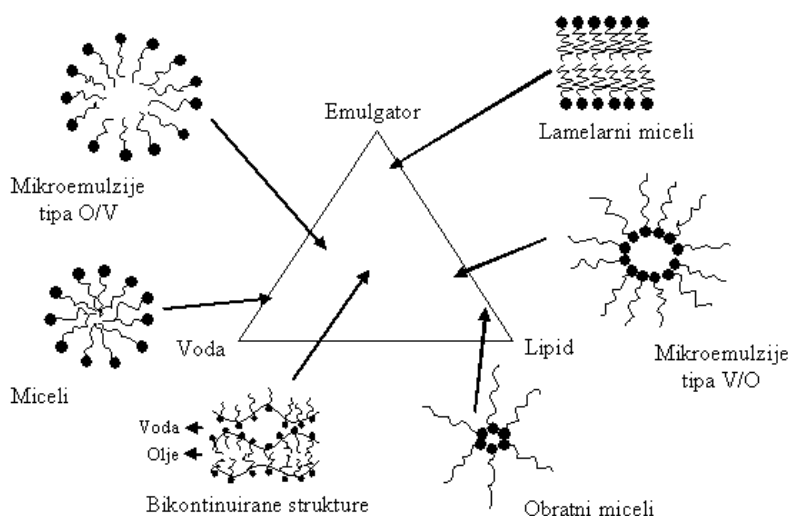
Slika 1: Interpretacija trikomponentnega faznega diagrama

Vsako oglišče trikotnika predstavlja 100 % mase ene izmed komponent (A, B ali C). Stranice trikotnika predstavljajo zmes dveh komponent. Tako stranice AB, BC in CA predstavljajo dvokomponentne zmesi komponent A in B, B in C ter C in A. Če se premikamo po stranici AB proti oglišču B, se povečuje delež komponente B in zmanjšuje delež komponente A. Enak princip (prikazan na sliki 1) velja za ostali dve stranici. Področje znotraj trikotnika predstavlja vse možne kombinacije komponent A, B in C. Interpretacijo diagrama lahko razložimo na primeru točke X. Stranica AC leži nasproti oglišča B in predstavlja zmesi komponent A in C. Vrednost komponente B na tej stranici je 0. Stranici AC vzporedne daljice predstavljajo naraščajoče vrednosti komponente B od 0 do 100 % v oglišču B. Daljica, ki teče skozi točko X, predstavlja sistem s 15 % komponente B. Na enak način določimo delež ostalih dveh komponent. Vrednost tretje komponente npr.:A lahko določimo tudi računsko, če je delež komponente C npr.: 30 %. Delež komponente A je $100 \% - (B + C) = 100 \% - (15 \% + 30 \%) = 55 \%$.

Točke na daljici, ki povezuje oglišče z nasprotno stranico (daljica DC), imajo enako razmerje dveh komponent, v tem primeru komponent A in B. Vzporednice stranicam predstavljajo sistem, v katerem je delež ene komponente na tej vzporednici vselej enak, delež ostalih dveh komponent pa se spreminja (14).

V primerih, kjer ugotovljamo vpliv štirih ali več komponent na obnašanje faz, uporabljamo PTFD. Tu posamezna oglišča predstavljajo zmesi običajno dveh komponent s konstantnim medsebojnim razmerjem. Najpogostejše zmesi so emulgator/koemulgator, voda/učinkovina ali olje/učinkovina.

Strukture, ki nastanejo s spreminjanjem razmerij med posameznimi komponentami, so miceli, obratni miceli, lamelarne strukture, mikroemulzije tipa O/V ali V/O, bikontinuirane strukture, ki so shematsko predstavljene na sliki 2. Področja mikroemulzij so običajno optično izotropna (11,12,15).



Slika 2: Prikaz obstoja različnih struktur znotraj (psevdo)-trikomponentnega faznega diagrama

3.2 SAMO-MIKROEMULGIRAJOČI SISTEMI (SMES-i)

SMES-i so definirani kot izotropne zmesi lipidov, emulgatorjev, koemulgatorjev, sotopil ter ZU in so termodinamsko stabilni. V stiku z vodnim medijem ob rahlem mešanju spontano tvorijo mikroemulzije tipa O/V. V prebavnem traktu mešanje zagotavlja gibanje želodca in črevesja, vodni medij pa predstavljajo želodčni ter črevesni sokovi. Za ZU, ki so občutljive na hidrolizo, se pogosteje uporabljajo SMES-i kot mikroemulzije (15). Prav tako majhen volumen SMES-ov omogoča peroralno aplikacijo v trdnih ali mehkih želatinastih kapsulah. Optimalna koncentracija ali območje koncentracije lipidov, emulgatorjev, koemulgatorjev in sotopil je določena z izdelavo psevdo-trikomponentnih

faznih diagramov. Njihova izdelava je potrebna tudi pri oceni vpliva vključene ZU na sposobnost samo-mikroemulgiranja.

Nastala disperzija po redčenju SMES-ov je optično bistra ali rahlo opalescentna. Velikost kapljic, ki nastanejo, je manjša od 100 oz. 50 nm, porazdelitev njihove velikosti pa je ozka. Površina kapljic je obratno sorazmerna z njihovim premerom. Manjše kapljice imajo torej večjo površino. To omogoča hitrejše in enakomernejše sproščanje ZU pa tudi enakomernejšo biološko uporabnost, kot je bilo ugotovljeno na primeru ciklosporina. Velika površina manjših kapljic zagotavlja tudi večjo površino za delovanje encima lipaza, ki hidrolizira lipide. S tem omogoča hitrejše sproščanje učinkovine in/ali tvorbo mešanih micelov, v katere se vključuje učinkovina. Prednost SMES-ov in ostalih na lipidih osnovanih sistemov je, da celoten čas zadrževanja v prebavnem traktu ohranjajo učinkovino v raztopljenem stanju. To je pomemben dejavnik za izboljšanje biološke uporabnosti v vodi slabo topnih spojin (5,8,9,10,15).

Slabost teh sistemov predstavlja predvsem visoka koncentracija emulgatorjev, ki je potrebna za samo-mikroemulgiranje. Druge slabosti predstavljajo še nekompatibilnost nekaterih komponent SMES-ov z želatinastimi kapsulami ter obarjanje formulacije v primeru shranjevanja pri nizkih temperaturah. Ti vzroki so napeljali k razvoju alternativne metode za pretvorbo SMES-ov v trdne farmacevtske oblike. Pri tem za izdelavo aglomeratov uporabijo tekoče SMES-e kot tekočino za granuliranje. Tako dobljen sistem ima ustrezne lastnosti za izdelavo trdnih farmacevtskih oblik, kot so tablete, kapsule, pelete. V literaturi lahko zasledimo podatke o pripravi več različnih sistemov, ki izkazujejo potencial za izboljšanje biološke uporabnosti v vodi slabo topnih učinkovin (8,10).

3.2.1 MEHANIZEM SAMO-MIKROEMULGIRANJA

Mikroemulzije (ME) so termodinamsko stabilne disperzije. Nastanejo spontano iz SMES-ov po dodatku vode. O mehanizmu samo-mikrodispergiranja obstaja več različnih hipotez. Po eni izmed njih samo-mikrodispergiranje poteče, ko je entropija zaradi dispergiranja večja od energije, ki je potrebna za povečanje površine pri dispergiranju. Proces mikroemulgiranja poteče spontano že ob rahlem mešanju, če je prosta Gibbsova energija negativna ali zelo nizko pozitivna. Poenostavljeno lahko prosto Gibbsovo energijo nastanka ME opišemo z enačbo 1.

$$\Delta G_f = \gamma \Delta A - T \Delta S$$

enačba 1

ΔG_f prosta Gibbsova energija nastanka (sprememba proste Gibbsove energije sistema pri nastanku ME)

γ medfazna napetost med dvema nemešajočima se tekočinama

ΔA sprememba površine

T temperatura

ΔS sprememba entropije sistema pri nastanku ME

(2,5,16)

Pri tvorbi ME je sprememba površine (ΔA) zelo velika zaradi nastanka velikega števila drobnih kapljic. Vrednost medfazne napetosti med dvema nemešajočima se tekočinama (γ) je nizka zaradi prisotnosti emulgatorjev in ko-emulgatorjev. Posledica dispergiranja dveh faz in nastanka drobnih kapljic je velika entropijska energija (ΔS). Negativna sprememba proste Gibbsove energije je torej posledica nizke vrednosti γ in visoke vrednosti ΔS (11).

Predpostavljajo, da je spontan nastanek ME povezan z olajšanim prehajanjem vode v različne strukture tekočih kristalov, ki se tvorijo na površini kapljic. Posledica dodatka mešanice olje/neionski emulgator v vodo je tvorba medfaze med oljno in zunanjo (kontinuirano) vodno fazo. Temu sledi prehajanje vode v oljno fazo preko medfaze. To povzroči nastanek dispergiranih tekočih kristalov, ki so po določenem času prisotni na celotni medfazi. Nadaljnje prehajanje vode ob pomoči rahlega mešanja povzroči poškodbo medfaze in nastanek oljnih kapljic, obkroženih s tekočimi kristali. Visoka stabilnost teh sistemov je verjetno prav posledica tekočih kristalov na površini kapljic (2,5,6).

3.3 SESTAVA SMES-ov

Raziskave so pokazale, da je za proces samo-mikroemulgiranja pomembna narava para olje/emulgator, koncentracija emulgatorja, razmerje med oljem in emulgatorjem ter ustrezna temperatura (2).

3.3.1 TRIGLICERIDI

Med lipide uvrščamo maščobe, olja, voske in kompleksne lipide (sterole, fosfolipide, glikolipide, lipoproteine in sfingolipide), ki sodelujejo v bioloških procesih. Med omenjenimi lipidi se uporabljajo predvsem olja rastlinskega izvora. Pomembna so, ker lahko raztopijo lipofilne ZU. Njihova prednost je tudi, da omogočajo večjo absorpcijo učinkovine iz prebavnega trakta, predvsem skozi limfni sistem (6,17).

Za izdelavo SMES-ov se uporabljajo številna naravna olja, izolirana iz rastlin. Primerna so predvsem zaradi pogoste uporabe v prehrani, popolne prebave in absorpcije ter varnosti pri uporabi. Rastlinska olja so mešanica trigliceridov (90 do 95 % (m/m)), prostih maščobnih kislin, fosfolipidov, pigmentov, sterolov in v maščobi topnih vitaminov (tokoferolov, karotenoidov), ki so naravni antioksidanti. Rafinirana rastlinska olja sestavljajo samo trigliceridi (10,12,17).

Trigliceridi (TG-ji) so estri maščobnih kislin (MK) in glicerola. Glede na število C-atomov v molekuli MK jih delimo na kratko-verižne (manj kot 5 C-atomov), srednje dolgo-verižne (6–12 C-atomov) in dolgo-verižne (več kot 12 C-atomov). Uporabljajo se srednje dolgo-verižni trigliceridi (sdv-TG-ji) in dolgo-verižni trigliceridi (dv-TG-ji) z različno stopnjo nasičenosti alkilnih verig MK. Kapaciteta raztapljanja TG-jev je odvisna od dolžine verig. Znano je, da imajo dv-TG-ji manjšo kapaciteto raztapljanja kot sdv-TG-ji. Zaradi večje kemične stabilnosti, kapacitete raztapljanja ter sposobnosti samo-(mikro)emulgiranja, se sdv-TG-ji uporabljajo pogosteje. Če želimo doseči večjo absorpcijo ZU skozi limfni sistem, pa so primernejši dv-TG-ji (5,10,12). Pogosto uporabljena olja v lipidnih dostavnih sistemih so: ricinovo olje, kokosovo olje, olivno olje, sezamovo olje, olje iz palmovih jeder, olje iz bombaževih semen (17).

Slabost rastlinskih olj je majhna kapaciteta raztapljanja za hidrofobne ZU, ki niso močno lipofilne. Izkazujejo tudi relativno slabo sposobnost samo-mikroemulgiranja. Kljub naravnemu izvoru olj in njihovi varnosti, sta omenjena razloga dovolj velika, da je njihova uporaba omejena (2,6).

3.3.2 MEŠANI GLICERIDI

Za pridobivanje mešanih gliceridov se uporablja delna hidroliza TG-jev, pri kateri nastanejo zmesi z različno vsebnostjo monogliceridov, digliceridov in trigliceridov. Kemijska sestava mešanih gliceridov je odvisna od vira TG-jev in od stopnje njihove hidrolize. Končni produkti hidrolize TG-jev so podobni tistim, ki nastanejo pri presnovi TG-jev v prebavnem traktu. Pridobivamo jih lahko tudi z direktno zaestritvijo glicerola z izbranimi MK (2,6,12,17).

Mešani dv- in sdv-gliceridi v kombinaciji z neionskimi emulgatorji, primernimi za peroralno uporabo, tvorijo dobre emulzijske sisteme. Prednost mešanih dv-gliceridov pred nehidroliziranimi dv-TG-ji je v večji kapaciteti raztapljanja hidrofobnih ZU. Zaradi amfifilnih lastnosti pospešujejo tudi emulgiranje sistemov in medsebojno mešanje lipofilnih in hidrofilnih komponent sistema. Zaradi tega so pogosto uporabljene pomožne snovi pri pripravi samo-emulgirajočih (razred II in IIIA) in samo-mikroemulgirajočih (razred IIIB) sistemov. Mešani sdv-gliceridi se še pogosteje uporabljajo kot pomožne spojine. Imajo večjo kapaciteto raztapljanja in večjo sposobnost pospeševanja emulgiranja kot mešani dv-gliceridi. Poleg tega so zaradi odsotnosti nenasičenih vezi manj dovzetni za oksidacije (2,6,12,17).

Mešani gliceridi, ki se pogosteje uporabljajo, so: glicerilmonokaprilokaprat (Capmul MCM), glicerilmonostearat (Geleol, Imwitor 191, Cutina GMS ali Tegin), glicerildistearat (Precirol ATO 5), glicerilmonostearat (Peceol), glicerilmonolinoleat (Maisine 35-1), glicerildibehenat (Compritol 888 ATO) (17).

3.3.3 POLARNA OLJA

Med polarna olja spadajo številni polysintezni derivati rastlinskih olj. Glede na fizikalne lastnosti so lahko tekoči ali poltrdni. Iz rastlinskih olj pridobivajo srednje dolgo-verižne MK in gliceride. Nanje se s kemijsko reakcijo pripne eno ali več hidrofilnih kemijskih entitet. Tako pridobljeni derivati imajo amfifilne lastnosti. Uporabljajo se lahko za povečanje raztapljanja ZU, kot emulgatorji in koemulgatorji v SES-ih in SMES-ih.

Med polarnimi olji največkrat zasledimo estre propilenglikola in estre MK z maščobnimi alkoholi. Med polarna olja lahko uvrstimo tudi nekatere hidrofobne emulgatorje. Ena izmed teh pomožnih snovi so estri sorbitana z MK (Spani), npr.: sorbitan monooleat (Span 80) in sorbitan trioleat (Span 85). V skupino polarnih olj uvrščamo tudi proste MK, predvsem zaradi omogočanja medsebojnega mešanja komponent. Primer je oleinska kislina, ki omogoča večjo topnost šibkih baz. Pogosto uporabljeni so tudi estri MK, kot je izopropilmiristat (2,10,11,12).

3.3.4 LIPOFILNI EMULGATORJI

Med lipofilne emulgatorje uvrščamo neionske emulgatorje s srednjo HLB vrednostjo (8–12). V vodi se zaradi nezadostne hidrofilnosti ne raztapljajo, ampak tvorijo micide. Kljub temu je njihova hidrofilnost dovolj velika, da lahko omogočajo samo-emulgiranje. Ta skupina emulgatorjev se pogosto uporablja za izdelavo SES-ov (razred II in IIIA) (12).

