

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO



SLOBODANKA JOVIĆ

**VPLIV TOPNOSTI UČINKOVIN NA SPROŠČANJE IZ  
SAMOMIKROEMULGIRAJOČIH SISTEMOV  
*IN VITRO***

**INFLUENCE OF DRUG SOLUBILITY ON *IN VITRO*  
RELEASE FROM SELF-MICROEMULSIFYING DRUG  
DELIVERY SYSTEMS**

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJ FARMACIJA

Ljubljana, 2015

Diplomsko delo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo na Katedri za farmacevtsko tehnologijo pod mentorstvom prof. dr. Mirjane Gašperlin, mag. farm.

## **ZAHVALA**

*Iskrena hvala mentorici prof. dr. Mirjani Gašperlin, mag. farm. in delovni mentorici Katarini Bolko Seljak, mag. farm. za dosegljivost, potrpežljivost in strokovne nasvete pri izdelavi magistrske naloge. Prav tako bi se zahvalila tudi strokovnima sodelavkama Tatjani Horvatič, ing. kem. teh. in Mojci Keržan, ing. kem. teh za njuno vsestransko pomoč pri raziskovalnem delu v laboratoriju.*

*Zahvaljujem se tudi svoji družini in fantu Kristijanu, ki so vedno verjeli vame in me spodbujali tekom celotnega študija.*

## **IZJAVA**

**Izjavljam, da sem magistrsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom prof. dr. Mirjane Gašperlin, mag. farm.**

Ljubljana, 2015

Slobodanka Jović

## **Diplomska komisija:**

Predsednik: prof. dr. Darko Černe, mag. farm

Mentorica: prof. dr. Mirjana Gašperlin, mag. farm.

Član: asist. dr. Rok Frlan, mag. farm.

# KAZALO VSEBINE

<b>KAZALO VSEBINE</b> .....	I
<b>KAZALO SLIK</b> .....	III
<b>KAZALO PREGLEDNIC</b> .....	V
<b>POVZETEK</b> .....	VI
<b>ABSTRACT</b> .....	IX
<b>SEZNAM OKRAJŠAV</b> .....	XII
<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. NA LIPIDIH OSNOVANI DOSTAVNI SISTEMI .....	2
1.2. SAMOMIKROEMULGIRAJOČI SISTEMI .....	4
1.3. TRDNI SMES .....	7
1.3.1. Polnjenje tekočih SMES-ov v trdne ali mehke želatinaste kapsule.....	7
1.3.2. Adsorpcija na trdne porozne nosilce.....	8
1.3.3. Sušenje z razprševanjem .....	8
1.3.4. Granuliranje s talinami.....	8
1.3.5. Iztiskanje talin.....	9
1.3.6. Iztiskanje in krogličenje.....	9
1.3.7. Mikrokapsulirnanje.....	9
1.4. TRDNE FARMACEVTSKE OBLIKE S SMES .....	10
1.4.1. Kapsule .....	10
1.4.2. Tablete .....	10
1.4.3. Pelete.....	10
1.4.4. Svečke.....	11
1.4.5. Implantanti .....	11
1.5. IBUPROFEN .....	11
1.6. VALSARTAN .....	14
<b>2. NAMEN DELA</b> .....	17
<b>3. EKSPERIMENTALNO DELO</b> .....	18
3.1. MATERIALI .....	18
3.2. NAPRAVE .....	21
3.3. METODE .....	22

3.3.1. Določanje nasičene topnosti ibuprofena in valsartana v posameznih komponentah tekočega SMES-a .....	22
3.3.2. Priprava tekočega samomikroemulgirajočega sistema z ibuprofenom in valsartanom.....	22
3.3.3. Priprava samomikroemulgirajočih praškov .....	23
3.3.4. Priprava tablet iz samomikroemulgirajočih praškov .....	23
3.3.5. Določanje velikosti kapljic in polidisperznega indeksa po samomikroemulgiranju .....	25
3.3.6. <i>In vitro</i> preskus sproščanja .....	26
3.3.7. Določanje koncentracije ibuprofena s HPLC metodo .....	29
3.3.8. Določanje koncentracije valsartana s HPLC metodo .....	31
<b>4. REZULTATI IN RAZPRAVA</b> .....	32
4.1. DOLOČANJE NASIČENE TOPNOSTI IBUPROFENA IN VALSARTANA V POSAMEZNIH KOMPONENTAH TEKOČEGA SMES-A .....	32
4.2. VELIKOST KAPLJIC NOTRANJE FAZE .....	34
4.2.1. Velikost kapljic notranje faze po dispergiranju SME formulacij v vodi .....	34
4.2.2. Velikost kapljic po dispergiranju v pufru s pH=1,2.....	36
4.2.3. Določanje velikosti kapljic v pufru s pH=6,8 .....	38
4.3. DOLOČANJE POLIDISPERZNEGA INDEKSA.....	41
4.4. <i>IN VITRO</i> PRESKUS SPROŠČANJA .....	42
4.4.1. Primerjava sproščanja ibuprofena in valsartana po vgradnji v tekoči SMES.....	42
4.4.2. Primerjava profilov sproščanja ibuprofena in valsartana po adsorpciji na trdne porozne nosilce .....	47
4.4.3. Primerjava sproščanja ibuprofena in valsartana iz samomikroemulgirajočih tablet .....	52
<b>5. SKLEP</b> .....	58
<b>6.LITERATURA</b> .....	61

## KAZALO SLIK

<b>Slika 1:</b> Prikaz BCS sistema. ....	1
<b>Slika2:</b> Struktura ibuprofena. ....	11
<b>Slika 3:</b> Boots-ova sinteza ibuprofena. Povzeto po (33). ....	12
<b>Slika 4:</b> Nastanek prostaglandinov v telesu. ....	13
<b>Slika 5:</b> Kemijska struktura valsartana. ....	14
<b>Slika 6:</b> Pridobivanje valsartana. ....	15
<b>Slika7:</b> Prikaz delovanja valsartana. ....	16
<b>Slika 8:</b> Naprava za merjenje velikosti kapljic notranje faze Zeta sizer Nano. ....	26
<b>Slika 9:</b> Naprava za izvajanje preskusa sproščanja VK 7000 – Vankel. ....	27
<b>Slika10:</b> HPLC, naprava za določanje koncentracije učinkovin. ....	29
<b>Slika 11:</b> Umeritvena krivulja in enačba premice ibuprofena. ....	30
<b>Slika 12:</b> Enačba premice za izračun koncentracije valsartana. ....	31
<b>Slika 13:</b> Primerjava določenih nasičenih topnosti ibuprofena in valsartana v komponentah SMES-a. ....	33
<b>Slika 14:</b> Premer kapljic po dispergiranju SME pripravkov z ibuprofenom v vodi. ....	35
<b>Slika 15:</b> Primerjava velikosti kapljic nastalih disperzij valsartana v vodi. ....	36
<b>Slika 16:</b> Premeri kapljic po dispregiranju SME formulacij z ibuprofenom v pufru s pH=1,2. ....	37
<b>Slika17:</b> Premeri kapljic nastalih po dispergiranju SME formulacij valsartana v pufru s pH=1,2. ....	38
<b>Slika 18:</b> Izmerjeni premer kapljic SMES-ov z ibuprofenom v pufru s pH=6,8. ....	39
<b>Slika 19:</b> Izmerjeni premeri kapljic SME formulacij z valsartanom v pufru s pH=6,8. ....	40

<b>Slika 20:</b> Trdna želatinasta kapsula velikosti 0, v katero smo polnili tekoči SMES z vgrajeno učinkovino. ....	43
<b>Slika 21:</b> Primerjava sproščanja čistega ibuprofena v prahu s sproščanjem iz IBU-SMES v pufru pH=1,2 z 0,5 % Tweena <sup>®</sup> 20. ....	44
<b>Slika 22:</b> Profil sproščanja čistega valsartana in valsartana iz VAL-SMES v pufru s pH=1,2. ....	45
<b>Slika 23:</b> Sproščanje čistega ibuprofena in ibuprofena po vgradnji v tekoči SMES v fosfatnem pufru. ....	46
<b>Slika 24:</b> Primerjava sproščanja čistega valsartana s sproščanjem valsartana iz VAL-SMES v pufru pH=6,8. ....	46
<b>Slika 25:</b> Primerjava profilov sproščanja ibuprofena iz SME praškov v pufru pH=1,2 z 0,5 % Tweena <sup>®</sup> 20. ....	48
<b>Slika 26:</b> Sproščanje valsartana iz SME praškov v pufru s pH=1,2. ....	49
<b>Slika 27:</b> Profili sproščanja ibuprofena iz SME praškov v pufru s pH=6,8. ....	51
<b>Slika 28:</b> Primerjava sproščanja valsartana iz SME praškov v pufru s pH=6,8. ....	52
<b>Slika 29:</b> Sproščanje ibuprofena iz SME tablet v pufru s pH=1,2 z 0,5 % Tweena <sup>®</sup> 20 ...	53
<b>Slika 30:</b> Primerjava sproščanja valsartana iz SME tablet v pufru s pH=1,2. ....	55
<b>Slika 31:</b> Profili sproščanja ibuprofena iz SME tablet v pufru s pH=6,8. ....	56
<b>Slika 32:</b> Sproščanje valsartana iz SME tablet v pufru s pH=6,8. ....	56

## KAZALO PREGLEDNIC

<b>Preglednica I:</b> Pregled zdravil v obliki SMES-ov na tržišču. Povzeto po (14, 16). .....	7
<b>Preglednica II:</b> Sestavine tekočega SMES-a. Povzeto po (52). .....	22
<b>Preglednica III:</b> Sestava zmesi za tabletiranje: količina, delež (m/m) in vloga posamezne sestavine. Povzeto po (52). .....	24
<b>Preglednica IV:</b> Položaj pečatov pri stiskanju tablet. Povzeto po (52). .....	24
<b>Preglednica V:</b> Uporabljena sila stiskanja posameznih serij tablet. ....	25
<b>Preglednica VI:</b> Primerjava povprečnih velikosti kapljic po samomikroemulgiranju (nm). .....	41
<b>Preglednica VII:</b> PDI s SD po dispergiranju SME formulacij z ibuprofenom v različnih medijih. ....	42
<b>Preglednica VIII:</b> PDI s SD, ki smo ga izmerili po dispergiranju formulacij z valsartanom v različnih medijih. ....	42

## POVZETEK

Slaba topnost in posledično nizka biološka uporabnost učinkovin je ena izmed glavnih težav, s katero se farmacevtski tehnologi soočajo v zadnjem času. Vgradnja slabo topnih učinkovin v samomikroemulgirajoče sisteme je moderen, enostaven in za industrijo cenovno ugoden način povečanja biološke uporabnosti. Samomikroemulgirajoči sistemi (SMES) so definirani kot izotropne zmesi lipidov, površinsko aktivnih snovi (PAS), enega ali več hidrofilnih sopolimerov ali koemulgatorjev in aktivne učinkovine. Ti v stiku z vodo, ob rahlem mešanju (zadostuje že peristaltika prebavnega trakta), hitro in spontano tvorijo mikroemulzije tipa olje v vodi (O/V). Glavna pomanjkljivost SMES-ov je njihovo največkrat tekoče agregatno stanje, saj so trdne farmacevtske oblike še vedno najbolj zaželeno tako s strani proizvajalcev kot s strani uporabnikov. To težavo lahko odpravimo z adsorpcijo tekočih SMES-ov na trdne porozne nosilce, pri čemer dobimo samomikroemulgirajoče (SME) praške. Z dodajanjem pomožnih snovi za tabletiranje pa lahko izdelamo tudi SME tablete. Vendar pa je potrebno upoštevati, da se pri sproščanju iz trdnih SMES-ov pogosto sprosti manj učinkovine zaradi nepopolne desorpcije iz praškastih nosilcev.

V magistrski nalogi smo vrednotili vpliv topnosti učinkovin v različnih sestavinah SMES-a na *in vitro* obnašanje trdnih SMES-ov. Kot modelni učinkovini smo uporabili nesteroidni antirevmatik ibuprofen in antagonist angiotenzinskih receptorjev valsartan. Obe učinkovini sta slabo vodotopni in sodita v razred II biofarmaceutskega klasifikacijskega sistema (BCS). Z določanjem nasičene topnosti obeh učinkovin v posameznih sestavinah SMES-a smo ugotovili, da je ibuprofen bolj topen v površinsko aktivnih snoveh kot v oljnih komponentah. Topnost ibuprofena v Cremophorju<sup>®</sup> EL je znašala 0,265 mg/mg, v Cremophorju<sup>®</sup> RH40 0,299 mg/mg, v Capmulu<sup>®</sup> in ricinusovem olju pa je bila približno enkrat manjša (okoli 0,130 mg/mg). Pri valsartanu pa se je izkazalo, da je njegova topnost v Capmulu<sup>®</sup> (0,558 mg/mg) višja od topnosti v površinsko aktivnih snoveh (približno 0,410mg/mg).

Učinkovini (25 mg ibuprofena in 15 mg valsartana) smo raztopili v tekočem SMES-u, nato pa le-tega adsorbirali na trdne porozne nosilce z enostavnim mešanjem v pateni. Tako smo dobili SME praške. Kot nosilce smo uporabili Neusilin<sup>®</sup> US2, Sylysio<sup>®</sup> 350 in Syloid<sup>®</sup>



244FP. Dobljenim SME praškom smo dodali pomožne snovi za tabletiranje in s tabletirko na udarec ročno izdelali SME tablete.

Vsem pripravljenim SME formulacijam (tekoči SMES, SME praški in SME tablete) smo izmerili velikost kapljic notranje faze po dispergiranju v treh različnih medijih: vodi, pufru s pH=1,2 in pufru s pH=6,8. Ugotovili smo, da je velikost kapljic notranje faze odvisna tako od fizikalnokemijskih lastnosti učinkovine, kot od medija, uporabljenega za dispergiranje. Premer kapljic dispergiranega tekočega SMES-a je bil manjši v mediju z višjim pH v primerjavi s kislim medijem. Meritve so pokazale tudi, da v večini primerov formulacije z valsartanom tvorijo manjše ali podobno velike kapljice kot SMES-i z ibuprofenom. Prav tako smo opazili, da se je pri ibuprofenu velikost kapljic po adsorpciji na trdne nosilce povečala, medtem ko je bil pri valsartanu rezultat v primeru praška z Neusilinom<sup>®</sup> US2 obraten. Premer kapljic po dispergiranju SME tablet je bil pri SMES-ih z ibuprofenom večji v primerjavi s tekočim SMES-om, pri valsartanu pa manjši. Pri obeh učinkovinah pa so po dispergiranju SME tablet nastale manjše kapljice kot pri SME praških.

Na koncu smo opravili še *in vitro* test sproščanja za vse pripravljene SMES-e. Uporabili smo dva različna medija, kisel pufer s pH=1,2 in fosfatni pufer s pH=6,8. Dobljeni profili sproščanja potrjujejo, da gre v vseh primerih za sisteme z neprerejenim sproščanjem. Iz rezultatov je razvidno, da vgradnja obeh učinkovin v tekoči SMES pospeši njuno sproščanje v primerjavi s čistima učinkovinama v obeh uporabljenih medijih ter poveča delež sproščenega valsartana v kislem pufru. Sproščanje obeh učinkovin iz SME praškov in SME tablet je bilo v splošnem manjše in počasneje v primerjavi s sproščanjem iz tekočih SMES-ov, vendar je bila omenjena razlika v fosfatnem pufru bolj opazna pri ibuprofenu kot pri valsartanu. V kislem mediju je bil delež sproščenega valsartana iz trdnih SMES-ov večji kot pri čisti učinkovini, pri ibuprofenu pa velja nasprotno. V tem mediju se je zmanjšal obseg sproščene učinkovine iz trdnih SMES-ov pri obeh vzorčnih učinkovinah (izjema so formulacije ibuprofena, ki so kot nosilec vsebovale Neusilin<sup>®</sup> US2). V pufru s pH=6,8 pa sta se obe učinkovini sprostili v celoti iz vseh formulacij, a z različno hitrostjo. Opazili smo tudi, da je bilo sproščanje valsartana iz SME tablet in iz SME praškov v fosfatnem pufru hitrejše v primerjavi s sproščanjem ibuprofena iz trdnih SMES-ov.

Na osnovi dobljenih rezultatov lahko zaključimo, da je topnost učinkovin v sestavinah SMES-a pomemben parameter, ki lahko napove sproščanje učinkovin iz trdnih SMES-ov in ga je smiselno upoštevati pri načrtovanju le-teh.

**KLJUČNE BESEDE:** ibuprofen, valsartan, trdni samomikroemulgirajoči sistemi, topnost, *in vitro* test sproščanja

## ABSTRACT

Poor solubility and consequently low bioavailability of active ingredients is one of the main issues that the pharmaceutical technologists are facing nowadays. Incorporation of poorly soluble drugs in self-microemulsifying systems is a modern, simple and economical way to increase their bioavailability. Self-microemulsifying systems (SMES) are defined as isotropic mixtures of lipids, surfactants, one or more hydrophilic cosolvents or coemulgators and active substances. They in contact with aqueous media, under gentle stirring (peristaltic of the digestive tract is enough), quickly and spontaneously form a microemulsion type oil/water (O/W). The main disadvantage of SMES is their usually liquid physical state because the solid pharmaceutical forms are still preferable from both manufacturers and the users. This problem can be easily solved through adsorption of liquid SMES into solid porous carriers. As a result, self-microemulsifying (SME) powders are achieved. By adding excipients we can also produce SME tablets. However, a problem which often occurs with the release of active ingredient from solid SMES is the incomplete desorption of the active ingredient.

The goal of this master thesis was to evaluate the effect of solubility of active ingredients incorporated on *in vitro* behavior of solid SMES formulations. NSAID ibuprofen and the angiotensin receptor antagonist valsartan were used as model substances. Both substances are poorly soluble and belong to the class II BCS system. By determining solubility of these agents in the individual ingredients of SMES, we found that the ibuprofen is more soluble in the surfactant than in the oily component. The solubility of ibuprofen in Cremophor<sup>®</sup> EL amounted to 0.265 mg/mg in Cremophor<sup>®</sup> RH40 0299 mg/mg in Capmul<sup>®</sup> and castor oil was around 0,130mg/mg. In the case of valsartan, it has been shown that its solubility in Capmul<sup>®</sup> (0,558 mg/mg) is higher than the solubility in surfactants (about 0,410 mg/mg).

The active ingredients (25 mg of ibuprofen and 15 mg of valsartan) were dissolved in liquid self-microemulsifying system, then absorbed on the solid porous carriers with simple mixing in the paten. Thus SME powders were obtained. We used Neusilin<sup>®</sup> US2, Sylysia<sup>®</sup> 350 and Syloid<sup>®</sup> 244 FP as carries. We added excipients for tableting to the obtained SME powder, and manually produced SME tablets, using a tableting machine.

We measured the droplet size of the dispersion of the internal phase to the obtained SME formulations in three different media: water, pH=1.2 and a buffer of pH=6.8. We have found that the size of droplets of internal phase depends on both the physico-chemical properties of the active ingredient, and the medium used for the dispersion. Droplets of dispersed liquid SMES were lower in the medium with a higher pH compared to acidic media. Measurements have also shown that generally formulations with valsartan form smaller or similar sized droplets, compared to SMES with ibuprofen. After the adsorption on solid carriers, droplet size for ibuprofen formulations increase. The results for valsartan formulations in the case of powder with Neusilin<sup>®</sup> US2 are opposing. Dispersing SME tablets resulted in larger droplets compared to liquid SMES in the case of SMES with ibuprofen. For valsartan formulations, this is not the case. However, dispersing SME tablets led to smaller droplets compared with SME powders, for both active ingredients.

Finally, we have conducted an *in vitro* release test for all prepared formulations. We used two different media, acid buffer at pH=1.2 and phosphate buffer with pH=6.8. The obtained release profiles confirm systems with non-customized release in all of the cases. Our results show that incorporation of both substances in liquid SMES accelerates their release in both the media and increases the rate of valsartan, released in the acidic buffer. The release of the two active ingredients from SME powders and SME tablets was generally lower and slower in comparison with the release from liquid SMES. In phosphate buffer, this difference was more noticeable for ibuprofen as valsartan. In acidic medium, the rate of released valsartan from solid SMES was greater compared with the pure substance. In the case of ibuprofen formulations, the opposite applies. In the latter medium the extent of the active ingredient released from the solid SMES for both sample substances was reduced (with the exception of ibuprofen formulations, which contain Neusilin<sup>®</sup> US2 as carrier). In the buffer of pH=6.8 both active substances released completely from all formulations. We have also observed that the valsartan release from SME tablets and SME powders in the phosphate buffer was faster compared to the release of ibuprofen from the solid SMES.

According to the results, obtained in the research work, it can be concluded that the solubility of active ingredients in the SMES is an important parameter which can predict the release of the active ingredient from solid SMES and it is a reasonable factor to take into account in their design.

**KEY WORDS:** ibuprofen, valsartan, solid self-microemulsifying systems, solubility, *in vitro* release test

## SEZNAM OKRAJŠAV

ACE – angiotenzinska konvertaza

BCS – biofarmacevtski klasifikacijski sistem (angl.: Biopharmaceutical Classification System)

COX – ciklooksigenaza

FDA – Ameriški vladni urad za hrano in zdravila (angl.: Food and Drug Administration)

GIT – gastrointestinalni trakt

HLB – hidrofilno-lipofilno ravnotežje (angl.: Hydrophilic-Lipophilic Balance)

HPLC – tekočinska kromatografija visoke zmogljivosti (angl.: High Performance Liquid Chromatography)

IBU – čisti ibuprofen v prahu

I-Neusilin-P – samomikroemulgirajoči prašek z vgrajenim ibuprofenom in Neusilinom<sup>®</sup> US2 kot nosilcem

I-Neusilin-T – samomikroemulgirajoča tableta z vgrajenim ibuprofenom in Neusilinom<sup>®</sup> US2 kot nosilcem

IBU-SMES – tekoči samomikroemulgirajoči sistem z vgrajenim ibuprofenom

I-Syloid-P – samomikroemulgirajoči prašek z vgrajenim ibuprofenom in Syloidom<sup>®</sup> 244FP kot nosilcem

I-Syloid-T – samomikroemulgirajoča tableta z vgrajenim ibuprofenom in Syloidom<sup>®</sup> 244FP kot nosilcem

I-Sylisia-P - samomikroemulgirajoči prašek z vgrajenim ibuprofenom in Sylisio<sup>®</sup> 350 kot nosilcem

I-Sylisia-T – samomikroemulgirajoča tableta z vgrajenim ibuprofenom in Sylisio<sup>®</sup> 350 kot nosilcem

NSAID – nesteroidni antirevmatiki

O/V – olje v vodi

PAS – površinsko aktivna snov

PDI – polidisperzni indeks

PLA<sub>2</sub> – fosfolipaza A<sub>2</sub>

SME – samomikroemulgirajoči

SMES – samomikroemulgirajoči sistem

VAL – čisti valsartan v prahu

V-Neusilin-P – samomikroemulgirajoči prašek z vgrajenim valsartanom in Neusilinom<sup>®</sup>  
US2 kot nosilcem

V-Neusilin-T – samomikroemulgirajoča tableta z vgrajenim valsartanom in Neusilinom<sup>®</sup>  
US2 kot nosilcem

VAL-SMES – tekoči samomikroemulgirajoči sistem z vgrajenim valsartanom

V-Syloid-P – samomikroemulgirajoči prašek z vgrajenim valsartanom in Syloidom<sup>®</sup>  
244FP kot nosilcem

V-Syloid-T – samomikroemulgirajoča tableta z vgrajenim valsartanom in Syloidom<sup>®</sup>  
244FP kot nosilcem

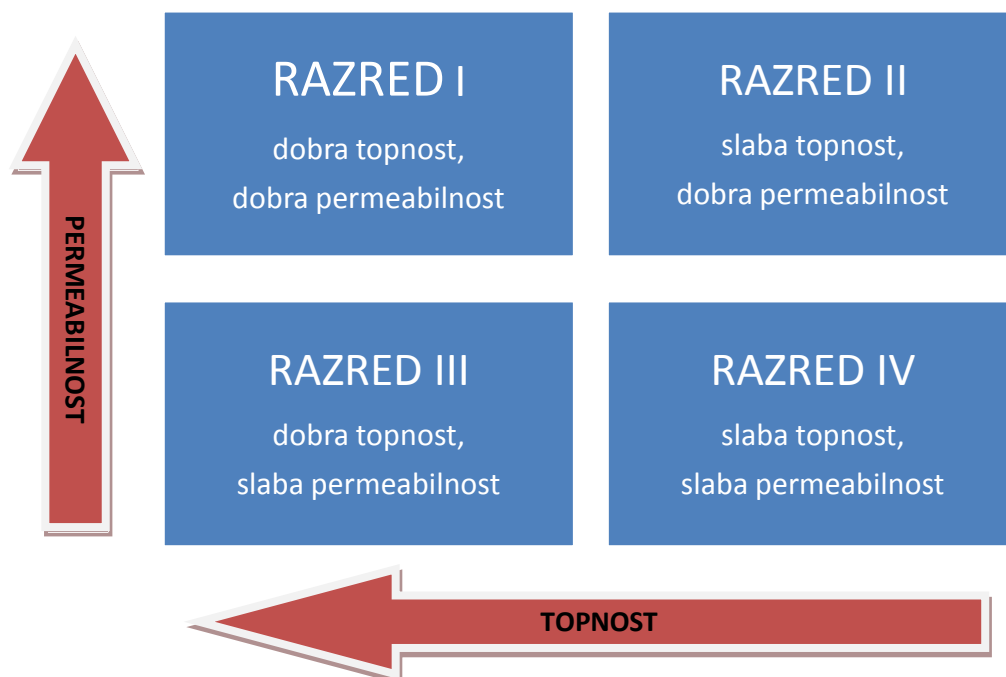
V-Sylysia-P - samomikroemulgirajoči prašek z vgrajenim valsartanom in Sylysio<sup>®</sup> 350 kot  
nosilcem

V-Sylysia-T – samomikroemulgirajoča tableta z vgrajenim valsartanom in Sylysio<sup>®</sup> 350  
kot nosilcem

## 1. UVOD

Peroralna aplikacija trdnih farmacevtskih oblik je za paciente najbolj priljubljen in enostaven način jemanja zdravil, zlasti pri kroničnih terapijah. Vendar pa so na novo odkrite zdravilne učinkovine pogosto slabo vodotopne in/ali slabo permeabilne. To onemogoča njihovo peroralno uporabo in prodor na trg, zato znanstveniki razvijajo nove farmacevtske oblike, pri čemer je zelo pomembno razumevanje fizikalnokemijskih in biofarmacevtskih lastnosti zdravilne učinkovine (1).

Amidon je leta 1995 zdravilne učinkovine razvrstil v štiri razrede glede na njihovo vodotopnost in permeabilnost epitelija gastrointestinalnega trakta (GIT). Nastal je biofarmacevtski klasifikacijski sistem (BCS), ki omogoča lažjo razlago in napoved dejavnikov, ki vplivajo na hitrost in obseg absorpcije učinkovine (slika 1). Ameriški vladni urad za hrano in zdravila (FDA ali Food and Drug Administration) kot dobro topno učinkovino opredeli tisto, katere največji terapevtski odmerek se raztopi v 250 ml vodnega medija ali manj, pri pH 1-7,5 in temperaturi 37°C. Za dobro permeabilno učinkovino pa velja tista, katere absorpcija po peroralni aplikaciji je večja od 90% v primerjavi z intravensko aplikacijo referenčnega odmerka (1,2).



