Mogućnost povećanja topljivosti deksametazona primjenom neionskih površinski aktivnih tvari

Rogar, Ana

Master's thesis / Diplomski rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:023027

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

Ana Rogar

Mogućnost povećanja topljivosti deksametazona primjenom neionskih površinski aktivnih tvari

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2015.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Farmaceutika I Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen u Zavodu za farmaceutsku tehnologiju pod stručnim vodstvom doc. dr. sc. Ivana Pepića.

Zahvaljujem doc. dr. sc. Ivanu Pepiću na stručnoj pomoći, razumijevanju i savjetima tijekom izrade i pisanja ovog diplomskog rada. Također se zahvaljujem svim djelatnicima Zavoda za farmaceutsku tehnologiju, osobito asistentici-znanstvenoj novakinji Marini Juretić na potpori i pomoći prilikom rada u laboratoriju.

SADRŽAJ:

POPIS ILUSTRACIJA .....

1. UVOD **5**

1.1. GLAVNE BIOFARMACEUTSKE ZNAČAJKE PROBLEMA TOPLJIVOSTI DJELATNIH TVARI 5
1.2. OTAPANJE I TOPLJIVOST 6
1.2.1. ISPITIVANJE BRZINE OTAPANJA ILI OSLOBAĐANJA DJELATNE TVARI *7*
1.3. ČIMBENICI KOJI UTJEČU NA OTAPANJE 8
1.3.1. VELIČINA ČESTICA *8*
1.3.2. TEMPERATURA *8*
1.3.3. TLAK *8*
1.3.4. VELIČINA MOLEKULE *9*
1.3.5. POLIMORFNI OBLICI *9*
1.4. BIOFARMACEUTSKI SUSTAV KLASIFIKACIJE DJELATNIH TVARI 9
1.5. RAZVOJNO-FORMULACIJSKI SUSTAV KLASIFIKACIJE DJELATNIH TVARI 10
1.6. TEHNIKE POBOLJŠANJA TOPLJIVOSTI TEŠKO TOPLJIVIH DJELATNIH TVARI 11
1.6.1. PRILAGODBA pH *11*
1.6.2. IZRADA SAMOEMULGIRAJUĆIH TERAPIJSKIH SUSTAVA *12*
1.6.3. SMANJENJE VELIČINE ČESTICA *13*
1.6.4. UKLAPANJE DJELATNE TVARI U CIKLODEKSTRINSKE KOMPLEKSE *13*
1.6.5. PRIMJENA SUOTAPALA *14*
1.6.6. HIDROTROPNI UČINAK *15*
1.6.7. MICELARNA SOLUBILIZACIJA *16*
1.6.7.1. Miješane micele 16
1.6.7.2. Polimerne micele 16
1.6.7.3. Metode fizičkog uklapanja djelatne tvari 17
1.6.7.4. Solubilizacijski kapacitet 18
1.6.8. STABILNOST I OSLOBAĐANJE DJELATNE TVARI *20*

2. OBRAZLOŽENJE TEME **23**

3. MATERIJALI I METODE **25**

3.1. MATERIJALI 25
3.2. METODE 25
3.2.1. PRIPRAVA KREBS-RINGEROVOG PUFERA *25*
3.2.2. PRIPRAVA ISHODNIH OTOPINA SOLUBILIZATORA *25*
3.2.3. PRIPRAVA MJERNIH SUSTAVA ZA ISPITIVANJE TOPLJIVOSTI *26*
3.2.4. PROTOKOL SOLUBILIZACIJE DEKSAMETAZONA U MJERNIM SUSTAVIMA *26*
3.2.5. ODREĐIVANJE SADRŽAJA OTOPLJENOG/SOLUBILIZIRANOG DEKSAMETAZONA *27*
3.2.6. ODREĐIVANJE VELIČINE I DISPERZNOSTI MICELA *27*

4. REZULTATI I RASPRAVA **29**

4.1. VELIČINA I RASPODJELA VELIČINA MICELA PLURONICA ® F68 S ILI BEZ UKLOPLJENOG DEKSAMETAZONA 29
4.2. VELIČINA I RASPODJELA VELIČINA MICELA CREMOPHORA® EL S ILI BEZ UKLOPLJENOG DEKSAMETAZONA 31
4.3. UTJECAJ PLURONICA® F68 NA TOPLJIVOST DEKSAMETAZONA 32
4.4. UTJECAJ CREMOPHORA® EL NA TOPLJIVOST DEKSAMETAZONA 35

5. ZAKLJUČAK **40**

6. LITERATURA **42**

7. SAŽETAK/SUMMARY **46**

POPIS ILUSTRACIJA

Popis tablica:

TABLICA 1. VELIČINA I RASPODJELA VELIČINA MICELA PLURONICA® F68 U KREBS-RINGEROVOM PUFERU PRI 34 °C....29
TABLICA 2. VELIČINA I RASPODJELA VELIČINA MICELA PLURONICA ® F68 S UKLOPLJENIM DEKSAMETAZONOM U KREBS-RINGEROVOM PUFERU PRI 34 °C....30
TABLICA 3. VELIČINA I RASPODJELA VELIČINA MICELA CREMOPHORA® EL U KREBS-RINGEROVOM PUFERU PRI 34 °C....31
TABLICA 4. VELIČINA I RASPODJELA VELIČINA MICELA CREMOPHORA® EL S UKLOPLJENIM DEKSAMETAZONOM U KREBS-RINGEROVOM PUFERU PRI 34° C. 32
TABLICA 5. UTJECAJ PLURONICA® F68 NA TOPLJIVOST DEKSAMETAZONA....33
TABLICA 6. UTJECAJ CREMOPHORA® EL NA TOPLJIVOST DEKSAMETAZONA....36

Popis slika:

SLIKA 1. SHEMATSKI PRIKAZ SMJEŠTAJA LIJEKA U POJEDINIM ODJELJCIMA MICELE. 30
SLIKA 2. PROMJENE TOPLJIVOSTI DEKSAMETAZONA OVISNO O POVEĆANJU KONCENTRACIJE PLURONICA ® F68 U KREBS-RINGEROVOM PUFERU PRI 34 °C 33
SLIKA 3. PRAVAC DOBIVEN LINEARNOM REGRESIJSKOM ANALIZOM UZLAZNOG DIJELA KRIVULJE OVISNOSTI TOPLJIVOSTI DEKSAMETAZONA O POVEĆANJU KONCENTRACIJE PLURONICA® F68 U KREBS-RINGEROVOM PUFERU PRI 34°C. 34
SLIKA 4. PRAVAC DOBIVEN LINERANOM REGRESIJSKOM ANALIZOM HORIZONTALNOG DIJELA KRIVULJE OVISNOSTI TOPLJIVOSTI DEKSAMETAZONA O POVEĆANJU KONCETRACIJE PLURONICA® F68 U KREBS-RINGEROVOM PUFERU PRI 34 °C 34
SLIKA 5. PROMJENE TOPLJIVOSTI DEKSAMETAZONA OVISNO O POVEĆANJU KONCENTRACIJE CREMOPHORA® EL U KREBS-RINGEROVOM PUFERU PRI 34 °C 36
SLIKA 6. PRAVAC DOBIVEN LINEARNOM REGRESIJSKOM ANALIZOM UZLAZNOG DIJELA KRIVULJE OVISNOSTI TOPLJIVOSTI DEKSAMETAZONA O POVEĆANJU KONCENTRACIJE CREMOPHORA® EL U KREBS-RINGEROVOM PUFERU PRI 34 °C 37
SLIKA 7. PRAVAC DOBIVEN LINERANOM REGRESIJSKOM ANALIZOM HORIZONTALNOG DIJELA KRIVULJE OVISNOSTI TOPLJIVOSTI DEKSAMETAZONA O POVEĆANJU KONCENTRACIJE CREMOPHORA® EL U KREBS-RINGEROVOM PUFERU PRI 34°C. 37