Med lipofilne emulgatorje uvrščamo estre sorbitana (Spani). Pridobivamo jih z zaestritvijo ene ali več hidroksilnih skupin sorbitana z lavrinsko, oleinsko, palmitinsko ali stearinsko kislino. V to skupino uvrščamo tudi polioksietilen (20) sorbitan trioleat (polisorbat 85 – Tween 85) in polioksietilen (25) gliceriltrioleat (Tagat TO) (12,18).

3.3.5 HIDROFILNI EMULGATORJI

Hidrofilni emulgatorji so najpogosteje uporabljeni emulgatorji pri izdelavi SES-ov in SMES-ov. Po klasifikacijskem sistemu na lipidih osnovanih sistemov se uporabljajo za izdelavo sistemov, uvrščenih v razred III in IV. V vodi se raztopijo in tvorijo micide pri koncentracijah, ki so višje od kritične micelne koncentracije. Njihova HLB vrednost je višja od 12 (12).

Pomembna skupina hidrofilnih emulgatorjev so etoksilirani lipidi, kot so derivati ricinovega olja. Slednji vsebuje veliko ricinolenske kisline, ki ima na dvanajstem C-atomu hidroksilno skupino. Z etoksilacijo te hidroksilne skupine povečamo hidrofilnost ricinovega olja. Cremophor RH40 in Cremophor RH60 sta imeni za etoksilirano ricinovo olje, ki ima nasičene alkilne verige MK. Cremophor EL je ime za etoksilirano ricinovo

olja, ki ima nenasičene alkilne verige in manjšo stopnjo etoksilacije kot prej omenjena emulgatorja. Cremophorji delujejo kot zaviralci sekretornega prenašalca P-glikoproteina, ki že absorbirane ZU izloča iz enterocitov nazaj v lumen prebavnega trakta. Posledica inhibicije P-glikoproteina je višja biološka uporabnost ZU, ki so substrati za omenjeni prenašalec. Mehanizem inhibicije še ni poznan. Predvidevajo, da je inhibitorno delovanje posledica nespecifične konformacijske spremembe P-glikoproteina zaradi prehajanja emulgatorja v celično membrano. Druga razlaga je adsorpcija emulgatorja na zunanjo površino proteina (12,17).

Polioksigliceridi (v Evropski Farmakopeji so poimenovani kot makrogolgliceridi) se uporabljajo za povečevanje topnosti in biološke uporabnosti učinkovine. Nastanejo pri reakciji hidroliziranih rastlinskih olj s polietilenglikoli. Molekulska masa slednjih se giblje med 200 in 2000 g/mol. Polioksigliceridi so sestavljeni iz določene mešanice mono-, di-, in trigliceridov ter mono- in diestrov polietilenglikolov. Odvisno od sestave, se pri sobni temperaturi lahko nahajajo v tekočem ali trdnem stanju. Polioksigliceridi z nenasičenimi dolgo-verižnimi MK so na tržišču prisotni pod komercialnimi imeni Labrafil M1944CS in Labrafil M2125CS. Nasičene srednje dolgo-verižne MK vsebujejo polioksigliceridi z imeni Labrasol in Gelucire 44/14. Gelucire 50/13 je ime za polioksiglikozide z nasičenimi dolgo-verižnimi MK (17).

Pri reakciji estrov sorbitana z etilenoksidom nastanejo polisorbati (Tweeni). Njihova amfifilnost je odvisna od zaestrene MK. Med presnovo v prebavnem traktu so podvrženi hidrolizi, zato izgubijo lastnosti površinsko aktivnih spojin. Različni tipi MK in različno število oksietilenskih skupin (20, 5 ali 4) v polietilenglikolni verigi nam daje več možnih polisorbatov, ki se med seboj razlikujejo po topnosti v vodi in olju. Večkrat uporabljena predstavnika te skupine sta polioksietilen 20 sorbitan monooleat (polisorbat 80 – Tween 80) in polioksietilen 20 sorbitan monolavrat (polisorbat 20 – Tween 20) (12,18).

3.3.6 SOTOPILA

V SMES-e lahko poleg lipidov in emulgatorjev vključimo tudi hidrofilna sotpila. V zgodnjih raziskavah s ciklosporinom so uporabljali etanol za izboljšanje raztapljanja učinkovine. Sotopila se uporabljajo v številnih formulacijah, ker povečajo njihovo kapaciteto raztapljanja. Poleg tega pomagajo pri dispergiranju sistemov, ki vsebujejo

visoke koncentracije viskoznih hidrofilnih emulgatorjev. Sotopila pri razredčitvi z vodo hitro izgubijo svojo kapaciteto raztapljanja, zato lahko pride do obarjanja ZU iz sistema. Kot sotopila se najpogosteje uporabljajo polietilenglikoli, propilenglikol, etanol in glicerol (12).

Za alkohol in druga hlapna sotopila je znano, da prehajajo v steno mehkih in trdnih želatinastih kapsul. Posledica tega je obarjanje hidrofobne ZU. Na osnovi tega poteka intenziven razvoj v smeri formulacij, ki ne vsebujejo alkohola ali drugih hlapnih topil (6).

3.3.7 OSTALE SESTAVINE

Antioksidanti se v SMES-e vključujejo zaradi zaščite nenasičenih MK in ZU pred oksidacijo. Njihova učinkovitost je odvisna od več faktorjev. Pomembna je njihova združljivost z ostalimi komponentami sistema, njihov porazdelitveni koeficient ($\log P$) med oljem in vodo ter zmožnosti raztapljanja znotraj micelov. Mnogokrat se antioksidanti adsorbirajo na ovojnino, kar zmanjša njihovo koncentracijo in učinkovitost. Najpogosteje uporabljeni antioksidanti so α -tokoferol, β -karoten, butilhidroksitoluen (BHT), butilhidroksianizol (BHA) in propil galat (12,18).

3.3.8 ZDRAVILNA UČIKOVINA

Spojine, ki imajo zadovoljivo permeabilnost skozi biološke membrane a slabo vodotopnost oz. hitrost raztapljanja, spadajo po biofarmaceutskem klasifikacijskem sistemu v razred II. Pogosto je vodotopnost teh spojin nižja od 1 $\mu\text{g/ml}$, kar je razlog za nezadostno biološko uporabnost. Raztapljanje teh ZU lahko izboljšamo na več načinov. Največkrat poskušamo izboljšati hitrost raztapljanja. Lahko pa ZU v prebavni trakt vnesemo že raztopljeni in jo v takšnem stanju vzdržujemo tekom njenega zadrževanja v prebavilih (3,4).

Kadar ZU iz II. skupine topnosti ne moremo izboljšati s tvorbo soli, zmanjševanjem velikosti delcev, s tvorbo trdnih disperzij ali dodatkom PAS, se odločimo za na lipidih osnovane sisteme. Z njimi lahko izboljšamo hitrost in obseg absorpcije (10,19).

Po literaturnih podatkih je uspešnost vgradnje ZU v sistem specifična za vsak primer posebej. Odvisna je od fizikalno-kemične kompatibilnosti učinkovine s sistemom.

Običajno vgrajena učinkovina v določeni meri vpliva na proces samo-(mikro)emulgiranja, kar je po nekaterih predvidevanjih posledica spremembe optimalnega razmerja med oljno fazo in emulgatorjem. ZU lahko tvori komplekse z nekaterimi komponentami sistema ali prehaja v monosloj PAS na medfazi.

V literaturi zasledimo več različnih podatkov o vplivu vgrajene učinkovine na lastnosti S(M)ES-ov. Vpliv vgradnje so proučevali zlasti na sistemih, ki tvorijo grobe emulzije z velikostjo kapljic do nekaj mikrometrov. Kompleksnejše formulacije z manjšimi velikostmi oljnih kapljic pa naj bi bile glede na rezultate še bolj dovzetne za spremembe zaradi dodatka učinkovine. Ugotovili so, da vgradnja učinkovine lahko zmanjša oz. poveča sposobnost samo-(mikro)emulgiranja ali pa na slednjo nima vpliva. (2,5).

3.4 FORMULIRANJE SMES-ov

Pri načrtovanju na lipidih osnovanih sistemov moramo upoštevati topnost ZU v različnih oljih, emulgatorjih in sotopilih. Izbrana formulacija mora zadržati učinkovino v raztopljenem stanju ves čas njenega zadrževanja v prebavnem traktu. Od koncentracije uporabljenih pomožnih snovi sta odvisna tudi proces samo-(mikro)emulgiranja in velikost kapljic nastale (mikro)emulzije. Pri izdelavi SMES-ov ne smemo pozabiti na vpliv pomožnih snovi na različne fiziološke procese: upočasnitev praznjenja želodca, stimuliranje izločanja žolča, soka trebušne slinavke, povečanje fluidnosti celičnih membran, odpiranje tesnih stikov med celicami, inhibicijo P-glikoproteina in presistemskega metabolizma ali pa pospešitev absorpcije skozi limfni sistem (10,17,19).

Pri izbiri pomožne snovi imajo velik vpliv tudi draženje, toksičnost, kapaciteta raztapljanja, mešanje z ostalimi komponentami, samo-dispergiranje in pospeševanje le-tega, prebava, kompatibilnost, čistota, kemična stabilnost ter cena posameznih komponent (12).

3.4.1 MEDSEBOJNO MEŠANJE POMOŽNIH SNOVI

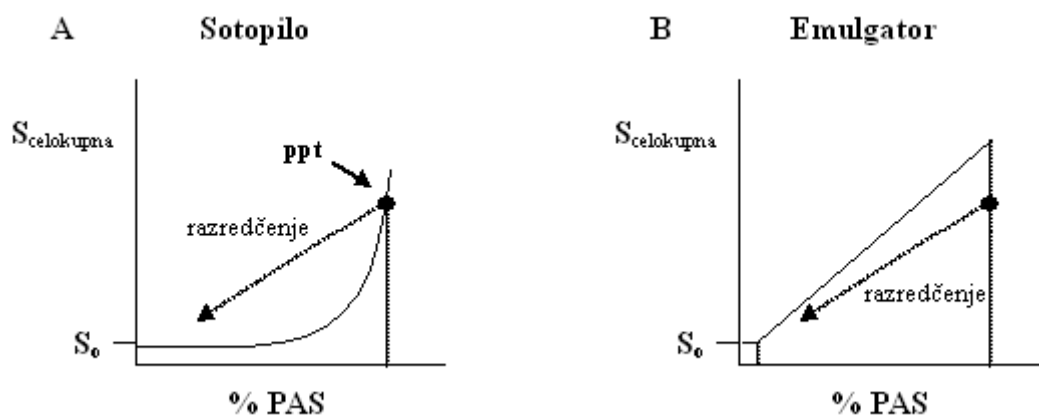
Medsebojno mešanje pomožnih snovi je potrebno za nastanek bistrih, stabilnih in tekočih formulacij. Olja, ki vsebujejo dv-TG-je, se običajno ne mešajo s hidrofilnimi emulgatorji

in sotopili. Pri načrtovanju sistemov razreda III s temi olji je potrebno vključiti še polarna olja oz. PAS, ki izboljšajo medsebojno mešanje komponent ter pospešijo dispergiranje formulacije.

Zaradi velike kemične raznolikosti lipidnih pomožnih snovi lahko med daljšim shranjevanjem pride do zmanjšanja sposobnosti medsebojnega mešanja. Med razvojem zdravila se morajo zato izvajati dolgoročni testi fizikalne stabilnosti. Segrevanje pomožnih snovi pred ali med združevanjem komponent lahko prav tako vpliva na sposobnost medsebojnega mešanja. To je zlasti pomembno v primeru uporabe voskastih komponent (12).

3.4.2 KAPACITETA RAZTAPLJANJA

TG-ji so slaba topila za vse komponente, razen zelo lipofilnih. Večina na lipidih osnovanih sistemov za izboljšanje kapacitete raztapljanja izbranih ZU poleg TG-jev vsebuje še polarna olja, emulgatorje in/ali sotopila. Večina ZU je bolj topnih v sotopilih kot v oljih. To je razlog, da gre razvoj na lipidih osnovanih sistemov v smer bolj hidrofilnih formulacij, kot so sistemi razreda IV. Slednji vsebujejo le površinsko aktivne snovi in sotopila, lipidi pa so odsotni. Z višanjem deleža sotopil se povečuje tudi tveganje za obarjanje ZU med dispergiranjem in prebavo formulacije. Raziskave so pokazale, da uporaba sotopil ali emulgatorjev različno vpliva na zmanjšanje kapacitete raztapljanja pri redčenju sistemov. Formulacijam, ki vsebujejo sotopila, se kapaciteta raztapljanja pri redčenju močno zmanjša. Pri uporabi emulgatorja pa je sprememba kapacitete raztapljanja zanemarljiva. To je posledica dejstva, da je topnost ZU v sistemu z emulgatorji linearno odvisna od števila prisotnih micelov oz. od koncentracije emulgatorja, medtem ko v sistemu s sotopili eksponentno pada z večjim redčenjem. Za izboljšanje topnosti ZU je torej primernejša uporaba hidrofilnih neionskih emulgatorjev kot sotopil (12).



Slika 3: Shematski prikaz odvisnosti celokupne topnosti ZU od koncentracije A) sotpila in B) emulgatorja. S_o je intrinzična topnost ZU v vodi. Pikčasta črta ponazarja spreminjanje koncentracije učinkovine v sistemu, ko razredčimo 80 % nasičeno raztopino z vodo. ZU bo po redčenju sistema A izpadla iz raztopine v obliki oborine, v primeru sistema B pa bo ostala raztopljena.

Po literaturnih podatkih lahko na kapaciteto raztapljanja negativno vpliva tudi prebava emulgatorjev. Formulacije, ki vsebujejo nizke deleže olj in visoke deleže emulgatorjev, najslabše vzdržujejo kapaciteto raztapljanja med dispergiranjem in prebavo v prebavnem traktu. Emulgatorji, ki so po kemizmu estri MK, so v manjši ali večji meri razgradljivi. Pri emulgatorjih, manj dovzetnih za prebavo (Cremophor RH 40), pa je opazna nižja stopnja obarjanja ZU (9).

3.4.3 DOLŽINA VERIGE TRIGLICERIDOV

Lipidi imajo pomemben vpliv na biološko uporabnost peroralno zaužite ZU. Delujejo preko različnih mehanizmov: povečujejo topnost učinkovine v prebavnih sokovih, varujejo učinkovino pred kemično in encimsko razgradnjo in preko tvorbe lipoproteinov pospešujejo limfatični prenos. Pot absorpcije (v krvni ali limfni obtok) iz prebavnega trakta je odvisna od dolžine verig MK v gliceridih. Na biološko uporabnost poleg tega vplivata še stopnja nasičenosti verig MK in kemizem lipida (MK, mono-, di- ali trigliceridi) (6,9).

Kratke in srednje dolge MK (manj kot 12 C atomov) se absorbirajo v sistemski krvni obrok skozi portalni obtok. Pri tem se ne vgradijo v hilomikrone. Dolgo-verižne MK in monogliceride encimi znotraj intestinalnih celic ponovno zaestrijo v TG-je, ki nato vgrajeni v hilomikrone vstopajo v limfni obtok in nato preko prsne mezgovine v sistemski krvni obtok (mimo jeter) (6).