Slika 1: Prikaz BCS sistema.



V razred I sodijo učinkovine, ki so dobro topne in dobro permeabilne, na primer salicilna kislina, verapamil in lidokain. V razredu II so učinkovine, ki se slabo topijo v vodi, a dobro prehajajo sluznico GIT. To so na primer naproksen, lovastatin ter ritonavir. Za učinkovine v razredu III (npr. kaptopril, aciklovir, amoksisicilin) velja obratno, da so dobro topne in slabo permeabilne, medtem ko so v razredu IV učinkovine, ki imajo slabo izražene obe lastnosti tako topnost, kot permeabilnost (metotreksat, furosemid, amfotericin B) (2,3).

Največji izziv na področju farmacevtske tehnologije predstavljajo substance iz razreda II. Če je učinkovina dobro permeabilna, je omejujoč dejavnik njena topnost, ki jo lahko izboljšamo z različnimi metodami. Najpogosteje se v ta namen uporablja kristalna modifikacija, zmanjšanje velikosti delcev, vgradnja učinkovin v ciklodekstrine, pretvorba kristalinične snovi v amorfno in ne nazadnje tudi vgradnja učinkovine v na lipidih osnovane sisteme (2,3).

### **1.1. NA LIPIDIH OSNOVANI DOSTAVNI SISTEMI**

Topnost učinkovine skozi GIT po peroralni aplikaciji zelo variira. Odvisna je od mnogih dejavnikov (1,2):

- fizikalnokemijske lastnosti učinkovine: pKa, lipofilnost, tvorba vodikovih vezi, velikost in površina delcev, difuzivnost, kristaliničnost...;
- fiziološke lastnosti prebavnega trakta: variabilen pH vzdolž GIT, temperatura, volumen medija za raztapljanje, peristaltika prebavnega trakta;
- zdravstveno stanje in starost posameznika: Kot primer lahko navedemo osebe, ki so okužene z virusom HIV. Te imajo višji pH GIT-a v primerjavi z zdravimi osebami. Pri obolelih za cistično fibrozo pa je pH v prebavnem traktu nižji. Prav tako je dokazano, da je pri starejših od 65 let pH želodca na tešče višji od 6;
- vpliv hrane in zdravil: Nekatera zdravila (npr. antacidi) spremenijo pH v prebavnem traktu, kar vpliva na topnost učinkovine. Tako topnost kot absorpcija učinkovine sta povezani tudi z vrsto in količino zaužite hrane. Znano je, da hrana, ki vsebuje veliko maščob, poveča topnost hidrofobnih učinkovin (1,2,3).

Slaba topnost učinkovin lahko zelo omeji njihovo biološko uporabnost. Eden izmed pogostih, modernih in učinkovitih pristopov za reševanje tega problema so na lipidih osnovani sistemi. Ti so lahko sestavljeni iz samih oljnih komponent, lahko pa gre za

kompleksnejše zmesi olj, površinsko aktivnih snovi in sotopil. Pouton je predlagal klasifikacijski sistem na lipidih osnovanih sistemov, kjer so formulacije razvrščene v štiri razrede glede na delež hidrofilne faze sistema. Omenjeni sistem nam olajša izbiro formulacije v odvisnosti od fizikalnokemijskih lastnosti učinkovine (4,5).

Pripravki razreda I vsebujejo samo oljne komponente, trigliceride oz. mešane gliceride, v katerih je raztopljena ZU. Ti se prebavijo do 2-monogliceridov oz. prostih maščobnih kislin, ki z žolčnimi kislinami in fosfolipidi tvorijo micele, v katerih se ZU solubilizira. Ta tip formulacije je primeren za učinkovine z  $\log P > 4$  (4,5).

Formulacije razreda II tvorimo tako, da oljnim komponentam dodamo površinsko aktivne snovi s  $HLB < 12$ . Vsebnost emulgatorjev je med 20 in 60%. Od deleža emulgatorja so odvisne samo(mikro)emulgirajoče lastnosti. Pri nižjih vrednostih, okoli 25%, pride v stiku z vodno fazo do samoemulgiranja in se tvori emulzija tipa O/V. Pri višjih deležih (okoli 65%) pa proces ovira tvorba viskoznih tekočih kristalov na medfazni površini med zunanjo in notranjo fazo emulzije (1,5).

Formulacije razreda III so sestavljene iz gliceridov (mono-, di- in tri-gliceridov), PAS s  $HLB > 12$  in hidrofilnih sotopil. To skupino delimo na dve podskupini, IIIA in IIIB, ki se med seboj razlikujeta po deležu posameznih sestavin sistema in po velikosti kapljic, ki jih tvorita po dispergiranju. IIIA pripravki vsebujejo 40-80% lipidnih komponent, 20-40% PAS in 0-40% sotopil, medtem ko IIIB vsebujejo manjši delež lipidov (<20%) ter 20-50% PAS in sotopil. IIIA sistemi v stiku z vodnim medijem tvorijo kapljice, velikosti 100-250 nm, IIIB pa 50-100 nm velike kapljice (4,5).

Sistemi tipa IV ne vsebujejo lipidnih sestavin. Sestavljeni so iz PAS s  $HLB < 12$  (0-20%), PAS s  $HLB > 12$  (20-80%) in hidrofilnih sotopil (0-80%). Težava pri teh sistemih je, da velika količina PAS lahko draži sluznico GIT. Velika vsebnost hidrofilnih emulgatorjev je problematična tudi zato, ker lahko pride do obarjanja učinkovine pri potovanju skozi GIT (4,5).

Za raziskovalce so v zadnjem času predvsem zanimivi samo(mikro)emulgirajoči sistemi, ki sodijo v razred III Poutonovega sistema. Kot kažejo raziskave, je z vgradnjo učinkovine v te sisteme možno povečati topnost učinkovin in omogočiti večjo in bolj ponovljivo biološko uporabnost učinkovin. Slednje so dokazali na primeru furosevida (6),

atorvastatina (7), kurkumina (8), resveratrola (9), itrokonazola (10) in tudi ibuprofena (11,12) ter valsartana (13).

## 1.2. SAMOMIKROEMULGIRAJOČI SISTEMI

Podatki kažejo, da je približno 40% na novo odkritih potencialnih učinkovin slabo vodotopnih in zaradi tega izločenih iz nadaljnjih raziskav. Vgradnja lipidnih učinkovin v samomikroemulgirajoče sisteme je enostaven, za industrijo cenovno ugoden način povečanja biološke uporabnosti. Samomikroemulgirajoči sistemi so definirani kot izotropne zmesi lipidov, površinsko aktivnih snovi, enega ali več hidrofilnih sopolimerov ali koemulgatorjev in zdravilne učinkovine. Ti v stiku z vodo, ob rahlem mešanju (zadostuje že peristaltika prebavnega trakta), hitro in spontano tvorijo mikroemulzije tipa O/V. Velikost kapljic po dispergiranju je manjša od 500 do 1000 nm, porazdelitev le-teh pa je ozka. Učinkovina, ki jo vgradimo v SMES, je v nastali (mikro)emulziji raztopljena v drobnih kapljicah in tako takoj na voljo za absorpcijo (5,14).

Mehanizem samomikroemulgiranja zaenkrat še ni natančno pojasnjen. Domnevajo, da naj bi samomikroemulgiranje poteklo takrat, ko je sprememba entropije zaradi dispergiranja večja od energije, ki je potrebna za povečanje površine ob dispergiranju. V tem primeru je prosta energija negativna oz. zelo nizko pozitivna, kar je razlog za spontan nastanek mikroemulzije (5,14).

Načrtovanje SMES-ov je zelo obsežen proces in zajema izbor ustrezne kombinacije olj in PAS ter določanje optimalnega razmerja med posameznimi sestavinami v formulaciji. Uporabljene komponente morajo biti fiziološko sprejemljive in varne. Seveda pa so pomembne tudi fizikalno-kemijske lastnosti učinkovine, ki jo bomo vgradili. Ta mora biti topna v vseh komponentah sistema in v končni formulaciji. S skrbnim načrtovanjem in izborom sestavin želimo doseči maksimalno vsebnost vgrajene učinkovine, najmanjšo velikost kapljic po dispergiranju formulacije, najkrajši čas samomikroemulgiranja, zmanjšanje razlik v premeru kapljic v odvisnosti od pH vodnega medija in zmanjšati metabolizem v fizioloških pogojih (5,14).

SMES izdelamo z enostavnim mešanjem sestavin. Najpomembnejša sestavina samomikroemulgirajočih sistemov so lipidi. Lipidi omogočajo raztapljanje lipofilne učinkovine, olajšajo samomikroemulgiranje in povečajo absorpcijo. Najpogosteje

uporabljamo polysintezne lipide. Za izdelavo lahko uporabimo različno nasičene, srednjeveržne ali dolgoveržne trigliceride. Srednjeveržni trigliceridi se pogosteje uporabljajo kot dogloveržni, saj imajo boljšo sposobnost raztapljanja in samoemulgiranja ter boljšo kemično stabilnost formulacije in vgrajene učinkovine. Lipidi vplivajo na biološko uporabnost vgrajenih učinkovin preko različnih mehanizmov, na primer spremembe hitrosti raztapljanja, topnosti v prebavnih sokovih, zaščita učinkovin pred encimsko in kemijsko razgradnjo in tvorba lipoproteinov. Na izbor lipida vpliva tudi želena pot absorpcije vgrajene učinkovine. Porazdeljevanje med limfo in krvjo je odvisno od dolžine verig maščobnih kislin v uporabljenih trigliceridih, od stopnje njihove nasičenosti in od količine lipida. Če želimo učinkovino transportirati preko portalnega obtoka v centralni krvni obtok, za izdelavo sistema uporabimo kratko- in/ali srednje dolgo veržne maščobne kisline. Uporaba dolgo veržnih maščobnih kislin in monogliceridov pa omogoča absorpcijo preko limfnega obtoka v sistemski krvni obtok. Z vplivom na pot absorpcije lahko sočasno vplivamo tudi na obseg metabolizma prvega prehoda (5,14).

Površinsko aktivne snovi, ki jih uporabljamo pri izdelavi SMES-ov, znižajo medfazno napetost in omogočajo gibljivost emulgatorskega filma na medfazni površini. Vplivajo na proces samomikroemulgiranja in porazdelitev nastale mikroemulzije po prebavnem traktu. Povečujejo tudi topnost učinkovine in tako vplivajo na absorpcijo, saj preprečujejo obarjanje učinkovine v lumnu GIT in podaljšujejo čas, ko je učinkovina raztopljena. PAS tudi povečajo permeabilnost skozi epitelij prebavnega trakta, rahljajo tesne stike in inhibirajo encima P-gp ali/in CytP450. Navadno imajo visoke HLB vrednosti. Pri izbiri PAS je odločujoč dejavnik varnost, zato se pogosteje uporabljajo naravni emulgatorji, katerih sposobnost emulgiranja je sicer slabša, a so dosti bolj varni. Neionski emulgatorji veljajo za bolj primerne, zlasti zaradi manjše toksičnosti in tudi neodvisnosti od pH in ionske moči. Običajne koncentracije uporabljenih emulgatorjev so med 30 in 60%, vendar težimo k uporabi čim nižjih koncentracij, da bi se izognili draženju prebavnega trakta. (5,14).

Sotopila dodajamo v SMES-e zato, da povečamo topnost učinkovine in hidrofilnega emulgatorja v lipidni podlagi. Najpogosteje za sisteme za peroralno uporabo uporabljamo etanol, propilen glikol, polietilen glikol. Sotopila imajo večkrat tudi vlogo koemulgatorja (5,14).

Zanimanje za vgradnjo učinkovin v SMES-e se je v zadnjem času zelo povečalo zaradi številnih prednosti, ki jih ta farmacevtska oblika prinaša:

- največja prednost je povečanje biološke uporabnosti učinkovine po peroralni aplikaciji. Učinkovina je v SMES-u raztopljena v majhnih kapljicah. Te imajo veliko specifično površino, učinkovina pa je v raztopljenem stanju, kar vodi do boljše biološke uporabnosti;
- enostavna izdelava in scale-up so lastnosti SMES-ov, ki dodatno povečajo zanimanje farmacevtske industrije za tovrstno povečanje biološke uporabnosti;
- zmanjšanje inter- in intraindividualnih razlik;
- zmanjšanje vpliva hrane;
- možnost vgradnje peptidov, hormonov, substratov in inhibitorjev encimov;
- velika kapaciteta vgradnje učinkovine;
- povečanje stabilnosti učinkovin;
- ciljana dostava učinkovin.

Slaba stran SMES-ov je ta, da gre za farmacevtsko obliko, ki je pri sobni temperaturi največkrat v tekočem agregatnem stanju, take farmacevtske oblike pa so s strani pacientov slabše sprejete. S tem se povečajo tudi stroški proizvodnje. Tekoče farmacevtske oblike so tudi manj stabilne, odmerjanje pa večkrat oteženo in nenatančno. Večkrat je lahko problematičen tudi okus, ki ga pri tekočih farmacevtskih oblikah težje zakrijemo. Težava pa lahko nastopi tudi pri višjih koncentracijah PAS, ker lahko poškodujejo sluznico prebavnega trakta (14,15).

Glede na dokazane prednosti SMES-ov bi na tržišču pričakovali več zdravil v omenjeni tehnološki formulaciji, kot jih je dejansko. Nekatera so predstavljena v preglednici I (14,16). Vzrok temu je verjetno pomanjkanje hitrih analiznih metod, malo literaturnih podatkov o študijah na ljudeh ter omejeno poznavanje parametrov, ki vplivajo na obnašanje sistemov *in vivo* (14).

Preglednica I: Pregled zdravil v obliki SMES-ov na tržišču. Povzeto po (14, 16).

TRŽNO IME (PODJETJE)	UČINKOVINA	TIP FORMULACIJE
Sandimmune Neoral <sup>®</sup> (Novartis)	Ciklosporin A	Mehke želatinaste kapsule, Peroralna raztopina
Sandimmune <sup>®</sup> (Novartis)	Ciklosporin A	Mehke želatinaste kapsule, Peroralna raztopina
Fortovase <sup>®</sup> (Roche)	Saquinavir	Mehke želatinaste kapsule
Norvir <sup>®</sup> (Abbott)	Ritonavir	Mehke želatinaste kapsule
Agenerase <sup>®</sup> (GlaxoSmithKline)	Amprenavir	Mehke želatinaste kapsule Peroralna suspenzija

### 1.3. TRDNI SMES

Trdne farmacevtske oblike so najbolj zaželene tako s strani uporabnikov kot proizvajalcev. Zato v zadnjem času farmacevtski tehnologi posvečajo veliko pozornosti pretvorbi tekočih SMES-ov v trdne. Na ta način lahko združimo prednosti trdnih farmacevtskih oblik in SMES-ov. Obstaja več tehnik, katerih se v ta namen lahko poslužujemo.

#### 1.3.1. Polnjenje tekočih SMES-ov v trdne ali mehke želatinaste kapsule

Najbolj enostavna tehnika za spremembo tekočega SMES-a v trdno farmacevtsko obliko je polnjenje v kapsule. Ovojnica kapsul je največkrat iz želatine, kateri za prilagajanje konsistence dodajamo plastifikatorje. Lahko pa vsebuje tudi druge pomožne snovi npr. barvila, korigense okusa in vonja, sladila, konzervanse... Poznamo dve vrsti kapsul, trdne in mehke. Trdne kapsule so sestavljene iz dveh vnaprej pripravljenih cilindričnih delov in največkrat vsebujejo zdravilno učinkovino v obliki prahu ali zrn. Ovojnica mehkih kapsul pa je iz enega dela in je debelejša kot pri trdnih kapsulah. Mehke kapsule lahko izdelamo, polnimo in zapremo v enem samem postopku. So različnih oblik in pogosto napolnjene s tekočo ali pastozno vsebino. Tudi SMES-i so največkrat v tekočem agregatnem stanju, zato ne preseneča podatek, da so trenutno edina registrirana zdravila s SMES ravno v obliki mehkih kapsul. To tehniko uporabljamo pri učinkovinah, ki imajo nizke terapevtske odmerke. Slabost je ta, da so lahko nekatere sestavine tekočega SMES-a inkompatibilne z ovojnico kapsule. (16,17,18).

### 1.3.2. Adsorpcija na trdne porozne nosilce

Gre za zelo enostavno, v raziskavah najpogosteje uporabljeno tehniko, kjer tekoči SMES adsorbiramo na primeren trden nosilec z mešanjem v pateni ali mešalniku. Kot trdne nosilce najpogosteje uporabimo mikroporozno, anorgansko substanco z veliko specifično površino na primer silikate, magnezijeve trisilikate, smukec, premreženo natrijevo karboksimetil celulozo in druge. Nosilec izberemo glede na sposobnost adsorpcije SMES-a, kompatibilnost z učinkovino in primernost za peroralno uporabo. Glavna prednost te tehnike je, da je vsebnost učinkovine v končnem produktu zelo enakomerna. Delce, narejene s to tehniko lahko polnimo v kapsule ali pa jih stiskamo v tablete. Slabost omenjenega postopka je ta, da končna farmacevtska oblika vsebuje manjšo količino učinkovine (17).

### 1.3.3. Sušenje z razprševanjem

Pri tem procesu najprej sestavine SMES-a, učinkovino in trdni nosilec raztopimo v ustreznem topilu. Pripravljeno raztopino razpršimo skozi šobo v komoro z vročim suhim zrakom. Tekočina se razprši v obliki drobnih kapljic z veliko specifično površino, kar omogoča hitro izparevanje topila in nastanek trdnih sferičnih delcev enakomernih velikosti. Delci so po navadi majhni in izkazujejo dobre pretočne lastnosti, poveča pa se tudi hitrost raztapljanja, saj ZU preide iz kristalinične v amorfnobliko. Nadalje dobljene delce lahko stiskamo v tablete oz. polnimo v kapsule. Procesne parametre, kot so temperatura vhodnega in izhodnega zraka, tlak na šobi in hitrost pretoka tekočine, je potrebno skrbno načrtovati v odvisnosti od želenih lastnosti končne formulacije in stabilnosti učinkovine. Pomembna je tudi izbira topila (17).

### 1.3.4. Granuliranje s talinami

To je proces, kjer za izdelavo zrn namesto veziva uporabljamo talino. Kot enostopenjski proces ima številne prednosti: enostavnost, ekonomičnost, odsotnost tekočine (topila), postopek izvajamo na eni aparaturi (one pot procedure)... Primeren je tudi za učinkovine, ki so občutljive na vlago, manj pa za termolabilne učinkovine, saj povišana temperatura procesa lahko povzroči razpad le-teh. Proces izvajamo v hitrovrtečem mešalniku. Glavni parametri granulacijskega procesa so temperatura, hitrost vrtenja, čas mešanja, velikost in viskoznost kapljic veziva (17).

### 1.3.5. Iztiskanje talin

Iztiskanje talin je proces, pri katerem ne uporabljamo topil. Njegova prednost je tudi to, da omogoča visoko kapaciteto vgraditve učinkovine (60%) in da je vsebnost učinkovine v končni formulaciji zelo enakomerna. Začetno zmes s plastičnimi lastnostmi pretvorimo v delce enotnih oblik in gostote tako, da maso potiskamo skozi ekstrudor pod določenimi pogoji. Pomembni parametri so temperatura, pretok zmesi in tlak, velikost odprtine ekstrudorja pa določa velikost končnih delcev (17).

### 1.3.6. Iztiskanje in krogličenje

V farmacevtski tehnologiji je to najpogosteje uporabljena tehnika za proizvodnjo pelet. Vključuje naslednje korake: suho mešanje aktivne komponente in pomožnih snovi do nastanka homogene zmesi, dodajanje veziv, da dobimo plastično maso, iztiskanje mase v špagetom podobne iztiskance in krogličenje, pri katerem dobimo sferične delce enotnih oblik. Na koncu produkt posušimo in sejemo skozi sito želene velikosti. Nastale pelete lahko tudi oblagamo. Glede na vsebnost vode v plastični masi za iztiskanje lahko napovemo lastnosti pelet, z merjenjem reoloških parametrov pa lahko napovemo, kako se bo masa iztiskala in krogličila (17).

### 1.3.7. Mikrokapsuliranje

Mikrokapsuliranje je proces, pri katerem drobne kapljice ali trdne delce obdamo s kontinuiranim filmom iz ustreznega materiala. S tem lahko spremenimo agregatno stanje in druge lastnosti formulacije in učinkovino zaščitimo pred zunanjimi vplivi okolja. Obstaja več različnih metod mikrokapsuliranja. Glede na osnovni namen kapsuliranja in lastnosti učinkovine se odločimo za najbolj ustrezno tehniko. Pri SMES-u se je kot taka izkazala metoda z vibrirajočo membrano. Naprava, ki jo uporabimo za izdelavo mikrokapsul s SME jedrom, se imenuje enkapsulator z vibrirajočo membrano. Proces poteka tako, da tlačilka potiska zunanjo in notranjo fazo v smeri šobe. Kapljice nastanejo zaradi nihanja membrane, ki razbije laminaren tok tekočine. Nastale kapljice potujejo skozi električno polje, kjer se njihova površina nabije, odbojne sile pa tako preprečijo njihovo zlepljenje med padanjem v raztopino premreževala. Gre za enostaven in tudi za industrijo zanimiv proces. Omogoča mile pogoje izdelave. Mikrokapsule, ki nastanejo, so enotnih velikosti (19,20).



## **1.4. TRDNE FARMACEVTSKE OBLIKE S SMES**

Znanstveniki so v svojih raziskavah razvili že več različnih farmacevtskih oblik z vgrajenim SMES-om. Omenimo nekaj najbolj proučevanih.

### **1.4.1. Kapsule**

Kot smo že omenili, so kapsule edina trdna farmacevtska oblika s SMES-om, ki je trenutno prisotna na trgu. V kapsule lahko polnimo tekoči SMES ali pa le-tega predhodno vežemo na trdne porozne nosilce in nato polnimo dobljen prah. SME kapsule so večkrat predmet raziskovalcev. Tako so v eni izmed raziskav potrdili povečano biološko uporabnost statina po aplikaciji kapsul s tekočim SMES-om. V raziskavi, kjer so tekoči SMES adsorbirali na izbrane nosilce in nato napolnili kapsule, pa so poleg povečane biološke uporabnosti dokazali ohranjanje samomikroemulgirajočega učinka tudi v prisotnosti trdnega nosilca. Na ta način so izdelali tudi kapsule z nizkomolekularnim heparinom in parenteralno aplikacijo zamenjali za peroralno ter tako dosegli boljše sodelovalnje pacientov (7,17,21).

### **1.4.2. Tablete**

Ta farmacevtska oblika je še vedno najbolj zaželena tako s strani uporabnikov kot s strani farmacevtske industrije. Zato so začeli preučevati tudi tablete s SMES-om in dokazali signifikantne razlike v sproščanju med učinkovino v obliki SME tablet in čisto učinkovino. Nadaljnji razvoj je potekal v smeri SME tablet s prirejenim sproščanjem. Obstaja novejša raziskava, kjer so karvedilol vgradili v tablete z osmotsko črpalko. S to obliko so dosegli enakomerne plazemske koncentracije in nadzorovano sproščanje učinkovine, biološka uporabnost pa je dosegala 157% v primerjavi s komercialno dostopnimi tabletami s karvedilolom (22,23,24).

### **1.4.3. Pelete**

Pelete so večenojna farmacevtska oblika in posedujejo veliko prednosti pred običajnimi trdnimi dostavnimi sistemi, kot so fleksibilnost v industrijski proizvodnji, zmanjšanje inter- in intraindividualnih razlik v plazemskih profilih in zmanjšanje draženja prebavnega trakta brez zmanjšanja biološke uporabnosti. SMES v obliki pelet tako združujejo prej omenjene prednosti in pozitivne lastnosti SMES-ov (21,23). Izdelali so pelete, ki so vsebovale SMES s kurkuminom in dokazali povečanje biološke uporabnosti (25). Enako je bilo dokazano še

na nekaterih drugih spojinah, na primer sirolimusu in puerarinu (26,27). Obstajajo tudi raziskave, kjer so izdelane pelete tudi oblagali.

#### 1.4.4. Svečke

Dokazali so, da se z vgradnjo učinkovine v SMES poveča tudi absorpcija po vaginalni oz. rektalni aplikaciji. Na primeru glicirizina, ki sicer peroralno komajda dosega terapevtske koncentracije v plazmi, je bilo potrjeno, da doseže zadovoljive terapevtske koncentracije tako po rektalni, kot po vaginalni aplikaciji formulacije s SMES-om (23).

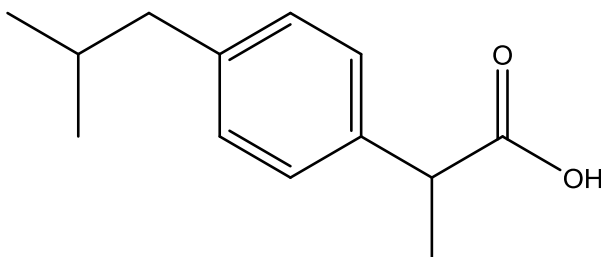
#### 1.4.5. Implantanti

Raziskave potrjujejo prednosti SMES-ov kot dostavnega sistema tudi na področju implantantov. Omenimo primer 1,3-bis(2-kloroetil)-1-nitrozouree, ki se uporablja pri zdravljenju možganskih tumorjev in ima zelo kratko razpolovno dobo. Po vgraditvi učinkovine v SMES in vezavi na implantante se je povečala njena stabilnost in tudi *in vitro* protitumorna aktivnost (23,28).

Kot je razvidno iz zgoraj navedenih literaturnih podatkov v SMES-e večkrat vgrajujemo učinkovine, ki so slabo vodotopne in dobro permeabilne ter sodijo v razred II BCS sistema. Učinkovini, katerih biološka uporabnost je omejena s topnostjo, sta tudi nesteroidni antirevmatik ibuprofen in valsartan, ki se uporablja v terapiji hipertenzije.