1. UVOD

Biofarmaceutika je znanstvena disciplina koja se bavi utjecajem *in vitro* fizičko-kemijskih svojstava djelatne tvari i farmaceutskog oblika na njihovu primjenu u organizam pri normalnim ili patološkim uvjetima. Glavni je interes biofarmaceutskih razmatranja bioraspoloživost djelatnih tvari. Bioraspoloživost se odnosi na brzinu i obim raspoloživosti onog dijela primijenjene doze djelatne tvari koja će biti na raspolaganju organizmu na određenom mjestu biološkog učinka. Cilj je biofarmaceutike prilagoditi primjenu djelatne tvari u obliku farmaceutskog pripravka u smislu optimalne terapijske učinkovitosti i sigurnosti za bolesnika. Biofarmaceutska ispitivanja omogućuju racionalno oblikovanje i razvoj farmaceutskih oblika na osnovu: (*i*) fizičkih i kemijskih svojstava djelatne tvari, (*ii*) načina primjene, uključujući anatomske i fiziološke značajke mjesta primjene (npr. oralni, lokalni, transdermalni), (*iii*) zahtijevanog farmakodinamičkog učinka (npr. trenutni ili produljeni), (*iv*) toksikoloških svojstava djelatne tvari, (*v*) sigurnosnog profila korištenih pomoćnih tvari, (*vi*) učinka pomoćnih tvari i farmaceutskog oblika (tehnoloških parametara) na primjenu djelatne tvari (Jalšenjak i sur., 1998).

1.1. GLAVNE BIOFARMACEUTSKE ZNAČAJKE PROBLEMA TOPLJIVOSTI DJELATNIH TVARI

Otapanje teško topljivih djelatnih tvari predstavlja relativno veliki izazov u nekliničkim fazama ispitivanja novih djelatnih tvari i pri razvoju njihovih farmaceutskih oblika. Pretpostavlja se da je oko 40% novih djelatnih tvari koje su razvijene u istraživačkim laboratorijima farmaceutske industrije teško topljive. Iako su farmaceutske tvrtke za određene djelatne tvari uspjele prevladati probleme povezane s topljivošću, djelatne tvari s topljivošću manjom od 0,1 mg/ml i dalje predstavljaju jedinstvene izazove pri razvoju formulacije. Takve djelatne tvari najčešće se sporo apsorbiraju, imaju neprimjerenu i promjenjivu bioraspoloživost, a opaženi su i različiti toksični učinci na barijerama preko kojih se odvija njihova apsorpcija. Samo se otopljena djelatna tvar može apsorbirati preko apsorpcijskih barijera i doći do mjesta svog farmakološkog učinka. Oralno primijenjene djelatne tvari apsorbiraju se samo nakon potpunog otapanja u tekućinama gastrointestinalnog sustava, a što je jedan od preduvjeta njihove dobre bioraspoloživosti. Bioraspoloživost djelatnih tvari ovisi o brojnim čimbenicima, primjerice topljivosti djelatne tvari u vodenoj sredini i njezinoj

permeabilnosti preko apsorpcijskih barijera. Brzinu ukupnog procesa apsorpcije kontrolira najsporiji proces u nizu (ograničavajući proces): (*i*) brzina otapanja/oslobađanja slabo topljivih djelatnih tvari najsporiji je proces u nizu koji kontrolira brzinu ukupnog procesa, odnosno njihovu bioraspoloživost ili (*ii*) brzina permeacije dobro topljive djelatne tvari kroz apsorpcijsku barijeru proces je koji kontrolira ukupnu brzinu apsorpcije, odnosno njezinu bioraspoloživost. (Chen i sur., 2011).

1.2.OTAPANJE I TOPLJIVOST

Pojam topljivosti je definiran kvantitativnim i kvalitativnim značajkama djelatne tvari. Kvantitativne značajke djelatne tvari odnose se na maksimalnu količinu djelatne tvari koju je moguće otopiti u određenom volumenu otapala pri konstantnim uvjetima temperature. Kvalitativne značajke topljivosti djelatne tvari definirane su međudjelovanjima dvije ili više tvari koje oblikuju homogenu molekulsku disperziju određenog farmaceutskog oblika. Zasićena otopina definirana je ravnotežnom topljivošću djelatne tvari u određenom otapalu, a najčešće se izražava postotnim udjelima, masenom ili množinskom koncentracijom djelatne tvari. Proces otapanja uključuje narušavanje intermolekulskih ili interionskih veza tvari koja se otapa, narušavanje strukture otapala s ciljem osiguravanja prostora za tvar koja se otapa, međudjelovanja molekula otapala s ionima ili molekulama tvari koja se otapa.

Brzina otapanja krutina u otapalu dc_x/dt može se opisati Noyes-Whitneyjevom jednadžbom:

$$\frac{dc_x}{dt} = k \times A \times (c_s - c_x)$$

gdje je k konstanta brzine otapanja (tzv. intrinzička konstanta koja uključuje viskoznost otopine; što je veća viskoznost manja je brzina otapanja), A specifična površina krutine koja se otapa, c_s topljivost krutine, a c_x koncentracija djelatne tvari u otopini u vremenu t. Iz Noyes-Whitneyjeve jednadžbe moguće je opaziti da se na otapanje može utjecati fizičko-kemijskim svojstvima djelatne tvari, tehnološkim parametrima i otapalom. Djelatna tvar se na mjestu apsorpcije (primjerice lumenu gastrointestinalnog sustava, površini oka) otapa u vodenoj sredini. Na brzinu otapanja djelatne tvari utječe temperatura sredstva za otapanje i brzina njegovog miješanja. Uvjeti *in vivo* osiguravaju stalnu temperaturu (najčešće 37°C, iako je u posebnim slučajevima temperatura mjesta apsorpcije nešto smanjena; npr. temperatura površine oka je 34°C) uz osigurano miješanje (primjerice peristaltika gastrointestinalnog sustava). Ispitivanja kinetike otapanja *in vitro* zahtijevaju održavanje stalne temperature i miješanja. Takva se ispitivanja najčešće provode pri 37°C, a brzina miješanja održava se pri

određenom broju okretaja po jedinici vremena (npr. okretaji/minuti); s povećanjem temperature povećava se kinetička energija molekula u sustavu, što rezultira povećanjem koeficijenta brzine difuzije djelatne tvari; povećanjem miješanja sredstva za otapanje, smanjuje se debljina stacionarnog sloja, a brzina se otapanja djelatne tvari povećava (Jalšenjak i sur., 1998).

1.2.1. ISPITIVANJE BRZINE OTAPANJA ILI OSLOBAĐANJA DJELATNE TVARI

Brzina otapanja je mjera koja govori koliko se tvar brzo otapa u otapalu, a na nju utječu različiti čimbenici: veličina čestica (raspadanjem tvari na manje dijelove povećava se njezina površina; tvar se brže otapa jer se proces otapanja odvija na površini čestica), temperatura (za čestice čvrste tvari povećanje temperature sustava uzrokuje povećanje količine otopljene tvari, ali i povećanje brzine otapanja), količina prethodno otopljene tvari u otopini (pri niskim koncentracijama prethodno otopljene tvari u otopini brzina otapanja je relativno velika, dok se s povećanjem koncentracije prethodno otopljene tvari u otopini brzina otapanja smanjuje kako se koncentracija tvari približava ravnotežnoj topljivosti), miješanje u sustavu (miješanjem se osigurava novi udjel otapala koji će biti u kontaktu s tvari koja se otapa pa se na taj način povećava brzina otapanja).