Bolj lipofilne učinkovine imajo večjo topnost in biološko uporabnost v micelih, ki vsebujejo dolgo-verižne lipide. Manj lipofilne učinkovine pa imajo večjo topnost in biološko uporabnost v micelih z manj lipofilnimi presnovnimi produkti sdv-TG-jev. Pri nekaterih ZU njihova biološka uporabnost ni odvisna od dolžine verig (9).

3.4.4 EMULGATORJI

Na izbiro emulgatorjev ima velik vpliv njihova toksičnost. V splošnem velja, da so kationski emulgatorji bolj toksični kot anionski. Slednji pa so bolj toksični kot neionski emulgatorji, ki so največkrat uporabljeni in so sprejemljivi za peroralno aplikacijo. Emulgatorji naravnega izvora imajo prednost pred sintezniimi, ker so varnejši (6). Peroralne in intravenske vrednosti LD_{50}^{\dagger} za neionske emulgatorje so 50 g/kg oz. 5 g/kg. Večina emulgatorjev z vidika draženja pri kratkotrajnih terapijah ni problematična. Večja previdnost je potrebna pri kroničnem jemanju zdravil. Pri izbiri ustreznega emulgatorja je tehnologom v veliko pomoč tudi baza podatkov o neaktivnih spojinah (Inactive Ingredients Database), ki jo vodi FDA (Food and Drug Administration – Ameriška agencija za hrano in zdravila) (6,12,18).

Emulgatorji se uporabljajo tudi zato, ker na različne načine povečajo permeabilnost ZU. Največkrat jo povečajo preko odprtja testnih stikov med celicami (Labrasol), povečanja fluidnosti celične membrane (Labrasol, Cremophor EL, Tween 80) in zaviranja delovanja P-glikoproteina (vitamin E TPGS, Cremophor EL in RH40, Labrasol, Gelucire 44/14, Mirj 52, Solutol HS15, estri sorbitana in nekateri mešani gliceridi) (17).

3.4.5 ZDRAVILNA UČINKOVINA

Med seboj se ZU zelo razlikujejo po svojih fizikalno-kemičnih lastnostih. Pri izbiri optimalnega sistema, osnovanega na lipidih, za specifično učinkovino se lahko opremo le na lastne izkušnje ali izkušnje drugih raziskovalcev. V splošnem velja, da so za vgradnjo v na lipidih osnovane sisteme primerne učinkovine, ki jih uvrščamo v II. in IV. razred glede na biofarmaceutski klasifikacijski sistem. Veliko slabo vodotopnih učinkovin je slabo

[†] Lethal Dose, 50 % - smrtni odmerek, 50 %: odmerek nevarne snovi, ki ubije polovico (50 %) testiranih oseb (20).

topnih tako v gliceridih, kot tudi v mešanih micelih z žolčnimi kislinami. Take učinkovine niso primerne za vgradnjo v sisteme razreda I, II in III (12).

Veliko ZU ima površinsko aktivne lastnosti in delujejo kot neke vrste koemulgatorji, ki se lahko vgradijo v sloj emulgatorja na medfazi. Na ta način se vgradi več učinkovine v sistem (11,15).

Glede na log P ZU ločimo dve skrajnosti. Prvo skrajnost predstavljajo ZU z log P vrednostjo okoli 2. Te težko vgradimo v na lipidih osnovane sisteme, še najuspešnejše so formulacije razreda IIIB in IV. Drugo skrajnost predstavljajo lipofilne ZU, ki imajo log P večji od 5 in jih lažje vgradimo v na lipidih osnovane sisteme. Dobro so topne v mešanih micelih in se zadovoljivo absorbirajo iz prebavnega trakta. Največjo težavo pri formulaciji pa predstavlja skupina učinkovin med obema skrajnostma ($2 < \log P < 5$). Za povečanje njihove topnosti se uporabljajo različni emulgatorji in sotopila (7,12).

ZU je lahko zadovoljivo topna v več razredih: I, II in III. Za učinkovine z ozkim terapevtskim oknom so primernejše formulacije razreda I. V primerjavi s formulacijami razreda II in III imajo v tem primeru ZU počasnejšo absorpcijo in dosegajo nižje plazemske koncentracije. V primerih, kjer prihaja do obarjanja ZU pri dispergiranju v prebavnem traktu, so ustreznejši sistemi razreda I in II (7,15).

4 NAMEN DELA

Modelna učinkovina NDS 9 spada med v vodi slabo topne spojine. Znana fizikalno-kemijska lastnost učinkovine je njena temperatura tališča, ki je približno 83 °C. Vnos te učinkovine v obliki tradicionalnih farmacevtskih oblik (tablete, kapsule) ne zagotavlja ustrezne biološke uporabnosti. Namen diplomskega dela je zato izdelati samo-mikroemulgirajoče sisteme, s katerimi bi izboljšali biološko uporabnost izbrane modelne učinkovine. SMES-i so definirani kot izotropne zmesi lipidov, emulgatorjev, koemulgatorjev ter sotpil, ki v stiku z vodnim medijem že ob rahlem mešanju hitro tvorijo mikroemulzije tipa O/V. Proces spontanega nastanka ME je odvisen od izbire točno določene kombinacije posameznih komponent in razmerja med njimi.

Pripravili bomo več različnih SMES-ov, ki jih bomo postopoma titrirali z vodno fazo. Ker želimo razviti SMES s čim višjo vsebnostjo učinkovine, bomo kot oljno fazo uporabili talino modelne učinkovine NDS 9 in njene zmesi z različnimi lipidi (Miglyol 812 in izopropilmiristat), kot površinsko aktivne snovi pa Tween 20, Capmul PG-8 in lecitin. Najustreznejšo kombinacijo komponent in optimalno razmerje med njimi bomo določili s pomočjo izdelave psevdo-trikomponentnih faznih diagramov. Slednje bomo oblikovali s titracijsko metodo pri povišani temperaturi (82–86 °C). SMES-e bomo segrevali na vodni kopeli ter jim postopoma dodajali na enako temperaturo segreto vodo. Izbrane sisteme bomo tako ovrednotili glede na področje nastanka ME pri povišani temperaturi. Izbrane SMES-e bomo ovrednotili tudi z vidika časa, ki je potreben za rekristalizacijo modelne učinkovine iz sistema pri sobni temperaturi. Ovrednotili bomo tudi ME, ki nastanejo s postopnim redčenjem SMES-ov, in sicer bomo spremljali čas, ki je potreben za oboritev NDS 9 iz le-teh pri sobni temperaturi. Pri tem si bomo pomagali z vizualno določitvijo pojava kristalov oz. oborine v zmesih. Cilj diplomske naloge je tako izdelati optimalen SMES z visoko vsebnostjo modelne učinkovine, ki po redčenju z vodno fazo tvori ME v najširšem področju PTFD-ja in najdalj zadrži modelno učinkovino v raztopljenem stanju.

5 MATERIALI IN METODE

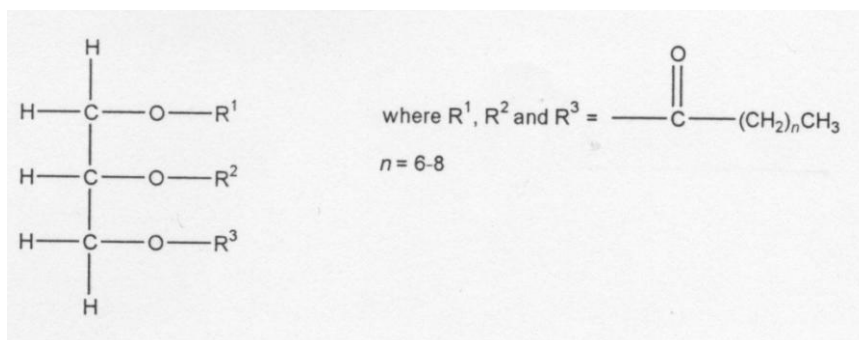
5.1 MATERIALI

MODELNA UČINKOVINA NDS 9, Lek, Slovenija

Bel prah, masten na otip. Modelna učinkovina je lipofilna in slabo topna v vodi. Njena temperatura tališča je približno 83 °C.

MIGLYOL 812, Condea Chemie GmbH, Nemčija

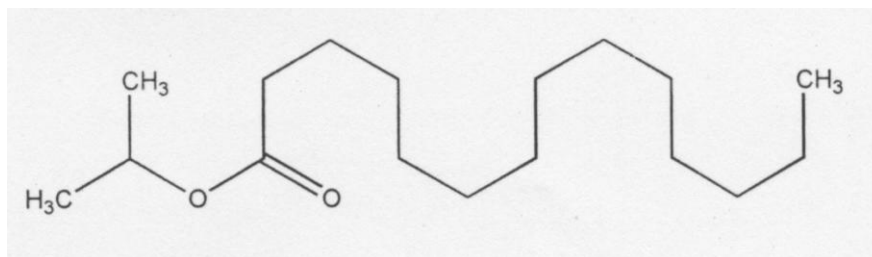
Miglyol 812 je zmes sdv-TG-jev, ki vsebujejo več kot 95 % nasičenih MK (predvsem kaprilno in kaprinsko kislino). Pridobivajo jih z ekstrakcijo iz endosperma *Cocos nucifera* L. ali *Elaeis guineensis* Jacq.. Je brezbarvna ali rahlo rumenkasta oljna tekočina, brez vonja in okusa. Pogosto se uporablja kot topilo, sredstvo za dispergiranje in v terapevtske namene (21).



Shema srednje dolgo-verižnega triglicerida

IZOPROPILMIRISTAT, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Nemčija

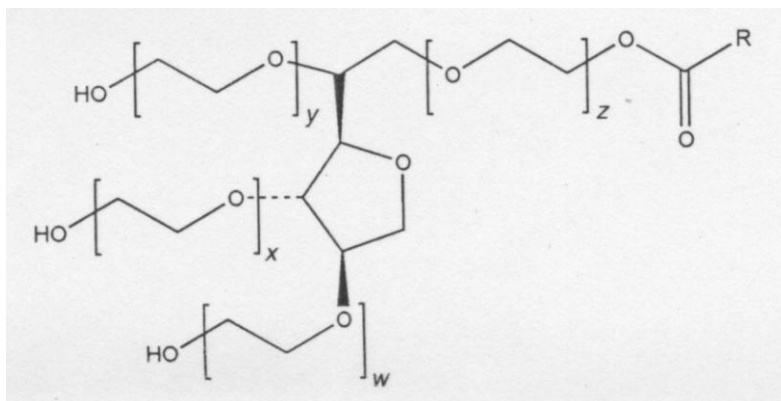
Izopropilmiristat (IPM) je ester propan-2-ola z nasičenimi višjimi MK, predvsem z miristinsko kislino. Je bistra tekočina brez barve in vonja, ki je nizko viskozna in se strdi pri 5 °C. Uporablja se kot sestavina poltrdnih formulacij in kot topilo za številne snovi, ki se nanašajo dermalno (21).



Strukturna formula izopropil miristata

POLIOKSJETILEN 20 SORBITAN MONOLAVRAT ali POLISORBAT 20
(Tween 20), Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Nemčija

Polisorbati so etoksilirani etri, pridobljeni z reakcijo med estri sorbitana in etilenoksidi. Molekula polisorbata vsebuje 20, 5 ali 4 enote etilenoksida. Polisorbat 20 je oljnata tekočina, ki ima značilen vonj in nekoliko grenak okus. Pri 25 °C je rumene barve. V splošnem se uporabljajo kot emulgatorji tipa O/V, neionske površinsko aktivne snovi in kot snovi za izboljšanje topnosti. Polisorbati, ki vsebujejo 20 enot etilenoksida, kot je polisorbat 20, so hidrofilne neionske pomožne snovi. Uporabljajo se lahko sami ali v kombinaciji z drugimi hidrofilnimi emulgatorji. WHO (World Health Organisation) je določila najvišji dnevni odmerek polisorbata 20, ki znaša 25 mg/kg telesne teže (21,22).

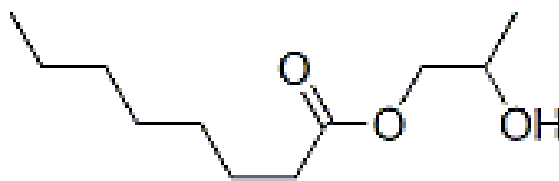


Splošna strukturna formula polioksietilen sorbitan monoestra. Za polisorbat 20 velja $w+x+y+z=20$ in R =laurinska kislina

PROPILENGLIKOL KAPRILAT (Capmul PG-8), Abitec Corporation, ZDA

Capmul PG-8 je monoester propilenglikola s srednje dolgo-verižnimi MK, predvsem s kaprilno kislino. Gre za bistro tekočino brez barve in z značilnim vonjem. Je dobro topilo

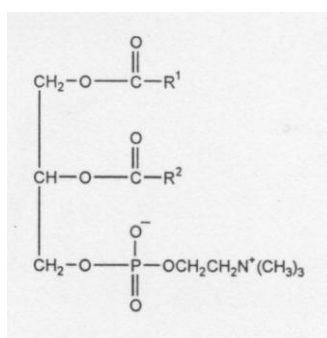
za številne ZU, ki so slabo topne v vodi. Prav tako izboljša njihovo biološko uporabnost (23,24).



Strukturna formula prikazuje propilenglikol kaprilat

LECITIN (LIPOID S 100), Lipoid GmbH, Nemčija

Ameriška farmakopeja (USPNF 23) opisuje lecitin kot kompleksno mešanico v acetonu netopnih fosfolipidov. Lecitin je v večini sestavljen iz fosfatidilholina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina in fosfatidilinozitola. Poleg njih zasledimo še TG-je, MK in ogljikove hidrate. Sestava lecitina je odvisna od njegovega vira in stopnje čistote. Jajčni lecitin vsebuje 69 % fosfatidilholina in 24 % fosfatidiletanolamina. Sojin lecitin vsebuje 21 % fosfatidilholina, 22 % fosfatidiletanolamina in 19 % fosfatidilinozitola. Lecitin se v svojih fizikalnih lastnostih zelo razlikuje. Nahaja se lahko v viskozni poltekoči obliki ali v obliki prahu, odvisno od vsebnosti prostih MK. Njegova barva je v razponu od rjave do svetlo rumene. Nima vonja. Lecitin, pridobljen iz rastlinskega vira, ima okus podoben sojinemu olju (okus po oreških). V farmacevtskih formulacijah se uporablja kot emulgator, stabilizator in za izboljševanje topnosti (21).



Strukturna formula prikazuje α -fosfatidilholin, ki je glavna sestavina jajčnega lecitina. R^1 in R^2 predstavljata maščobni kislini, ki sta lahko različni ali enaki.

PREČIŠČENA VODA

Na Fakulteti za farmacijo prečiščeno vodo pridobivamo s postopkom reverzne osmoze (RO). Na fakulteti delujeta dva RO sistema. Za stari del zgradbe uporabljamo sistem Werner RO 20, za novi del pa CmC MAK d.o.o. Ljubljana (25).

5.2 METODE

5.2.1 IZDELAVA PSEVDO-TRIKOMPONENTNEGA FAZNEGA DIAGRAMA

Priprava oljne faze

Za izdelavo SMES-ov smo izbrali več različnih komponent. Kot oljno fazo smo preizkusili talino modelne učinkovine NDS 9, njeno zmes z Miglyolom 812 v razmerju 1 : 1 in zmes taline modelne učinkovine z IPM-jem v razmerjih 1 : 1, 2 : 1 ter 4 : 1.

V erlenmajerico z obrušom smo na analitski tehtnici (Exacta 2200EB, Tehtnica Slovenija) natehtali modelno učinkovino NDS 9 in Miglyol 812 ali IPM v omenjenih razmerjih. S pomočjo magnetnega mešala smo v vodni kopeli pri temperaturi med 82 in 86 °C zmes raztalili in homogeno mešali vsaj 5 minut. Za mešanje in segrevanje smo uporabili Rotamix 550 MMH ali Rotamix 560 MMH (Tehtnica Slovenija). Po segrevanju smo homogeno zmes ohladili na sobni temperaturi. Ohlajena zmes je bila v trdnem agregatnem stanju.