### 1.5. IBUPROFEN

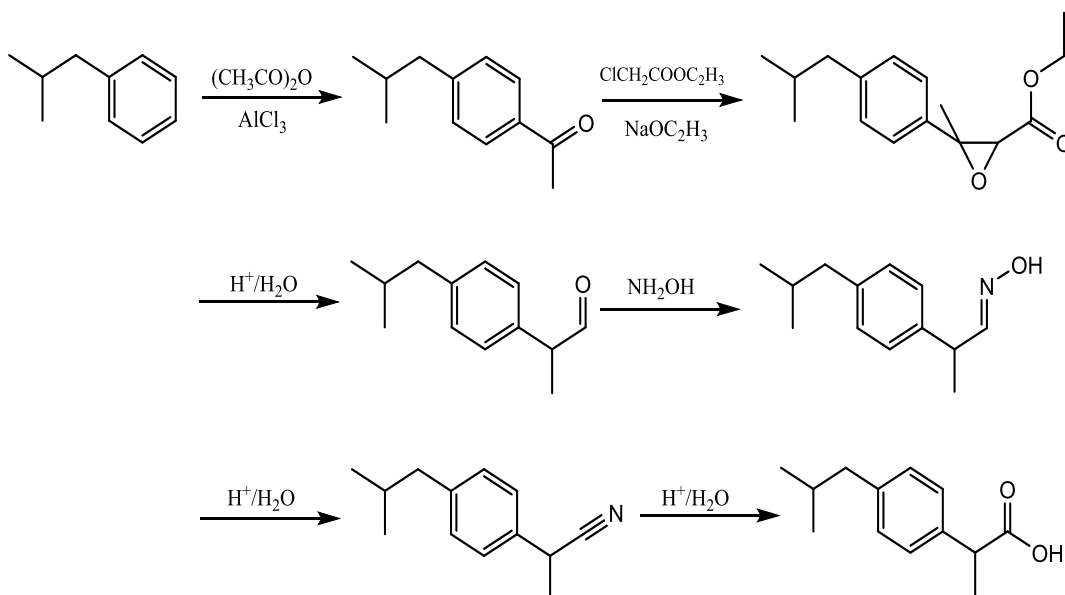
Ibuprofen oz. (RS)-2-(4-(2-metilpropil)fenil)propanojska kislina je praškasta snov bele barve, z empirično formulo  $C_{13}H_{18}O_2$  in molekulsko maso 206,3 g/mol (slika 2). Temperatura tališča se giblje v intervalu 75-77,5 °C, logaritem porazdelitvenega koeficienta (log P) pa je 3,94 (29). Vrednost pKa znaša 4,85 (30). Dobro se topi v acetonu, metanolu in metilen kloridu, v vodi pa je praktično netopen (31).



Slika2: Struktura ibuprofena.

Odkrili so ga v petdesetih letih prejšnjega stoletja v podjetju Boots Company pod vodstvom Dr. Stewarta Adamsa. Je prvi derivat arilpropionske kisline, nastal kot varnejša in učinkovitejša alternativa aspirinu. Leta 1961 je bil prvič patentiran. Na tržišču se je prvič pojavil pod imenom Brufen<sup>®</sup>. Danes velja za prosto dostopno protibolečinsko in protivnetno zdravilo, ki se trži v različnih farmacevtskih oblikah (najpogosteje v obliki sirupov in tablet) pod različnimi tržnimi imeni Diverin<sup>®</sup>, Ibuprofen Belupo<sup>®</sup>, Ibubel<sup>®</sup>, Bonifen<sup>®</sup>... (32,33,34).

Ibuprofen pridobivajo sintezno. Obstaja več vrst sinteznih poti, ki se med seboj razlikujejo po odkriteljih, reagentih, številu sinteznih stopenj, enostavnosti in nevarnosti za okolje. Slika 3 prikazuje prvotno Boots-ovo sintezo, ki je sestavljena iz šestih sinteznih stopenj (35).

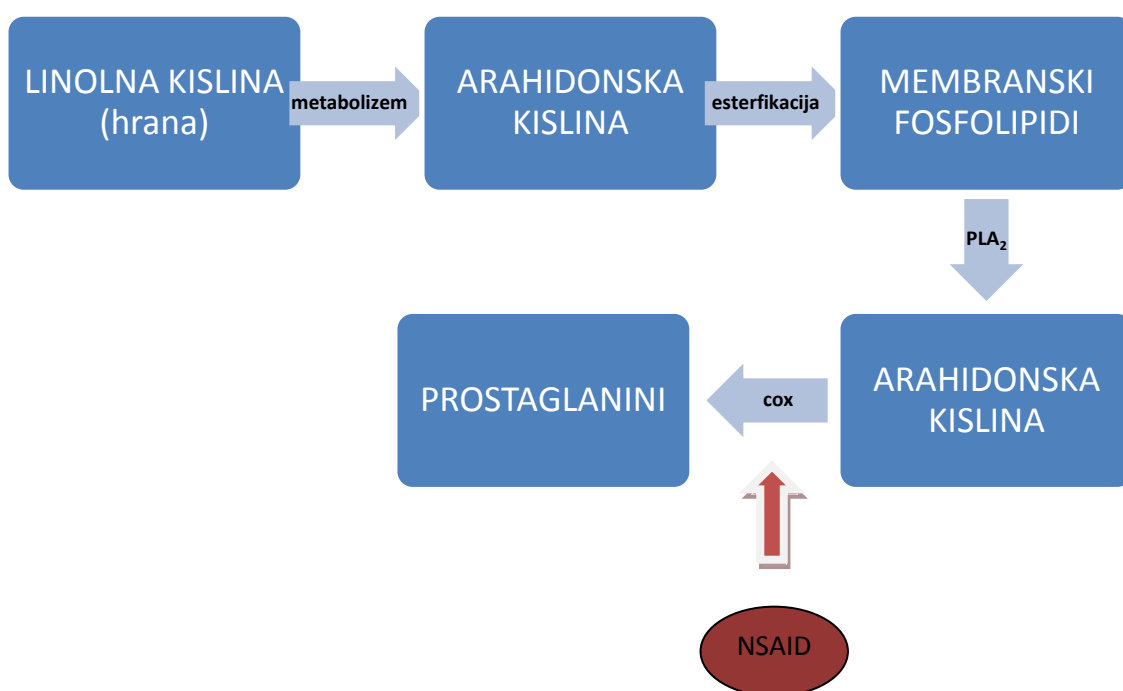


Slika 3: Boots-ova sinteza ibuprofena. Povzeto po (33).

Ibuprofen ima stereogeni center in obstaja v dveh optičnih izomerah, R in S izomeri, ki sta si identični glede na topnost, temperaturo tališča in temperaturo vrelišča. Farmakološko aktivna je S izomera. Toda v telesu se tudi R izomera pod vplivom encima izomeraze pretvori v S izomero, zato se ibuprofen največkrat trži v obliki racemata (34).

Spada v skupino nesteroidnih protivnetnih zdravil (NSAID). Je reverzibilni neselektivni inhibitor ciklooksigenaze 1 (COX-1) in ciklooksigenaze 2 (COX-2), encimov, ki

katalizirata pretvorbo arahidonske kisline v prostaglandine (slika 4). COX-1 je konstitutiven encim, normalno prisoten v želodcu, prebavilih, ledvicah in trombocitih, COX-2 pa inducibilen, prisoten v področjih vnetja (tudi normalno v makrofagih, endotelnih celicah, možganih in ledvicah). Prostaglandini so mediatorji vnetja, v telesu pa imajo tudi nekatere druge funkcije na primer zaščita sluznic, agregacija trombocitov, dilatacija bronhov... Za protibolečinski, protivnetni in antipiretični učinek ibuprofena je odgovorna inhibicija COX-2, medtem ko so stranski učinki ibuprofena (najpogostejši so driska, gastroindestinalna krvavitev, bruhanje...) povezani z inhibicijo COX-1 (34,35).



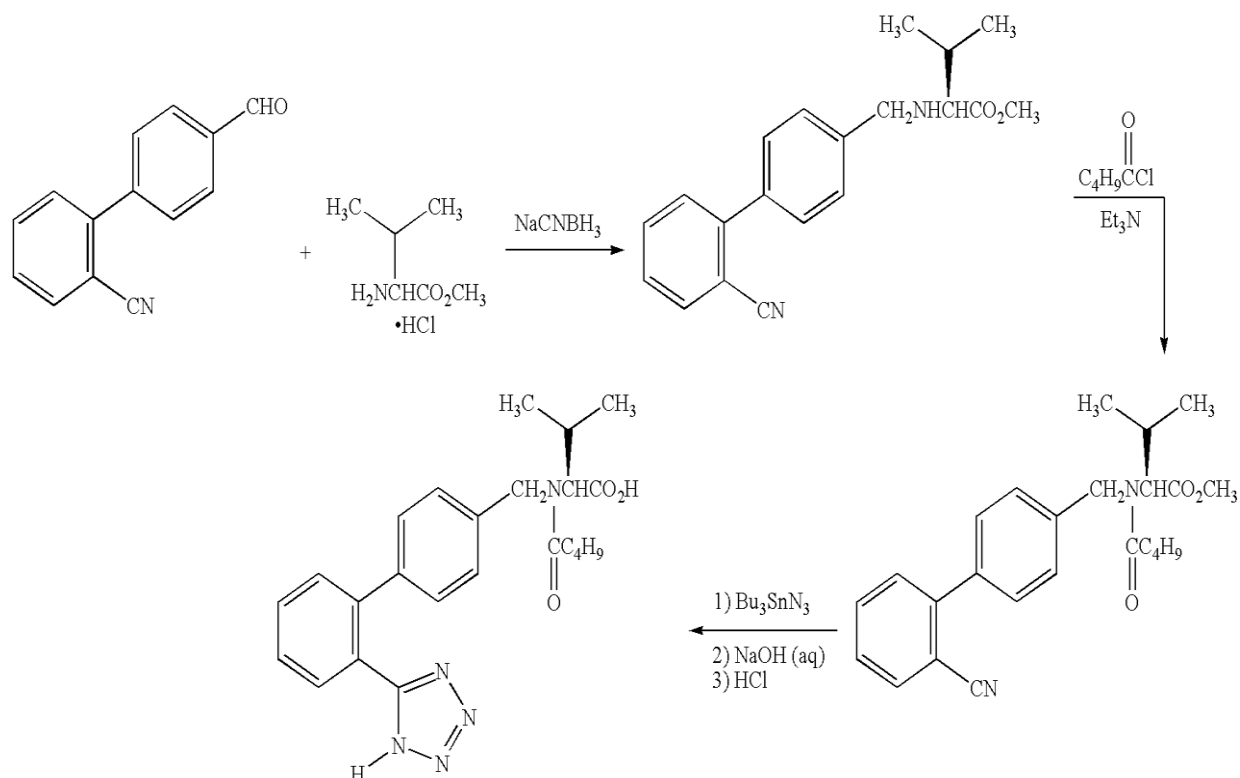
Slika 4: Nastanek prostaglandinov v telesu.

Ibuprofen se hitro absorbira iz prebavil. Ima visoko biološko uporabnost, ki znaša 80-90%. Najvišjo koncentracijo v serumu doseže 1-2 uri po aplikaciji. Volumen porazdelitve znaša pri odraslih 0,12-0,2 l/kg. Presnavlja se v jetrih s citokromom P450 v dva neaktivna presnovka, 2- hidroksiibuprofen in 3-karboksiibuprofen. Izloča se z urinom (36).

Enkratni terapevtski odmerek ibuprofena variira med 200-600 mg za odraslo osebo. Največji dovoljeni dnevni odmerek je 2400 mg. Ibuprofen je v nižjih odmerkih varen za

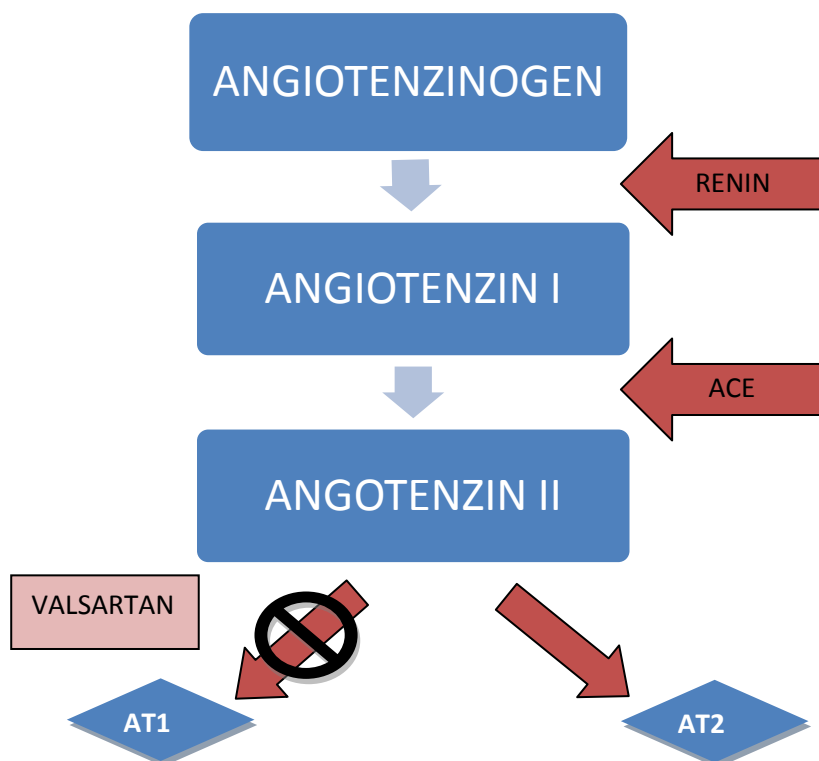


Valsartan pridobivajo sintezno po različnih sinteznih poteh. Ena izmed njih je prikazana na sliki 6.



Slika 6: Pridobivanje valsartana.

Valsartan je močan, selektiven in peroralno aktiven antagonist angiotenzina II. Le-ta nastane iz angitenzina I s pomočjo encima angiotenzinske konvertaze (ACE) in je aktivni hormon renin-angiotenzin-aldosteron sistema. Angiotenzin II se veže na različne receptorje in ima široko paleto fizioloških učinkov. Neposredno in posredno je odgovoren za uravnavanje krvnega tlaka. Je močan vazokonstriktor, poleg tega pa zadržuje natrij v telesu in spodbuja izločanje aldosterona. Valsartan deluje selektivno na receptorje podvrste AT1. Angiotenzin II, ki ostane v plazmi v povišanih koncentracijah, stimulira nezavrte receptorje podvrste AT2, ki izravnajo učinek receptorjev AT1 (slika 7). Največja prednost valsartana pred inhibitorji angiotenzinske konvertaze je ta, da je pojavnost suhega kašlja kot stranskega učinka dosti manjša (39, 41).



Slika7: Prikaz delovanja valsartana.

Absorpcija valsartana po peroralni aplikaciji je hitra. Maksimalna koncentracija v plazmi je dosežena 1-2 uri po odmerjanju. Biološka uporabnost je približno 25 %. V plazmi je v večji meri vezan na beljakovine, predvsem albumin. Volumen porazdelitve je 17 l. Valsartan se v telesu metabolizira v farmakološko neaktiven hidroksimetabolit le v manjšem obsegu (39,42).

Enkratni terapevtski odmerki valsartana se gibljejo med 40 in 320 mg. Uporablja se za zdravljenje hipertenzije, srčnega popuščanja in za izboljšanje preživetja po srčnem infarktu (42).

## 2. NAMEN DELA

Samomikroemulgirajoči sistemi so ena izmed možnosti povečanja topnosti učinkovin in posledično njihove biološke uporabnosti. Gre za večinoma tekoče dostavne sisteme, ki pa jih z adsorpcijo na trdne porozne nosilce lahko spremenimo v za industrijo bolj privlačne praške ali tablete. Vendar pa se pri tem pogosto pojavi težava zaradi nepopolne desorpcije učinkovine. Raziskati želimo, ali na desorpcijo vpliva topnost učinkovine v oljni fazi sistema v primerjavi z njeno topnostjo v površinsko aktivnih snoveh.

V magistrski nalogi bomo vrednotili vpliv topnosti učinkovin na *in vitro* obnašanje samomikroemulgirajočih sistemov. Kot modelni učinkovini bomo uporabili ibuprofen, ki je bolj topen v površinsko aktivnih snoveh kot v oljih in valsartan, za katerega velja obratno, kar bomo tudi dokazali z določanjem nasične topnosti obeh učinkovin v posameznih sestavinah samomikroemulgirajočega sistema. Kot analizno metodo bomo uporabili tekočinsko kromatografijo visoke zmogljivosti (HPLC).

Učinkovini bomo vgradili v tekoči samomikroemulgirajoči sistem, nato pa le-tega z enostavnim mešanjem v pateni adsorbirali na trdne porozne nosilce in tako dobili SME praške. Kot nosilce bomo uporabili Neusilin<sup>®</sup> US2, Sylysio<sup>®</sup> 350 in Syloid<sup>®</sup> 244FP. Dobljenim SME praškom bomo dodali pomožne snovi za tabletiranje in s pomočjo tabletirke na udarec ročno izdelali SME tablete.

Primerjali bomo ohranjanje samomikroemulgirajočega učinka tekočih in trdnih SMES-ov z vgrajenima učinkovinama po dispergiranju v vodi, v kislem in v fosfatnem pufru.

Na koncu bomo z *in vitro* testom sproščanja preučevali vpliv različnih topnosti učinkovin v sestavinah SMES-a na sproščanje učinkovine iz pripravljenih formulacij. Preskuse bomo izvajali na napravi z veslastim mešalom. Uporabili bomo dva različna medija, kisel pufer s pH=1,2 za simulacijo želodčnih pogojev in fosfatni pufer s pH=6,8 za simulacijo pogojev v črevesu. Preizkus bomo izvedli za obe čisti učinkovini v prahu in za vse izdelane formulacije. Koncentracijo sproščenih učinkovin bomo določili s HPLC metodo.



### 3. EKSPERIMENTALNO DELO

#### 3.1. MATERIALI

ZDRAVILNI UČINKOVINI:

- **Ibuprofen** (Lex, Slovenija)
- **Valsartan** (Krka, Slovenija)

SESTAVINE ZA PRIPRAVO TEKOČEGA SMES-a:

- **Ricinusovo olje** (Lex, Slovenija) je zmes trigliceridov maščobnih kislin: ricinolne (87%), oleinske (7%), linolenske (3%), palmitinske (2%), stearinske (1%) in dihidroksistearinske kisline v sledovih. Pridobivajo ga iz semen kloščevca (lat.: *Ricinus Comminis*). Je bistro, brezbarvno ali blede rumeno olje z blagim vonjem in okusom. V farmaciji se uporablja pri izdelavi peroralnih in dermalnih farmacevtskih oblik kot emolient, topilo ali oljni vehikel. Ricinusovo olje je dobro topno v etanolu in petroletru ter netopno v vodi in mineralnih oljih. Dobro se meša z organskimi topili kot so metanol, očetna kislina in kloroform (43).
- **Capmul<sup>®</sup> MCM EP** (Abitec Corporation, ZDA) ali glicerilmonokaprilokaprat je zmes mono- in digliceridov kaprilne in kapronske kisline. Je brezbarvna, lahko tudi blede rumena, tekoča ali poltrdna snov. HLB vrednost Capmula<sup>®</sup> MCM EP je 4-6. Zaradi svojih lastnosti se velikokrat uporablja pri izdelavi peroralnih in dermalnih farmacevtskih izdelkov kot vehikel, solubilizator, emulgator in koemulgator. V vodi je netopen, v oljih pa se topi pri povišani temperaturi (44).
- **Cremophor<sup>®</sup> EL** (BASF Chem Trade GmbH, Nemčija) ali polioksil-35-ricinusovo olje sintezno pridobivajo iz ricinusovega olja in etilenoksida v molskem razmerju 1:35. Glavne sestavine so makrogolglicerol ricinolat in estri maščobnih kislin s polietilen glikolom, vsebuje pa tudi nekaj hidrofilnih komponent. HLB vrednost Cremophorja<sup>®</sup> EL je 12-14. Je viskozna tekočina, blede rumene barve, značilnega vonja in bistra pri temperaturi nižji od 26 °C. Uporablja se pri izdelavi peroralnih, dermalnih in parenteralnih farmacevtskih oblik, največkrat kot neionski emulgator,

močljivec ali solubilizator. Dobro je topen v vodi, organskih topilih, alkoholih, maščobnih kislinah in oljih (43).

- **Cremophor® RH 40** (Sigma Aldrich, Nemčija) ali polioksil-40-hidrogenirano ricinusovo olje sintetizirajo z reakcijo med hidrogeniranim ricinusovim oljem in etilenoksidom v molskem razmerju 1:40. Glavna sestavina je makrogolglicerol hidroksistearat. Njegova HLB vrednost je 14-16. Je bela ali blede rumena poltrdna snov, ki se pri 30 °C utekočini. Ima blag, značilen vonj. V farmaciji se uporablja kot solubilizator za v maščobi topne vitamine, eterična olja in ostale hidrofobne zdravilne učinkovine. Primeren je za pripravo peroralnih, dermalnih in parenteralnih farmacevtskih oblik (43).

#### SESTAVINE ZA PRIPRAVO TRDNEGA SMES-A IN POMOŽNE SNOVI ZA TABLETIRANJE:

- **Neusilin® US2** (Fuji Chemical Industry Co. LTD, Japonska): je amorfna oblika magnezijevega aluminometasilikata, ki je v obliki granul, katerih povprečna velikost je 44-177 µm. Na videz je bele barve, brez vonja in okusa ter mehak na otip. Ima veliko sposobnost adsorpcije olj (2,7-3,4 ml/g) in vode (2,4-3,1 ml/g). Njegova specifična površina je 300 m<sup>2</sup>/mg, 4 % vodna suspenzija pa ima nevtralen pH. V vodi, etanolu in organskih topilih je praktično netopen. Kot pomožna snov je zelo priljubljen pri direktnem tabletiranju, saj omogoča izdelavo trdnih tablet že pri nižjih silah stiskanja. Uporablja se tudi pri vlažnem granuliranju in v farmacevtskih oblikah, ki vsebujejo olja (43,45,46).
- **Sylsilia® 350** (Fuji Chemical Industry Co. LTD, Japonska) je porozni, mikroniziran, amorfen silicijev dioksid, bele barve, brez vonja in okusa. Velikost delcev je v povprečju 1,8 µm, volumen por pa 1,6 ml/g. Ima veliko specifično površino (300 m<sup>2</sup>/g) in veliko sposobnost adsorpcije olj (310 ml / 100 g). V vodi je netopen. V farmaciji se uporablja pri izdelavi peroralnih in dermalnih farmacevtskih oblik (47,48,49).
- **Syloid® 244FP EU** (Grace Davision, ZDA) je silicijev dioksid, katerega povprečna velikost delcev znaša 5,5 µm, volumen por pa 1,5 ml/g. Odlikuje ga dobra

adsorpcijska kapaciteta olj (300 ml / 100 g), poroznost in velika specifična površina, zato je kot pomožna snov široko uporaben v farmacevtski industriji pri izdelavi tablet in kot nosilec pri izdelavi trdnih samomikroemulgirajočih sistemov (50,51).

- **Avicel<sup>®</sup> PH102** (FMC Biopolymers, ZDA) ali s kemijskim imenom mikrokristalna celuloza je bel, kristaliničen, porozen prašek brez vonja in okusa. Slabo se topi v vodi, razredčenih kislinah in večini organskih topil. Pri izdelavi tablet in kapsul ima največkrat vlogo polnila in veziva, lahko pa tudi adsorbenta in razgrajevala. Uporablja se tako v procesu vlažnega granuliranja kot tudi pri direktnem tabletiranju (43).
- **Ac-Di-Sol<sup>®</sup>** (FMC Biopolymers, ZDA) ali premrežena natrijeva karboksimetil celuloza je prašek bele ali sivkastobele barve, brez vonja in okusa. Je praktično netopen v acetonu, etanolu in toluenu. V vodi se ne topi, toda v stiku z njo močno in hitro nabreka, zato se uporablja kot razgrajevalo pri izdelavi tablet, kapsul in granul (43).
- **Kollidon<sup>®</sup> VA64** (BASF Chem Trade GmbH, Nemčija), kopovidon, je kopolimer 1-etenilpirolidin-2-ona in etenil acetata v masnem razmerju 3:2. Na videz je amorfni prašek, bele do rumenobele barve, blagega vonja in okusa. Njegova topnost v kloroformu, etanolu, metanolu in vodi je več kot 10%, v cikloheksanu, dietil etru in pentanu pa manj kot 1%. Uporablja se kot vezivo pri direktnem tabletiranju ali vlažnem granuliranju, večkrat pa tudi kot sestavina raztopin za oblaganje tablet, saj omogoča dobro adhezijo, elastičnost in trdnost (43).
- **Magnezijev stearat** (Merck KGaA, Nemčija) je zmes magnezijevih soli trdnih organskih kislin, pretežno magnezijevega stearata in magnezijevega palmitata. Je fin prah, svetlo bele barve, značilnega okusa in vonja po stearinski kislini. Prah je mehak na otip in se oprime kože. V vodi in etanolu je praktično netopen. V koncentracijah od 0,25-5,0% se uporablja kot drsilo pri proizvodnji tablet (43).

## OSTALI MATERIALI

- **Prečiščena voda** (Fakulteta za farmacijo, Slovenija)
- **Dvakrat prečiščena voda** (Fakulteta za farmacijo, Katedra za biofarmacijo in farmakokinetiko, Slovenija)
- **Klorovodikova kislina 37% za analizo** (HCl, Merck KGaA, Nemčija)
- **Kalijev klorid** (KCl, Merck KGaA, Nemčija)
- **Tween<sup>®</sup> 20** (Merck Schuchardt OHG, Nemčija)
- **Kalijev dihidrogenfosfat** (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Merck KGaA, Nemčija)
- **Natrijev hidroksid** (NaOH, Merck KGaA, Nemčija)
- **Kalijev hidroksid** (KOH, Merck KGaA, Nemčija)
- **Acetonitril za tekočinsko kromatografijo** (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>N, J.T.Baker, Nizozemska)
- **Trde želatinaste kapsule velikosti 0**
- **Ocetna kislina brezvodna za analizo** (CH<sub>3</sub>COOH, Merck KGaA, Nemčija)

## 3.2. NAPRAVE

- Analitska tehtnica, Sartorius AX623, Nemčija
- Analitska tehtnica, Mettler Toledo AG245, Švica
- Analitska tehtnica, Mettler Toledo XS205, Švica
- Ultracentrifuga Thermo Scientific<sup>®</sup> Sorwall, WX ULTRA Series Centrifuge, ZDA
- Rotor za ultracentrifugo Thermo Scientific<sup>®</sup> Fiberlite F50L-24x1,5, 50.3Ti, ZDA
- Instrumentalna tabletirka na udarec SP300, Killian, Nemčija
- Magnetno mešalo Rotamix 550 MMH, Tehnica Železniki, Slovenija
- Naprava z vesli za spremljanje sproščanja: VK 7000 Dissolution Testing station, VanKel, ZDA
- pH meter, Mettler Toledo, Seven Compact<sup>™</sup> pH/Ion S 220, Švica
- Tekočinska kromatografija visoke zmogljivosti (HPLC), Agilent 1100 Series, Agilent Technologies, Nemčija
- Kolona za HPLC Symmetry<sup>®</sup> C18 (5µm; 150x4,6mm), Thermo, USA
- Viale za HPLC, Agilent Technologies, Nemčija
- Membranski filter RC 0,45µm, Lab Logistic Group GmbH, ZDA
- Ultrazvočna kadička Sonis 4, Iskra, Slovenija

- Zeta Sizer Nano series, Malvern Instruments Ltd., Velika Britanija

### 3.3. METODE

#### 3.3.1. Določanje nasičene topnosti ibuprofena in valsartana v posameznih komponentah tekočega SMES-a

Pri raziskovalnem delu smo uporabili tekoči SMES, ki je bil predhodno razvit na Katedri za farmacevtsko tehnologijo. Sestava SMES-a je predstavljena v preglednici II (52).

Preglednica II: Sestavine tekočega SMES-a. Povzeto po (52).