Metode ispitivanja otapanja i oslobađanja djelatne tvari *in vitro* važne su u razvoju i kontroli kakvoće pripravka. U smislu kontrole kakvoće najčešće se primjenjuju za: (*i*) ispitivanje ujednačenosti oslobađanja djelatne tvari između pojedinih proizvodnih šarži, (*ii*) ispitivanje stabilnosti pripravka, (*iii*) prilagođavanje laboratorijskog postupka izrade industrijskom mjerilu (eng. scale-up), (*iv*) predviđanje učinka *in vivo* lijeka.

Ispitivanja otapanja/oslobađanja djelatne tvari *in vitro* često su vrijedan alat pri razvoju farmaceutsko-tehnološkog oblika lijeka. Korištenjem primjerene metode ispitivanja oslobađanja *in vitro* moguće je prepoznati nedostatke pri oblikovanju farmaceutskog oblika lijeka koji će rezultirati problemima bioraspoloživosti. Dobro postavljena metoda treba odražavati promjene u farmaceutskom obliku, postupku proizvodnje, fizičkim i kemijskim svojstvima djelatne tvari (npr. veličina čestica, specifična površina, polimorfni oblici) (Jalšenjak i sur., 1998).

1.3. ČIMBENICI KOJI UTJEČU NA OTAPANJE

1.3.1. VELIČINA ČESTICA

Veličina čestica tvari koja se otapa utječe značajno na njezinu topljivost jer što su čestice manje to je veći omjer površine prema volumenu čestica. Povećanjem površine čestica osiguravaju se bolja međudjelovanja s otapalom. Ostwald-Freundlichova jednadžba opisuje odnos između topljivosti krute tvari i njezine veličine čestica:

$$\log \frac{c_s}{c_x} = \frac{2 \times \sigma \times V}{2{,}303 \times R \times T \times \rho \times r}$$

gdje je c_s topljivost krutine, c_x koncentracija otopine u vremenu t, σ površinska napetost na graničnoj površini čvrsto/tekuće, V molarni volumen čestica krutine, R opća plinska konstanta, T termodinamička temperatura, ρ gustoća krutine, r polumjer čestica krutine. Iz Ostwald-Freundlichove jednadžbe je jasno da se smanjenjem veličine čestica krutine (r) povećava njezina topljivost (c_s). Pored ovisnosti o veličini čestica krutine, topljivost tvari također se mijenja ovisno o strukturi kristalne rešetke tvari, odnosno energiji kristalne rešetke. Topljivost se kristalnih polimorfa povećava s povećanjem energije kristalne rešetke i smanjenjem njihovog tališta. Istodobno, tvari u amorfnom stanju karakterizirane su boljom topljivošću u odnosu na tvari u kristaliničnom stanju jer je slobodna energija kristalnog oblika uvijek manja od slobodne energije amorfnog oblika (Gao i sur., 2008).

1.3.2. TEMPERATURA

S povećanjem temperature povećava se topljivost tvari jer se povećava količina energije koja je apsorbirana u sustav, a u slučaju endotermnog procesa otapanja. Međutim, u slučaju kada otapanje tvari rezultira oslobađanjem energije u sustavu (egzotermni proces) topljivost se smanjuje s povećanjem temperature. Primjerice topljivost plinova se smanjuje s povećanjem temperature u otopini (Jalšenjak i sur., 1998).

1.3.3. TLAK

Za čvrste tvari promjene tlaka u sustavu u pravilu ne utječu na topljivost. Za tvari u plinovitom agregatnom stanju povećanje tlaka uzrokuje povećanje topljivosti (Jalšenjak i sur., 1998).

1.3.4. VELIČINA MOLEKULE

Topljivost tvari smanjuje se s povećanjem molekulske mase i veličine molekule tvari koja se otapa jer se velike molekule teže okružuju molekulama otapala pri otapanju. U slučajevima organskih tvari s povećanim udjelom razgranatih ugljikovodičnih lanaca smanjuje se veličina (ili volumen) molekule što osigurava učinkovitije oblaganje molekula otapalom (Jalšenjak i sur., 1998).

1.3.5. POLIMORFNI OBLICI

Polimorfi imaju istu kemijsku strukturu, ali različita fizička svojstva (npr. topljivost, gustoću, čvrstoću, svojstva kompresibilnosti). Određeni polimorfni oblici djelatne tvari manje su topljivosti od njihovog amorfnog oblika, što rezultira njihovom nepotpunom apsorpcijom. Kristalni oblik najniže slobodne energije je najstabilniji polimorfni oblik. Neki su polimorfi metastabilni i s vremenom prelaze u stabilnije oblike.

Amorfni oblik je nekristalinični oblik djelatne tvari. Amorfni oblik (nekristalinični) djelatne tvari općenito se brže otapa u usporedbi s istom djelatnom tvari uređenom u bolje strukturirani rigidni kristalni oblik.

Solvati su oblici djelatne tvari koji sadrže otapalo (solvati) ili vodu (hidrati). Desolvatirani solvati oblici su djelatne tvari pripravljeni uklanjanjem otapala iz solvata. Pri izradi neke djelatne tvari međudjeluju s otapalom pri čemu se stvaraju kristali, solvati ili hidrati. (Jalšenjak i sur., 1998).

1.4. BIOFARMACEUTSKI SUSTAV KLASIFIKACIJE DJELATNIH TVARI

Biofarmaceutski sustav klasifikacije djelatnih tvari (eng. Biopharmaceutics Classification System; BCS) je znanstveni okvir klasifikacije djelatnih tvari na osnovu njihove topljivosti i intestinalne permeabilnosti. BCS uzima u obzir tri glavne značajke djelatne tvari: topljivost, intestinalnu permeabilnost i brzinu otapanja. Djelatne tvari I. BCS skupine su dobro topljive i dobro permeabilne. Takve djelatne tvari brzo se i kvantitativno otapaju i apsorbiraju preko barijera gastrointestinalnog sustava. Djelatne tvari II. BCS skupine dobro permeiraju preko relevantnih fizioloških barijera gastrointestinalnog sustava, ali imaju slabu topljivost u tekućinama gastrointestinalnog sustava. Djelatne tvari III. BCS skupine su dobro topljive, ali

loše permeabilne preko barijera gastrointestinalnog trakta pa za njih postoji opasnost od izlučivanja iz organizma, a bez apsorpcije i farmakološkog učinka. Djelatne tvari IV. BCS skupine predstavljaju najveći problem pri razvoju formulacija jer su slabo topljive i slabo permeabilne.

Od 1995. kada je BCS objavljen učinjena su značajna poboljšanja u ranim fazama razvoja farmaceutskog oblika lijeka. BCS je prihvaćen od strane regulatornih tijela (Europske agencije za lijekove - EMA; Američke agencije za hranu i lijekove - FDA; Svjetske zdravstvene organizacije - WHO) u postavljanju bioekvivalencijskih standarda za odobravanje oralnih pripravaka trenutnog oslobađanja djelatne tvari. Bioekvivalenciju većine odobrenih oralnih pripravaka trenutnog oslobađanja djelatne tvari moguće je pouzdano procijeniti relativno jednostavnim *in vitro* ispitivanjima, naspram dugotrajnih i skupih kliničkih ispitivanja. WHO je proširila navedenu primjenu na određene djelatne tvari II. BCS skupine, dok WHO i EMA odobravaju BCS primjenu za neke djelatne tvari III. BCS skupine (Lobenberg i Amidon, 2000). BCS je moguće u gruboj procjeni koristiti i pri razvoju farmaceutskih oblika za različite ne-parenteralne putove primjene djelatne tvari, a pri tome uvažavajući specifičnosti svakog pojedinačnog puta primjene (Loch i sur., 2012).