Priprava brezvodnih SMES-ov

Kot emulgatorje smo izbrali Tween 20, zmes Tweena 20 s Capmulom PG-8 v razmerju 1 : 1 in zmesi Tweena 20 z lecitinom v razmerjih 1 : 1 in 4 : 1. Dodali smo jih predhodno pripravljenim oljnim fazam. Skupno smo izdelali 8 izhodnih SMES-ov. Različne kombinacije oljne faze in emulgatorjev so predstavljene v preglednici II.

Preglednica II: Sestava oljne faze in emulgatorja posameznih sistemov, za katere smo izdelali (P)TFD-je

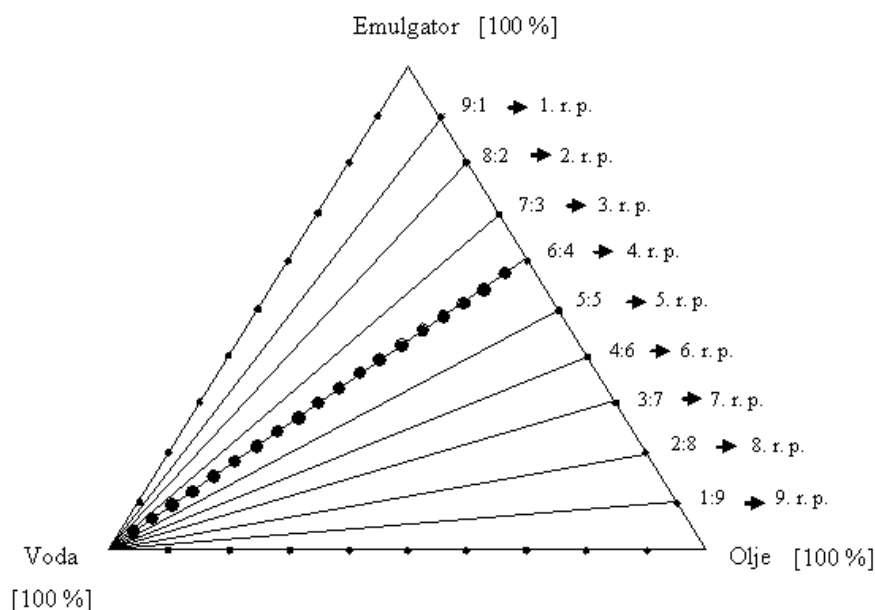
Sistem	Oljna faza	Emulgator(ji)
1	NDS 9 : Miglyol 812 = 1 : 1	Tween 20
2	NDS 9 : IPM = 1 : 1	Tween 20
3	NDS 9 : IPM = 1 : 1	Tween 20 : Capmul PG-8 = 1 : 1
4	NDS 9 : IPM = 2 : 1	Tween 20
5	NDS 9 : IPM = 4 : 1	Tween 20
6	NDS 9	Tween 20
7	NDS 9	Tween 20 : lecitin = 4 : 1
8	NDS 9	Tween 20 : lecitin = 1 : 1

Vzorci (SMES-e) za izdelavo PTFD-jev za sisteme 1–7 (preglednica II) smo pripravili tako, da smo na analitski tehtnici v erlenmajerice z obrusom natehtali emulgator in oljno fazo v razmerjih 9 : 1, 8 : 2, 7 : 3, 6 : 4, 5 : 5, 4 : 6, 3 : 7, 2 : 8 in 1 : 9. Sistem 8 smo pripravili samo v razmerjih 8 : 2 in 5 : 5. Vsak posamezni SMES smo raztalili na vodni kopeli pri temperaturi med 82 in 86 °C. Talino smo z magnetnim mešalom mešali približno 5 minut. V kolikor je SMES vseboval lecitin, smo zmes mešali toliko časa, da se je lecitin povsem raztalil.

Izdelava PTFD-jev

Področje nastanka ME iz izbranih SMES-ov smo določili s pomočjo PTFD-jev, ki smo jih izdelali s titracijsko metodo pri povišani temperaturi (82–86 °C). Premico, ki povezuje oglišče s 100 % vode z nasprotno stranico trikotnika, imenujemo razredčitvena premica. Prikazana je na sliki 4. Točke, ki se nahajajo na tej premici, predstavljajo sisteme z enakim razmerjem emulgatorja in oljne faze. Začetni brezvodni zmesi dveh oz. treh komponent (SMES-u) lahko postopoma dodajamo tretjo oz. četrto komponento, tj. vodo. Pri tem razmerje med začetnimi komponentami ostaja ves čas enako (14).

Za pregled celotnega področja PTFD-ja smo pripravili 9 razredčitvenih premic. Vsaka izmed 9 premic predstavlja določeno razmerje med emulgatorjem in oljno fazo. Tako 1. razredčitvena premica predstavlja razmerje 9 : 1 oz. sistem, ki vsebuje 90 % emulgatorja in 10 % oljne faze. Princip poimenovanja je shematsko prikazan na sliki 4.



Slika 4: Shema izdelave PTFD-ja – prikazanih je 9 razredčitvenih premic. Točke na premici predstavljajo 19 sistemov, ki jih dobimo pri dodatkih prečiščene vode. r. p. je okrajšava za razredčitvena premica.

Talino začetnega brezvodnega SMES-a smo titrirali z na enako temperaturo segreto prečiščeno vodo, tako da je delež dodane vode postopoma naraščal po 5 % (od začetnih 5 do končnih 95 %). Vodo smo dodajali z mikropipeto. Na vsaki razredčitveni premici smo tako dobili 19 sistemov (prikazuje jih slika 4). Po vsakem dodatku prečiščene vode smo sistem nekaj minut mešali, da se je homogeniziral. Nato smo vsak sistem vizualno pregledali in ovrednotili njegovo bistrost, transparentnost, homogenost, prisotnost oborine, ločevanje faz, ... Na osnovi organoleptičnega pregleda vzorca smo nato določili ali je nastali sistem ME ali ne. Med titriranjem smo vzorce prvotno termostatirali na vodni kopeli s temperaturo med 70 in 78 °C (grelec Julabo). Kasneje pa smo vzorce termostatirali s pomočjo grelnika Rotamix 550 MMH ali 560 MMH na temperaturo ~83 °C. Za mešanje vzorca smo uporabili magnetna mešala.

5.2.2 SPREMLJANJE ČASOVNEGA POTEKA OBARJANJA MODELNE UČINKOVINE IZ SISTEMOV

Pripravljene SMES-e, ki so v oljni fazi vsebovali modelno učinkovino, smo ovrednotili tudi z vidika njihove stabilnosti. SMES-i so stabilni dokler zadržujejo modelno učinkovino v raztopljenem stanju oz. do pojava kristalov ali oborine le-te.

Stabilnost brezvodnih SMES-ov

V čaše ali v erlenmajerice z obrusom smo na analitski tehtnici natehtali emulgator in oljno fazo v razmerjih 9 : 1, 8 : 2, 7 : 3, 6 : 4, 5 : 5, 4 : 6, 3 : 7, 2 : 8 in 1 : 9. Vsak posamezni SMES smo raztalili na vodni kopeli s temperaturo med 82 in 86 °C. Talino smo z magnetnim mešalom mešali približno 5 minut. Za mešanje in segrevanje smo uporabili Rotamix 550 MMH ali Rotamix 560 MMH. Nato smo zmes odstranili z vodne kopeli ter si zabeležili čas odvzema ($t_{\text{odstranitev}}$). Tako pripravljene vzorce smo shranili na sobni temperaturi. Z vizualnim pregledom pred temno podlago smo nato spremljali pojav izpada kristalov modelne učinkovine. Ob pojavu prvih kristalov smo zabeležili čas ($t_{\text{pojav kristalov}}$). Razlika dobljenih časov ($t_{\text{pojav kristalov}} - t_{\text{odstranitev}}$) je ponazarjala čas stabilnosti SMES-ov.

Stabilnost iz SMES-ov nastalih ME

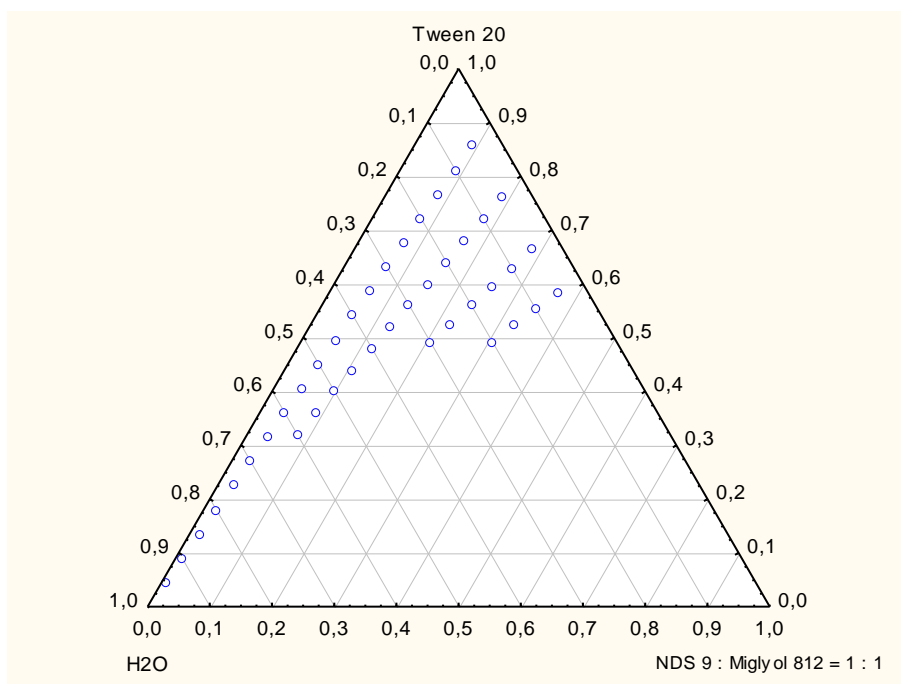
Spremljali smo tudi čas, potreben za oboritev modelne učinkovine iz nastalih ME. Vzorce, ki smo jim določili stabilnost, smo izbrali na osnovi dveh kriterijev. Prvi kriterij je bil delež dodane vode: 75, 80, 85, 90 in 95 %. Drugi kriterij je bil nastanek ME. Stabilnost smo določali samo tistim vzorcem, ki so pri omenjenih deležih vode tvorili ME pri povišani temperaturi (82-86 °C). Sistem, ki je ustrezal obema kriterijema, smo odstranili z vodne kopeli ($t_{\text{odstranitev}}$) ter določili čas, po katerem se je med hranjenjem vzorca na sobni temperaturi pojavila oborina ($t_{\text{pojav oborine}}$). Slednjo smo ovrednotili vizualno. Kot čas nastanka oborine smo določili čas, ko so bili po premešanju vsebine na steni erlenmajerice vidni kosmi. Razlika dobljenih časov ($t_{\text{pojav oborine}} - t_{\text{odstranitev}}$) je ponazarjala čas stabilnosti razredčenih SMES-ov. Po pojavu oborine smo vzorec ponovno segreli na ustrezno temperaturo (82–86 °C). Po 5 minutnem mešanju smo nadaljevali titriranje z vodo. Po vsakem dodatku smo vizualno ocenili nastali sistem z vidika nastanka ME. Ob nastanku ME smo ponovili prej opisani postopek. V primeru, da ME ni nastala, smo nadaljevali z dodajanjem vode.

6 REZULTATI IN RAZPRAVA

Namen raziskovalnega dela je bilo doseči čim višjo vsebnost modelne učinkovine NDS 9 v na lipidih osnovanem sistemu. S pomočjo izdelanih PTFD-jev smo na osnovi področja nastanka ME hoteli izbrati najustreznejšo oljno fazo, v kateri bi se ZU raztapljala v čim večjem obsegu. Kot oljno fazo smo uporabili talino NDS 9 in njeno kombinacijo z Miglyolom 812 ali IPM. Na podlagi izbranega lipida smo izbrali še ustrezen emulgator oz. kombinacijo le-teh. V raziskave smo vključili Tween 20, Capmul PG-8 in lecitin.

6.1 PSEVDO-TRIKOMPONENTNI FAZNI DIAGRAMI

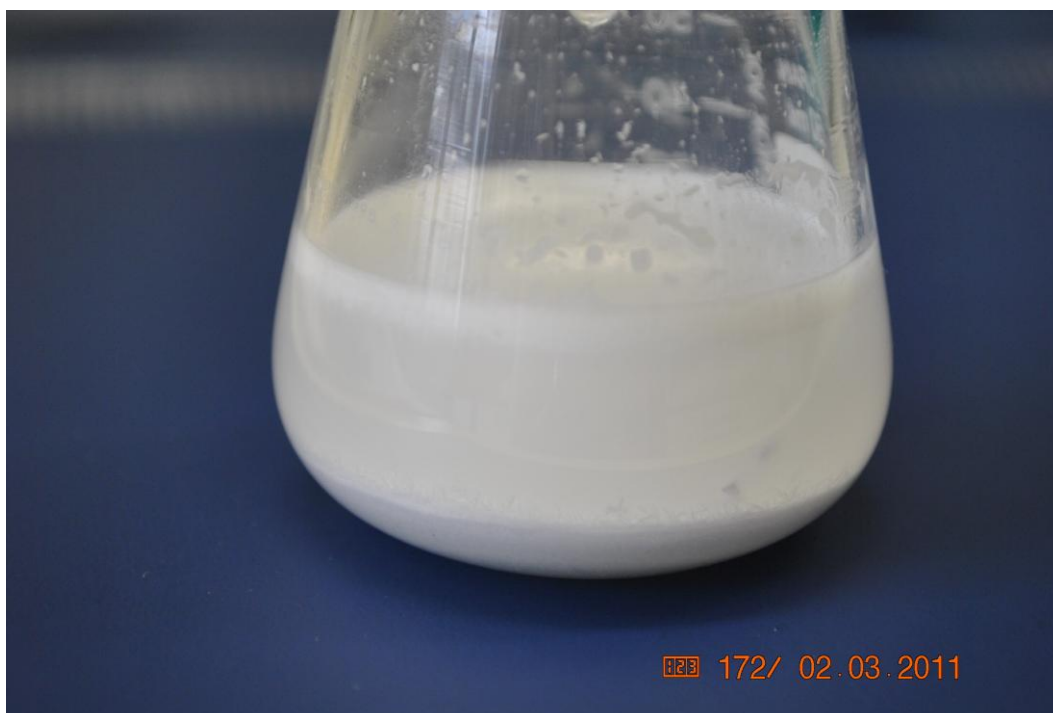
PTFD za sistem, ki vsebuje modelno učinkovino NDS 9 in Miglyol 812 v razmerju 1 : 1, kot emulgator pa Tween 20, je prikazan na sliki 5.



Slika 5: Psevdo-trikomponentni fazni diagram za sistem (NDS 9 : Miglyol 812 = 1 : 1)/Tween 20/ vodo pri $T = 70\text{--}83\text{ }^{\circ}\text{C}$. S krogci so označena področja nastanka ME.