SESTAVINA	KOLIČINA (%(m/m))	VLOGA SESTAVINE
Capmul <sup>®</sup> MCM	30	Oljna faza
Ricinusovo olje	30	Oljna faza
Cremophor <sup>®</sup> EL	20	Emulgator
Cremophor <sup>®</sup> RH40	20	Emulgator

Nasičeno topnost vsake izmed učinkovin v posameznih oljih in emulgatorjih smo določili tako, da smo dodali zadostno količino učinkovine (do pojava oborine) v čašo, ki je vsebovala približno 5 ml medija. Pripravljene zmesi smo mešali na magnetnem mešalu 48 ur pri sobni temperaturi. Nato smo dobljene vzorce 15 minut centrifugirali na ultracentrifugi pri 40000 obratih/min, da smo raztopljeno učinkovino ločili od neraztopljenih. Dobljeni supernatant smo redčili z ustreznim topilom (za ibuprofen smo uporabili acetonitril, za valsartan pa mešanico acetonitrila in bidestilirane vode v volumskem razmerju 1:1), filtrirali skozi 0,45 µm filter in koncentracijo učinkovin določili s HPLC metodo. Rezultat smo podali glede na zatehto vzorca.

#### 3.3.2. Priprava tekočega samomikroemulgirajočega sistema z ibuprofenom in valsartanom

Tekoči SMES smo pripravili tako, da smo posamezne sestavine (glej tabelo II) natehtali v čašo in mešali na magnetnem mešalu do nastanka bistre, homogene zmesi.

Tekoči SMES z ibuprofenom smo pripravili tako, da smo v čašo natehtali pripravljen tekoči SMES in učinkovino v masnem razmerju 225:25, kar ustreza 42,7 % določene nasičene topnosti ibuprofena v SMES-u. Za omenjeno količino učinkovine smo se odločili

zato, ker smo želeli pri izvajanju *in vitro* testa sproščanja zagotavljati »sink« pogoje. Ti so vzpostavljeni, ko je volumen medija vsaj trikrat večji od volumna, ki bi bil potreben, da se tvori nasičena raztopina substance (53). Pripravljeno zmes smo pokrili s parafilmom in na magnetnem mešalu mešali 24 ur oziroma do popolnega raztapljanja ibuprofena.

Tekoči SMES z valsartanom pa smo pripravili tako, da smo v čašo natehtali pripravljen tekoči SMES in učinkovino v masnem razmerju 235:15, kar ustreza 12,3 % določene nasičene topnosti valsartana v SMES-u. Za takšno razmerje SMES:ZU smo se odločili zato, da bi tekom *in vitro* testa sproščanja zagotovljali »sink« pogoje. Pripravljeno mešanico smo pokrili in na magnetnem mešalu mešali 24 ur oziroma do popolnega raztapljanja valsartana.

### **3.3.3. Priprava samomikroemulgirajočih praškov**

Samomikroemulgirajoče praške smo pripravili tako, da smo posamezen tekoči SMES z raztopljenno učinkovino adsorbirali na trdne porozne nosilce (Neusilin<sup>®</sup> US2, Sylysio<sup>®</sup> 350, Syloid<sup>®</sup> 244FP) v masnem razmerju 1:1. Adsorpcijo smo izvedli z enostavnim mešanjem v pateni tako, da smo v natehtan tekoči SMES z raztopljenno učinkovino postopoma dodajali nosilec in mešali do nastanka homogene zmesi. Pozorni smo bili na to, da se zmes ni oprijemala sten patene.

### **3.3.4. Priprava tablet iz samomikroemulgirajočih praškov**

Receptura za zmes za tabletiranje in postopek izdelave sta bila predhodno razvita na Katedri za farmacevtsko tehnologijo. Za vsako učinkovino smo izdelali tri serije tablet, ki so imele isto sestavo, razlikovale so se le po trdnem nosilcu. Receptura za zmes je predstavljena v preglednici III (52).

Preglednica III: Sestava zmesi za tabletiranje: količina, delež (m/m) in vloga posamezne sestavine. Povzeto po (52).

SESTAVINA	MASA (mg)	% (m/m)	VLOGA SESTAVINE
SMES z učinkovino	250,5	41,75	Lipidni dostavni sistem z učinkovino
Neusilin <sup>®</sup> US2 Sylysia <sup>®</sup> 350 Syloid <sup>®</sup> 244FP	250,5	41,75	Trdni nosilec (adsorbent)
Avicel <sup>®</sup> PH102	60,0	10,00	Suho vezivo
Ac-Di-Sol <sup>®</sup>	30,0	5,00	Razgrajevalo
Kollidon <sup>®</sup> VA64	6,0	1,00	Suho vezivo
Mg-stearat	3,0	0,50	Drсило
Skupno	600,0	100,00	/

Zmes za tabletiranje smo pripravili tako, da smo sestavine (razen drsila) natehtali v lonček, ga zaprli in stresali toliko časa, da so se prahovi dobro premešali. Nazadnje smo dodali še Mg-stearat in ponovno rahlo pretresli. Za posamezno tableto smo natehtali približno 600 mg zmesi, jo vsuli v matrično vdolbino in stisnili tableto.

Tablete smo izdelali ročno z instrumentalno tabletirko na udarec (Killian SP300) po metodi direktnega tabletiranja. Pri stiskanju smo uporabljali okrogel pečat z ravnimi površinami, katerega premer je znašal 12,0 mm. Položaj zgornjega pečata in spodnjega pečata smo naravnali glede na nosilec, ki smo ga uporabili pri izdelavi tablet, kar prikazuje preglednica IV (52).

Preglednica IV: Položaj pečatov pri stiskanju tablet. Povzeto po (52).

TRDNI NOSILEC	NASTAVITEV ZGORNJEGA PEČATA (mm)	NASTAVITEV SPODNJEGA PEČATA (mm)
Neusilin <sup>®</sup> US2	15,9	20,0
Sylysia <sup>®</sup> 350	16,3	20,0
Syloid <sup>®</sup> 244FP	16,2	20,0

Uporabljene sile stiskanja tablet so se razlikovale v odvisnosti od uporabljenega trdnega nosilca in učinkovine vgrajene v SMES, kar je razvidno iz preglednice V.

**Preglednica V: Uporabljena sila stiskanja posameznih serij tablet.**

ZMES	POVPREČNA SILA STISKANJA (kN)
IBU-Neusilin <sup>®</sup> US2	3,5
IBU-Sylysia <sup>®</sup> 350	9,0
IBU-Syloid <sup>®</sup> 244FP	6,0
VAL-Neusilin <sup>®</sup> US2	3,8
VAL-Sylysia <sup>®</sup> 350	6,5
VAL-Syloid <sup>®</sup> 244FP	7

### 3.3.5. Določanje velikosti kapljic in polidisperznega indeksa po samomikroemulgiranju

Velikost kapljic in polidisperzni indeks smo izmerili z metodo fotonske korelacijske spektroskopije na napravi Zeta sizer Nano (slika 8) pri 25 °C. Kot vzorce smo uporabili tekoči SMES, SME praške in SME tablete, v katerih sta bili vgrajeni modelni učinkovini. Ustrezno količino vzorca smo dispergirali v treh različnih medijih, in sicer prečiščeni vodi, pufru s pH=1,2 in pufru s pH=6,8. Uporabljen volumen medija je bil 250 ml. Trdne vzorce smo raztopili tako, da smo jih na magnetnem mešalu mešali eno uro, jih pokrili, in pustili stati 24 ur, da so se netopne pomožne snovi posedle na dno erlenmajerce. Pred merjenjem velikosti kapljic smo posamezen vzorec še 5 minut centrifugirali na ultracentrifugi pri 4000 obratih/min. Nato smo supernatante filtrirali skozi 0,45 µm filter in ustrezno količino vzorca prenesli v kiveto ter izvedli meritev. Vzorce s tekočim SMES-om pa smo izmerili direktno po dispergiranju in filtriranju skozi 0,45 µm filter, saj predpriprava vzorca z ultracentrifugo ni bila potrebna. Kot rezultat smo podali povprečen premer kapljic, polidisperzni indeks in standardno deviacijo.





Slika 8: Naprava za merjenje velikosti kapljic notranje faze Zeta sizer Nano.

### 3.3.6. *In vitro* preskus sproščanja

*In vitro* sproščanje smo preučevali na čistem ibuprofenu in valsartanu, na obeh učinkovinah, vgrajenih v tekoči SMES in tudi na SME praških in SME tabletah. Za izvedbo testa smo uporabili 25 mg ibuprofena in 15 mg valsartana ter ustrezno količino pripravljenih sistemov. Sproščali smo v treh paralelah v dveh različnih medijih, pufru s  $\text{pH}=1,2$  in  $\text{pH}=6,8$ . Ker je ibuprofen zelo slabo topen pri  $\text{pH}=1,2$  in bi za zagotavljanje »sink« pogojev morali uporabljati zelo majhno količino učinkovine, ki je ni bilo mogoče natančno zatehtati z analitsko tehtnico, smo za izvedbo testa pri tej učinkovini uporabili pufer s  $\text{pH}=1,2$ , ki je vseboval 0,5 % Tweena<sup>®</sup> 20.

Za izvedbo preskusa smo uporabili napravo z veslastim mešalom (naprava 2 po Ph. Eur. 7th Ed.) VK 7000 – VanKel (slika 9). Pogoji dela so bili ves čas konstantni. Začetni volumen medija za sproščanje je bil 900 ml, temperatura vodne kopeli  $37,0 \pm 0,5$  °C, vesla pa so se vrtela s hitrostjo 50 obratov/min. Test smo izvajali 8 ur. Z avtomatskim vzorčevalnikom smo odzemale po 5 ml vzorca v časovnih razmakih: 5 min, 10 min, 15 min, 30 min, 45 min, 1h, 2h, 4h, 6h in 8h. Odzete vzorce smo filtrirali skozi  $0,45 \mu\text{m}$  filter in analizirali s HPLC metodo.



Slika 9: Naprava za izvajanje preskusa sproščanja VK 7000 – Vankel.

S pomočjo umeritvene premice smo izračunali koncentracijo sproščene učinkovine ob določenem času. Pri izračunu smo morali upoštevati zmanjšanje volumna medija zaradi vzorčenja (enačba 1).

$$V_n = V_0 - (n \times V_{vz}) \quad \text{enačba 1}$$

$V_n$  → volumen medija po vzorčenju (ml)

$V_0$  → začetni volumen medija (900 ml)

$n$  → število odvzetih vzorcev

$V_{vz}$  → volumen odvzetega vzorca (5 ml)

Maso sproščene učinkovine ob določenem času smo izračunali tako, da smo koncentracijo množili z volumenom medija v časovni točki, tej pa smo prišteli še maso učinkovine, ki je bila odvzeta v predhodnih vzorčenjih (enačba 2)

$$m_n = c_n \times V_n + \sum (c_n \times V_{vz}) \quad \text{enačba 2}$$

$m_n$  → masa sproščene učinkovine v n-ti časovni točki (mg)

$c_n$  → koncentracija učinkovine ob n-tem vzorcu (mg/ml)

Nazadnje smo izračunali še delež sproščene učinkovine kot razmerje med dejansko maso sproščene učinkovine in teoretično maso učinkovine (enačba 3).

$$X_n = (m_n / m_0) \times 100 \quad \text{enačba 3}$$

$X_n$  → delež sproščene učinkovine on n-tem vzorčenju (%)

$m_0$  → teoretična masa učinkovine (mg)

### PRIPRAVA MEDIJEV ZA PRESKUS SPROŠČANJA

PUFER S pH=1,2

Najprej smo pripravili 0,2 M raztopino KCl in 0,2 M raztopino HCl.

- *0,2 M raztopina KCl:* V plastičen čolniček smo natehtali 29,84 mg KCl in ga kvantitativno prenesli v 2000 ml merilno bučko ter s prečiščeno vodo dopolnili do oznake. Nato smo pripravljeno raztopino mešali na magnetnem mešalu, dokler se sol ni raztopila v celoti.
- *0,2 M raztopina HCl:* V 1000 ml merilno bučko (katero smo predhodno do tretjine napolnili s prečiščeno vodo) smo odmerili 83 ml 37% klorovodikove kisline, dodali prečiščeno vodo do 1000 ml in dobro premešali. Nato smo 400 ml tako pripravljene 1 M HCl prenesli v 2000 ml merilno bučko, dodali prečiščeno vodo do oznake in dobro premešali.

Kisel pufer smo pripravili tako, da smo v 5000 ml merilno bučko odmerili 2125 ml 0,2 M raztopine HCl in 1250 ml 0,2 M raztopine KCl ter s prečiščeno vodo dopolnili do oznake. Raztopino smo dobro premešali in ustreznost pH vrednosti preverili s pH lističem.

PUFER S pH=6,8

Fosfatni pufer s pH=6,8 smo pripravili iz 0,2 M raztopine NaOH in 0,2 M raztopine  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , ki smo ju pripravili po sledečih recepturah:

- *0,2 M raztopina NaOH:* 8 g NaOH smo natehtali v 1000 ml bučko in s prečiščeno vodo dopolnili do oznake. Pripravljeno raztopino smo mešali na magnetnem mešalu, dokler se NaOH ni raztopil.

- 0,2 M raztopina  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ : V 2000 ml merilno bučko smo natehtali 54,4 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , dodali prečiščeno vodo do oznake ter na magnetnem mešalu mešali, dokler se ni  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  popolnoma raztopil.

560 ml 0,2 M raztopine NaOH in 1250 ml 0,2 M raztopine  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  smo odmerili v merilno bučko z volumnom 5000 ml in dopolnili do oznake s prečiščeno vodo. Med mešanjem na magnetnem mešalu smo s pH metrom izmerili pH vrednost pripravljene raztopine in jo z 0,2 M NaOH in 0,2 M HCl uravnali na 0,05 enote natančno.

### 3.3.7. Določanje koncentracije ibuprofena s HPLC metodo

Za določevanje koncentracije ibuprofena v vzorcih smo uporabili HPLC metodo. Analizo smo izvajali na napravi Agilent 1100 Series (slika 10) na reverznofazni koloni Symmetry<sup>®</sup> C18 z dolžino 150 mm, notranjim premerom 4,6 mm in velikostjo delcev 5  $\mu\text{m}$ . Temperatura kolone je bila 23 °C, hitrost pretoka mobilne faze 1 ml/min, volumen injeciranja 60  $\mu\text{l}$  in UV detekcija pri valovni dolžini 254 nm. Retencijski čas ibuprofena je bil 5,8 min. Mobilna faza je vsebovala acetonitril in fosfatni pufer s pH=5 v volumskem razmerju 60:40.

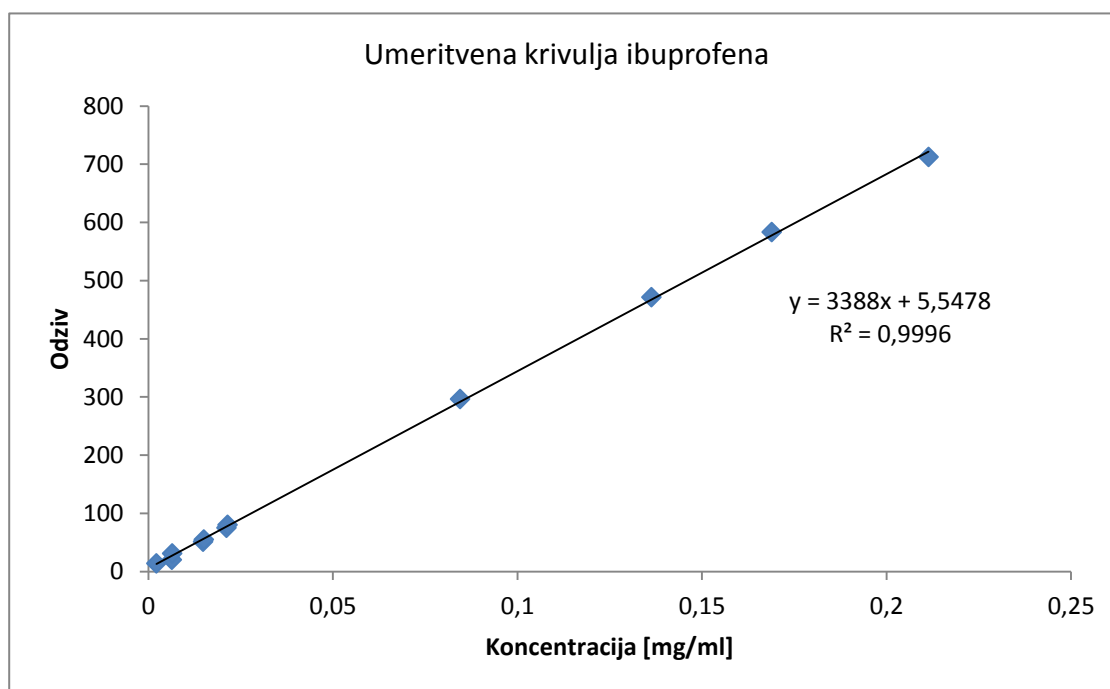


Slika10: HPLC, naprava za določanje koncentracije učinkovin.

## PRIPRAVA FOSFATNEGA PUFRA pH=5

Pufer smo pripravili po postopku, opisanem v Ph. Eur. 7<sup>th</sup> Ed. V 1000 ml merilno bučko smo natehtali 2,72 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  in dopolnili s približno 800 ml bidestilirane vode. Med mešanjem na magnetnem mešalu smo s pH metrom izmerili pH, ga uravnali z 1 M KOH na 0,05 enote natančno in z bidestilirano vodo dopolnili do oznake.

Koncentracijo ibuprofena smo izračunali iz površin pod krivuljo s pomočjo umeritvene premice (slika 11). Standardni raztopini smo pripravili tako, da smo približno 20 mg in 10 mg ibuprofena natančno natehtali v stekleni čolniček, kvantitativno prenesli v 100 ml merilni bučki in z acetonitrilom dopolnili do oznake. Dobro smo premešali in postavili v ultrazvočno kadičko za 10 minut, da se je ibuprofen v celoti raztopil. Nato smo z redčenjem osnovnih raztopin pripravili raztopine s koncentracijami od 0,002-0,16 mg/ml. Kot topilo smo uporabili acetonitril. Pripravljene raztopine smo filtrirali skozi 0,45  $\mu\text{m}$  filter in analizirali. Iz znanih koncentracij in dobljenih površin pod krivuljo smo s pomočjo linearne regresije izračunali enačbo umeritvene premice in Pearsonov koeficient korelacije ( $R^2$ ).

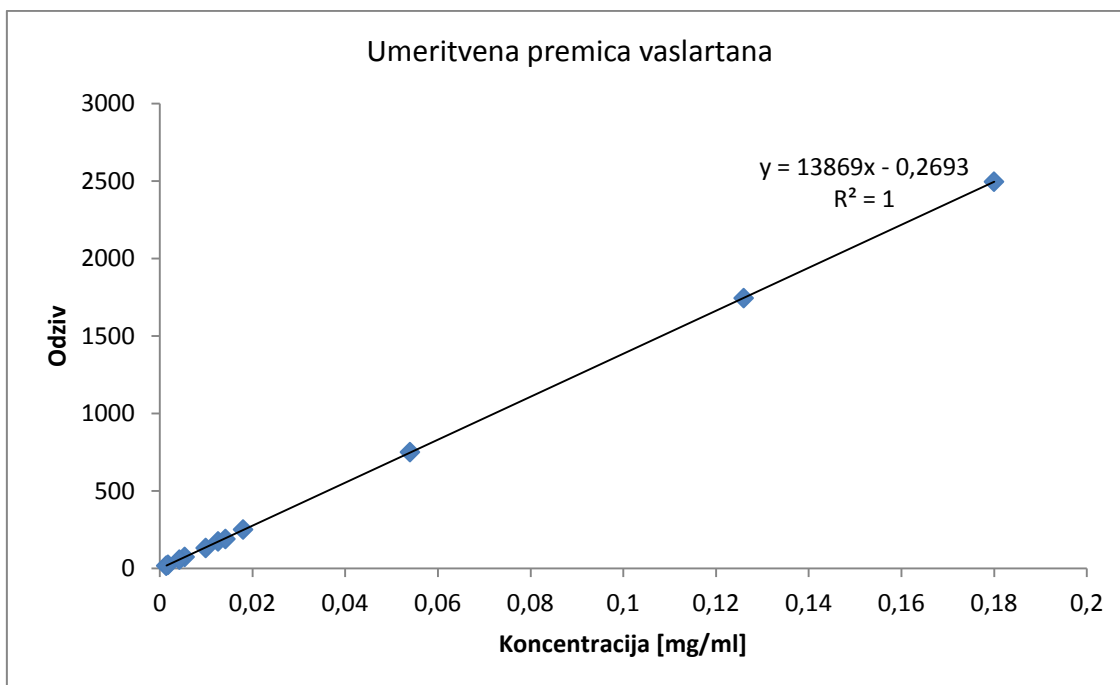


Slika 11: Umeritvena krivulja in enačba premice ibuprofena.

### 3.3.8. Določanje koncentracije valsartana s HPLC metodo

Tudi koncentracijo valsartana v vzorcih smo določili s HPLC metodo. Za analizo smo uporabili reverznofazno kolono Symmetry<sup>®</sup> C18 (5 µm; 150 x 4,6 mm). Volumen pretoka mobilne faze je bil 1,0 ml/min, volumen injiciranja pa 20 µL. Temperatura kolone je bila umerjena na 25 °C. UV detekcija je bila pri 273 nm. Mobilna faza je vsebovala mešanico acetonitrila in bidestilirane vode (50:50 % (v/v)), kateri smo dodali 0,1 % brezvodne očetne kisline.

S pomočjo umeritvene premice (slika 12) smo izračunali koncentracijo valsartana v vzorcih. Standardni raztopini smo pripravili tako, da smo v 100 ml merilni bučki kvantitativno prenesli 20 in 10 mg valsartana in s topilom (mešanica acetonitrila in bidestilirane vode v volumskem razmerju 50:50) dopolnili do oznake. Nato smo pripravljeno raztopino dobro premešali in jo postavili v ultrazvočno kadičko za nekaj minut, da se je valsartan popolnoma raztopil. Z redčenjem raztopin s topilom smo pripravili raztopine s koncentracijami od 0,0015-0,18 mg/ml. Vzorce smo filtrirali skozi 0,45 µl filter in s pomočjo računalniškega programa določili površine pod krivuljo iz katerih smo določili enačbo umeritvene premice in  $R^2$ .



Slika 12: Enačba premice za izračun koncentracije valsartana.

## 4. REZULTATI IN RAZPRAVA

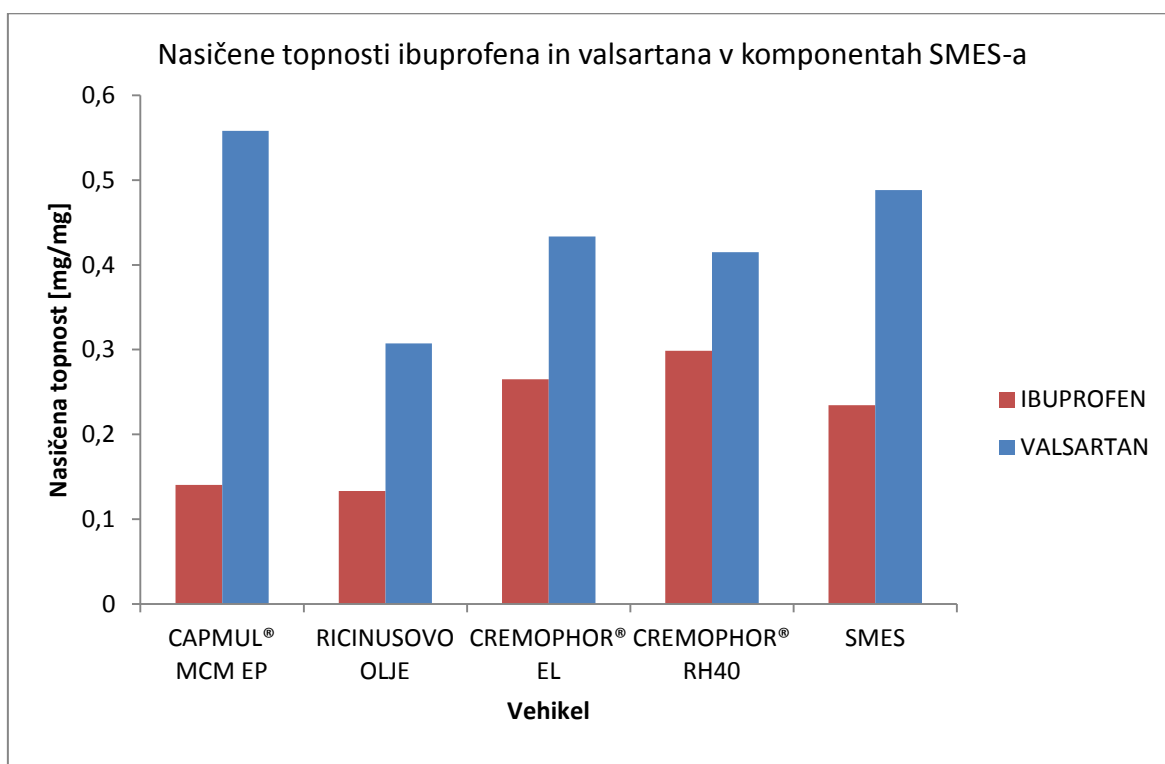
### 4.1. DOLOČANJE NASIČENE TOPNOSTI IBUPROFENA IN VALSARTANA V POSAMEZNIH KOMPONENTAH TEKOČEGA SMES-A

Namen našega raziskovalnega dela je bil raziskati vpliv topnosti učinkovin v posameznih komponentah SMES-a na *in vitro* sproščanje iz SME formulacij. Kot modelni učinkovini smo uporabili ibuprofen in valsartan, učinkovini, za kateri literaturni viri navajajo, da se razlikujeta v topnosti v oljih in površinsko aktivnih snoveh. Ibuprofen je učinkovina, ki se bolje topi v površinsko aktivnih snoveh kot v oljih, za valsartan pa velja obratno (38,54,55,56). Da bi potrdili literaturne podatke, smo določili nasičene topnosti izbranih učinkovin v posameznih komponentah sistema.

Največjo topnost ibuprofena smo določili v Cremophorju<sup>®</sup> RH 40 (0,299 mg/mg), sledita mu Cremophor<sup>®</sup> EL (0,265 mg/mg) in Capmul<sup>®</sup> (0,140 mg/mg), najslabše pa se ibuprofen topi v ricinusovem olju (0,133 mg/mg). Rezultati kažejo, da je topnost ibuprofena približno enkrat višja v površinsko aktivnih snoveh kot v oljnih sestavinah SMES-a, kar se ujema s podatki iz literaturnih virov (54,55). Roni in sodelavci so v svoji raziskavi določili topnost ibuprofena v ricinusovem olju 223,70 mg/ml, Shah pa kot rezultat topnosti ibuprofena v Cremophorju<sup>®</sup> RH 40 navaja 145,35 mg/ml (54,55). Kot vidimo, se naši rezultati številčno nekoliko razlikujejo od literaturnih, kar je lahko posledica različnih postopkov določevanja nasičene topnosti ter uporaba učinkovin in vehiklov različnih proizvajalcev.