1.5. RAZVOJNO-FORMULACIJSKI SUSTAV KLASIFIKACIJE DJELATNIH TVARI

Korištenje BCS klasifikacije u razvoju farmaceutskog oblika djelatne tvari ponekad previše pojednostavljuje složenu prirodu biofarmaceutskih svojstava djelatne tvari i nedovoljno uzima u obzir specifične biorelevantne uvjete na mjestu apsorpcije. Slabo topljive djelatne tvari ponekad imaju toliko nisku topljivost da je brzina njihovog otapanja, čak i s površine vrlo malih nanokristala (< 100 nm), izrazito spora. U tom slučaju nije moguće postići dovoljno visoku koncentraciju djelatne tvari na mjestu apsorpcije niti zadovoljavajuću apsorpciju, a dodatni čimbenici (npr. efluksni transporteri i/ili metabolički enzimi na mjestu apsorpcije) dodatno smanjuju apsorpciju. Zbog toga je razvijen novi sustav koji djelatne tvari klasificira u nešto drugačije kategorije, ovisno o tome je li bioraspoloživost djelatne tvari ograničena brzinom otapanja, topljivošću ili permeabilnošću. Takva se klasifikacija naziva razvojno-formulacijska klasifikacija (eng. Developability Classification System; DCS). Takvom klasifikacijom su djelatne tvari unutar II. BCS skupine razvrstane na one čija je bioraspoloživost ograničena brzinom otapanja (DCS IIa) i one čija je bioraspoloživost

ograničena topljivošću (DCS IIb). Bioraspoloživost djelatnih tvari IIb. DCS skupine moguće je povećati tehnikama povećanja topljivosti, najčešće solubilizacijom, ciklodekstrinskom kompleksacijom ili prilagodbom kristalnog oblika djelatne tvari. Za djelatne tvari IIa. DCS skupine bioraspoloživost je u izravnoj korelaciji s brzinom otapanja *in vivo*. Frakcija primijenjene doze koja se otopi na mjestu apsorpcije vrlo se brzo apsorbira pa je bioraspoloživost takvih djelatnih tvari moguće poboljšati farmaceutsko-tehnološkim tehnikama povećanja brzine otapanja, odnosno prilagodbom kristalnog oblika djelatne tvari (primjerice, korištenjem tehnike sušenja raspršivanjem ili ekstruzije taljenjem) i/ili obradom djelatne tvari korištenjem tehnologije nanokristala (Butler i Dressman, 2010).

1.6. TEHNIKE POBOLJŠANJA TOPLJIVOSTI TEŠKO TOPLJIVIH DJELATNIH TVARI

Brojne se tehnike mogu primijeniti s ciljem poboljšanja topljivosti teško topljivih tvari: prilagodba kristalnog oblika djelatne tvari (priprava topljivijih kristalnih polimorfa, kristalnih soli ili kokristala), prilagodba pH oblika, izrada farmaceutskih oblika trenutnog oslobađanja djelatne tvari uz dodatak solubilizatora, izrada farmaceutskih oblika koji se osnivaju na lipidima (npr. samoemulgirajući sustavi, meke kapsule s uljnom otopinom ili suspenzijom djelatne tvari), prevođenje djelatne tvari u amorfno stanje, uklapanje djelatne tvari u ciklodekstrinske komplekse, uklapanje djelatne tvari u micelarne agregate (micelarna solubilizacija), smanjenje veličine čestica djelatne tvari postupcima mikronizacije ili nanonizacije (Chen i sur., 2011).

1.6.1. PRILAGODBA pH

Ovisnost topljivosti djelatne tvari o različitim fiziološkim pH vrijednostima predstavlja pH profil topljivosti djelatne tvari. Primjerice, pri oblikovanju oralnih doznih oblika, u obzir je potrebno uzeti promjene pH duž gastrointestinalnog trakta, od kiselih pH vrijednosti u želucu do blago alkalnih u tankom crijevu. Djelatne tvari baznih svojstava topljivije su u kiseloj sredini jer stvaraju topljive soli. Djelatne tvari kiselih svojstava topljivije su u crijevima jer stvaraju topljive soli u alkalnoj sredini. Profil topljivosti ovisan o pH daje grubu procjenu o obimu otapanja djelatne tvari na mjestu apsorpcije.

Topljivost djelatnih tvari se može poboljšati dodatkom kiselih ili bazičnih pomoćnih tvari. Pomoćne tvari koje povećavaju pH doznog oblika do raspona pH vrijednosti većih od pK_a

vrijednosti djelatnih tvari koje su slabe kiseline povećavaju njihovu topljivost. Acidificirajuće pomoćne tvari povećavaju topljivost djelatnih tvari koje su slabe baze. Opisani pristup moguće je primijeniti i na kristalinične i lipofilne teško topljive tvari. Bioraspoloživost otopljenih djelatnih tvari ovisi o značajkama njihovog taloženja nakon primjene. Bioraspoloživost je moguće povećati u slučajevima kada se djelatna tvar taloži pri razrjeđenju u obliku finih ili amorfnih čestica, a što povećava površinu s koje se odvija otapanje i koncentracijski gradijent preko apsorpcijske barijere. U slučajevima kada se djelatna tvar taloži u obliku čestica koje se sporo otapaju nije moguće u zadovoljavajućem obimu povećati njihovu bioraspoloživost.

Prilagodba pH farmaceutskog oblika često se kombinira s korištenjem suotapala a s ciljem daljeg povećanja topljivosti teško topljive djelatne tvari. Glavni nedostatak opisanog pristupa je ponovno taloženje djelatne tvari u uvjetima razrjeđenja s vodenim sustavima pH vrijednosti pri kojima je tvar teško topljiva (Jalšenjak i sur., 1998).

1.6.2. IZRADA SAMOEMULGIRAJUĆIH TERAPIJSKIH SUSTAVA

Mikroemulzije su optički bistri, izotropni i termodinamski stabilni providni ili poluprovidni sustavi koji sadrže smjesu ulja, površinski aktivnih tvari i otapala u kojoj je djelatna tvar otopljena. U kontaktu s vodom takvi se oblici spontano dispergiraju ili samoemulgiraju pri čemu se stvara bistra mikroemulzija malog raspona veličina disperzne hidrofobne faze koja sadrži otopljenu teško topljivu djelatnu tvar. Tehnologija mikroemulzija korištena je za povećanje topljivosti brojnih djelatnih tvari uključujući i uklapanje proteinskih djelatnih tvari za oralnu, parenteralnu i transdermalnu primjenu. Takvi su homogeni disperzni sustavi tekućine relativno niske viskoznosti koje je moguće izraditi u širokom rasponu koncentracija i udjela površinski aktivnih tvari te sastava uljne faze. Površinski aktivne tvari i njihove smjese te kosurfaktanti u mikroemulzijskim sustavima imaju važnu ulogu u poboljšanju topljivosti teško topljivih djelatnih tvari. Sustavi izrađeni bez dodatka vode (tzv koncentrati) na mjestu primjene (*in situ*) pri kontaktu s vodom oblikuju mikroemulzijski sustav, a nazivaju se samoemulgirajući nano-, mikro- ili (makro-)emulzijski terapijski sustavi. Miješanje potrebno za oblikovanje takvih sustava na mjestu primjene osigurano je peristaltikom gastrointestinalnog sustava. U izradi samoemulgirajućih terapijskih sustava najčešće se koriste sljedeće površinski aktivne tvari: Brij 35, Span 80, alkiltrimetilamonijev bromid, natrijev laurilsulfat, fosfatidilkolin. S obzirom da se većina samoemulgirajućih terapijskih sustava u današnje vrijeme izrađuje u tekućem obliku najčešće se oblikuju u meke

ili tvrde želatinske kapsule. Primjereno otapanje teško topljivih djelatnih tvari korištenjem ovakvih sustava moguće je postići samo u slučaju kada je tvar primjereno topljiva u smjesi ulja i površinski aktivne tvari (Cherniakov i sur., 2015; Singh i sur., 2014).