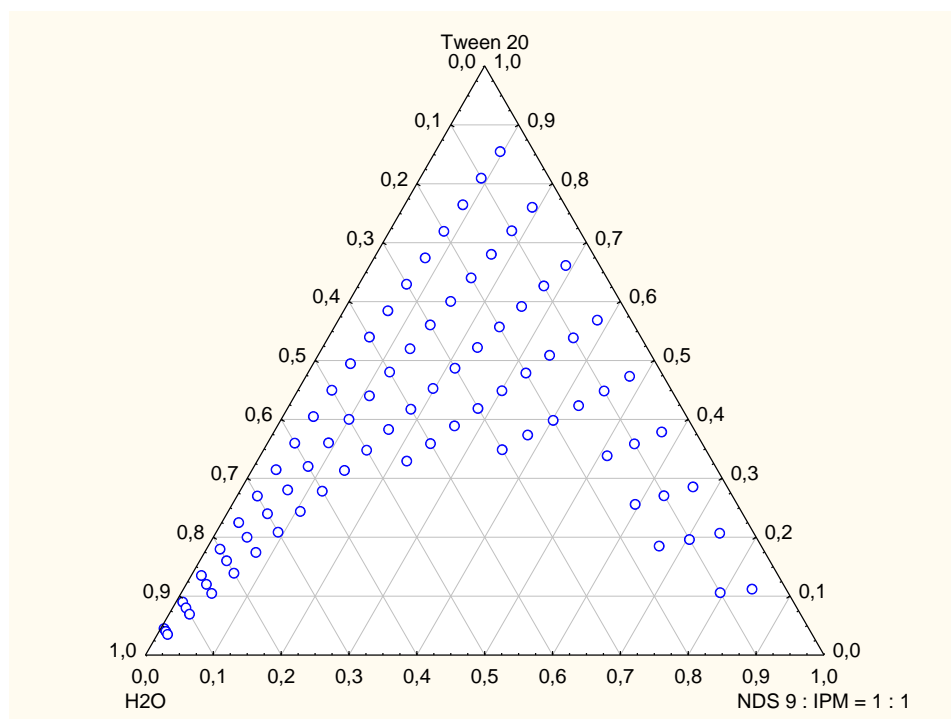
Iz slike 5 je razvidno, da so iz izbranih SMES-ov ob titriranju z vodno fazo nastale ME vzdolž celotne 1. razredčitvene premice ter le deloma na razredčitvenih premicah št. 2–4. Na ostalih razredčitvenih premicah (št. 5–9) ME niso nastale. V tem področju so verjetno nastale emulzije. Slednje so bile po izgledu motni, netransparentni sistemi, ki jih nismo podrobneje analizirali. Vzdolž razredčitvenih premic št. 6–9 smo opazili ločevanje faz, in

sicer pri deležu vode nad 35 %. Pri nadaljnjem dodajanju vode je ločevanje postajalo vedno manj opazno. Opazili smo, da je videz sistema odvisen od temperature. Bister, transparenten sistem je izven vodne kopeli hitro postal moten. Zaradi spremembe temperature se je topnost učinkovine v sistemu zmanjšala. Prišlo je do postopnega izpadanja oz. obarjanja modelne učinkovine iz sistema. Po enem tednu shranjevanja pri sobni temperaturi je bil supernatant vseh sistemov s 95 % vode na pogled moten. Na površini se je oblikovala kremasta struktura, na dnu pa smo opazili usedlino oborjene modelne učinkovine. Izgled sistema prikazuje slika 6.



Slika 6: Izgled sistema (NDS 9 : Miglyol 812 = 1 : 1)/Tween 20/ voda po 1 tednu. Razmerje med emulgatorjem in oljno fazo je 3 : 7.

Oljno fazo smo nato spremenili tako, da smo talini NDS 9 dodali IPM v razmerju 1 : 1, kot emulgator smo ohranili Tween 20. Območje nastalih ME je prikazano na sliki 7.



Slika 7: Psevdo-trikomponentni fazni diagram za sistem (NDS 9 : IPM = 1 : 1)/Tween 20/vodo pri $T = 82\text{--}86$ °C. S krogi so označena področja nastanka ME.

Ob titriranju izbranih SMES-ov z vodno fazo so nastale ME vzdolž celotnih razredčitvenih premic št. 1–3 ter deloma na premicah št. 4–9. Ločevanje faz smo opazili vzdolž 6. in 8. razredčitvene premice pri vzorcih z deleži vode nad 60 oz. 75 %. Sistemi s 95 % deležem vode so med ohlajanjem na sobno temperaturo postali motni oz. beli. Izjema so bili sistemi, ki so nastali vzdolž prvih treh razredčitvenih premic (90–70 % emulgatorja in 10–30 % oljne faze). Ti so pri sobni temperaturi ostali dalj časa transparentni. Sistem z 90 % emulgatorja in 10 % oljne faze je ostal transparenten najmanj 1 teden. Zaradi visoke temperature je del dodane vode izhlapel iz sistema ter kondenziral na steklenem zamašku in stenah erlenmajerice. Z obeh površin je voda nato počasi polzela nazaj v segreto zmes. Na stiku faz zmes/voda je bilo razmerje med vodo, emulgatorjem in oljno fazo spremenjeno. To se je kazalo v obliki belih lis v zmesi tik ob robu erlenmajerice, ki so se počasi širile proti sredini. Ob močnejšem premešanju se je sistem homogeniziral, lise pa so izginile. Pojav lis je bil pogostejši na prehodu iz področja ME v področje emulzij. Po enotedenski hrampi vzorcev pri sobni temperaturi smo pri vseh na dnu opazili usedlino oborjene NDS 9. Pri nekaterih vzorcih je bil supernatant na pogled moten, pri nekaterih pa

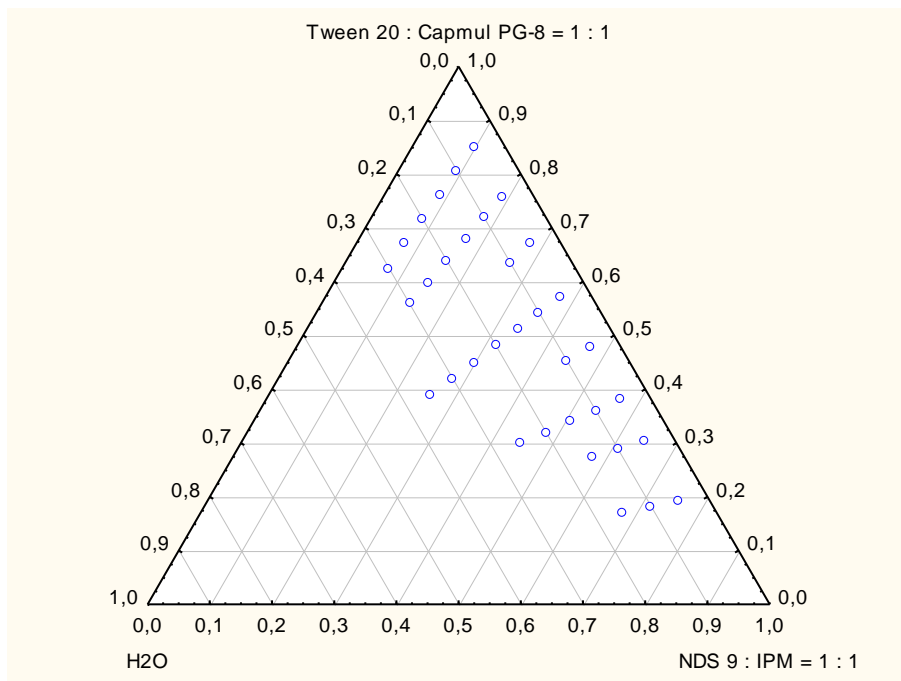
bister. Kremasta struktura je bila prisotna na površini vseh vzorcev, razen vzorca z 90 % emulgatorja in 10 % oljne faze. Izgled sistemov je prikazan na sliki 8.



Slika 8: Izgled sistema (NDS 9 : IPM = 1 : 1)/Tween 20/voda po 1 tednu. Razmerje med emulgatorjem in oljno fazo je A) 9 : 1, B) 6 : 4 in C) 4 : 6.

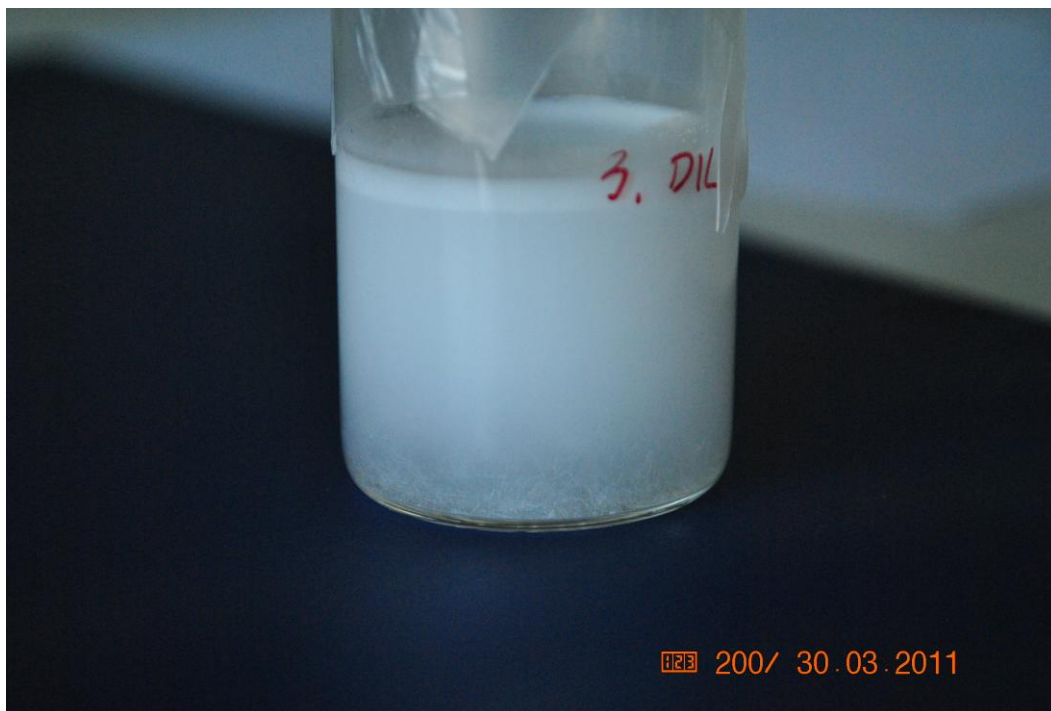
Ustrezen lipid (Miglyol 812 ali IPM) za nadaljnji razvoj sistemov s čim višjo vsebnostjo NDS 9, smo izbrali s primerjavo izdelanih PTFD-jev. Izkazalo se je, da je imel sistem, ki je vseboval IPM, širše področje nastanka ME kot sistem z Miglyolom 812. Slednjega uvrščamo med polsintezne derivate rastlinskih olj, natančneje med sdv-TG-je. Za le-te velja, da imajo v primerjavi s polarnimi olji, kot je IPM, manjšo kapaciteto raztapljanja in sposobnost samo-mikroemulgiranja. To je razvidno tudi iz izdelanih PTFD-jev. Proces ločevanja oljne in vodne faze je bil pogostejši pri sistemu z Miglyolom 812 kot pri IPM-ju, do njega pa je prišlo pri nižjih deležih vodne faze. Na osnovi omenjenih rezultatov smo IPM izbrali kot oljno fazo za nadaljnje raziskave, v okviru katerih smo proučevali vpliv emulgatorjev, njihovih zmesi in različnih razmerij med NDS 9 in IPM-jem na lastnosti SMES-ov.

Po izboru oljne faze (zmes taline NDS 9 in IPM-ja) smo v nadaljevanju preizkusili sistem, ki je kot emulgatorsko zmes vseboval Tween 20 in Capmul PG-8 v razmerju 1 : 1. PTFD je prikazan na sliki 9.



Slika 9: Psevdo-trikomponentni fazni diagram za sistem (NDS 9 : IPM = 1 : 1)/(Tween 20 : Capmul PG-8 = 1 : 1)/vodo pri $T = 82\text{--}86\text{ }^{\circ}\text{C}$. S krogi so označena področja nastanka ME.

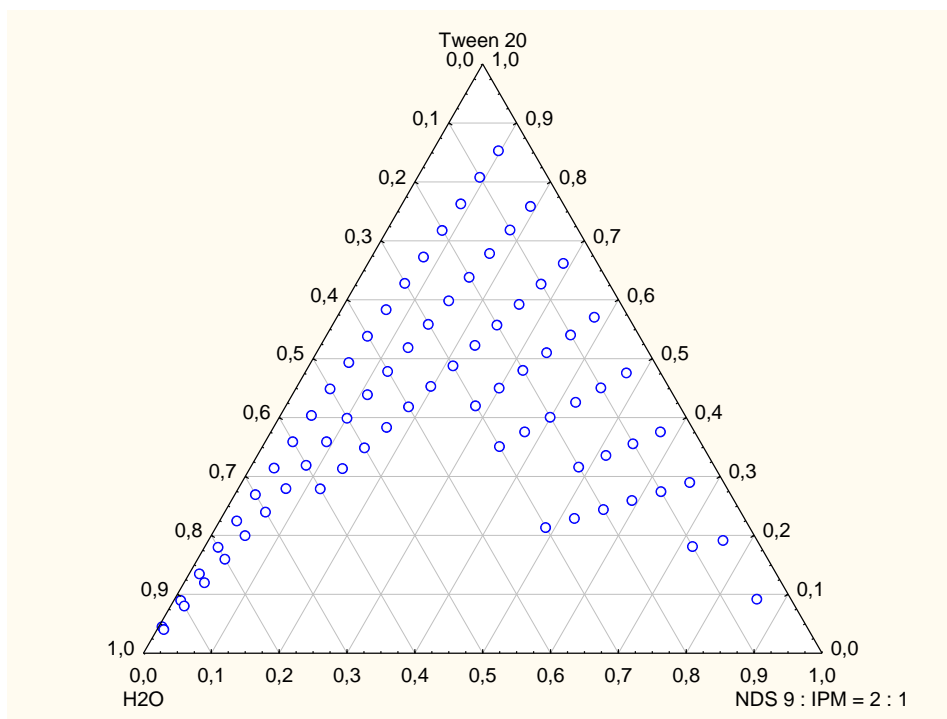
Nastanek ME smo opazili vzdolž vseh razredčitvenih premic (razen pri 9.) v področju sistemov z nižjim deležem vodne faze (pod 40 %). Področje nastanka ME je bilo pri tem sistemu ožje kot pri sistemu, ki kot emulgator vsebuje samo Tween 20. Vzdolž 1.–5. razredčitvene premice smo po dodatku 60 % vodne faze opazili razplastitev sistema. Med nadaljnjim dodajanjem vode je le-ta postajala vedno manj izrazita in jo pri sistemu z 90 % vodne nismo več opazili. Lis, ki so nastale zaradi polzenja kondenzirane vode s sten in zamaška, ni bilo opaziti. Vzdolž 6.–9. razredčitvene premice smo na prehodu iz področja ME v področje emulzij opazili prisotnost oljnih kapljic v zmesi. Med ohlajanjem razredčenih SMES-ov na sobno temperaturo se je začela NDS 9 počasi obarjati v obliki kristalov. Po enem tednu je bil supernatant vzorcev moten. Na dnu smo zasledili usedlino kristalov, na površini pa kremasto strukturo. To je vidno na sliki 10.



Slika 10: Izgled sistema (NDS 9 : IPM = 1 : 1)/(Tween 20 : Capmul PG-8 = 1 : 1)/voda po 1 tednu. Razmerje med emulgatorjem in oljno fazo je 7 : 3.