Prav tako smo določili nasičeno topnost valsartana v posameznih sestavinah SMES-a. Valsartan je najboljšo topnost izkazoval v Capmulu<sup>®</sup> (0,558 mg/mg), ki je oljna komponenta našega SMES-a. Topnost v uporabljenih površinsko aktivnih snoveh je bila približno enaka, 0,434 mg/mg v Cremophorju<sup>®</sup> EL in 0,415 mg/mg v Cremophorju<sup>®</sup> RH 40. Malce slabšo topnost valsartana pa smo določili v ricinusovem olju (0,307 mg/mg). Če primerjamo naše rezultate z literaturnimi opazimo, da so v poskusu, ki so ga izvajali Rao in sodelavci, določili dvakrat večjo topnost valsartana v Capmulu<sup>®</sup> kot v Cremophorju<sup>®</sup> RH40 ter štirikrat večjo kot v Cremophorju<sup>®</sup> EL in ricinusovem olju (56). Tudi Beg in kolegi so preučevali topnost valsartana v različnih medijih. Izmerili so podobne nasičene koncentracije valsartana, kakor mi v našem poskusu (38). Razlog za odstopanje dobljenih rezultatov v primerjavi z nekaterimi literaturnimi viri je lahko, tako kot v primeru ibuprofena, v različnem materialu in izvedbi poskusa.

Tako kot literaturni, tudi naši rezultati potrjujejo, da je ibuprofen učinkovina, ki je boljje topna v površinsko aktivnih snoveh našega SMES-a in valsartan tista, ki ima boljšo topnost v oljni fazi (slika 13). Pomembno je, da je vgrajena učinkovina dobro topna v vseh komponentah SMES-a, saj lahko v nasprotnem primeru po redčenju formulacije v GIT pride do obarjanja predhodno raztopljenе učinkovine. Manjša možnost za pojav te težave je pri sistemih, kjer je učinkovina bolj topna v oljni fazi, saj ostane raztopljena tudi po dispergiranju v vodnem mediju GIT. Kadar pa emulgatorji in koemulgatorji poglavitno prispevajo k topnosti učinkovine, je možnost za obarjanje učinkovine v GIT večja, zlasti pri uporabi hidrofilnih PAS (14,56). Opazimo tudi, da je topnost valsartana v primerjavi z ibuprofenom višja v vseh komponentah SMES-a, kar smo glede na omenjene vrednosti logaritma porazdelitvenega koeficienta teh učinkovin ( $\log P$  ibuprofena je 3,94 (30),  $\log P$  valsartana pa znaša 5,8. (38,39)), tudi pričakovali.



Slika 13: Primerjava določenih nasičenih topnosti ibuprofena in valsartana v komponentah SMES-a.



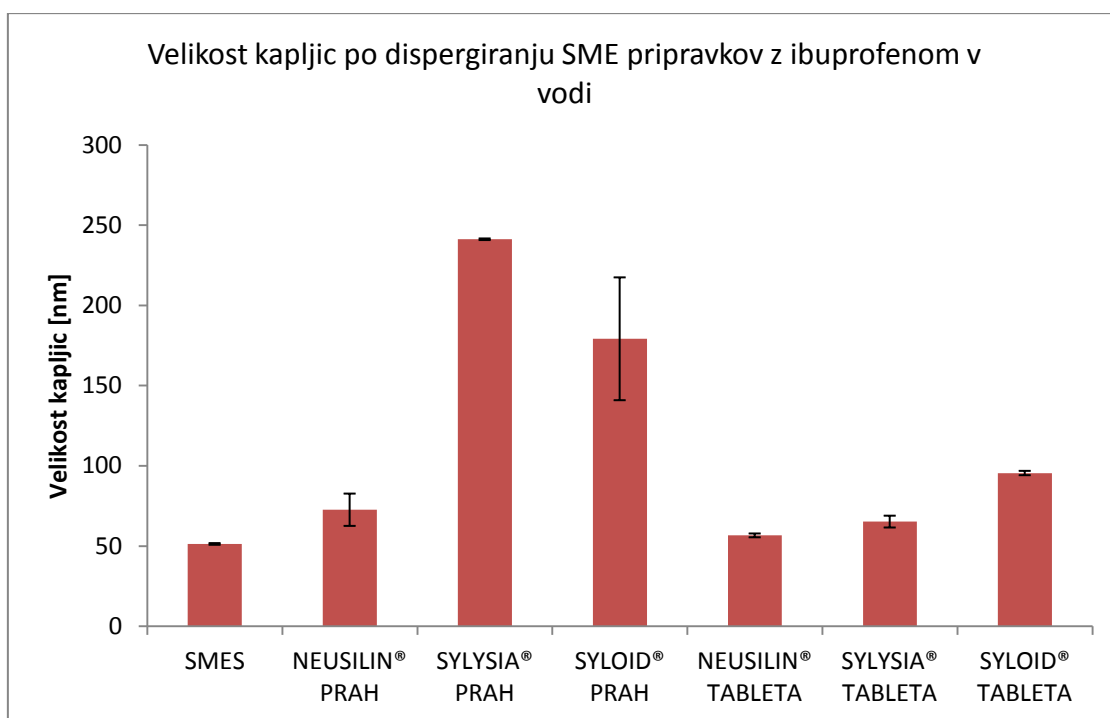
## 4.2. VELIKOST KAPLJIC NOTRANJE FAZE

Velikost kapljic notranje faze, ki nastanejo po dispergiranju SME formulacij je zelo pomemben podatek, ki ga moramo upoštevati pri razvoju SMES-ov. Z meritvijo velikosti kapljic lahko napovemo sproščanje učinkovine iz sistema in posredno obseg njene biološke uporabnosti (56). Večja ko je kapljica, manjšo specifično površino ima in počasneje bo učinkovina prehajala iz nje. Velja tudi obratno (57).

Meritve smo izvajali za obe učinkovini, vgrajeni v tekoči SMES, SME praške in SME tablete, katere smo dispergirali v treh različnih medijih: vodi, pufru s pH=1,2 in pufru s pH=6,8. V vseh primerih so nastale transparentne disperzije.

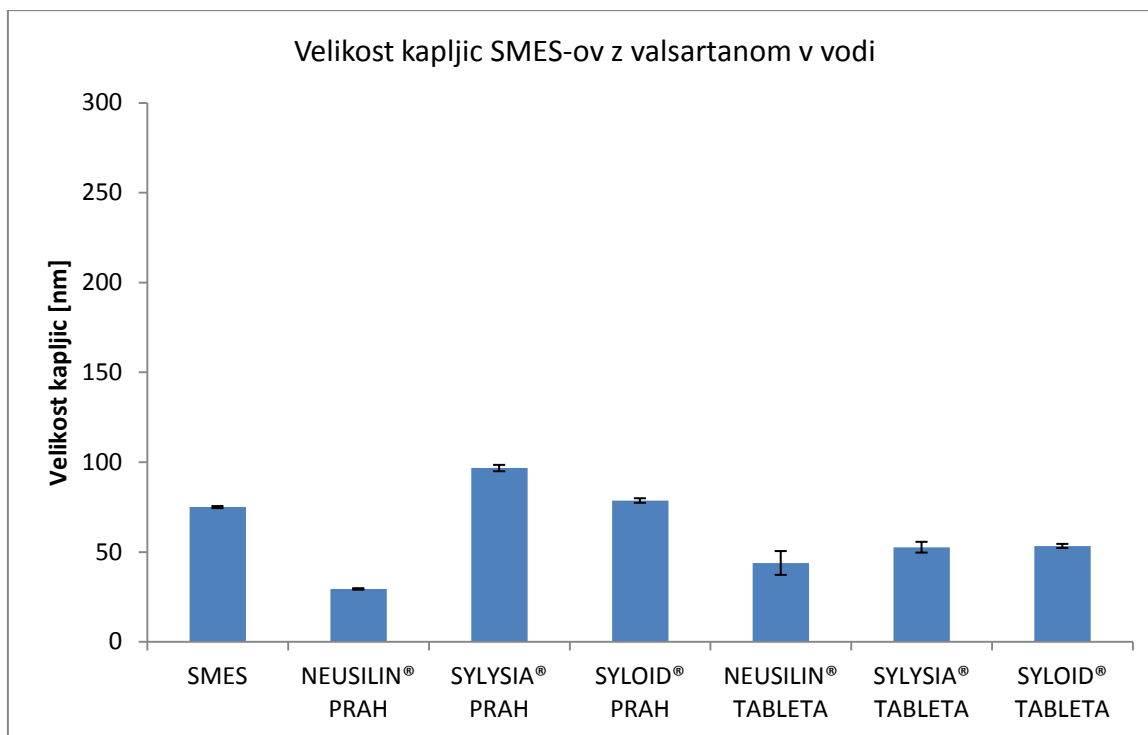
### 4.2.1. Velikost kapljic notranje faze po dispergiranju SME formulacij v vodi

Po dispergiranju SME formulacij z ibuprofenom v vodi smo izmerili najmanjšo povprečno velikost kapljic notranje faze pri tekočem SMES-u in sicer 51,3 nm v premeru. Z vezavo SMES-a z ibuprofenom na trdne porozne nosilce se je velikost kapljic povečala. Ta sprememba velikosti je bila najmanj izražena pri SME prašku, ki je kot nosilec vseboval Neusilin<sup>®</sup> US2, kjer smo izmerili povprečno velikost kapljic 72,6 nm. Največje kapljice pa so nastale po dispergiranju SME praškov z nosilcema Sylysio<sup>®</sup> 350 (241,2 nm) in Syloidom<sup>®</sup> 244FP (179,2 nm). Ti nastali sistemi ne ustrezajo definiciji mikroemulzij, saj so bile izmerjene kapljice večje od 100 nm. Izmerili smo tudi kapljice, nastale po dispergiranju pripravljenih SME tablet z ibuprofenom. Izkazalo se je, da vsi vzorci tvorijo mikroemulzije. Pri tabletah z Neusilinom<sup>®</sup> US2 smo določili najmanjšo povprečno velikost kapljic (56,6 nm), pri tabletah s Sylysio<sup>®</sup> 350 je ta znašala 65,2 nm, tablete s Syloidom<sup>®</sup> 244FP pa so tvorile kapljice velikosti 95,5 nm. Opazimo lahko, da po dispergiranju SME tablet nastanejo večje kapljice, kot pri tekočem SMES-u, toda manjše kot pri praških z istim nosilcem (slika 14). Vzrok temu so lahko pomožne snovi, ki smo jih uporabili pri tabletiranju.



Slika 14: Premer kapljic po dispergiranju SME pripravkov z ibuprofenom v vodi.

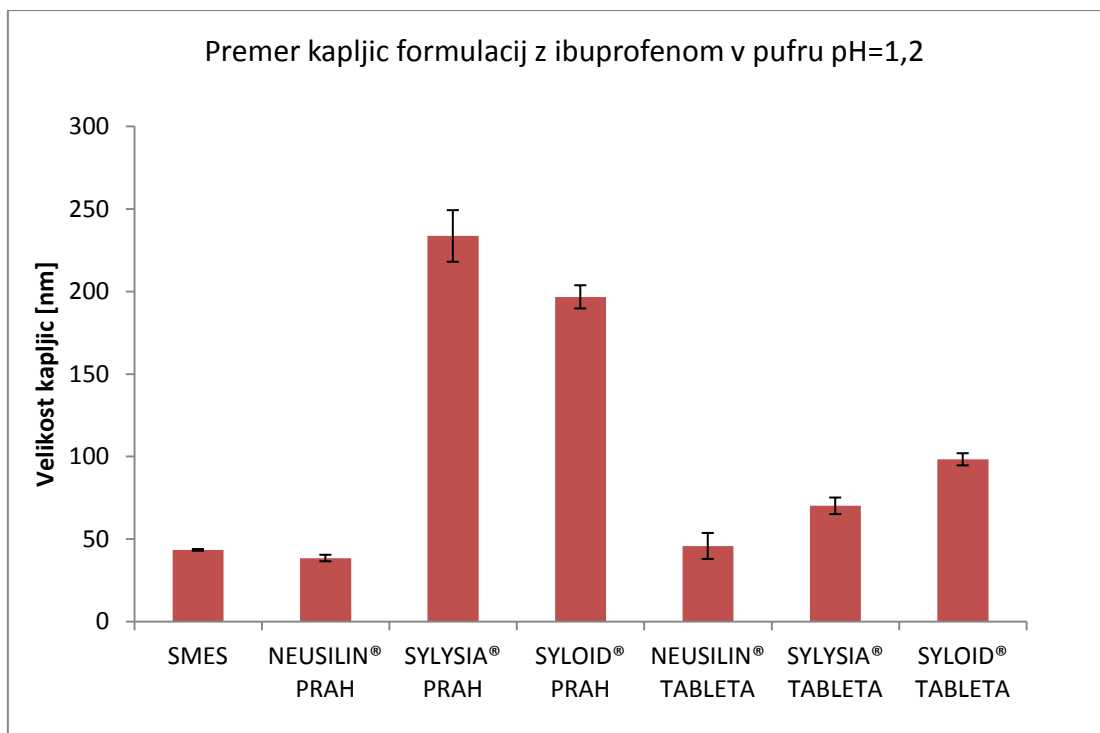
V vodi smo dispergirali tudi SME pripravke z valsartanom, pri čemer so v vseh primerih nastale mikroemulzije (slika 15). Z adsorpcijo SMES-a z valsartanom na Neusilin® US2, se je velikost kapljic notranje faze zmanjšala (29,4 nm) v primerjavi s kapljicami tekočega SMES-a (75 nm). Pri ostalih dveh formulacijah, kjer smo za nosilec uporabili Sylysio® 350 in Syloid® 244FP, pa je bil premer kapljic večji od kapljic tekočega SMES-a. Izmerjena velikost kapljic je bila 96,7 nm pri prašku s Sylysio® 350 in 78,6 nm pri prašku s Syloidom® 244FP. Preučevali smo tudi velikost kapljic po dispergiranju SME tablet z valsartanom. Pri disperzijah, nastalih z dispergiranjem tablet z Neusilinom® US2, smo določili 43,9 nm, s Sylysio® 350 52,6 nm in s Syloidom® 244FP 53,4 nm velike kapljice. Premer kapljic pri SME tabletah je bil manjši v primerjavi z velikostjo kapljic tekočega SMES-a in SME praškov (izjema so le tablete, ki so kot nosilec vsebovale Neusilin® US2 in so tvorile večje kapljice, kot SME prašek z istim nosilcem).



Slika 15: Primerjava velikosti kapljic nastalih disperzij valsartana v vodi.

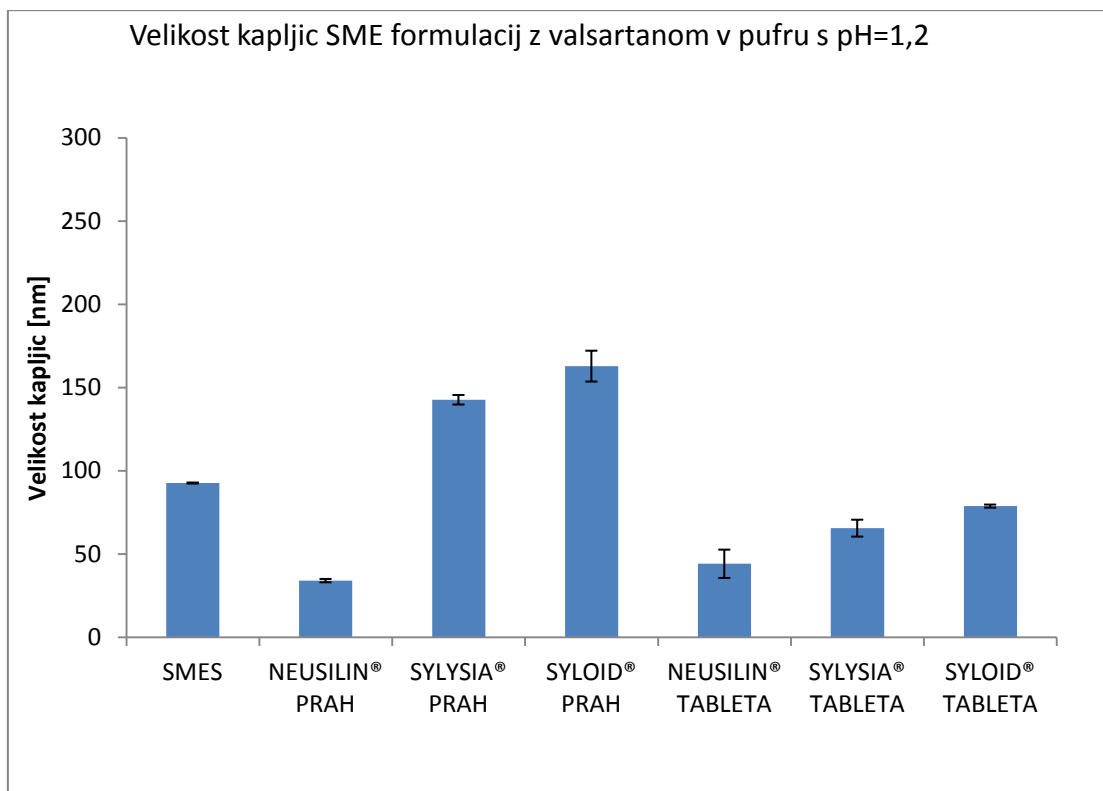
#### 4.2.2. Velikost kapljic po dispergiranju v pufru s pH 1.2

Premer kapljic po dispergiranju preučevanih SME formulacij z ibuprofenom smo izmerili tudi v kislem mediju (slika 16). Prašek, ki je vseboval nosilec Neusilin® US2, je edini izmed praškov, pri katerem smo določili podobno velikost kapljic kot pri tekočem SMES-u (približno 40 nm). Kapljice preostalih dveh serij so bile mnogo večje (približno 200 nm). Tudi po dispergiranju SME tablet z ibuprofenom so bile kapljice večje kot pri tekočem SMES-u, vendar manjše kot pri SME praških (izjema so tablete z Neusilinom® US2, kjer je bil rezultat obraten). Najmanjše kapljice so tvorile tablete z Neusilinom® US2 (45,8 nm), sledijo tablete s Sylysio® 350 (70,1 nm) in tablete s Syloidom® 244FP (98,3 nm). Opazimo, da se je v kislem pufru, tako kot v vodi, velikost kapljic po dispergiranju trdnih SMES-ov povečala v primerjavi s kapljicami tekočega SMES-a in da so kapljice iz SME tablet manjše kot iz SME praškov. Na splošno gledano so kapljice izmerjane v kislem pufru podobnega velikostnega razreda kot kapljice v vodi.



Slika 16: Premeri kapljic po dispergiranju SME formulacij z ibuprofenom v pufru s pH=1,2.

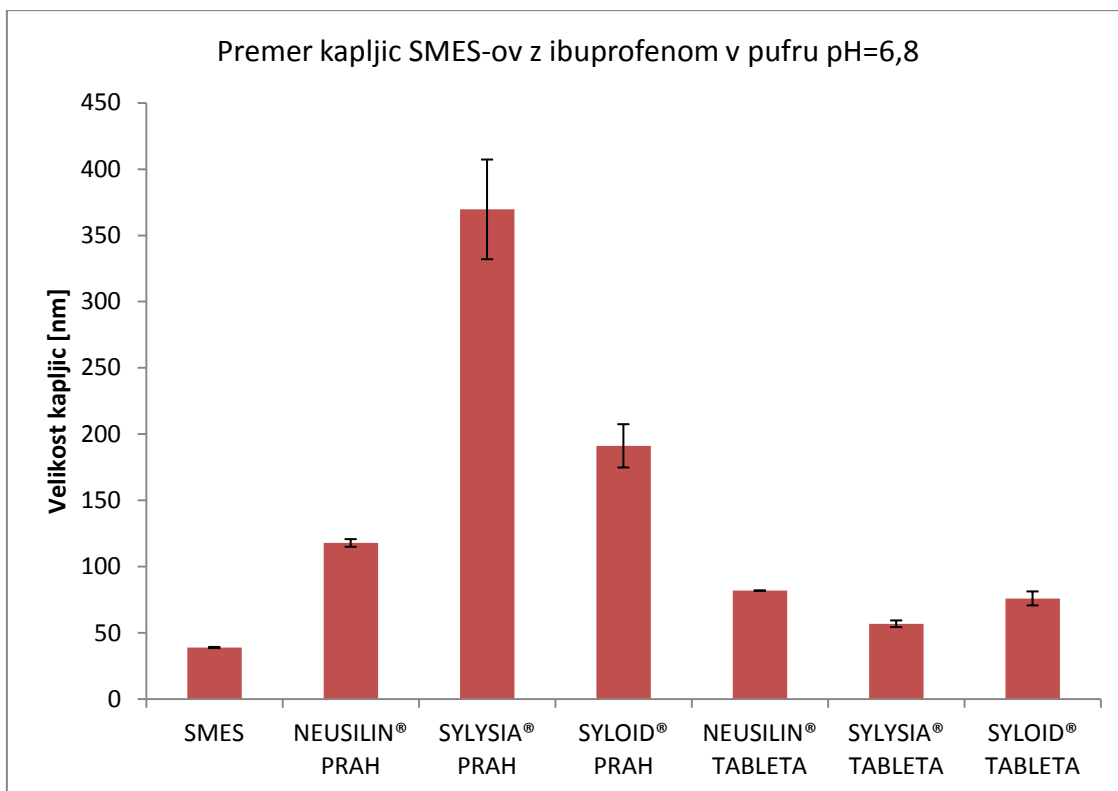
Prav tako smo izmerili velikost kapljic po dispergiranju SME pripravkov z valsartanom (slika 17). Premer kapljic praška z Neusilinom<sup>®</sup> US2 (34,1 nm) je bil mnogo manjši, premera kapljic SME praškov s Sylysio<sup>®</sup> 350 (142,7 nm) in Syloidom<sup>®</sup> 244 FP (162,9 nm) pa večja kot pri tekočem SMES-u (92,7 nm). Kapjice, nastale z dispergiranjem SME tablet z valsartanom, so bile pri vseh treh serijah manjše kot pri tekočem SMES-u in SME praških (izjema so le tablete z Neusilinom<sup>®</sup> US2). Izmerjene velikosti kapljic po dispergiranju tablet v kislem pufru so bile: pri tabletah z Neusilinom<sup>®</sup> 44,2 nm, s Sylysio<sup>®</sup> 350 65,6 nm in s Syloidom<sup>®</sup> 244FP 78,8 nm. Če primerjamo dobljene rezultate z rezultati, ki smo jih dobili po dispergiranju SME formulacij z valsartanom v vodi opazimo, da so v obeh primerih praški z Neusilinom<sup>®</sup> US2 tvorili manjše kapljice od tekočega SMES-a, praški ostalih dveh serij pa večje. Opazimo tudi, da je bil premer kapljic po dispergiranju tablet v obeh uporabljenih medijih manjši v primerjavi s tekočim SMES-om. Kapljice v kislem pufru so bile večinoma enakega velikostnega razreda kot kapljice v vodi.



Slika17: Premeri kapljic nastalih po dispergiranju SME formulacij valsartana v pufru s pH=1,2.

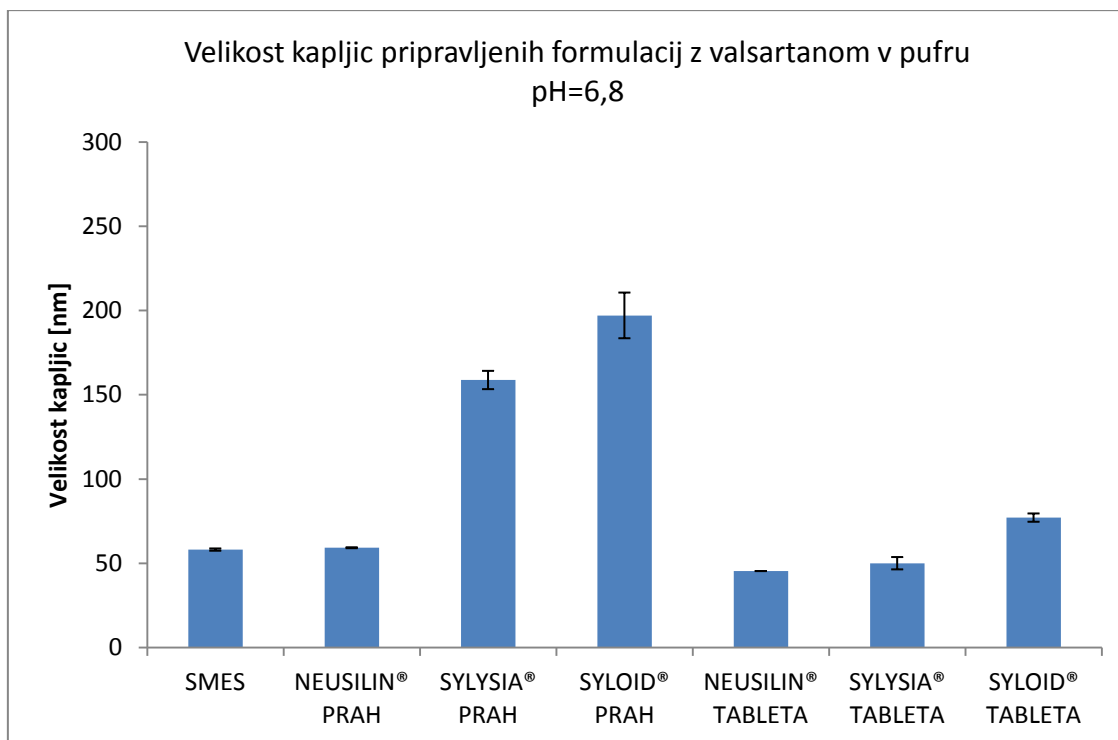
#### 4.2.3. Določanje velikosti kapljic v pufru s pH=6,8

Nazadnje smo velikost kapljic notranje faze izmerili disperzijam, nastalim po dispergiranju SMES-a v fosfatnem pufru s pH=6,8 (slika 18). Pri pripravkih z ibuprofenom so nastale največje kapljice po dispergiranju praškastih formulacij. Te so v premeru merile več kot 100 nm in so bile mnogo večje kot tiste, ki so nastale po dispergiranju tekočega SMES-a z ibuprofenom (38,9 nm). Vse SME tablete pa so tvorile mikroemulzije, a so bile njihove kapljice večje od kapljic tekočega SMES-a. Dobljeno zaporedje velikosti kapljic po dispergiranju SMES-ov z ibuprofenom (IBU-SMES < SME tablete < SME praški) je bilo enako v vodi, pufru s pH=1,2 in pufru s pH=6,8.



Slika 18: Izmerjeni premeri kapljic SMES-ov z ibuprofenom v pufru s pH=6,8.

Določili smo tudi velikost kapljic SMES-ov z valsartanom (slika 19). Kapljice, nastale po dispergiranju tekočega SMES-a (58,1 nm), so bile manjše od kapljic, ki so nastale po adsorpciji tekočega SMES-a z valsartanom na nosilce. Premer kapljic pri prašku z Neusilinom<sup>®</sup> US2 je bil 59,2 nm, s Sylysio<sup>®</sup> 350 158,7 nm, s Syloidom<sup>®</sup> FP244 pa 197,1 nm. SME tablete so tvorile manjše kapljice od SME praškov in tudi od tekočega SMES-a. Izjema so le tablete, ki so vsebovale nosilec Syloid<sup>®</sup> FP244, pri katerih smo izmerili večjo velikost kapljic (77 nm) kot pri tekočem SMES-u. Če primerjamo velikosti kapljic SMES-ov z valsartanom, ki smo jih izmerili v vodi, pufru s pH=1,2 in pufru s pH=6,8, lahko opazimo, da so bile v vseh treh primerih kapljice SME tablet in praškov z Neusilinom<sup>®</sup> US2 največkrat manjše od kapljic tekočega SMES-a, medtem ko sta praška s Sylysio<sup>®</sup> 350 in Syloidom<sup>®</sup> 244FP tvorila večje kapljice od tekočega SMES-a.