1.6.3. SMANJENJE VELIČINE ČESTICA

Bioraspoloživost teško topljivih djelatnih tvari najčešće je povezana s njihovom intrinzičnom topljivošću i veličinom čestica. Smanjenjem veličine čestica povećava se površina s koje se odvija otapanje, a što poboljšava i ubrzava otapanje teško topljive djelatne tvari. Povećanje površine s koje se odvija otapanje rezultira boljim međudjelovanjima djelatne tvari s otapalom, a što u konačnici poboljšava svojstva otapanja takve djelatne tvari (Chen i sur., 2011).

Mikronizacija je postupak koji se rutinski primjenjuje u farmaceutskoj industriji i kojim se veličina čestica djelatne tvari smanjuje do raspona veličina 1-50 μm, korištenjem mlinova s čekićima te kugličnih ili mlaznih mlinova. Postupkom mikronizacije u određenoj se mjeri povećava brzina otapanja teško topljive djelatne tvari, ali je učinak na njezinu bioraspoloživost često ograničen.

Suvremena tehnika smanjenja veličine čestica djelatne tvari do nanometarskog raspona dimenzija je nanonizacija. Postupkom nanonizacije je moguće veličinu čestica teško topljive djelatne tvari smanjiti do nanometarskog raspona dimenzija (< 1000 nm), a tako obrađene djelatne tvari nazivamo nanokristalima djelatne tvari ili amorfnim nanočesticama djelatne tvari (Junghanns i Muller, 2008; Muller i sur., 2011; Shegokar i Muller, 2010; Sinha i sur., 2013).

1.6.4. UKLAPANJE DJELATNE TVARI U CIKLODEKSTRINSKE KOMPLEKSE

Kompleksi s ciklodekstrinima nastaju u vodenim sustavima i u čvrstom stanju. U vodenoj otopini, ciklodekstrini formiraju inkluzijske komplekse s mnogim djelatnim tvarima, pri čemu molekule vode smještene u centralnoj šupljini molekula ciklodekstrina bivaju zamijenjene molekulom djelatne tvari ili ćešće samo nekim njezinim dijelom. Proces stvaranja kompleksa je reverzibilan, naročito u vodenim otopinama gdje postoji stalna i brza izmjena molekule gosta između vezanog i nevezanog oblika. Topljivost teško topljivih djelatnih tvari može se značajno povećati stvaranjem njihovog inkluzijskog kompleksa s hidrofilnim derivatima ciklodekstrina (primjerice, hidroksipropil-, maltozil-, dimetil- i sulfobutileter-β-ciklodekstrin).

Pri tome ciklodekstrini djeluju kao nosači djelatne tvari kroz hidrofilan medij bioloških tekućina do mjesta koje ima veći afinitet prema uklopljenoj molekuli djelatne tvari, nego sam ciklodekstrin. Na apsorpcijskoj membrani dolazi do brzog prijelaza uklopljene molekule djelatne tvari kroz stanični dvosloj, dok nosač ostaje u hidrofilnoj okolini. Pri tome valja upotrebljavati najmanju koncentraciju ciklodekstrina koja omogućuje otapanje djelatne tvari, kako uslijed suviška ciklodekstrina ne bi došlo do pomaka ravnoteže prema nastajanju kompleksa, jer samo slobodna djelatna tvar može biti apsorbirana u sistemsku cirkulaciju. Kompleksi relativno niske konstante stabilnosti brzo se apsorbiraju dajući brzo vršne koncentracije u plazmi, dok je kod kompleksa visoke konstante stabilnosti taj proces nešto dulji, no ipak brži nego za neuklopljene molekule djelatne tvari. Disocijacija kompleksa često se može pospješiti dodatkom nekih pomoćnih tvari koje će kompetirati s djelatnom tvari za uklapanje u hidrofobnu centralnu šupljinu molekule ciklodekstrina. Utvrđeno je da se kompleksiranjem djelatnih tvari, kao što su steroidi, kardiotonični glikozidi, nesteroidni analgetici-antipiretici, benzodiazepini, oralni hipoglikemici i koronarni vazodilatatori s hidrofilnim derivatima ciklodekstrina značajno povećava bioraspoloživost djelatnih tvari (Jug i Bećirević-Laćan, 2002).

1.6.5. PRIMJENA SUOTAPALA

Topljivost teško topljivih djelatnih tvari često se povećava dodatkom suotapala koje se miješa s vodom i u kojem je teško topljiva djelatna tvar dobro topljiva. Sustavi suotapala su smjese vode i jednog ili više otapala koji se miješaju s vodom, a koji se izrađuju s ciljem poboljšanja topljivosti teško topljivih djelatnih tvari. Povijesno gledajući, takav postupak je vrlo često korišten zbog njegove jednostavnosti. Primjena suotapala često je prisutna u izradi različitih čvrstih i tekućih farmaceutskih oblika. Sustavi u kojima se koriste suotapala mogu povećati topljivost teško topljivih djelatnih tvari i do nekoliko tisuća puta u usporedbi s topljivošću takvih tvari u vodi. U takvim smjesama moguće je otopiti relativno visoki udjel djelatne tvari, a u odnosu na druge pristupe poboljšanja topljivosti. Najčešće se kao suotapala koriste PEG 300, propilenglikol i etanol. Dimetil sulfoksid i dimetil acetoamid također se često koriste kao suotapala zbog njihovog velikog solubilizacijskog kapaciteta i relativno niske toksičnosti. Različiti udjeli (5-40%) PEG 6000 korišteni su u čvrstim binarnim smjesama s ciljem povećanja topljivosti i brzine oslobađanja meloksikama.

Oblici koji su izrađeni korištenjem suotapala primjenjuju se oralno i parenteralno. Poboljšanje topljivosti korištenjem suotapala često se koristi pri izradi parenteralnih oblika

zbog relativno niskog iritacijskog potencijala površinski aktivnih tvari i relativno niske toksičnosti korištenih suotapala. Parenteralni oblici mogu zahtijevati dodatak vode ili razrjeđenje s vodenim sustavima s ciljem smanjenja udjela suotapala u sustavu prije primjene. U smislu parenteralne primjene najčešće se koriste sljedeća suotapala: propilenglikol, etanol, glicerol i PEG.

Korištenje suotapala u određenim slučajevima ne rezultira poboljšanjem bioraspoloživosti djelatne tvari, a najčešće zbog taloženja djelatne tvari u obliku kristaliničnog ili amorfnog taloga pri razrjeđenju. Nastali talog se mora otopiti, a kako bi se djelatna tvar mogla apsorbirati. U slučaju parenteralne primjene taloženje djelatne tvari nosi rizik od embolije ili lokalnih nuspojava na mjestu primjene. Tehnologija suotapala može se kombinirati s drugim pristupima poboljšanja topljivosti djelatne tvari (Li i sur., 1999; Miyako i sur., 2010).