Iz dobljenih rezultatov je razvidno, da dodatek Capmula PG-8 v emulgatorsko zmes ne razširi področja nastanka ME, ampak ga celo zoži. Slednje je bilo najbolj opazno na področju 1., 2. in 3. razredčitvene premice, kjer na področju z višjim deležem vode nismo opazili nastanka ME kot pri sistemu, ki je kot emulgator vseboval le Tween 20 (slika 7). Na podlagi ugotovljenega smo pri nadaljnjem delu kot oljno fazo izbrali zmes NDS 9 in IPM-ja, kot emulgator pa samo Tween 20.

Ker je bil naš cilj razvoj SMES-ov s čim višjo vsebnostjo raztopljenе modelne učinkovine NDS 9, smo se v nadaljevanju osredotočili na proučevanje vpliva spremenjenega razmerja med IPM-jem in NDS 9 na obseg področja nastanka ME. V ta namen smo razmerje med NDS 9 in IPM-jem v oljni fazi iz 1 : 1 povišali na 2 : 1 oz. 4 : 1. Slika 11 prikazuje PTFD za sistem, ki je kot oljno fazo vseboval NDS 9 in IPM v razmerju 2 : 1 ter Tween 20 kot emulgator.



Slika 11: Psevdo-trikomponentni fazni diagram za sistem (NDS 9 : IPM = 2 : 1)/Tween 20/vodo pri $T = 82\text{--}86\text{ }^{\circ}\text{C}$. S krogi so označena področja nastanka ME.

ME so nastale vzdolž celotne 1. in 2. razredčitvene premice ter samo deloma vzdolž premic z nižjim deležem emulgatorja (10–70 %). Prehod iz področja ME v področje emulzij je pogosto sovpadal s pojavom belih lis v zmesi. Tudi v tem primeru so slednje povezane s kapljanjem kondenzirane vode s pokrovčka in sten posode nazaj v zmes. Tak sistem je postal moten, če smo ga premešali izven kopeli. Če se je sistem na vodni kopeli ponovno zbistril, smo ga opredelili kot ME. Sistem, kjer so se ponovno pojavile lise ali pa je ostal moten, smo opredelili kot emulzijo. Ločevanja vodne in oljne faze nismo zasledili vzdolž nobene razredčitvene premice. Po enem tednu hranjenja pri sobni temperaturi je pri nekaterih sistemih supernatant postal opalescenten, pri nekaterih pa moten. Na dnu vseh sistemov je bil opazen sediment iz kristalov oborjene modelne učinkovine, na površini pa kremasta struktura. Nastali kristali so lepo vidni na sliki 12.

A

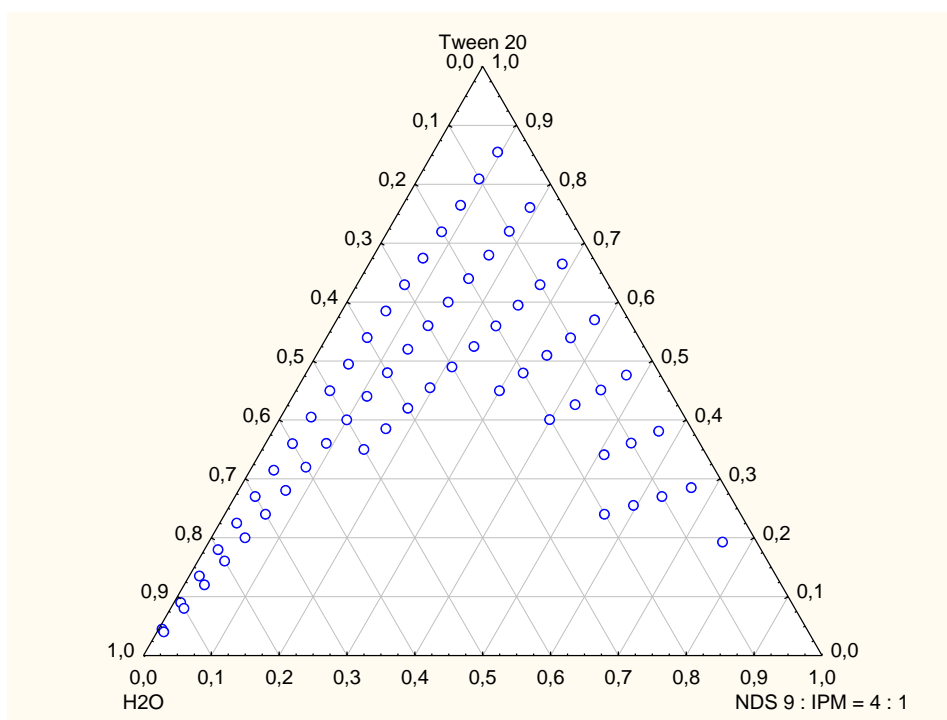


B



Slika 12: Izgled sistema (NDS 9 : IPM = 2 : 1)/Tween 20/voda po 1 tednu. Razmerje med emulgatorjem in oljno fazo je A) 9 : 1 in B) 3 : 7.

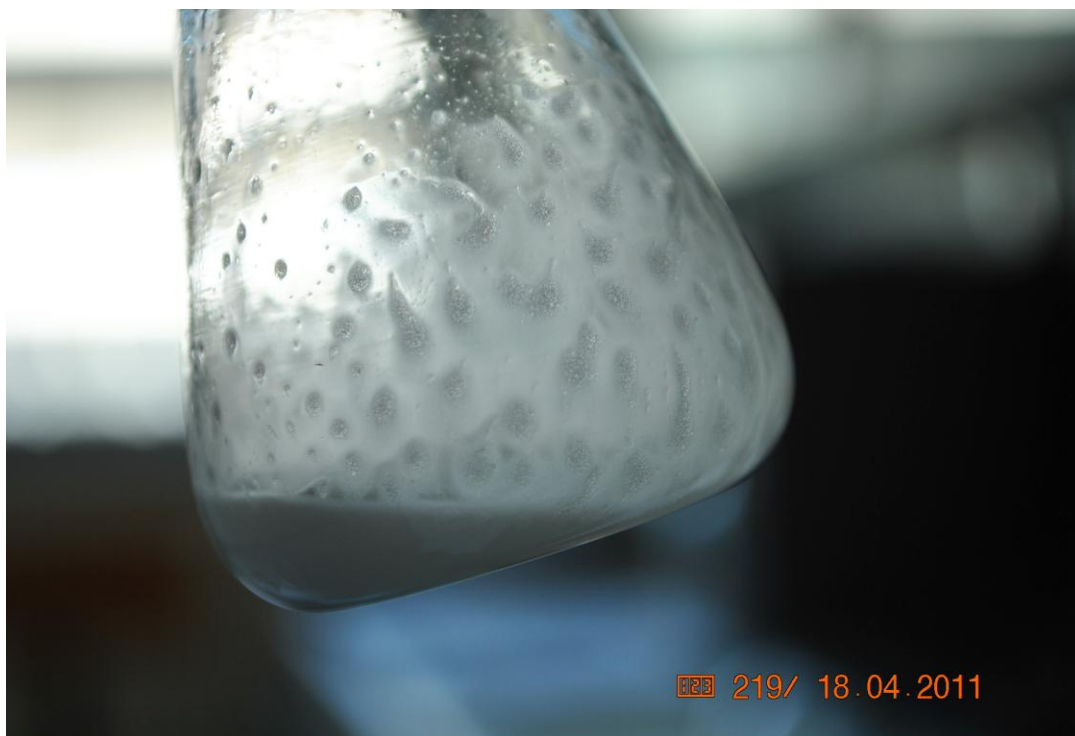
PTFD za sistem, ki je kot oljno fazo vseboval NDS 9 in IPM v razmerju 4 : 1, kot emulgator pa Tween 20, je prikazan na sliki 13.



Slika 13: Psevdo-trikomponentni fazni diagram za sistem (NDS 9 : IPM = 4 : 1)/Tween 20/voda pri $T = 82\text{--}86\text{ }^{\circ}\text{C}$. S krogci so označena področja nastanka ME.

Nastanek ME smo opazili vzdolž celotne 1. in 2. razredčitvene premice. Vzdolž premic št. 3–8 smo nastanek ME opazili le pri nižjih deležih (manj kot 50 %) dodane vodne faze. Iz primerjave slik 7, 11 in 13 je bilo razvidno, da se z višanjem vsebnosti taline NDS 9 v oljni fazi področje nastanka ME nekoliko zoži. Vzorce z deležem vode nad 75 % je bilo težko

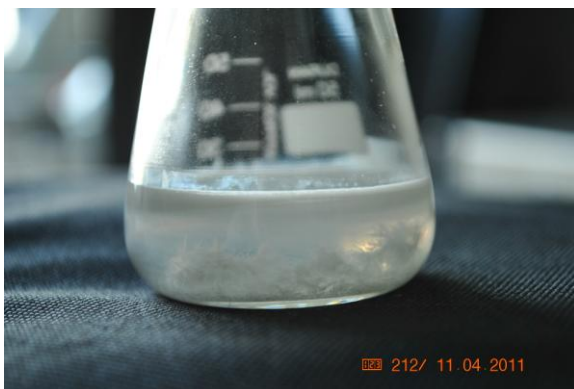
ovrednotiti, saj so se na sobni temperaturi zelo hitro zamotnili. Pri nekaterih sistemih smo pri določenem deležu vodne faze opazili oranžno opalescenco, ko smo vzorec opazovali proti svetlobi. To nakazuje, da je tak sistem najverjetneje ME. V ostalih primerih, kjer je bila zamotnitev prehitra, smo izgled ocenili znotraj vodne kopeli. Znotraj področja nastanka ME smo ponovno opazili pojav belih lis, ki so po intenzivnejšem mešanju izginile. Takšne sisteme smo še uvrstili med ME. Na mejnem področju med ME in emulzijami smo zasledili pojav belih lis, ki po intenzivnejšem mešanju niso izginile, sistemi pa so pogosto postali tudi motni. Teh sistemov nismo opredelili kot ME. Vzdolž 5.–9. razredčitvene premice smo opazili pojav struktur, ki bi jih lahko opisali kot dvojne emulzije, katerih velikost kapljic se je pri nadaljnjem dodajanju vode zmanjševala. Izgled je prikazan na sliki 14.



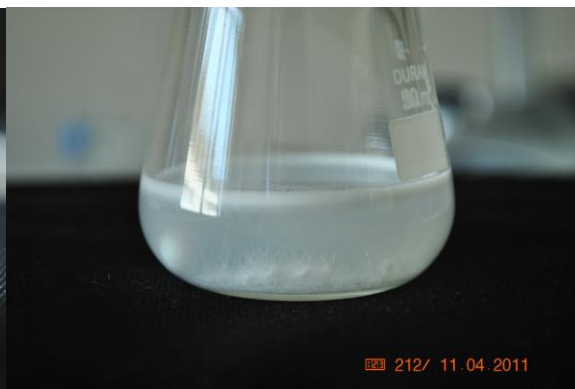
Slika 14: Izgled struktur (dvojne emulzije), ki so se pojavile vzdolž 5.–9. razredčitvene premice.

Po enem tednu hranjenja pri sobni temperaturi je bil supernatant sistemov na pogled opalescenten do moten. Na dnu se je oblikoval sediment iz kristalov modelne učinkovine, na površini pa kremasta struktura. Slika 15 prikazuje izgled teh sistemov.

A

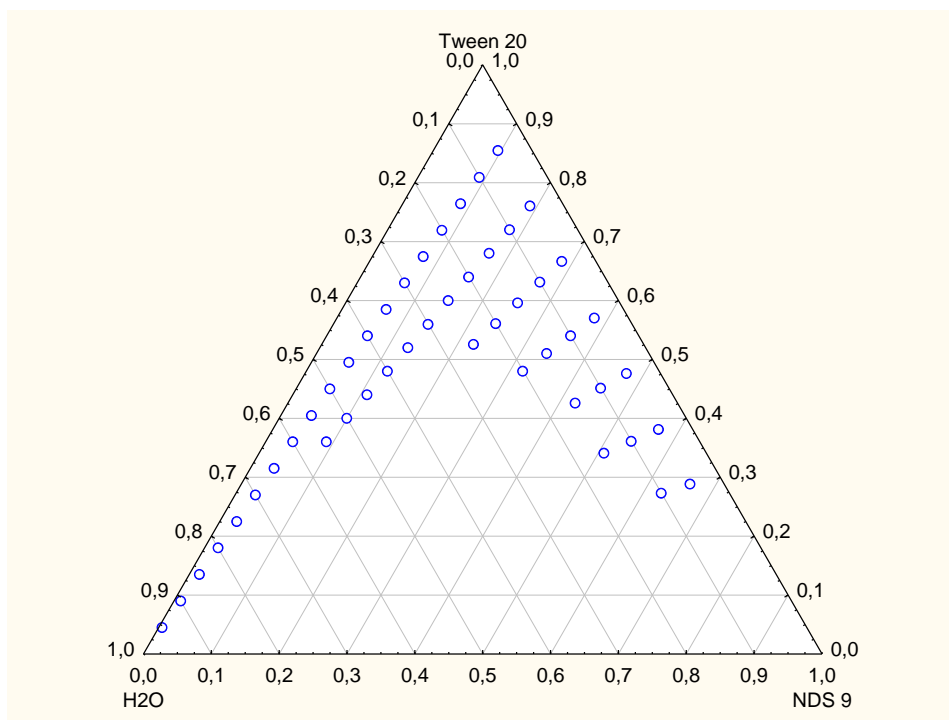


B



Slika 15: Izgled sistema (NDS 9 : IPM = 4 : 1)/Tween 20/voda po 1 tednu. Razmerje med emulgatorjem in oljno fazo je A) 6 : 4 in B) 5 : 5.

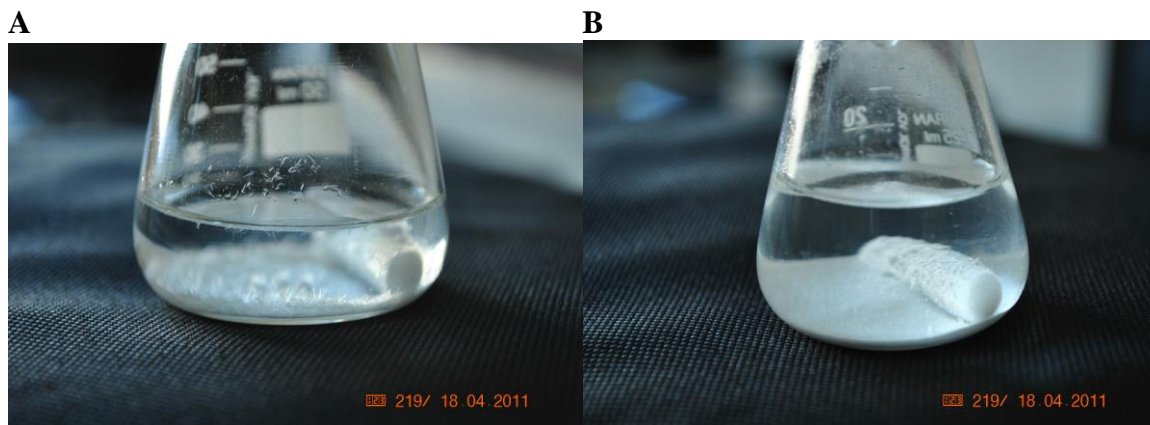
Glede na prvotni cilj, da bi izdelali SMES s čim višjo vsebnostjo modelne učinkovine NDS 9 in glede na predhodne rezultate, smo se odločili, da bomo preizkusili še sistem, ki kot oljno fazo vsebuje zgolj talino NDS 9, kot emulgator pa Tween 20. Omenjeni sistem je prikazan na sliki 16.