Slika 19: Izmerjeni premeri kapljic SME formulacij z valsartanom v pufru s pH=6,8.

Kako velike kapljice bodo nastale po dispergiranju SMES-a je, kot kažejo rezultati meritev (preglednica VI), odvisno tako od medija, uporabljenega za dispergiranje, kot od fizikalnokemijskih lastnosti dispergirane učinkovine. Opazimo, da so kapljice obeh tekočih SMES-ov manjše po dispergiranju v mediju z višjim pH v primerjavi s kislim medijem. O podobnih dognanjih so poročali tudi Rajinikanth in kolegi (57). Tako valsartan kot ibuprofen sta po naravi šibki kislini, zato sta pri nižjih pH večinoma v neionizirani obliki. Sklepamo, da zato ostaneta raztopljena v kapljicah SMES-a, posledično pa so le-te večje. Nasprotno velja, da sta substanci pri višjemu pH pretežno v ionizirani obliki in imata zato večjo tendenco za difuzijo v fosfatni pufer, kar ima za posledico manjšo velikost kapljic notranje faze po dispergiranju v pufru s pH=6,8 (57). Dobljeni rezultati kažejo tudi, da v večini primerov formulacije z valsartanom po dispergiranju tvorijo manjše ali podobno velike kapljice kot formulacije, ki kot aktivno učinkovino vsebujejo ibuprofen. Slednje bi bilo lahko posledica različnega deleža vgrajenih učinkovin v SMES-u. Naj spomnimo, v tekoči SMES smo vgradili 25 mg ibuprofena, kar predstavlja 10% celotne mase SMES-a in 15 mg valsartana, kar je 6% glede na celotno maso SMES-a. Posledično se razlikujeta tudi deleža površinsko aktivnih snovi v sistemih. Delež PAS v SMES-u z ibuprofenom je 36% (m/m), v SMES-u z valsartanom pa 37,6% (m/m). Raziskave kažejo, da obstaja korelacija med koncentracijo uporabljenih PAS in velikostjo kapljic. Večja kot je koncentracija PAS

v SMES-u, manjše kapljice nastanejo po dispergiranju, kar razlagamo s stabilizacijo oljnih kapljic, ki je rezultat razporeditve molekul PAS na medpovršini olje-voda (5). Razvidno je tudi, da se v splošnem po vezavi SMES-a z ibuprofenom na trdne nosilce velikost kapljic po dispergiranju poveča, medtem ko je pri valsartanu rezultat pogosto obraten. Kapljice SME tablet so bile pri obeh učinkovinah manjše od kapljic SME praškov, kar pripisujemo vplivu pomožnih snovi, ki smo jih uporabili pri tabletiranju.

**Preglednica VI: Primerjava povprečnih velikosti kapljic po samomikroemulgiranju (nm).**

UČINKOVINA	IBUPROFEN			VALSARTAN			
	MEDIJ	VODA	PUFER 1,2	PUFER 6,8	VODA	PUFER 1,2	PUFER 6,8
SMES		51,3	43,4	38,9	75	92,7	58,1
Neusilin <sup>®</sup> -P		72,6	38,5	117,9	29,4	34,1	59,2
Sylsya <sup>®</sup> -P		241,2	233,6	369,6	96,7	142,7	158,7
Syloid <sup>®</sup> -P		179,2	196,7	191,15	78,6	162,9	197,1
Neusilin <sup>®</sup> -T		56,6	45,8	81,9	43,9	44,2	45,4
Sylsya <sup>®</sup> -T		65,2	70,1	56,9	52,6	65,6	50
Syloid <sup>®</sup> -T		95,5	98,3	76	53,4	78,8	77

### 4.3. DOLOČANJE POLIDISPERZNEGA INDEKSA

Nastalim disperzijam smo izmerili tudi polidisperzni indeks (PDI). PDI je merilo za širino porazdelitve velikosti kapljic. Njegove vrednosti se gibljejo med 0 in 1. Vrednosti, ki so bližje 0, nam povedo, da je sistem homogen in da vsebuje delce (kapljice) enakomernih velikosti. Za vrednosti bližje 1 pa velja nasprotno.

Dobljene vrednosti so bile zelo raznolike in so predstavljene v preglednicama VII in VIII. Opazimo, da se je širina porazdelitve kapljic po vgraditvi tekočega SMES-a v trdno obliko povečala tako pri ibuprofenu, kot pri valsartanu. Razlog za to bi lahko bili netopni delci pomožnih snovi ali nosilcev, ki so ostali v supernatantu tudi po centrifugiranju. Na splošno pa je bil PDI pri SME tabletah višji kot pri SME praških.



Preglednica VII: PDI s SD po dispergiranju SME formulacij z ibuprofenom v različnih medijih.

MEDIJ	VODA		PUFER PH=1,2		PUFER PH=6,8	
	PDI	SD	PDI	SD	PDI	SD
IBU-SMES	0,234	0,007	0,131	0,006	0,173	0,015
I-Neusilin <sup>®</sup> -P	0,608	0,027	0,350	0,022	0,217	0,023
I-Sylysia <sup>®</sup> -P	0,411	0,058	0,389	0,128	0,449	0,088
I-Syloid <sup>®</sup> -P	0,214	0,004	0,261	0,033	0,235	0,012
I-Neusilin <sup>®</sup> -T	0,558	0,02	0,372	0,043	0,484	0,006
I-Sylysia <sup>®</sup> -T	0,571	0,007	0,516	0,039	0,745	0,013
I-Syloid <sup>®</sup> -T	0,562	0,016	0,540	0,019	0,577	0,002

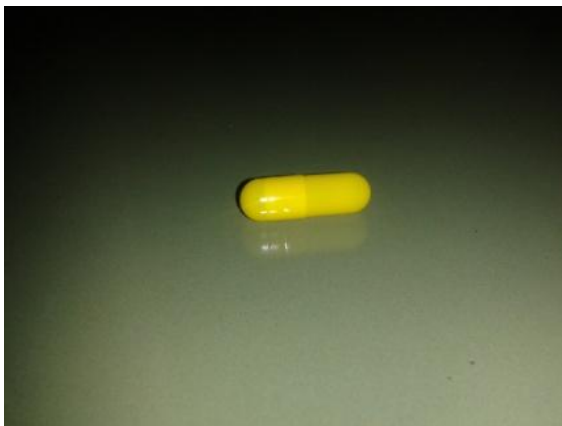
Preglednica VIII: PDI s SD, ki smo ga izmerili po dispergiranju formulacij z valsartanom v različnih medijih.

MEDIJ	VODA		PUFER PH=1,2		PUFER PH=6,8	
	PDI	SD	PDI	SD	PDI	SD
VAL-SMES	0,286	0,007	0,282	0	0,236	0,003
V-Neusilin <sup>®</sup> -P	0,317	0,006	0,314	0,031	0,216	0,003
V-Sylysia <sup>®</sup> -P	0,601	0,089	0,384	0,013	0,254	0,026
V-Syloid <sup>®</sup> -P	0,588	0,034	0,283	0,026	0,280	0,034
V-Neusilin <sup>®</sup> -T	0,450	0,036	0,380	0,079	0,372	0
V-Sylysia <sup>®</sup> -T	0,581	0,043	0,934	0,230	0,619	0,124
V-Syloid <sup>®</sup> -T	0,561	0,012	0,534	0,004	0,534	0,004

#### 4.4. IN VITRO PRESKUS SPROŠČANJA

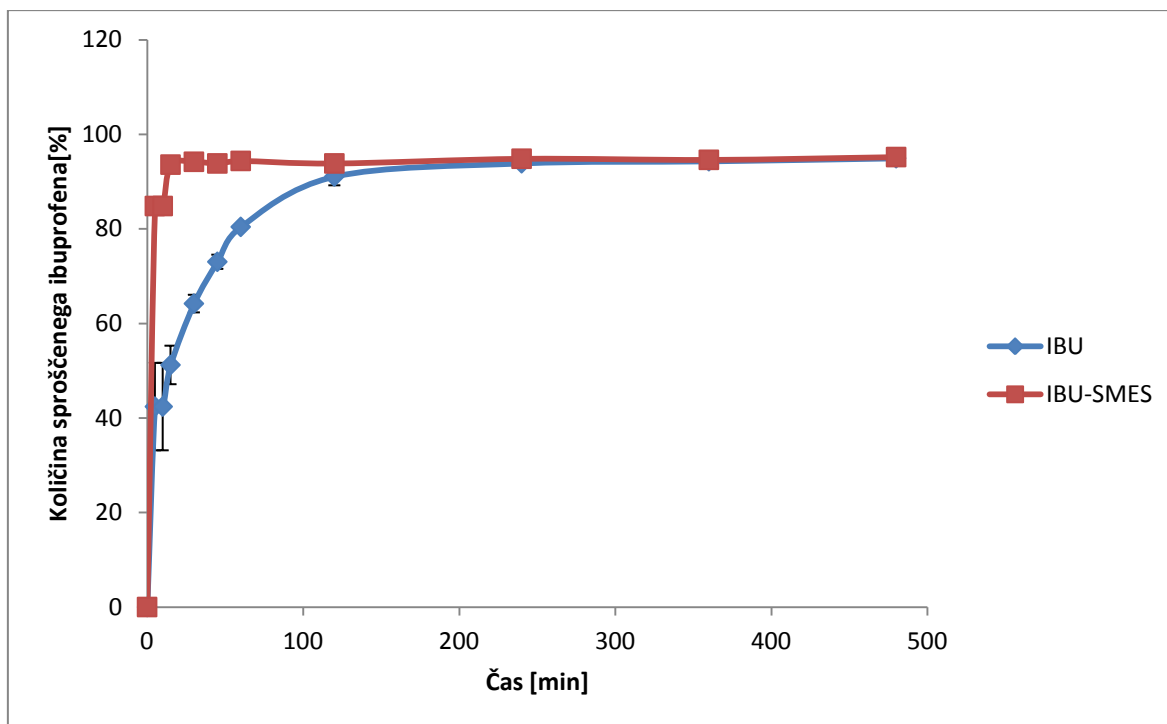
##### 4.4.1. Primerjava sproščanja ibuprofena in valsartana po vgradnji v tekoči SMES

Najprej smo preučevali, kako vgradnja ibuprofena in valsartana v tekoči SMES vpliva na njuno sproščanje v pufrih s pH=1,2 in pH=6,8. Primerjali smo sproščanje čiste zdravilne učinkovine v prahu s sproščanjem učinkovine raztopljene v SMES-u. Vzorec za sproščanje je bil tekoči SMES, polnjen v trdne želatinaste kapsule (slika 20), količina vzorca pa je ustrezala 25 mg ibuprofena oz. 15 mg valsartana. Za omenjeno količino učinkovine smo se odločili zato, ker smo želeli pri izvajanju *in vitro* testa sproščanja zagotavljati »sink« pogoje. Ti so vzpostavljeni, ko je volumen medija vsaj trikrat večji od volumna, ki bi bil potreben, da se tvori nasičena raztopina substance (53).



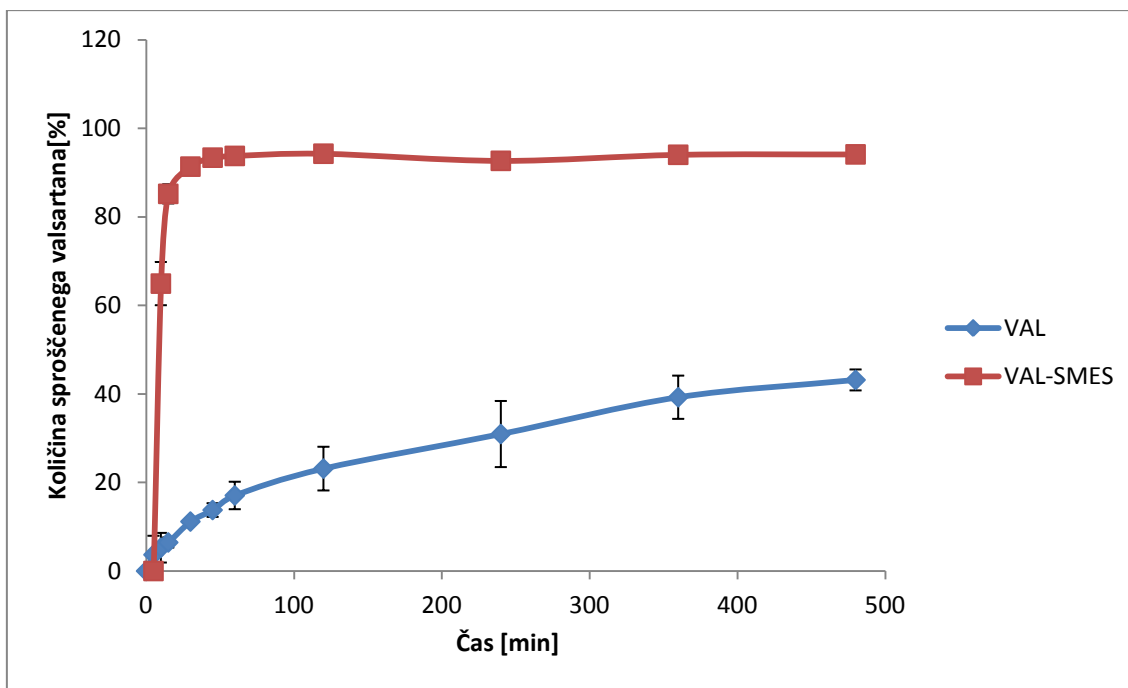
**Slika 20:** Trdna želatinasta kapsula velikosti 0, v katero smo polnili tekoči SMES z vgrajeno učinkovino.

Primerjali smo sproščanje čistega ibuprofena (IBU) in ibuprofena po vgradnji v tekoči SMES (IBU-SMES). Poskus smo izvajali v pufru s pH=1,2, kateremu smo dodali 0,5 % Tweena<sup>®</sup> 20, da bi dosegli »sink« pogoje. Opazili smo, da se je že po prvih 15 minutah sprostil preko 90% ibuprofena iz tekočega SMES-a, medtem ko se je takšna količina čistega ibuprofena v prahu sprostila šele po dveh urah izvajanja poskusa. Na koncu testa se je sprostilo 95 % ibuprofena v obeh primerih (slika 21). Glede na to, da smo test sproščanja izvajali v »sink« pogojih, smo pričakovali, da se bo do konca testa sprostila celotna količina ibuprofena. Možen vzrok za izmerjeno nižjo količino sproščenega ibuprofena je lahko v morebitnih izgubah, ki so nastale pri filtriranju vzorcev.



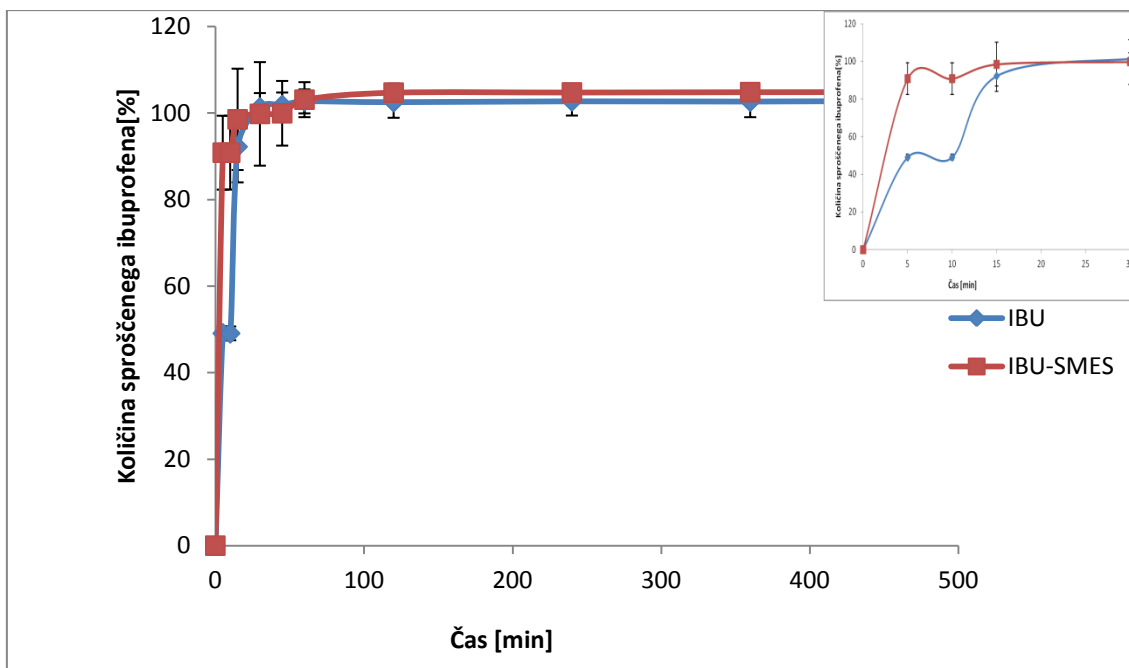
Slika 21: Primerjava sproščanja čistega ibuprofena v prahu s sproščanjem iz IBU-SMES v pufru  $pH=1,2$  z 0,5 % Tweena<sup>®</sup> 20.

Pri valsartanu je bila pri enakih pogojih razlika med sproščanjem čistega valsartana (VAL) in sproščanjem valsartana iz tekočega SMES-a (VAL-SMES) še bolj opazna (slika 22). Vgradnja valsartana v tekoči SMES je omogočila zelo hitro in skoraj popolno (približno 95 %) sproščanje učinkovine že v prvi uri izvajanja preizkusa. Valsartan v čisti obliki se je sproščal občutno bolj počasi in tudi po osmih urah testa ne v celoti (približno 40 %). Količina sproščenega valsartana po dveh urah je bila okoli 31 %. Za valsartan kot šibko kislino je sicer značilno, da je zelo slabo topen v medijih z nizkim pH (57), toda test smo izvajali pri »sink« pogojih, zato je lahko razlog za nepopolno sproščanje čistega valsartana v prahu njegova nestabilnost v kislem mediju. Poteče lahko namreč kisla hidroliza valsartana (58), zato obstaja verjetnost, da je nekaj učinkovine med testom hidroliziralo.



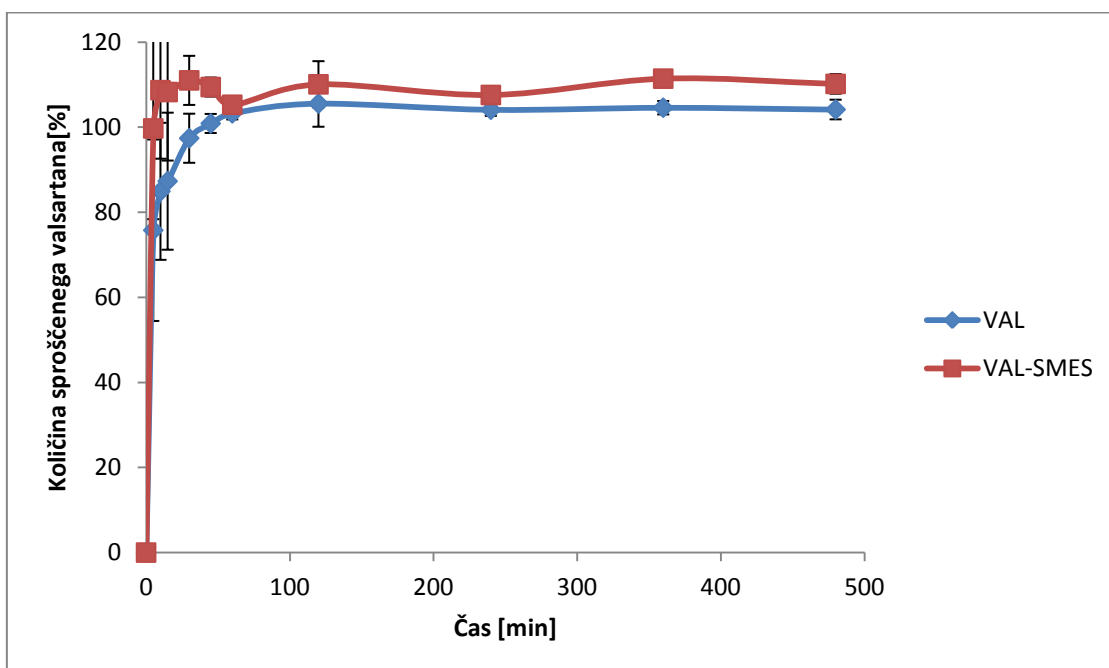
Slika 22: Profil sproščanja čistega valsartana in valsartana iz VAL-SMES v pufru s  $pH=1,2$ .

V fosfatnem pufru s  $pH=6,8$  je sproščanje ibuprofena potekalo hitreje. Največjo razliko v hitrosti sproščanja čistega ibuprofena v primerjavi s sproščanjem ibuprofena vgrajenega v SMES smo opazili v prvih 30 minutah vzorčenja. Pri tekočem SMES-u z ibuprofenom smo že v peti minuti izmerili 90 % sproščene učinkovine, medtem ko se je v tem času sprostil le približno 50 % čistega ibuprofena. Po osmih urah sproščanja se je iz obeh vzorcev sprostila celotna količina ibuprofena. Rezultate prikazuje slika 23.



Slika 23: Sproščanje čistega ibuprofena in ibuprofena po vgradnji v tekoči SMES v fosfatnem pufru.

V fosfatnem pufru smo preučevali tudi sproščanje čistega valsartana v primerjavi s sproščanjem valsartana iz tekočega SMES-a. Slednji se je sprostil takoj v celoti, medtem ko se je čisti valsartan raztopil v takem obsegu šele v 45. minuti (slika 24).



Slika 24: Primerjava sproščanja čistega valsartana s sproščanjem valsartana iz VAL-SMES v pufru pH=6,8.

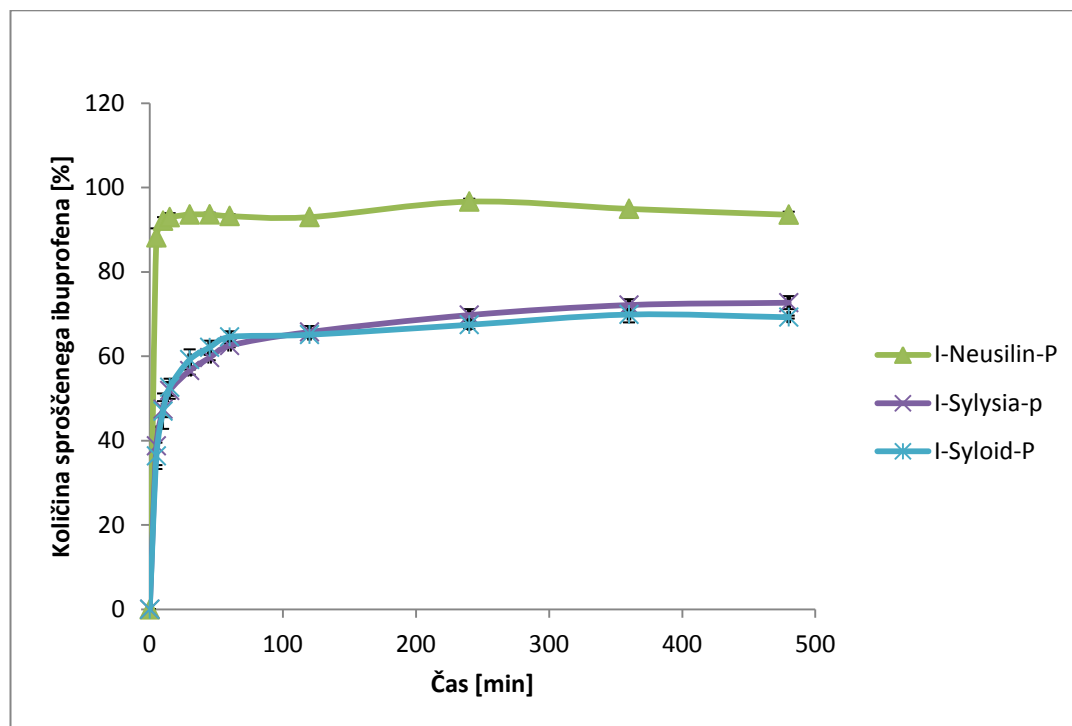
Ugotovili smo, da vgradnja obeh modelnih učinkovin v tekoči SMES pospeši njuno sproščanje v obeh uporabljenih medijih ter poveča delež sproščenega valsartana v kislem pufru. Do podobnih rezultatov so prišli tudi Zaghoul in sodelavci, ki so preučevali vgradnjo ibuprofena v SMES (12) in Rajinikanth s kolegi, ki so preučevali SMES z valsartanom (57). Hitrejše sproščanje učinkovin iz SMES-ov je posledica spontane tvorbe mikroemulzije, ki nastane ob stiku z vodnim medijem. Nastale mikroemulzije vsebujejo majhne kapljice, v katerih je učinkovina raztopljena, zato hitreje prehaja v vodno fazo (56). Nadalje smo ugotovili, da obstaja korelacija med izmerjeno velikostjo kapljic in sproščanjem učinkovin iz tekočih SMES-ov pri obeh učinkovinah. Kapljice, nastale po dispergiranju tekočih SMES-ov z vgrajeno učinkovino v pufru s pH=1,2, so bile večje v primerjavi s kapljicami, ki so nastale v fosfatnem pufru. Sorazmerno se je učinkovina v kislem pufru sproščala počasneje kot v fosfatnem.

#### **4.4.2. Primerjava profilov sproščanja ibuprofena in valsartana po adsorpciji na trdne porozne nosilce**

Glavni namen našega raziskovalnega dela je bil preučevanje obnašanja trdnih SME formulacij z učinkovinama različnih topnosti pri *in vitro* pogojih. Opazovali smo sproščanje učinkovin iz pripravljenih SME praškov v dveh različnih medijih, pufru s pH=1,2, ki je ponazarjal pogoje v želodcu in pufru s pH=6,8, ki je simuliral pogoje v črevesu. Uporabljena količina SME praškov za sproščanje je ustrezala 25 mg ibuprofena oz. 15 mg valsartana. Tako smo lahko primerjali sproščanje učinkovin iz SME praškov s sproščanjem učinkovin iz tekočih SMES-ov.