1.6.6. HIDROTROPNI UČINAK

Hidrotropni učinak je postupak otapanja koji uključuje dodatak velike količine druge tvari u sustav, a što rezultira povećanjem topljivosti tvari koju je ishodno potrebno otopiti. Hidrotropni učinak u određenim slučajevima osigurava povećanje topljivosti teško topljive djelatne tvari. Mehanizam koji je uključen u takvo povećanje topljivosti povezan je sa stvaranjem kompleksa između hidrotropnog sredstva (natrijev benzoat, natrijev acetat, natrijev alginat, urea) i teško topljive djelatne tvari. Hidrotropna sredstva najčešće su ionske organske soli. Hidrotropna sredstva mogu povećati topljivost ("salting in" učinkom) ili smanjiti topljivost ("salting out" učinkom) teško topljive djelatne tvari. Određene soli velikih molekulskih dimenzija aniona ili kationa koje su vrlo dobro topljive u vodenoj sredini uzrokuju "salting in" učinak i nazivaju se hidrotropne soli. Korištenje hidrotropnog učinka za poboljšavanje topljivosti teško topljivih djelatni tvari ne zahtijeva njihove kemijske modifikacije niti korištenje organskih otapala ili izradu termodinamski nestabilnih emulzijskih sustava. Klasifikaciju hidrotropnih sredstava na osnovu njihove molekulske strukture teško je provesti s obzirom da tvari vrlo različite molekulske strukture imaju hidrotropni učinak. Pojedinačni primjeri uključuju etanol, aromatske alkohole (primjerice rezorcinol, pirogalol, katehol), salicilate, alkaloide (kafein, nikotin), ionske površinski aktivne tvari (primjerice natrij laurilsulfat). U ispitivanjima poboljšanja topljivosti teško topljivih djelatnih tvari najčešće se koriste aromatska hidrotropna sredstva. Pored učinka povećanja topljivosti teško topljivih djelatnih tvari u vodi, hidrotropna sredstva utječu i na stvaranje micela u sustavu, promjenu faznog ponašanja višefaznih sustava te smanjenje topljivosti otopina površinski

aktivnih tvari (Booth i sur., 2015; El-Houssieny i sur., 2014; Kim i sur., 2011; Maheshwari i Jagwani, 2011).

1.6.7. MICELARNA SOLUBILIZACIJA

Površinski aktivne tvari smanjuju površinsku napetost u vodenim sustavima i poboljšavaju otapanje teško topljivih djelatnih tvari. Često se koriste i pri izradi suspenzijskih oblika kao sredstva za močenje čestica teško topljive djelatne tvari. Pri povećanju koncentracije površinski aktivnih tvari u sustavu iznad njihove kritične micelizacijske koncentracije (koja je za većinu površinski aktivnih tvari u rasponu od 0,05 do 0,1%) u sustavu se stvaraju micele koje uklapaju teško topljivu djelatnu tvar. Takav proces naziva se micelarna solubilizacija i najčešće rezultira povećanjem topljivosti teško topljive djelatne tvari. Od neionskih površinski aktivnih tvari najčešće se koriste polisorbati, polioksietilirano ricinusovo ulje, polioksietilirani gliceridi, lauroil-makrogliceridi te mono- i di-esteri masnih kiselina s nisko molekulskim polietilenglikolima. Micelarni sustavi koji se koriste za poboljšanje topljivosti teško topljive djelatne tvari najčešće su miješane micele ili polimerne micele.

1.6.7.1. Miješane micele

Miješane micele sadrže dvije ili više površinski aktivnih tvari koje oblikuju hidrofobnu jezgru i hidrofilni omotač miješanog micelarnog sustava. Teško topljiva djelatna tvar najčešće se uklapa u hidrofobnu jezgru micele. Međutim, s obzirom na njezine fizičko-kemijske karakteristike moguće se smješta na međupovršinu jezgre i omotača micele. Micelarni sustavi su termodinamski stabilni sustavi koji se spontano stvaraju postupkom samoorganiziranja u vodenoj sredini. Micele su u dinamičkoj ravnoteži sa slobodno otopljenim molekulama površinski aktivnih tvari. Veličina i oblik micela ovisi o fizičko-kemijskim i strukturnim značajkama površinski aktivnih tvari (Mu i sur., 2005).

1.6.7.2. Polimerne micele

Nedostaci niskomolekulskih površinski aktivnih tvari (većinom milimolarne cmc vrijednosti, termodinamička i kinetička nestabilnost, niski solubilizacijski kapacitet) pridonijeli su razvoju novih micelarnih sustava građenih od amfifilnih kopolimera. Blok kopolimeri lakše stvaraju micele zbog znatno veće duljine hidrofobnog dijela molekule.

Nastale micele termodinamički su stabilnije s obzirom na niže cmc vrijednosti (pretežno mikromolarno područje). Disocijacija sustava nakon razrjeđenja je sporija, čime je poboljšana i kinetička stabilnost sustava, što omogućuje dulje zadržavanje lijeka unutar micelarnog sustava i moguće nakupljanje u ciljnom tkivu. Kopolimerni micelarni sustavi imaju veći solubilizacijski kapacitet zbog većeg broja micela koje nastaju pri samoorganiziranju (niže cmc vrijednosti) i/ili veće hidrofobne micelarne jezgre. Nadalje, veličina micela je nekoliko desetina nanometara, što također pridonosi postojanosti sustava nakon npr. parenteralne primjene.

Idealan micelarni sustav za primjenu teško topljive djelatne tvari trebao bi: (*i*) spontano nastati samoorganiziranjem lijeka, amfifilnog polimera i drugih specifičnih vrsta, (*ii*) biti veličine ~ 10 nm radi sposobnosti prodiranja u različita tkiva, (*iii*) biti kontrolirano stabilan u uvjetima *in vivo* radi isporuke lijeka u željena tkiva/stanice i oslobađanja slobodnog oblika lijeka pri dodiru s ciljnim tkivom/stanicom, (*iv*) biti biokompatibilan i biorazgradiv. Moglo bi se reći da idealan micelarni sustav treba, u što većoj mjeri, oponašati prirodne supramolekulske nosače (viruse i/ili lipoproteine). U organizacijskom i funkcionalnom smislu virusi, kao sustavi za prijenos genetskog materijala, udovoljavaju većini prethodno navedenih zahtijeva (nastaju samoorganiziranjem biopolimera, sferične su građe s hidrofobnom jezgrom i hidrofilnim omotačem, veličine 20-100 nm, kronološki programirane stabilnosti). Lipoproteini su lipidno-proteinski kompleksi s hidrofobnom jezgrom za prijenos kolesterola i lipida u krvi. Razdioba veličina različitih skupina lipoproteina je 10-100 nm, tj. u području veličina koje osigurava zadovoljavajuće zadržavanje u krvnom optoku. Dakle, lipoproteini i virusi čine vrlo sofisticirane prirodne nanosustave čije razumijevanje može pomoći razvoju novih terapijskih sustava, napose micelarnih, za primjenu lijeka (Pepić, 2004).

1.6.7.3. Metode fizičkog uklapanja djelatne tvari

Za fizičko uklapanje djelatne tvari u micele upotrebljavaju se različite metode koje ovise o samoj metodi priprave micelarnih sustava.