Slika 16: Psevdo-trikomponentni fazni diagram za sistem NDS 9/Tween 20/voda pri $T = 82\text{--}86\text{ }^{\circ}\text{C}$. S krogci so označena področja nastanka ME.

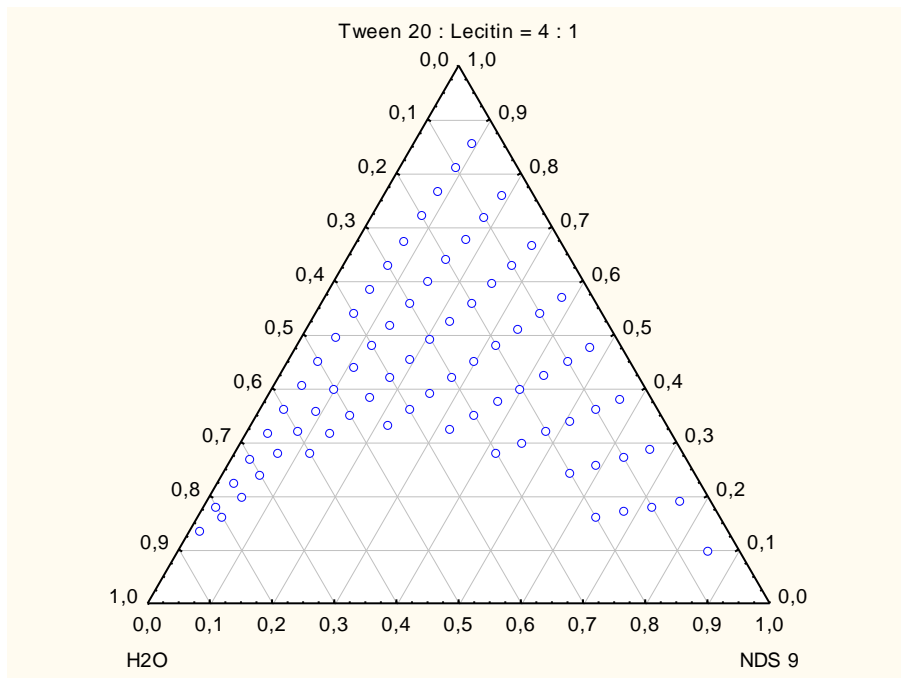
Iz izbranih SMES-ov so ME nastale vzdolž celotne 1. razredčitvene premice, deloma vzdolž 2.–7. premice, vzdolž 8. in 9. pa nastanka ME nismo zasledili. Iz slike 16 je

razvidno, da je odstranitev IPM-ja iz oljne faze rezultirala v nekoliko zoženem področju nastanka ME. Zoženje je bilo predvsem opazno vzdolž 2., 3., 8. in 9. razredčitvene premice. Sistem brez IPM-ja v oljni fazi je imel zmanjšano sposobnost samomikroemulgiranja, kar se odraža na PTFD-ju. Kljub temu so ME nastale v presenetljivo širokem področju PTFD-ja. Predvidevamo, da je to posledica amfifilnosti molekule modelne učinkovine. V področju emulzij, predvsem vzdolž 3.–9. razredčitvene premice, smo opazili pojav dvojnih emulzij, vzdolž 6. in 7. premice pa je prišlo do razplastitve sistema pri deležu vode nad 60 %. Pri ohlajanju razredčenih sistemov na sobno temperaturo, se je modelna učinkovina začela obarjati po približno 1 uri. Naslednji dan je bil supernatant sistemov na pogled bister do opalescenten, na dnu smo opazili kristale modelne učinkovine, ki pa so bili manjši kot pri predhodnih sistemih. Na vrhu nismo opazili kremaste strukture. Izgled je prikazan na sliki 17.



Slika 17: Izgled sistema NDS 9/Tween 20/voda. Razmerje med emulgatorjem in oljno fazo je A) 7 : 3 in B) 2 : 8.

V želji, da bi ohranili visoko vsebnost NDS 9 v sistemu, hkrati pa zagotovili nastanek ME v čim širšem področju PTFD-ja, smo poleg emulgatorja Tweena 20 dodali še lecitin kot koemulgator v razmerju 4 : 1. PTFD za omenjeni sistem prikazuje slika 18.



Slika 18: Psevdo-trikomponentni fazni diagram za sistem NDS 9/(Tween 20 : lecitin = 4 : 1)/voda pri $T = 82\text{--}86\text{ }^{\circ}\text{C}$. S krogci so označena področja nastanka ME.

Nastanek ME smo opazili vzdolž vseh razredčitvenih premic, v največjem obsegu pa vzdolž prvih dveh. Iz primerjave slik 16 in 18 je razvidno, da je dodatek lecitina opazno razširil področje nastanka ME, ki je bilo primerljivo s področjem na sliki 7 (sistem (NDS 9 : IPM = 1 : 1)/Tween 20/voda). Razširitev področja je bila opazna predvsem vzdolž razredčitvenih premic št. 3–9. Na prehodu iz področja ME v področje emulzij so ponovno nastale bele lise, ki niso izginile z močnejšim mešanjem. Vzdolž 7.–9. razredčitvene premice smo v področju emulzij opazili pojav dvojnih emulzij, katerih kapljice so se z dodajanjem vode zmanjševale. Po dodatku 90 % vodne faze sistemu, ki je vseboval 90 % emulgatorja in 10 % oljne faze, smo v bistri zmesi opazili oljne kapljice, zato sistem nismo opredelili kot ME.

Pripravili smo tudi emulgatorsko zmes Tweena 20 in lecitina v razmerju 1 : 1, ki smo jo dodali talini NDS 9. Področje nastanka ME iz omenjenih SMES-ov je bilo ožje kot na sliki 18. Sistemi, ki jih nismo opredelili kot ME, so bili na pogled motni in svetlo rumene barve.

Vzdolž 2. in 5. razredčitvene premice se je po dodatku 70 oz. 60 % vodne faze sistem zgostil zaradi nabrekanja lecitina. Z nadaljnjim dodajanjem vode je sistem postajal vedno bolj tekoč. Na osnovi teh rezultatov, dela v smeri razmerja Tween 20 : lecitin je 1 : 1 nismo nadaljevali.

6.2 SPREMLJANJE ČASOVNEGA POTEKA OBARJANJA MODELNE UČINKOVINE IZ SISTEMOV

Časovna stabilnost brezvodnih SMES-ov, ki so v oljni fazi vsebovali modelno učinkovino, in iz njih nastalih ME je prikazana v preglednicah III in IV. Za večjo nazornost rezultatov je rekristalizacija NDS 9 prikazana tudi v obliki slik (sliki 19 in 20).

6.2.1 STABILNOST BREZVODNIH SMES-ov

Čas, potreben za rekristalizacijo NDS 9 iz SMES-ov pri sobni temperaturi, je pomemben za praktično uporabnost proučevanih sistemov za industrijsko uporabo. Večja stabilnost nam daje več časa za pretvorbo tekočega SMES-a v trdno farmacevtsko obliko.

Preglednica III: Rezultati spremljanja časovnega poteka rekristalizacije modelne učinkovine iz SMES-ov za vsa razmerja med emulgatorjem in oljno fazo.

E : O	9 : 1	8 : 2	7 : 3	6 : 4	5 : 5	4 : 6	3 : 7	2 : 8	1 : 9
(NDS 9 : Miglyol 812 = 1 : 1)/Tween 20									
čas stab.	≥ 4 m	23h46min	4h59min	1h24min	1h2min	32min	18min	13min	10min
(NDS 9 : IPM = 1 : 1)/Tween 20									
čas stab.	≥ 4m	26h34min	1h38min	1h2min	17min	11min	9min	6min	5min
(NDS 9 : IPM = 1 : 1)/(Tween 20 : Capmul PG-8 = 1 : 1)									
čas stab.	≥ 5d	≥ 5d	≥ 5d	69h40min	1h	30min	20min	9min	4min
(NDS 9 : IPM = 2 : 1)/Tween 20									
čas stab.	≥ 3d	≤ 24h	42min	27min	17min	11min	7min	2min	2min
(NDS 9 : IPM = 4 : 1)/Tween 20									
čas stab.	≥ 2d	4h ≤ x ≤ 24h	1h30min	24min	12min	11min	8min	5min	2min
NDS 9/Tween 20									
čas stab.	24h	1h	23min	9min	5min	4min	5min	2min	1min
NDS 9/(Tween 20 : Lecitin = 4 : 1)									
čas stab.	7h10min	≥ 2d	1h5min	45min	30min	15min	8min	6min	4min
NDS 9/(Tween 20 : Lecitin = 1 : 1)									
čas stab.	–	45h	–	–	43min	–	–	–	–

Legenda: E : O razmerje emulgator : oljna faza

stab. stabilnost

m, d, h in min ... okrajšave za mesec, dan, uro in minuto

≥ daljši ali enak čas stabilnosti od navedenega časa. Opazovanje vzorcev, ki so za rekristalizacijo potrebovali dalj časa, smo po določenem času prekinili.

≤ krajši ali enak čas stabilnosti od navedenega časa

≤ x ≤ interval stabilnost, ki ga določata navedeni časovni vrednosti

– ni podatka

Glede na dobljene rezultate so na čas, potreben za rekristalizacijo modelne učinkovine, vplivali tako izbira emulgatorja, zmesi emulgatorjev kot njihov delež v sistemu, izbira lipidne komponente oljne faze in delež modelne učinkovine v oljni fazi.

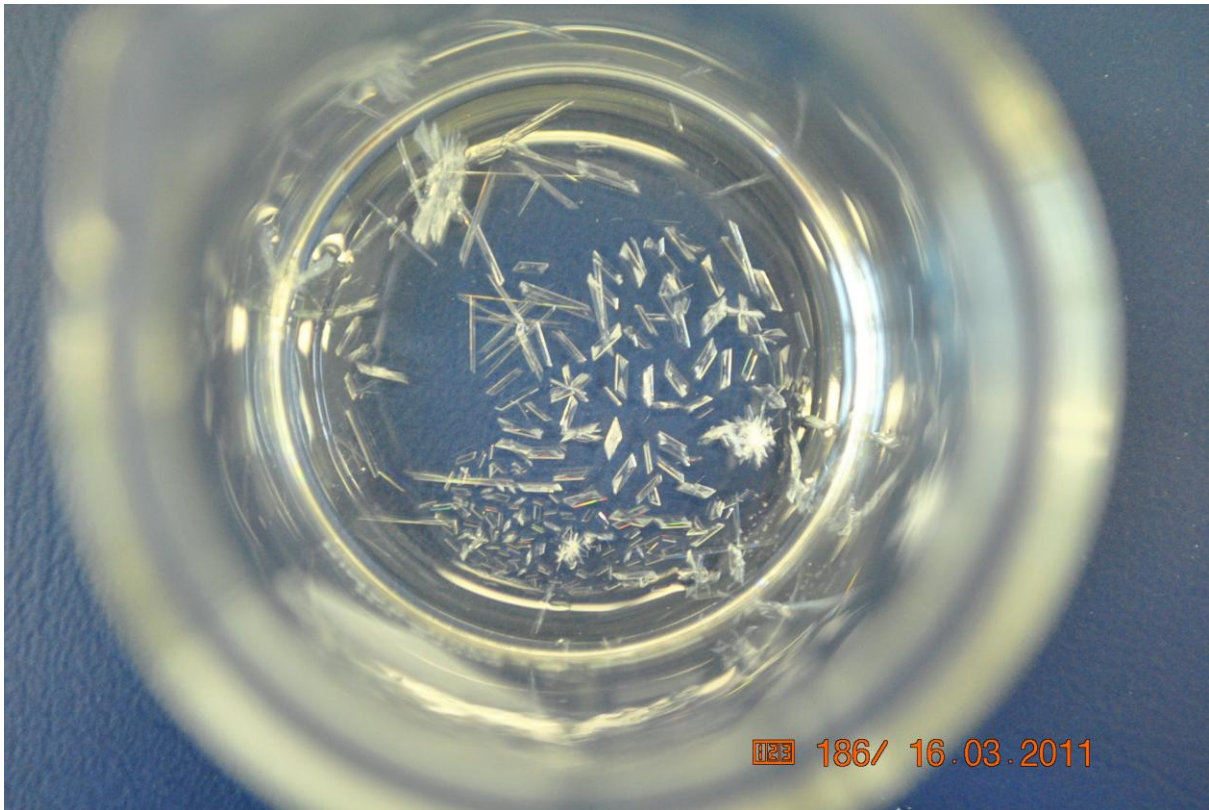
Po pričakovanju se je z nižanjem deleža emulgatorja v brezvodnem SMES-u skrajšal tudi čas, potreben za rekristalizacijo vgrajene modelne učinkovine NDS 9 iz sistema. To smo opazili pri vseh pripravljenih SMES-ih.

Z vidika časa stabilnosti izbranih SMES-ov pri sobni temperaturi se je Miglyol 812 izkazal za boljšo komponento oljne faze kot IPM, a je izkazal manjšo sposobnost samo-mikroemulgiranja. Pri obeh sistemih smo uporabili isti emulgator, tj. Tween 20. Zaradi večje kapacitete raztapljanja polarnih topil smo pričakovali ravno obratne rezultate.

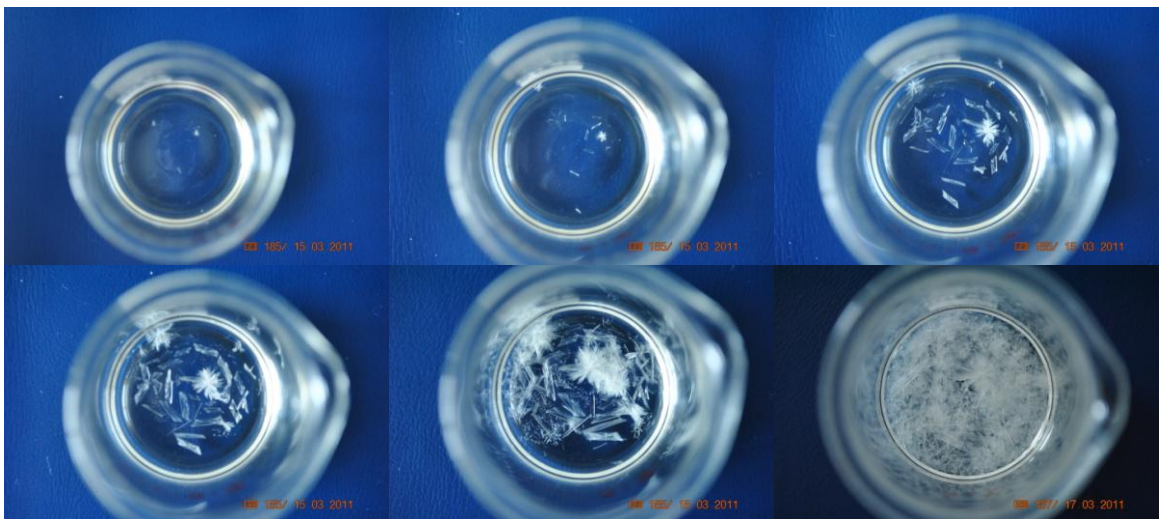
Bistveno sta se razlikovala tudi sistema, ki sta kot oljno fazo vsebovala modelno učinkovino in IPM v razmerju 1 : 1, kot emulgator pa Tween 20 oz. zmes Tweena 20 in Capmula PG-8 v razmerju 1 : 1. Uporaba zmesi emulgatorjev je močno podaljšala čas, potreben za rekristalizacijo, zato je industrijska uporabnost tega sistema večja.