V kislem pufru se je največ ibuprofena sprostilo iz pripravka, ki je kot trdni nosilec vseboval Neusilin<sup>®</sup> US2 (I-Neusilin-P). V prvih petih minutah se je tako sprostilo približno 90 % učinkovine. Profil sproščanja je bil primerljiv s profilom sproščanja ibuprofena iz tekočega SMES-a, kar pomeni, da je sproščanje ibuprofena iz te formulacije tudi hitrejše od raztapljanja čistega ibuprofena v prahu. Sproščanje ibuprofena iz SME praškov s Sylysio<sup>®</sup> 350 (I-Sylysia-P) in Syloidom<sup>®</sup> FP244 (I-Syloid-P) je bilo med seboj primerljivo, kar smo tudi pričakovali, saj sta si nosilca po kemijski sestavi identična. Po dveh urah je tako obseg sproščene učinkovine iz obeh omenjenih prahov znašal ~ 65 %, po osmih urah pa smo določili približno 70 % ibuprofena v mediju. Vendar pa se je tu koncentracija sproščenega ibuprofena znižala za več kot 20 % v primerjavi s količino sproščenega ibuprofena iz praška z Neusilinom<sup>®</sup> US2 in iz tekočega SMES-a ter tudi v primerjavi z

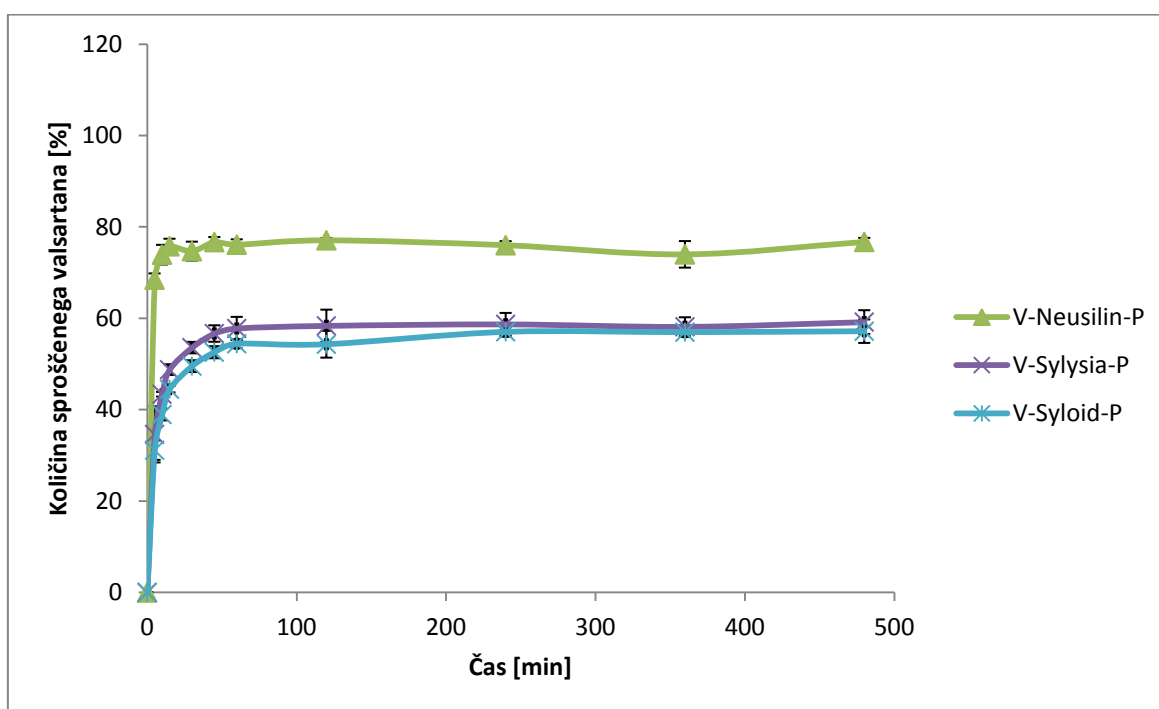
deležem sproščene čistega ibuprofena (slika 25). Prav tako, kot pri sproščanju ibuprofena iz tekočega SMES-a, smo tudi pri sproščanju iz SME praškov opazili povezavo med hitrostjo sproščanja ibuprofena in izmerjeno velikostjo kapljic, ki so nastale po dispergiranju formulacij v pufru s  $\text{pH}=1,2$ . Kapljice po dispergiranju SME praškov so bile približno enako velike (prašek z Neusilinom<sup>®</sup> US2) oz. večje od kapljic tekočega SMES-a z ibuprofenom, sproščanje ibuprofena iz SME praškov pa podobno (prašek z Neusilinom<sup>®</sup> US2) oz. počasnejše kot sproščanje iz tekočega SMES-a.



Slika 25: Primerjava profilov sproščanja ibuprofena iz SME praškov v pufru  $\text{pH}=1,2$  z 0,5 % Tweena<sup>®</sup> 20.

Najvišji delež sproščene učinkovine smo tudi v primeru valsartana dosegli iz formulacije, pri kateri smo kot nosilec uporabili Neusilin<sup>®</sup> US2 (V-Neusilin-P), in sicer ~ 68 % po petih minutah in ~77 % po dveh urah sproščanja. Pri formulacijah s Sylsio<sup>®</sup> 350 (V-Sylsya-P) in Syloidom<sup>®</sup> FP244 (V-Syloid-P) pa smo izmerili nižjo količino sproščene valsartana, in sicer pri prvi formulaciji 35 % sproščene valsartana po petih minutah in 58 % po dveh urah izvajanja poskusa, pri drugi formulaciji pa, v istih časovnih točkah, 31 % in 54 % sproščene učinkovine. Sodeč po rezultatih se valsartan vezan na trdne nosilce v kislem mediju sprošča v manjšem obsegu kot iz tekočega SMES-a, toda hitreje in v večjem obsegu, kot poteka sproščanje same učinkovine (slika 26). Tu povezave med velikostjo kapljic in hitrostjo sproščanja nismo opazili pri SME prašku z Neusilinom<sup>®</sup> US2, saj so

bile izmerjene kapljice po dispergiranju manjše od kapljic nastalih po dispergiranju tekočega SMES-a in bi zato pričakovali hitrejše sproščanje valsartana iz omenjenega SME praška kot iz tekočega SMES-a (57). Zanimivo je tudi to, da je Patel v svoji raziskavi dokazal, da se valsartan iz SME praška, pri katerem so kot nosilec uporabili Sylysio<sup>®</sup> 350, v medij, ki je bil 0,1N HCl, sprošča enako hitro kot valsartan iz tekočega SMES-a (59). Tudi Singh, ki je izvajal preskus sproščanja valsartana iz SME praškov z Aerosilom<sup>®</sup> 200, ni opazil razlike v obsegu sproščene učinkovine iz SME praška v primerjavi s tekočim SMES-om (60).



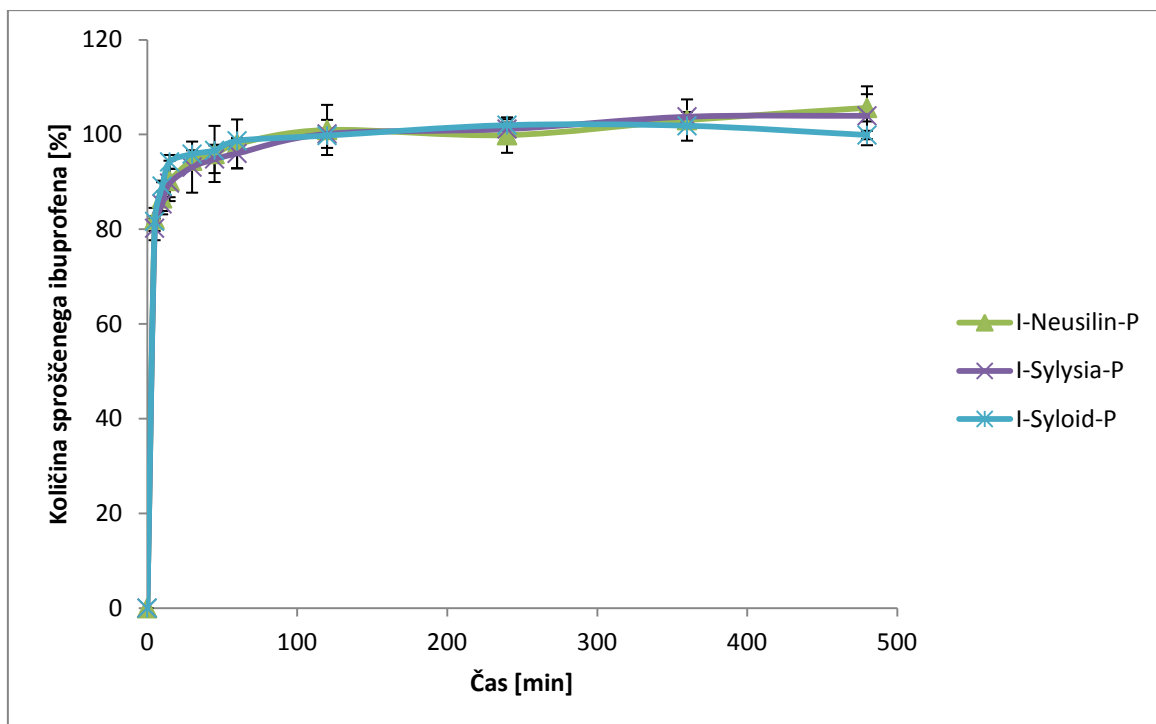
Slika 26: Sproščanje valsartana iz SME praškov v pufru s pH=1,2.

Če povzamemo naše rezultate, se delež sproščene učinkovine iz SME praškov v pufru s pH=1,2 zmanjša pri obeh modelnih učinkovinah v primerjavi s sproščanjem učinkovin iz tekočega SMES-a (izjema je le SME prašek z ibuprofenom, ki je kot nosilec vseboval Neusilin<sup>®</sup> US2). O podobnem pojavu so poročali tudi raziskovalci s Katedre za farmacevtsko tehnologijo, ki so preučevali sproščanje resveratrola iz SME praškov, kjer so uporabljali iste trdne nosilce (52,61). Primerjali so tudi sproščanje resveratrola iz fizikalnih zmesi in iz tekočega SMES-a, kjer pa omenjene razlike v sproščanju niso zasledili. Zato lahko sklepamo, da je vzrok za manjši obseg sproščene učinkovine iz SME praškov nepopolna desorbpcija emulgatorjev z nosilcev (61,62,63). Nasprotno pa Raval in sodelavci pri preučevanju olmesartana razlike med sproščanjem učinkovine iz tekočega in trdnega



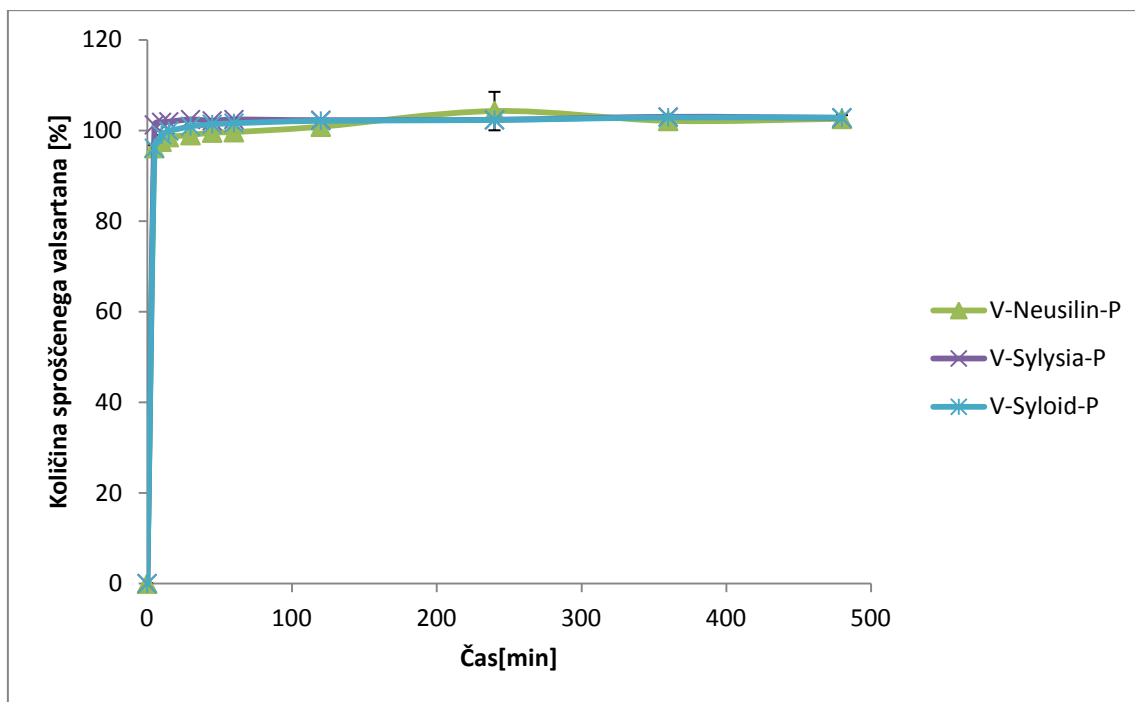
SMES-a z Neusilinom<sup>®</sup> US2 niso opazili (64). Tako za ibuprofen kot resveratrol velja, da sta bolj topna v površinsko aktivnih snoveh kot v oljih, zato domnevamo, da je večina učinkovine raztopljena v emulgatorjih, ki imajo bolj izraženo afiniteto do nosilcev, kar se kaže v manjšem obsegu sproščene učinkovine iz trdnih SMES-ov. Olmesartan pa je učinkovina, ki ima boljšo topnost v olju kot v površinsko aktivnih snoveh (64), zato je v tem primeru verjetno manj učinkovine raztopljena v emulgatorjih in se je posledično manj zadrži na nosilcih. Glede na to, da je tudi valsartan bolj topen v oljih kot v površinsko aktivnih snoveh, bi (sodeč po podatkih iz literature) pričakovali večji obseg sproščene učinkovine iz SME praškov kot pri ibuprofenu. Možno je, da uporabljeni nosilci za tekoči SMES z valsartanom niso bili optimalni in bi dosegli višje sproščanje učinkovine z uporabo drugih nosilcev oziroma z drugo metodo priprave trdnega SMES-a.

V nadaljevanju smo preverili sproščanje učinkovin iz SME praškov še v fosfatnem pufru. Tu je sproščanje ibuprofena vezanega na trdne nosilce poteklo v celoti. Razlike v obsegu sproščanja med posameznimi praški praktično niso bile opazne. Po prvih 5 minutah sproščanja se je iz praškov sprostilo okoli 81 % ibuprofena. Opazili pa smo razliko v hitrosti sproščanja ibuprofena iz tekočega SMES-a v primerjavi z njegovim sproščanjem iz trdnih nosilcev. Iz tekočega SMES-a se je vsa učinkovina sprostila v 30-ih minutah, iz pripravljenih SME praškov pa šele po dveh urah. Počasnejše sproščanje ibuprofena iz praškov smo tudi pričakovali, saj je bila izmerjena velikost kapljic po dispergiranju praškov v pufru pH=6,8 večja v primerjavi z velikostjo kapljic tekočega SMES-a z ibuprofenom (57). Rezultati so pokazali tudi, da se je ibuprofen občutno hitreje sproščal po vgradnji v SME praške v primerjavi z raztapljanjem čistega prahu (slika 27), kar je opazil tudi Shah v svojem poskusu sproščanja ibuprofena iz SME praškov z Neusilinom<sup>®</sup> US2 v pufru s pH=7,2 (54).



Slika 27: Profili sproščanja ibuprofena iz SME praškov v pufru s  $pH=6,8$ .

Pri valsartanu smo dobili podobne rezultate. Vezava učinkovine na trdne nosilce je upočasnila njegovo sproščanje v primerjavi s sproščanjem iz tekočega SMES-a, vendar ne v taki meri kot pri ibuprofenu, saj se je v tem primeru po petih minutah iz vseh treh trdnih formulacij sprostil več kot 96 % učinkovine, medtem ko se je v tem času sprostil le okoli 81 % ibuprofena. Če pa primerjamo sproščanje valsartana iz pripravljenih praškov z raztapljanjem čiste učinkovine opazimo, da se je valsartan iz praškov sproščal hitreje, kot je potekalo raztapljanje čiste učinkovine. Po osmih urah poskusa se je iz vseh pripravkov sprostil 100 % valsartana (slika 28).



Slika 28: Primerjava sproščanja valsartana iz SME praškov v pufru s pH=6,8.

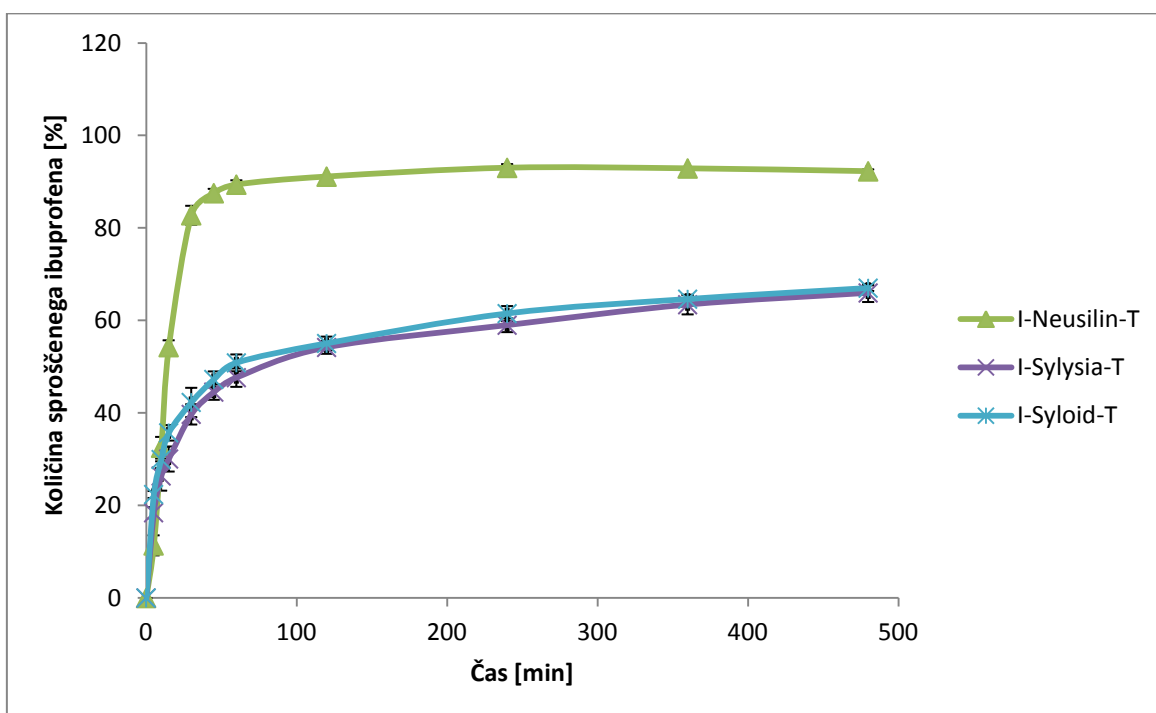
Razvidno je, da sta se v pufru s pH=6,8 obe preučevani učinkovini iz SME praškov sprostiti v celoti, vendar počasneje kot iz tekočih SMES-ov, kar smo tudi predvidevali, saj so bile izmerjene kapljice po dispergiranju SME praškov večje od kapljic tekočega SMES-a (57). Desorbicija tekočega SMES-a s površine nosilcev je dodatni proces, ki poteče, preden se učinkovina sprosti iz formulacije (24), kar je lahko vzrok za omenjeno počasnejše sproščanje učinkovin iz SME praškov. Razlika v hitrosti sproščanja med SME praški in tekočim SMES-om v fosfatnem pufru je bila manj izražena pri valsartanu, učinkovini, za katero smo dokazali, da ima boljšo topnost v oljni fazi kot v površinsko aktivnih snoveh našega sistema. Predvidevamo, da je v emulgatorjih, ki se verjetno ne desorbirajo z nosilcev v celoti, raztopljenega manj valsartana. Posledično pa ga ostane manj vezanega na trdnih nosilcih in se ga zato v medij sprosti več. Po dispergiranju praškov z valsartanom smo tudi izmerili manjše kapljice kot pri ibuprofenu, zato je bilo hitrejše sproščanje valsartana pričakovano (57).

#### 4.4.3. Primerjava sproščanja ibuprofena in valsartana iz samomikroemulgirajočih tablet

Tablete so s strani pacientov najbolj zaželjena farmacevtska oblika, zato smo pripravljenim SME praškom dodali pomožne snovi za tabletiranje in ročno stisnili SME tablete z ibuprofenom in valsartanom. Nato smo preučevali sproščanje učinkovin iz pripravljenih

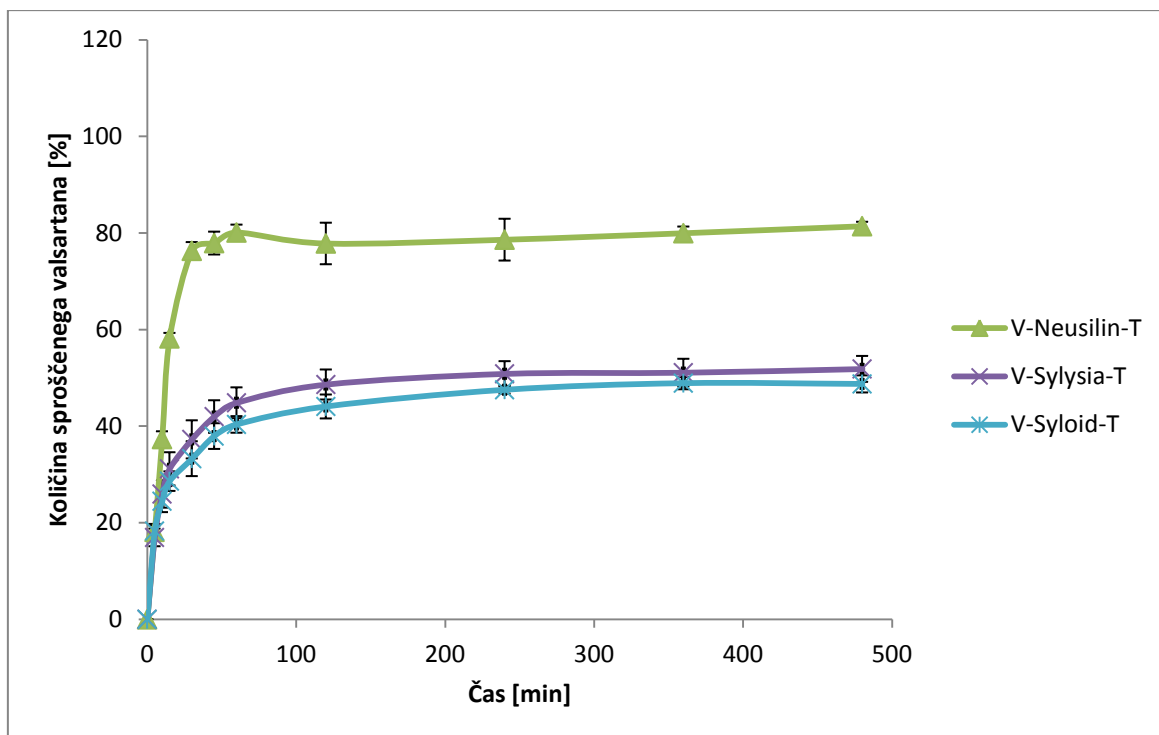
tablet in ga primerjali s sproščanjem učinkovin iz SME praškov in iz tekočega SMES-a. Na ta način smo želeli preveriti, ali dodatek pomožnih snovi in sam postopek tabletiranja vplivata na sproščanje učinkovin iz SME tablet.

Pri poskusu sproščanja ibuprofena iz SME tablet smo ugotovili, da je bila v kislem mediju količina sproščene učinkovine iz SME tablet manjša v primerjavi z deležem raztopljene čiste učinkovine in tudi v primerjavi s količino sproščene učinkovine iz tekočega SMES-a in iz SME praškov. Sproščanje je bilo tudi počasnejše. Največ ibuprofena se je sprostil iz tablet z Neusilinom<sup>®</sup> US2 (I-Neusilin-T). Po dveh urah se je sprostil približno 91 % učinkovine, kar je malo manj kot iz tekočega SMES-a in iz praška z istim nosilcem. Profila sproščanja ibuprofena iz tablet s Sylysio<sup>®</sup> 350 (I-Sylaysia-T) in tablet s Syloidom<sup>®</sup> FP244 (I-Syloid-T) sta bila zelo podobna. Po dveh urah se je iz teh dveh pripravkov sprostil okoli 55 % ibuprofena, kar je v povprečju 10 % manj v primerjavi s praški, ki so vsebovali isti nosilec (slika 29). Tudi Kang s sodelavci je preučeval SME tablete, ki so vsebovale 100 mg ibuprofena, kot nosilec za SMES pa so uporabili Neusilin<sup>®</sup> US2. V njihovem poskusu je količina sproščene učinkovine iz tablet znašala manj kot 50 % v simuliranem želodčnem soku. Kot vidimo se literaturni rezultati malo razlikujejo od naših, verjetno zaradi različnih deležev učinkovine uporabljene za izvedbo testa sproščanja in različne izbire pomožnih snovi za tabletiranje (62).



Slika 29: Sproščanje ibuprofena iz SME tablet v pufru s  $pH=1,2$  z 0,5 % Tweena<sup>®</sup> 20.

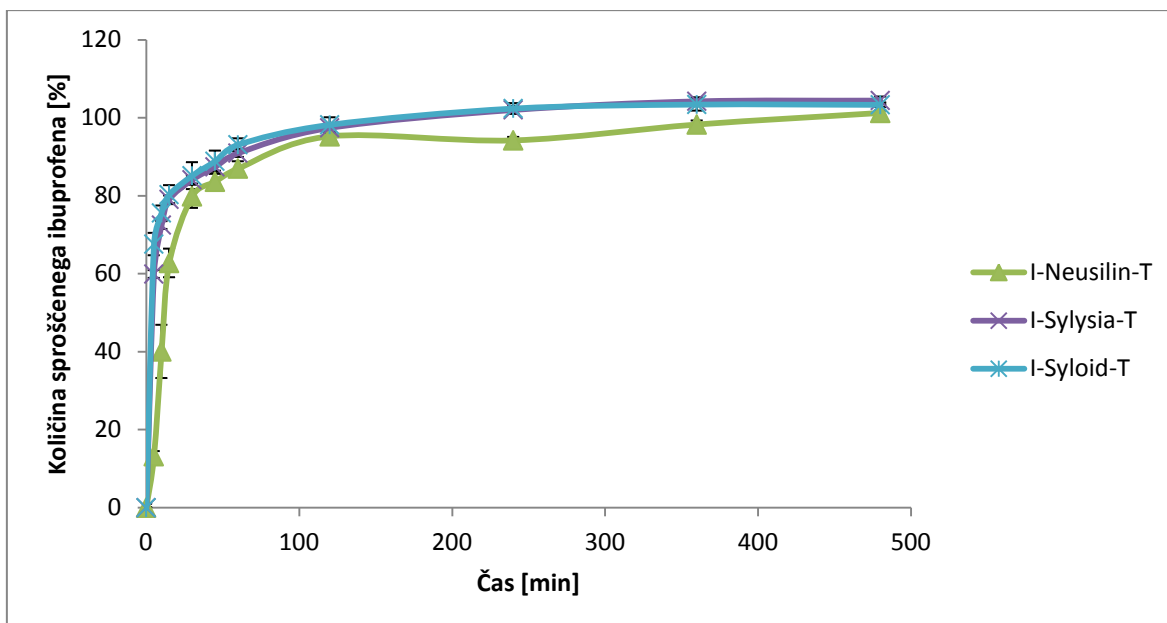
Nekoliko drugačne rezultate smo dobili pri preskusu sproščanja valsartana iz pripravljenih SME tablet v pufru s  $\text{pH}=1,2$ . Iz tablet, ki so kot nosilec vsebovale Neusilin<sup>®</sup> US2 (V-Neusilin-T) se je po eni uri sprostil več valsartana (~80 %) kot iz praškov z istim nosilcem (~76 %), vendar pa se je do 15 minute sproščal počasneje iz SME tablet kot iz praškov, kar pripisujemo počasnejšemu razpadu tablet zaradi manjše specifične površine. Sproščanje valsartana iz tablet, ki so vsebovale Sylysio<sup>®</sup> 350 (V-Sylysia-T) in Syloid<sup>®</sup> FP244 (V-Syloid-T) je bilo primerljivo. Po dveh urah izvajanja poskusa je bil obseg sproščene učinkovine iz teh tablet manjši (sprostilo se je približno polovica vgrajene učinkovine) od deleža valsartana, ki se je v istem času sprostil iz paralelnih SME praškov. Iz vseh treh serij pripravljenih tablet pa se je sprostilo manj valsartana kot iz tekočega SMES-a, a več v primerjavi z raztopljeno količino čiste učinkovine (slika 30). Beg s kolegi je prav tako preučeval sproščanje valsartana vgrajenega v SME tablete, ki so kot nosilec za SMES vsebovale Sylysio<sup>®</sup> 350. Izdelane so bile iz SME granul, ki so jih izdelali s postopkom vlažnega granuliranja. Delež sproščenega valsartana iz SME tablet je bil v njihovi raziskavi višji. Že po štiridesetih minutah se je sprostilo več kot 80 % učinkovine, medtem ko se je v našem poskusu po osmih urah poskusa sprostilo samo 50 %. Domnevamo, da postopek priprave tablet in izbira pomožnih snovi vplivata na sproščanje valsartana. Prav tako so v poskusu za sproščanje uporabili večjo količino valsartana (40 mg, mi le 15mg) in večji volumen medija (1000 ml, mi pa 900 ml), kar je prav tako lahko vzrok za odstopanje naših rezultatov od literaturnih (24).