Ako se micele pripravljaju direktnim otapanjem u vodi, onda se već miješanjem micelarne otopine s djelatnom tvari može postići određeno uklapanje, iako takav jednostavan ravnotežni proces djelatne tvari i micela ne mora rezultirati visokim obimom uklapanja. Postoje različiti pristupi metodi direktnog otapanja kojima se nastoji povećati uklapanje djelatne tvari. Tako se djelatna tvar može otopiti u organskom otapalu, koje se miješa s vodom (npr. etanol), te dodati micelarnoj otopini nakon čega se organsko otapalo otpari. Djelatna tvar se može otopiti

u organskom otapalu (npr. aceton, etanol) koje se otpari, a micelarna se otopina dodaje na tanki film djelatne tvari zaostale na stjenkama tikvice. Vrlo slično, djelatna tvar i kopolimer mogu se otopiti u zajedničkom organskom otapalu koje se otpari pri čemu na stjenkama tikvice ostaje matriksni film djelatne tvari i kopolimera, a micele s uklopljenom djelatnom tvari nastaju dodatkom određenog volumena vode uz miješanje (Lukyanov i sur., 2002; Torchilin, 2002; Wang i sur., 2005).

Metoda dijalize sastoji se u prijenosu djelatne tvari i kopolimera iz otapala u kojem su obje tvari dobro topljive (zajedničko organsko otapalo koje se miješa s vodom) u otapalo u kojemu je selektivno topljiv samo hidrofilni dio kopolimerne molekule (voda). Kako se dobro otapalo zamjenjuje selektivnim, tako hidrofobni dijelovi kopolimera samoorganiziranjem stvaraju micele uklapajući pritom slabo topljivu djelatnu tvar (Lukyanov i sur., 2002; Torchilin, 2002; Wang i sur., 2005).

Djelatna tvar se u micele može uklopiti i U/V emulzijskom metodom. Takva metoda sastoji se u pripravi micelarne vodene otopine, kojoj se dodaje djelatna tvar otopljena u organskom otapalu koje se ne miješa s vodom (npr. kloroform), pri čemu nastaje emulzija tipa ulje u vodi (U/V). Otparavanjem organskog otapala nastaju micele. Djelatna tvar se u njih uklapa, kako se otapalo otparava (Allen i sur., 1999; Jones i Leroux, 1999).

1.6.7.4. Solubilizacijski kapacitet

Odlučujući čimbenik u solubilizaciji je kompatibilnost teško topljive djelatne tvari i hidrofobne micelarne jezgre, iako međudjelovanje djelatne tvari s hidrofilnim micelarnim omotačem i međudjelovanje s otapalom u manjoj mjeri mogu utjecati na proces solubilizacije. S jedne strane, kompatibilnost ovisi o svojstvima same djelatne tvari, kao što su molekulski volumen, površinska aktivnost, polarnost, hidrofilnost/lipofilnost, naboj i stupanj ionizacije (Allen i sur., 1999; Pepić, 2004). Ipak, izborom strukture hidrofobnog dijela kopolimera može se postići maksimalna kompatibilnost sa željenom djelatnom tvari. Najviši stupanj solubilizacije postiže se visokom kompatibilnošću micelarne jezgre i djelatne tvari. Za procjenu kompatibilnosti koristi se Flory-Huggins-ov parametar međudjelovanja (χ_{sp}) opisan jednadžbom:

$$\chi_{sp} = \frac{(\delta_s - \delta_p)^2 \times V_s}{R \times T}$$

gdje je χ_{sp} parametar međudjelovanja solubilizata (s) i hidrofobnog dijela kopolimera (p), δ_s Scatchard-Hildebrandov parametar topljivosti solubilizata (djelatne tvari), δ_p Scatchard-

Hildebrandov parametar topljivosti hidrofobnog dijela kopolimera, V_s molarni volumen solubilizata, R opća plinska konstanta, T termodinamička temperatura (Allen i sur., 1999; Lavasanifar i sur., 2002). Što je manja pozitivna vrijednost parametra međudjelovanja, to je veća kompatibilnost solubilizata i hidrofobnog dijela kopolimera. Najveći je stupanj kompatibilnosti moguć u slučaju $\delta_s = \delta_p$. Za specifična međudjelovanja (npr. ionska) vrijednost parametra međudjelovanja može biti negativna. Zbog složenosti međudjelovanja kopolimera i djelatne tvari, malo je vjerojatno da će neki micelarni sustav biti univerzalni nosač za sve djelatne tvari, a jednako je vjerojatno da će neka djelatna tvar biti učinkovito isporučen bilo kojim micelarnim sustavom (Allen i sur., 1999).

Pored kompatibilnosti kopolimera i djelatne tvari te međudjelovanja, postoje i drugi parametri koji utječu na solubilizacjski kapacitet kopolimernih micela:

- Duljina hidrofobnog dijela kopolimerne molekule. Povećanjem hidrofobnog dijela kopolimera smanjuje se vrijednost kritične micelizacijske koncentracije, a povećava se agregacijski broj. Povećanjem agregacijskog broja smanjuje se koncentracija micela, ali se povećava volumen micelarne jezgre i jačaju hidrofobna međudjelovanja većinom odgovorna za micelarnu solobilizaciju teško topljivih djelatnih tvari (Allen i sur., 1999, Pepić, 2004).
- Duljina hidrofilnog dijela kopolimerne molekule. Značajnim povećanjem duljine hidrofilnog dijela kopolimera povećava se cmc vrijednost te smanjuje agregacijski broj, što povećava koncentraciju micela. Međutim, kako manji broj kopolimera čini micelu, tako se smanjuje volumen micelarne jezgre i slabe hidrofobna međudjelovanja, pa se smanjuje stupanj solubilizacije hidrofobnih djelatnih tvari (Allen i sur., 1999; Pepić, 2004).
- Priroda hidrofilnog dijela kopolimera. Učinak prirode hidrofilnog dijela kopolimera na uklapanje djelatne tvari može se razmatrati Flory-Huggins-ovim parametrom međudjelovanja. U slučaju povoljnih međudjelovanja lijeka i hidrofilnog dijela kopolimera, određena količina lijeka može biti uklopljena u vanjski micelarni omotač. Tako npr., PEO-PPO-PEO micele imaju veći afinitet prema klorbenzenu, nego prema benzenu; što nije za očekivati, jer je parametar međudjelovanja benzena (χ_{sp} = 0,0014) niži od parametra međudjelovanja klorbenzena (χ_{sp} = 0,0068). To se može objasniti solubilizacijom određene količine klorbenzena u vanjskom micelarnom omotaču, s obzirom da je parametar međudjelovanja klorbenzana i polietilenoksida (χ_{sp} = 0,1711) niži od parametra međudjelovanja benzena i polietilenoksida (χ_{sp} = 0,2483). Vjerojatno će se amfifilni lijekovi s niskim parametrom međudjelovanja, kako za hidrofobni tako i za hidrofilni dio kopolimerne molekule, solubilizirati na međupovršini unutrašnjeg i vanjskog micelarnog odjeljka (Allen i sur., 1999).

• Koncentracija kopolimera. O HLB svojstvima kopolimera ovisi utjecaj koncentracije na solubilizaciju; kod nekih se obim solubilizacije povećava s kopolimernom koncentracijom, dok je kod drugih obim solubilizacje neovisan o kopolimernoj koncentraciji. Solubilizacija naftalena u različitim tipovima PEO-PPO-PEO kopolimernih micela neovisna je o koncentraciji za kopolimere s visokim udjelom hidrofobnog dijela, dok se obim solubilizacije povećava s koncentracijom za kopolimere s visokim udjelom hidrofilnog dijela (Allen i sur., 1999).