Prav tako je bil opazen tudi močan vpliv različnih razmerij NDS 9 in IPM-ja v oljni fazi, in sicer 1 : 1, 2 : 1 in 4 : 1 oz. prisotnost samo taline NDS 9. Rezultati so podprli predhodna predvidevanja, da se z višanjem deleža NDS 9 čas, potreben za rekristalizacijo iz sistema, skrajša. To je bilo zlasti opazno pri sistemu, ki je v oljni fazi vseboval le talino modelne učinkovine. Za večino razmerij emulgator : oljna faza je bilo za rekristalizacijo učinkovine iz sistema potrebnih le nekaj minut. To je z vidika industrijske uporabnosti formulacij premalo, saj kratek čas stabilnosti tekočih SMES-ov onemogoča pretvorbo le-teh v trdne farmacevtske oblike (granulate).

Čas, ko je NDS 9 v sistemu še v raztopljeni obliki, smo želeli podaljšati, zato smo Tweenu 20 dodali še koemulgator lecitin. Uporabili smo dve razmerji med Tweenom 20 in lecitinom, in sicer 4 : 1 in 1 : 1. Na osnovi dobljenih rezultatov, to je čas, potreben za rekristalizacijo modelne učinkovine iz SMES-ov, je bilo težko določiti ustrežnejše razmerje med emulgatorjem in koemulgatorjem. Obe uporabljeni razmerji pa sta bistveno podaljšali čas stabilnosti NDS 9 v SMES-ih. Čas ohranjanja učinkovine v raztopljenem stanju smo sistemu NDS 9/Tween 20 z dodatkom lecitina v emulgatorsko zmes (Tween 20 : lecitin = 4 : 1) iz 1 ure podaljšali na vsaj 2 dneva. Pri tem je bilo razmerje med emulgatorsko in oljno fazo 8 : 2.



Slika 19: Prisotnost različnih oblik kristalov modelne učinkovine v SMES-u, ki kot emulgator vsebuje Tween 20, kot oljno fazo pa NDS 9 in IPM v razmerju 1 : 1. Emulgator in oljna faza sta v razmerju 6:4.



Slika 20: Prikaz poteka rekristalizacije modelne učinkovine iz sistema (NDS 9 : Miglyol 812 = 1 : 1) / Tween 20 / voda. Emulgator in oljna faza sta v razmerju 3 : 6. Slike rekristalizacije si sledijo od leve proti desni.

6.2.2 STABILNOST SMES-ov PO DODATKU VODE

Stabilnost iz SMES-ov nastalih ME smo spremljali pri sobni temperaturi. Ovrednotili smo čas, ki je potreben, da se modelna učinkovina izobori iz proučevanih sistemov po njihovi odstranitvi z vodne kopeli. Čas stabilnosti ME, nastalih iz SMES-ov po dodatku vode, mora biti dovolj dolg, da ima v sistem vgrajena modelna učinkovina dovolj časa, da se v čim večji meri absorbira iz prebavnega trakta v krvni obtok.

Preglednica IV: Rezultati spremljanja časovnega poteka obarjanja modelne učinkovine iz ME, nastalih iz SMES-ov po dodatku vodne faze, ki so ustrezale izbranim kriterijem

Dodatek vode (%)		75	80	85	90	95
(NDS 9 : Miglyol 812 = 1 : 1)/Tween 20/voda						
Čas stabilnosti	1. r. p.	≥ 4h	3h5min	≥ 4h	≥ 4h	≥ 4h
(NDS 9 : IPM = 1 : 1)/Tween 20/voda						
Čas stabilnosti	1. r. p.	5h40min	≥ 6h	≥ 6h	≥ 6h	4h41min
	2. r. p.	1h53min	4h23min	2h56min	2h41min	≥ 7h
	3. r. p.	3h29min	3h38min	3h4min	2h58min	2h7min
(NDS 9 : IPM = 2 : 1)/Tween 20/voda						
Čas stabilnosti	1. r. p.	≥ 4h34min	≥ 5h30min	2h	1h10min	1h56min
	2. r. p.	≥ 3h20min	1h55min	53min	1h	1h12min
(NDS 9 : IPM = 4 : 1)/Tween 20/voda						
Čas stabilnosti	1. r. p.	2h50min	≥ 4h52min	5h6min	1h17min	25min
	2. r. p.	2h44min	≥ 4h41min	1h2min	2h44min	20min
NDS 9/Tween 20/voda						
Čas stabilnosti	1. r. p.	2h37min	2h27min	1h14min	20min	43min
NDS 9/(Tween 20 : Lecitin = 4 : 1)/voda						
Čas stabilnosti	1. r. p.	3h13min	3h55min	3h10min	–	–
	2. r. p.	53min	12min	–	–	–

Legenda: r. p.razredčitvena premica

h, minokrajšava za uro in minuto

≥daljši ali enak čas stabilnosti od navedenega časa

–ni podatka

V večini primerov so rezultati nakazovali določeno odvisnost časa, potrebnega za oboritev NDS 9 iz sistema, od uporabljenega lipida, emulgatorja, deleža modelne učinkovine v oljni

fazi ali deleža dodane vode. Smo pa med njimi zasledili kar nekaj odstopanj, ki so otežili razumevanje in razlago rezultatov.

Časi, potrebni za oboritev NDS 9 iz ME, ki vsebujejo različne deleže vodne faze, so se zelo razlikovali med seboj. Najdaljši čas, potreben za oboritev modelne učinkovine iz proučevanih sistemov, smo največkrat določili po dodatku 75 ali 80 % vode začetnemu SMES-u.

Opazovanje nekaterih vzorcev, ki so kot komponento oljne faze vsebovali Miglyol 812 ali IPM, smo prekinili predčasno, v kolikor v časovnem intervalu 3–6 ur nismo opazili prisotnosti oborine. Na podlagi tako dobljenih rezultatov nismo mogli z gotovostjo trditi, kateri lipid je bolj podaljšal čas, potreben za oboritev NDS 9 iz ME. Na osnovi literaturnih podatkov, da imajo polarna olja (IPM) večjo kapaciteto raztapljanja kot derivati naravnih olj (Miglyol 812), smo predvidevali, da daje uporaba IPM-ja boljše rezultate.

Po pričakovanjih je naraščanje vsebnosti NDS 9 v oljni fazi skrajšalo čas, potreben za oboritev modelne učinkovine iz nastalih ME. Najkrajši čas smo tako zabeležili za sistem, ki je kot oljno fazo vseboval le talino NDS 9.

Daljši čas, ko se modelna učinkovina v proučevanem sistemu nahaja v raztopljenem stanju, smo želeli doseči z uporabo emulgatorske zmesi, ki je kot emulgator vsebovala Tween 20, kot koemulgator pa lecitin. Z uporabo slednjega smo uspeli podaljšati čase, potrebne za oboritev NDS 9 iz opazovanih vzorcev. Dodatek lecitina v emulgatorsko zmes (Tween 20 : lecitin = 4 : 1) je proučevanim ME podaljšal čas stabilnosti vsaj za 1 uro v primerjavi s sistemom NDS 9/Tween 20 pri dodatkih 75, 80 in 85 % vodne faze.

7 SKLEPI

- Izdelali smo več različnih SMES-ov, ki smo jih ovrednotili glede na področje nastanka ME pri povišani temperaturi in glede na čas, potreben za rekristalizacijo NDS 9 iz sistema pri sobni temperaturi. Iz SMES-ov nastale ME pa smo ovrednotili glede na čas, potreben za oboritev modelne učinkovine iz sistema pri sobni temperaturi.
- Glede na rezultate smo najširše področje nastanka ME v PTFD-ju določili za sistem (NDS 9 : IPM = 1 : 1)/Tween 20/voda in NDS 9/(Tween 20 : lecitin = 4 : 1)/voda. Najslabše rezultate smo dobili za sistema (NDS 9 : Miglyol 812 = 1 : 1)/Tween 20/voda in (NDS 9 : IPM = 1 : 1)/(Tween 20 : Capmul PG-8 = 1 : 1)/voda.
- Dodatek polarnega olja (IPM-ja) v oljno fazo se je izkazal za ugodnejšega od uporabe sdv-TG-jev (Miglyol 812), saj ima večjo kapaciteto raztapljanja in sposobnost samo-(mikro)emulgiranja. Posledica odstranitve IPM-ja iz oljne faze je zmanjšanje področja nastanka ME zaradi zmanjšanja sposobnosti samo-mikroemulgiranja sistema. Uporaba emulgatorske zmesi Tweena 20 in Capmula PG-8 v razmerju 1 : 1 je omogočila nastanek ME vzdolž vseh razredčitvenih premic, vendar le pri nižjih deležih (pod 40 %) dodane vode. Dodatek lecitina v sistem NDS 9/(Tween 20 : lecitin = 4 : 1)/voda je močno povečal področje nastanka ME v primerjavi s sistemom NDS 9/Tween 20/voda.
- Pri spremljanju časa, potrebnega za rekristalizacijo modelne učinkovine NDS 9 iz brezvodnih SMES-ov, je izstopal sistem (NDS 9 : IPM = 1 : 1)/(Tween 20 : Capmul PG-8 = 1 : 1). Le-ta je najdlje ohranil modelno učinkovino v raztopljeni obliki. Najkrajši čas do pojava oborine smo zabeležili za sistem, ki je kot oljno fazo vseboval le talino NDS 9, kot emulgator pa Tween 20. Na primeru razmerja med emulgatorjem in oljno fazo 8 : 2 je ta čas znašal 1 uro. Čas nahajanja modelne učinkovine v raztopljenem stanju smo uspeli bistveno podaljšati z dodatkom koemulgatorja lecitina v emulgatorsko zmes (Tween 20 : lecitin = 4 : 1). Pri istem razmerju med emulgatorjem in oljno fazo je zabeležen čas znašal najmanj 2 dneva.

- Časi, potrebni za oboritev modelne učinkovine iz ME, ki so nastale po titraciji SMES-ov z vodo, so bili med seboj dokaj primerljivi. Kljub temu rezultati kažejo, da je učinkovina v raztopljenem stanju prisotna nekoliko dlje v sistemu (NDS 9 : IPM = 1 : 1)/Tween 20/voda in nekoliko manj v sistemu NDS 9/Tween 20/voda. Z dodatkom lecitina, kot stabilizatorja slednjemu sistemu, smo pri 75, 80 in 85 % dodane vode bistveno podaljšali čas (vsaj za 1 uro), potreben za oboritev NDS 9 iz sistema.
- Cilj diplomske naloge je bilo izdelati SMES s čim višjo vsebnostjo modelne učinkovine NDS 9, ki bi bil sposoben čim dalj časa zadržati učinkovino v raztopljenem stanju pri sobni temperaturi. Najvišjo vsebnost modelne učinkovine smo dosegli v sistemu, ki je kot oljno fazo vseboval le talino NDS 9. V SMES-ih z razmerjem med emulgatorsko fazo (Tween 20 : lecitin = 4 : 1) in oljno fazo (talina NDS 9) 9 : 1 oz. 8 : 2 je tako vsebnost NDS 9 kar 10 oz. 20 % (m/m). Čas, ko je sistem ohranil učinkovino v raztopljenem stanju, je za zgoraj omenjeni razmerji med emulgatorsko in oljno fazo približno 7 ur oz. 2 dneva. Zaradi visoke vsebnosti modelne učinkovine in dovolj dolgega časa, ko je učinkovina prisotna v raztopljenem stanju pri sobni temperaturi, bi bil omenjeni sistem uporaben tudi z industrijskega vidika.

8 LITERATURA

1. Spernath A., Aserin A.: Microemulsions as carriers for drugs and nutraceuticals. *Adv. in Colloid and Interface Sci.*; 128-130; 2006; 47-64.
2. Gershanuk T., Benita S.: Self-dispersing lipid formulations for improving oral absorption of lipophilic drugs. *Eur. J. of Pharm. and Biopharm.*; 50; 2000; 179-188.
3. Dahan A., Hoffman A.: Rationalizing the selection of oral lipid based drug delivery systems by an in vitro dynamic lipolysis model for improved oral bioavailability of poorly water soluble drugs. *J. of Controll. Rel.*; 129; 2008; 1-10.
4. Pouton C. W.: Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: Physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system. *Eur. J. of Pharm. Sci.*; 29; 2006; 278-287.
5. Zvonar A., Gašperlin M., Kristl J.: Samo(mikro)emulgirajoči sistemi – alternativen pristop za izboljšanje biološke uporabnosti lipofilnih učinkovin. *Farm. Vest.*; 59; 2008; 263-268.
6. Neslihan Gursoy R., Benita S.: Self – emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improving oral delivery of lipophilic drugs. *Biomed. & Pharmacot.*; 58; 2004; 173-182.
7. Pouton C. W.: Lipid formulations for oral administration of drugs: non-emulsifying, self-emulsifying and “self-microemulsifying” drug delivery systems. *Eur. J. of Pharm. Sci.*; 11; 2000; S93-S98.
8. Chakraborty S., Shukla D., Mishra B., Singh S.: Lipid – An emerging platform for oral delivery of drugs with poor bioavailability. *Eur. J. of Pharm. and Biopharm.*; 73; 2009; 1-15.
9. Porter C. J. H., Pouton C. W., Cuine J. F., Charman W. N.: Enhancing intestinal drug solubilisation using lipid-based delivery systems. *Adv. Drug Deliv. Rev.*; 60; 2008; 673-691.
10. Hauss D. J.: Oral lipid-based formulations. *Adv. Drug Deliv. Rev.*; 59; 2007; 667-676.
11. Jayne Lawrence M., Rees G. D.: Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. *Adv. Drug Deliv. Rev.*; 45; 2000; 89-121.

12. Pouton C. W., Porter C. J. H.: Formulation of lipid-based delivery systems for oral administration: Materials, methods and strategies. *Adv. Drug Deliv. Rev.*; 60; 2008; 625-637.
13. <http://www.fda.gov/Food/FoodIngredientsPackaging/GenerallyRecognizedasSafeGRAS/default.htm>
14. Martin A.: *Physical Pharmacy*, 4th Ed., Lea & Febiger, USA, 1993. 43-44.
15. Narang A. S., Delmarre D., Gao D.: Stable drug encapsulation in micelles and microemulsions. *Int. J. of Pharm.*; 345; 2007; 9-25.
16. Rozman B., Bogataj M.: Pregled mikroemulzijskih sistemov za peroralno uporabo. *Farm. Vestn.*; 57; 2006; 189-195.
17. Jannin V., Musakhanian J., Marchaud D.: Approaches for the development of solid and semi-solid lipid-based formulations. *Adv. Drug Deliv. Rev.*; 60; 2008; 734-746.
18. Aulton M. E. (ed): *Aulton's Pharmaceutics: The Design and Manufacture of Medicines*, 3rd Ed., Churchill Livingstone, Edinburgh, New York, 2007, 358-405.
19. Kohli K., Chopra S., Dhar D., Arora S., Khar R. K.: Self-emulsifying drug delivery systems: an approach to enhance oral bioavailability. *Drug Discovery Today*; 15; 2010; 958-965.
20. <http://www.epa.gov/oecaagct/ag101/pestlethal.html>
21. Rowe R. C. (ed), Sheskey P. J. (ed), Owen S. C. (ed): *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 5th Ed., Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association, London, Chicago, 2006, 454-456, 374-375, 580-585, 409-410.
22. <http://www.caymanchem.com/msdss/583151m.pdf>
23. <http://www.abiteccorp.com/uploads/File/Capmul%20MSDS/Capmul%20PG-8.pdf>
24. http://www.abiteccorp.com/i_templates/administration/tinymce/uploaded/File/Capmul%20PG-8%20TDS%20I-11.pdf
25. Dreu R. (ur), Srčič S. (ur): *Vaje iz industrijske farmacije*, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2006, 90.