Slika 30: Primerjava sproščanja valsartana iz SME tablet v pufru s  $pH=1,2$ .

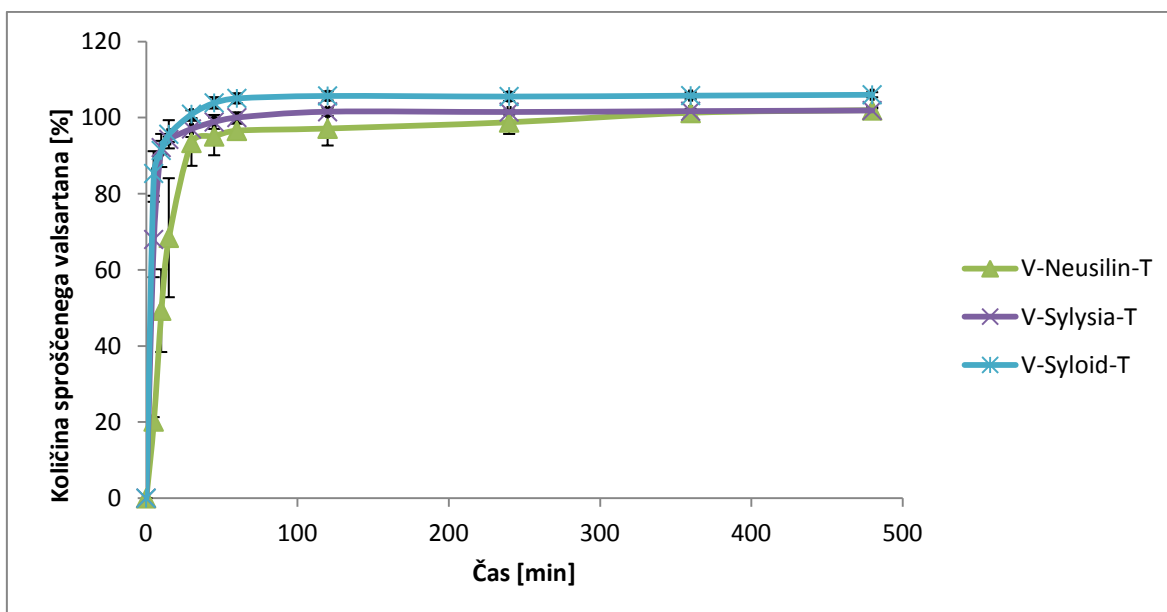
Iz dobljenih rezultatov lahko opazimo, da se je v pufru s  $pH=1,2$ , tako pri ibuprofenu, kot pri valsartanu, iz SME tablet sprostil manj učinkvine kot iz SME praškov in iz tekočega SMES-a. Izjema so le SME tablete z valsartanom, ki so kot nosilec vsebovale Neusilin<sup>®</sup> US2 in kjer je bil obseg sproščene učinkovine malo višji kot pri prašku z istim nosilcem. Sproščanje čistega ibuprofena je potekalo hitreje kot njegovo sproščanje iz SME tablet, pri valsartanu pa velja obratno. Opazimo tudi, da je bila količina sproščenega valsartana iz SME tablet manjša v primerjavi s količino sproščenega ibuprofena.

Poskus smo izvedli še v fosfatnem pufru, kjer se je v splošnem sproščanje ibuprofena iz SME tablet upočasnilo v primerjavi s sproščanjem iz tekočega SMES-a in iz SME praškov. Iz vseh tablet se je sicer sprostil celoten ibuprofen, vendar je bila hitrost sproščanja različna. Iz tablet s Sylysio<sup>®</sup> 350 in s Syloidom<sup>®</sup> FP244 je po prvih desetih minutah delež sproščenega ibuprofena znašal približno 74 %, iz tablet z Neusilinom<sup>®</sup> US2 pa samo ~ 40 %. Slednja formulacija je bila tudi edina, iz katere je bila po desetih minutah količina sproščenega ibuprofena nižja od raztopljene količine same učinkovine v prahu (slika 31).



Slika 31: Profili sproščanja ibuprofena iz SME tablet v pufru s  $pH=6,8$ .

Nazadnje smo preučevali še sproščanje valsartana iz SME tablet v fosfatnem pufru. Tudi valsartan se je, tako kot ibuprofen, iz SME tablet sprostil v celoti, toda počasneje kot iz SME praškov in iz tekočega SMES-a. Delež sproščene učinkovine po petih minutah je bil najvišji pri tabletah s Syloidom in je znašal 85 %, kar je približno štirikrat več kot pri tabletah, ki so kot nosilec vsebovale Neusilin<sup>®</sup> US2, kjer je bilo sproščanje valsartana najpočasnejše. Zgolj iz teh tablet je bil delež sproščenega valsartana po prvih desetih minutah manjši kot pri raztapljanju čiste učinkovine (slika 32).



Slika 32: Sproščanje valsartana iz SME tablet v pufru s  $pH=6,8$ .

Na osnovi rezultatov testa sproščanja s SME tabletami z vgrajenim ibuprofenom in valsartanom lahko zaključimo, da sta se v obeh medijih učinkovini sproščali počasneje, kot iz tekočega SMES-a in SME praškov. Ugotovili smo tudi, da je bilo sproščanje valsartana iz SME tablet največkrat hitreje od raztapljanja same učinkovine, medtem ko je bil pri sproščanju ibuprofena v kislem pufru rezultat obraten. Sklepamo lahko, da verjetno tudi pomožne snovi, ki smo jih uporabili za tabletiranje, vplivajo na sproščanje učinkovine. Prav tako pa ima tableta manjšo specifično površino od praškov in je tako manj izpostavljena mediju, zato je proces razpada tablete daljši, posledično pa tudi sproščanje učinkovine upočasnjeno. Tudi samo tabletiranje verjetno vpliva na manjše sproščanje učinkovin iz SME tablet, saj sila stiskanja potisne učinkovini še globlje v pore nosilca in je zato stik med učinkovino in medijem slabši. Vidimo tudi, da je v fosfatnem pufru razlika med hitrostjo sproščanja učinkovin iz tekočega SMES-a in iz SME tablet, manj izražena pri valsartanu. V fosfatnem pufru se tudi valsartan v primerjavi z ibuprofenom iz SME tablet sprošča hitreje. Korelacije med izmerjeno velikostjo kapljic in hitrostjo sproščanja v tem poskusu nismo opazili, saj so bile izmerjene kapljic praškov večje in bi zato pričakovali počasnejše sproščanje učinkovin iz praškov kot iz tablet (57).



## 5. SKLEP

V raziskovalnem delu smo preučevali vpliv topnosti vgrajene učinkovine na *in vitro* sproščanje iz tekočih in trdnih SMES-ov. Kot modelni učinkovini smo uporabili ibuprofen in valsartan. Najprej smo določili nasičeno topnost učinkovin v posameznih komponentah SMES-a. Nato smo ju vgradili v tekoči SMES in nadalje z vezavo na trdne porozne nosilce pretvorili v SME praške. Iz tako pripravljenih praškov smo po dodatku pomožnih snovi za tabletiranje stisnili SME tablete. Ugotovili smo naslednje:

- Nasičene topnosti valsartana v posameznih sestavinah SMES-a so večje v oljni fazi sistema (Capmul<sup>®</sup>-u) kot v površinsko aktivnih snoveh (Cremophor<sup>®</sup>-ju EL in Cremophor<sup>®</sup>-ju RH 40).
- Nasprotno velja za ibuprofen. Njegova nasičena topnost je približno še enkrat višja v površinsko aktivnih snoveh kot v oljih.
- Topnost valsartana v primerjavi z ibuprofenom je višja v vseh sestavinah SMES-a.
- Izmerili smo premer kapljic po dispergiranju tekočih SMES-ov, SME praškov in SME tablet z vgrajenima učinkovinama v treh različnih medijih: vodi, pufri s pH=1,2 in pufri s pH=6,8. Ugotovili smo, da je velikost kapljic notranje faze odvisna tako od fizikalno-kemijskih lastnosti učinkovine kot od medija, uporabljenega za dispergiranje.
- Formulacije z valsartanom so v večini primerov tvorile manjše ali podobno velike kapljice kot SMES-i z ibuprofenom.
- Po vezavi tekočega SMES-a z ibuprofenom na trdne nosilce se je velikost kapljic v vseh primerih povečala. Sprememba je bila najmanj izražena pri formulaciji, kjer smo kot nosilec uporabili Neusilin<sup>®</sup> US2. Tudi pri SME praških z valsartanom, ki so vsebovali Sylysio<sup>®</sup> 350 in Syloid<sup>®</sup> FP244, se je premer kapljic povečal. Pri SME prašku z Neusilinom<sup>®</sup> US2 pa se je velikost kapljic občutno zmanjšala.
- Velikost kapljic po samomikroemulgiranju se je pri SME tabletah z ibuprofenom povečala v primerjavi s tekočim SMES-om, pri tabletah z valsartanom pa zmanjšala. Kapljice SME tablet so bile pri obeh učinkovinah manjše od kapljic SME praškov, kar pripisujemo vplivu pomožnih snovi, ki smo jih uporabili pri tabletiranju.

- Izmerjen PDI je bil zelo raznolik. Po pretvorbi tekočih SMES-ov v trdno obliko se je pri obeh učinkovinah povečal. V splošnem velja, da so imeli SME praški bolj homogeno porazdelitev kapljic od SME tablet.
- Dobjeni profili sproščanja potrjujejo, da gre za sisteme s takojšnjim (neprirejenim) sproščanjem. Razlike v deležu sproščenih učinkovin so bile najbolj opazne v kislem pufru.
- Rezultati nakazujejo, da je vgradnja modelnih učinkovin v tekoči SMES pospešila njuno sproščanje v obeh uporabljenih medijih (pufru s pH=1,2 in pufru s pH=6,8) ter povečala delež sproščenega valsartana v kislem pufru.
- Po vezavi tekočih SMES-ov na trdne porozne nosilce se je v kislem mediju delež sproščenega ibuprofena in valsartana zmanjšal v primerjavi s količino sproščenih učinkovin iz tekočih SMES-ov. Razlika je bila najmanj izražena pri formulacijah z Neusilinom<sup>®</sup> US2.
- V pufru s pH=6,8 sta se učinkovini iz vseh formulacije sprostili v celoti. Opazili pa smo razliko v hitrosti sproščanja v prvih minutah izvajanja poskusa. Učinkovini sta se iz SME praškov sproščali počasneje kot iz tekočih SMES-ov, a hitreje kot se je sproščala čista učinkovina.
- Iz stisnjenih SME tablet sta se tako ibuprofen kot valsartan sproščala počasneje kot iz tekočega SMES-a in SME praškov v obeh medijih. Vzrok temu bi lahko bila manjša specifična površina tablet, oziroma dodaten čas, potreben za razpad oblike.
- Če primerjamo sproščanje učinkovin iz SME praškov in SME tablet z raztapljanjem čiste učinkovine, vidimo, da je delež sproščenega valsartana iz trdnih SMES večji kot količina sproščene čiste učinkovine. Pri ibuprofenu smo v kislem pufru opazili nasprotno (izjema sta le formulaciji z Neusilinom<sup>®</sup> US2).
- V pufru z višjim pH se je valsartan iz SME tablet sproščal hitreje kot ibuprofen.

Če povzamemo naše rezultate lahko zaključimo, da se učinkovine, ki so bolj topne v oljnih sestavinah kot v površinsko aktivnih snoveh SMES-a, sproščajo hitreje iz trdnih SMES-ov. Razlika bi bila verjetno še bolj opazna, če bi med seboj primerjali učinkovini, kjer je razlika med topnostjo v olju in PAS višja. Ugotovili smo, da je topnost učinkovin v komponentah SMES-a pomemben parameter, ki lahko napove sproščanje učinkovin iz

trdnih SMES-ov. Nove raziskave v prihodnosti bi nam tako lahko pomagale pri razvoju učinkovitejših SME praškov in SME tablet in k njihovem hitrejšemu prodoru na trg.

## 6. LITERATURA

1. Arnold YE: Evaluation of lipid-based formulations of poorly water-soluble drugs in the gastro-intestinal tract using in vitro tests. Doktorska disertacija, Univerza v Baslu, Naravoslovnotehniška fakulteta, Basel 2011: 4-8
2. Kawabata Y, Wada K, Nakatani M, Yamada S, Onoue S: Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications. *International Journal of Pharmaceutics* 2011; 420
3. Klančar U, Legen I, Kristl A, Mrhar A: »In vitro-in vivo« korelacija (IVIVC) za učinkovine v pripravkih s podaljšanim sproščanjem, ki se intenzivno metabolizirajo ali absorbirajo s prenašalci v prebavilih. *Farmaceutski vestnik* 2010; 61(3): 162-170
4. Pouton CW, Porter CJH: Formulation of lipid-based delivery systems for oral administration: Materials, methods and strategies. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2008; 60: 625-637
5. Sharma V, Singh J, Gill B and Harikumar: SMEDDS: A Novel Approach for Lipophilic Drugs. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 2012; 3(8): 2441-2450.
6. Deshmukh A, Nakhat P, Yeole P: Formulation and in-vitro evaluation of self microemulsifying drug delivery system (SMEDDS) of Furosemide. *Der Pharmacia Lettre* 2010; 2(2): 94-106
7. Shen H, Zhong M: Preparation and evaluation of self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDS) containing atorvastatin. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2006; 58(9): 1183-1191
8. Setthacheewakul S, Mahattanadul S, Phadoongsombut N, Pichayakorn W, Wiwattanapatapee R: Development and evaluation of self-microemulsifying liquid and pellet formulations of curcumin, and absorption studies in rats. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2010; 76(3): 475-485
9. Bolko K, Zvonar A, Gašperlin M: Mixed lipid phase SMEDDS as an innovative approach to enhance resveratrol solubility. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 2014; 40(1):102-109

10. Hong JW, Kim JK, Park JS et al. : A new self-emulsifying formulation of itraconazole with improved dissolution and oral absorption. *Journal of Controlled Release* 2006; 110: 332-338
11. Akhter S, Hossain I: Dissolution enhancement of Capmul PG8 and Cremophor EL based Ibuprofen Self Emulsifying Drug Delivery System (SEDDS) using Response surface methodology. *International Current Pharmaceutical Journal* 2012; 1(6): 138-150
12. Zaghoul A, Nada A, Khattab I: Development, characterization and optimization of ibuprofen self-emulsifying drug delivery system applying face centered experimental design. *International Journal of Pharmacy and Technology* 2011; 3 (1): 1674-1693
13. Dixit AR, Rajput SJ, Patel SG: Preparation and bioavailability assessment of SMEDDS containing valsartan. *AAPS PharmSciTech* 2010; 11(1): 314-321
14. Zvonar A, Gašperlin M, Kristl J: Samo(mikro)emulgirajoči sistemi - alternativni pristop za izboljšanje biološke uporabnosti lipofilnih učinkovin. *Farmacevtski vestnik* 2008; 59: 263-268
15. Kyatanwar AU, Jadhav KR, Kadam VJ: Self micro-emulsifying drug delivery system (SMEDDS): Review. *Journal of Pharmacy Research* 2010; 3(1): 75-83
16. Singh B, Bandopadhyay S, Kapil R, Singh R, Katare OP: Self-Emulsifying Drug Delivery Systems (SEDDS): Formulation Development, Characterization, and Applications. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* 2009; 26(5): 427-521
17. Bhavna, Geera A, Harikumar SL: Solid self microemulsifying drug delivery system: a review. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics* 2013; 3(3): 168-174
18. Šmid Korbar J, Kristl J: Oficinalne farmacevtske oblike. *Medicinski razgledi* 1999; 38: 569-589
19. Zvonar A, Gašperlin M: Pregled metod izdelave mikrokapsul za farmacevtsko uporabo. *Farmacevtski vestnik* 2011; 62(3): 131-138
20. Homar M, Šuligoj D, Gašperlin M: Preparation of microcapsules with self-microemulsifying core by a vibrating nozzle method. *Journal of Microencapsulation* 2007; 24(1): 72-81

21. Ito Y. et al: Preparation and evaluation of oral solid heparin using emulsifier and adsorbent for in vitro and in vivo studies. *International Journal of Pharmaceutics* 2006; 317:114-119.
22. Wei L.L. et al.: Investigations of a novel self-emulsifying osmotic pump tablet containing carvedilol. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 2007; 33: 990-998
23. Sudheer P, Kumar N, Puttchari S, Shankar U, Thakur R: Approaches to development of solid- self micron emulsifying drug delivery system: formulation techniques and dosage forms – a review. *Asian Journal of Pharmacy and Life Science* 2012; 2 (2): 214-225
24. Beg S, Swain S, Singh HP, Patra N, Rao B: Development, Optimization, and Characterization of Solid Self-Nanoemulsifying Drug Delivery Systems of Valsartan Using Porous Carriers. *AAPS PharmSciTech* 2012; 13(4): 1416-1427
25. Setthacheewakul S, Mahattanadul S, Phadoongsombut N, Pichayakorn W, Wiwattanapatapee R: Development and evaluation of self-microemulsifying liquid and pellet formulations of curcumin, and absorption studies in rats. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2010; 76(3): 475-485
26. Hu X, Lin C, Chen D, Zhang J, Liy Z, Wu W, Song H: Sirolimus solid self-microemulsifying pellets: formulation development, characterization and bioavailability evaluation. *International Journal of Pharmaceutics* 2012; 438(1-2): 123-133
27. Zhang Y, Wang R, Wu J, Shen Q: Characterization and evaluation of self-microemulsifying sustained-release pellet formulation of puerarin for oral delivery. *International Journal of Pharmaceutics* 2012; 427(2): 337-344
28. Chae G.S. et al.: Enhancement of the stability of BCNU using self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) and in vitro antitumor activity of self-emulsified BCNU-loaded PLGA wafer. *International Journal of Pharmaceutics* 2005; 301:6-14
29. Elektronski vir: [http://lex.si/varnostni\\_listi/IBUPROFENUM-r\\_0333%20GHS.pdf](http://lex.si/varnostni_listi/IBUPROFENUM-r_0333%20GHS.pdf) (Dostop: 12.7.2014)
30. Elektronski vir: <http://www.drugbank.ca/drugs/DB01050> (Dostop: 4.9.2014)
31. Elektronski vir: [http://www.fagron.be/cms\\_files/N-45725-nlFile1.pdf](http://www.fagron.be/cms_files/N-45725-nlFile1.pdf) (Dostop: 12.7.2014)

32. Alvarez C, Nunez I, Torrado JJ, Gordon J, Potthast H, Garcia-Arieta A: Investigation on the possibility of biowaivers for ibuprofen. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2011; 100(6): 2343-2349
33. Elektronski vir: [http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/Search?SearchView&Query=\(%5BSEZNAMU CINKNAZIV%5D=\\_ibuprofen\\*\)&SearchOrder=4&SearchMax=301](http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/Search?SearchView&Query=(%5BSEZNAMU%20CINKNAZIV%5D=_ibuprofen*)&SearchOrder=4&SearchMax=301) (Dostop: 12.7.2014)
34. Elektronski vir: <http://www.rsc.org/learn-chemistry/resources/chemistry-in-your-cupboard/nurofen/6> (Dostop: 12.7.2014)
35. Bushra R, Aslam N: An overview of Clinical Pharmacology of Ibuprofen. *Oman Medical Journal* 2010; 25(3):155-161
36. Elektronski vir: [http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/5CD71D2484BD8950C12579EC001FFE0A/\\$File/s-010822.pdf](http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/5CD71D2484BD8950C12579EC001FFE0A/$File/s-010822.pdf) (Dostop: 12.7.2014)
37. Elektronski vir: <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00177> (Dostop: 12.7.2014)
38. Beg S, Swain S, Singh HP, Patra CN, Rao ME: Development, Optimization, and Characterization of Solid Self-Nanoemulsifying Drug Delivery Systems of Valsartan Using Porous Carriers. *AAPS PharmSciTech* 2012; 13(4): 1416-1427
39. Siddiqui N, Husain A, Chaudhry L, Alam MS, Mitra M, Bhasin PS: Pharmacological and Pharmaceutical Profile of Valsartan: A Review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 2011; 01(04): 12-19
40. Elektronski vir: [http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/Search?SearchView&Query=\(%5BSEZNAMU CINKNAZIV%5D=\\_valsartan\\*\)&SearchOrder=4&SearchMax=301](http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/Search?SearchView&Query=(%5BSEZNAMU%20CINKNAZIV%5D=_valsartan*)&SearchOrder=4&SearchMax=301) (Dostop: 12.7.2014)
41. Elektronski vir: [http://en.wikipedia.org/wiki/Discovery\\_and\\_development\\_of\\_angiotensin\\_receptor\\_blockers](http://en.wikipedia.org/wiki/Discovery_and_development_of_angiotensin_receptor_blockers) (Dostop: 12.7.2014)
42. Elektronski vir: [http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/A77B71FD64D68809C12579C2003F5475/\\$File/s-013723.pdf](http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/A77B71FD64D68809C12579C2003F5475/$File/s-013723.pdf) (Dostop: 12.7.2014)

43. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME: Handbook of Pharmaceutical Excipients 6th ed. Pharmaceutical Press and the American Pharmacists Association, London 2009: 126-127, 542-549
44. Elektronski vir: <http://www.indcheminternational.com/products.htm> (Dostop:1.7.2014)
45. Elektronski vir: <http://www.neusilin.com/product/index.php> (Dostop: 4.7.2014)
46. Elektronski vir: [http://www.neusilin.com/multicms/neusilin/pdf/news/29/2\\_neusilin\\_newsletter\\_no\\_v07.pdf](http://www.neusilin.com/multicms/neusilin/pdf/news/29/2_neusilin_newsletter_no_v07.pdf) (Dostop 4.7.2014)
47. Elektronski vir: <http://www.aquachem.co.kr/product/Sylysia.htm> (Dostop:4.7.2014)
48. Elektronski vir: [http://www.fujisilysia.com/wp-content/uploads/2013/09/SY350\\_MSDS.pdf](http://www.fujisilysia.com/wp-content/uploads/2013/09/SY350_MSDS.pdf) (Dostop: 4.7.2014)
49. Elektronski vir: <http://www.alpha-alpen.com/new%20grade%20list.pdf> (Dostop: 4.7.2014)
50. Elektronski vir: [http://www.discoverysciences.com/uploadedFiles/Preparative\\_and\\_Process/M309\\_Syloid\\_Tech\\_Note\\_USver\\_LR.pdf](http://www.discoverysciences.com/uploadedFiles/Preparative_and_Process/M309_Syloid_Tech_Note_USver_LR.pdf) (Dostop: 6.7.2014)
51. Elektronski vir: [https://grace.com/pharma-and-biotech/en-us/Documents/Syloid/M298\\_Syloid244FPSilica\\_TechInfo.pdf](https://grace.com/pharma-and-biotech/en-us/Documents/Syloid/M298_Syloid244FPSilica_TechInfo.pdf) (Dostop: 6.7.2014)
52. Bizjak E: Problematika stiskanja tekočih samo(mikro)emulgirajoih sistemov v tablete. Diplomaska naloga 2013. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo
53. Elektronski vir: [http://www.ffa.uni-lj.si/fileadmin/homedirs/11/Predmeti/Biofarmacija\\_s\\_farmakokinetiko\\_\\_IF\\_/Vaje/Topnost\\_hitrost\\_raztapljanja.pdf](http://www.ffa.uni-lj.si/fileadmin/homedirs/11/Predmeti/Biofarmacija_s_farmakokinetiko__IF_/Vaje/Topnost_hitrost_raztapljanja.pdf) (Dostop: 10.10.2014)
54. Shah I: Development and Characterization of Oil-in-Water Nanoemulsions from Self-Microemulsifying Mixtures. Diplomsko delo 2011. The university of Toledo
55. Roni MA, Jalil R: Comparative Study of Ibuprofen Solubility in Synthetic and Natural Lipid Vehicles. Journal of Pharmaceutical Sciences 2011; 10(1): 65-66
56. Rao P, Baby B, Durgaprasad Y, Ramesh K, Rajarajan S, Keerthi B, Sreedhar C: Formulation and Evaluation of SMEDDS with Capmul MCM for Enhanced Dissolution Rate of Valsartan. Journal of Pharmaceutical Sciences 2013; 3(2): 33-40



57. Rajnikanth PS, Suyu Y, and Garg S: Development and In-Vitro Characterization of Self-nanoemulsifying Drug Delivery Systems of Valsartan. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 2012; 6:12-28
58. Sudesh B, Uttamrao K: Determination and validation of valsartan and its degradation products by isocratic HPLC. *Journal of Chemical Metrology* 2009; 3(1): 1-12
59. Patel KB: Enhancement of oral bioavailability of valsartan by using solid self emulsifying drug delivery system. *International Journal of Universal Pharmacy and Bio Sciences* 2014; 3(3): 141-156
60. Singh, Vuddanda, Singh, Srivastava: A Comparison between Use of Spray and Freeze Drying Techniques for Preparation of Solid Self-Microemulsifying Formulation of Valsartan and In Vitro and In Vivo Evaluation. *BioMed Research International* 2013; 1-13
61. Žiberna T: Stabilnost resveratrola v trdnih samo-mikroemulgirajočih sistemih. *Diplomska naloga* 2014. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo
62. Kang J, Young Jung S, Song W, Sang park, Choi S, Oh K, Choi, Choi, Jaehwi Lee, Beom-Jin lee, and Sang-Cheol Chi: Immediate release of Ibuprofen from Fujicalin - based fast-dissolving self-emulsifying tablets. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 2011; 1-8
63. Van Speybroeck M, Williams HD, Nguyen T-H, Anby MU, Porter CJH, Augustijns P: Incomplete desorption of liquid excipients reduces the in vitro and in vivo performance of self-emulsifying drug delivery systems solidified by adsorption onto an inorganic mesoporous carrier. *Molecular Pharmacology* 2012; 9(9): 2750–2760
64. Raval, Joshi, Patel, Upadhyay: Enhanced oral bioavailability of olmesartan by using novel solid self emulsifying drug delivery system. *International Journal of Advanced Pharmaceutics* 2012; 2(2): 82-92