• Koncentracija solubilizata (djelatne tvari). Prisutnost hidrofobnog solubilizata može pridonijeti micelizaciji amfifilnih kopolimera, što se očituje smanjenjem cmc vrijednosti te povećanjem broja micela prisutnih u sustavu. Povećanjem koncentracije solubilizata povećava se agregacijski broj kopolimera, čime nastaju veće micele koje imaju veći solubilizacijski kapacitet (Allen i sur., 1999, Pepić, 2004).

1.6.8. STABILNOST I OSLOBAĐANJE DJELATNE TVARI

Stabilnost kopolimernih micela može se promatrati s dva različita stajališta: termodinamičke stabilnosti (ravnotežnog ponašanja sustava) i kinetičke stabilnosti (dinamičkog ponašanja sustava). Najjednostavnije rečeno, termodinamička stabilnost povezana je s cmc vrijednostima ispod kojih se ravnoteža unimera i micela pomiče prema disocijaciji sustava, dok kinetička stabilnost daje informacije o stvarnom vremenu potrebnom za takvu disocijaciju. Dakle, sustav u uvjetima razrjeđenja, kada je koncentracija niža od cmc vrijednosti, može još određeni vremenski period ostati u micelarnom obliku prije disocijacije, što ovisi o stvarnoj brzini disocijacije, tj. kinetičkoj stabilnosti sustava (Pepić, 2004).

Blok kopolimerne micele, naspram niskomolekulskih, pokazuju visoki stupanj kinetičke stabilnosti nakon razrjeđenja zbog dugotrajnog relaksacijskog procesa koji rezultira sporom disocijacijom micela.

Kinetička stabilnost ovisi o brojnim čimbenicima, uključujući agregatno stanje micelarne jezgre i udio otapala u njemu, duljinu hidrofobnog dijela kopolimera, PEO/PPO omjer te uklopljene hidrofobne tvari. S obzirom na strukturu kopolimernog dijela koji stvara micelarnu jezgru javljaju se hidrofobna ili elektrostatska međudjelovanja iz kojih proizlaze kohezivne sile koje kinetički stabiliziraju micelarni sustav. Jačina kohezivnih sila može se karakterizirati temperaturom staklastog prijelaza (T_g), stupnjem kristaliničnosti i umrežavanja micelarne jezgre. Micele građene od hidrofobnih dijelova s visokim temperaturama staklastog prijelaza (T_g > 37°C) imaju smrznutu micelarnu jezgru s fizički udruženim kopolimernim lancima bez

mogućnosti molekulskog gibanja. Takve micele sporije disociraju u odnosu na kopolimere s nižim vrijednostima T_g.

Oslobađanje djelatne tvari iz takvih sustava je sporo i ograničeno difuzijom djelatne tvari iz micelarne jezgre. Blok kopolimeri takvog tipa pružaju produljeno vrijeme cirkulacije sustava u krvi i postupno oslobađanje lijeka. Uklapanje hidrofobnih djelatnih tvari u micelarnu jezgru može povećati micelarnu stabilnost. Npr., fizičkim uklapanjem i kemijskom konjugacijom doksorubicina u PEO-P(Asp) micele povećava se kinetička stabilnost sustava. Stabilnost sustava povećava se s povećanjem udjela konjugirane djelatne tvari, ali i povećanjem fizički uklopljenog doksorubicina. To je objašnjeno povećanjem hidrofobnih međudjelovanja u micelarnoj jezgri i stvaranjem bolje pakiranih micela (Kabanov i Alakhov, 2002; Kabanov i sur., 2002a; Kabanov i sur., 2002b).

Stabilnost micelarnog sustava je preduvjet za kontrolu brzine oslobađanja djelatne tvari. Za fizički uklopljene djelatne tvari u stabilne micele sa sporom biodegradacijom, oslobađanje je kontrolirano brzinom difuzije djelatne tvari ili brzinom disocijacije sustava. Čimbenici koji kontroliraju oslobađanje lijeka iz micela usko su povezani s čimbenicima koji određuju stabilnost micela (Pepić, 2004).

Ako je djelatna tvar smještena u micelarnu jezgru, onda se jačanjem međudjelovanja s hidrofobnim dijelom kopolimerne molekule usporava oslobađanje djelatne tvari. Jaka međudjelovanja povećavaju stupanj uklapanja djelatne tvari i stabilnost micela, ali smanjuju brzinu oslobađanja. Stoga je potrebno naći kompromis kako bi se optimizirala svojstva micela. Na ta međudjelovanja mogu utjecati pH vrijednost (pH-senzitivne micele) i temperatura (termo-senzitivne micele). Tako se povećanjem pH vrijednosti sredine od kiselog prema neutralnom povećava brzina oslobađanja indometacina iz PEO-PBLA micela zbog sve veće ionizacije karboksilnih skupina djelatne tvari te slabljenja hidrofobnih međudjelovanja. Fizičko stanje micelarne jezgre utjecati će i na brzinu oslobađanja djelatne tvari preko veće ili manje pokretljivosti hidrofobnih lanaca, odnosno jačim ili slabijim međudjelovanjima s djelatnom tvari. Difuzija otapala u jezgru micele može prilično smanjiti vrijednosti temperature staklastog prijelaza. Jezgre micele građene od nešto hidrofilnijih kopolimera mogu zadržavati određenu količinu vode, što ubrzava oslobađanje djelatne tvari. Oslobađanje se može usporiti povećanjem količine uklopljene djelatne tvari zbog jačanja hidrofobnih međudjelovanja. Povećanjem duljine hidrofobnog dijela kopolimerne molekule povećava se micelarna jezgra što usporava oslobađanje djelatne tvari. Molekulski volumen djelatne tvari utječe na brzinu difuzije djelatne tvari iz micele i što je on veći brzina difuzije je manja, a oslobađanje je sporije. Agregatno stanje djelatne tvari također utječe na brzinu oslobađanja.

Molekulski otopljena djelatna tvar u jezgri micele može imati ulogu plastifikatora i smanjivati temperaturu staklastog prijelaza, te tako ubrzavati oslobađanje. U slučajevima da djelatna tvar nije dobro otopljen ili solubiliziran, već oblikuje odvojenu fazu unutar jezgre micele, oslobađanje djelatne tvari iz sustava može biti onemogućeno (Kabanov i Alakhov, 2002; Kabanov i sur., 2002a; Kabanov i sur., 2002b).

Hidrofilnije djelatne tvari uklopljene u micelarni omotač ili na međupovršinu micelarnih odjeljaka biti će drugačije oslobađane, naspram djelatnih tvari iz jezgre micele. Vanjski micelarni omotač je prilično pokretan, stoga će se djelatna tvar prilično brzo oslobađati (eng. burst release). Djelatne tvari smještene u ovim dijelovima micele ne moraju difundirati kroz micelarno središte tako da njegova veličina nema utjecaja na oslobađanje. Molekulski volumen djelatne tvari jednako je zanemariv (Kabanov i Alakhov, 2002; Kabanov i sur., 2002a; Kabanov i sur., 2002b).

Pri kovalentnom vezanju djelatne tvari i kopolimera, brzina oslobađanja ovisi o kemijskom ili enzimatskom cijepanju kovalentne veze. S jedne strane postoji mogućnost prodiranja vode u micelarnu jezgru i hidrolize kemijske veze nakon čega slijedi difuzija djelatne tvari. Kada je prodiranje vode u hidrofobnu jezgru ograničeno, oslobađanje djelatne tvari kontrolirano je disocijacijom micelarnog sustava. Sporom disocijacijom micela u kopolimerne konjugate te oslobađanje slobodne djelatne tvari hidrolizom kovalentnih veza ograničene stabilnosti u konačnici se postiže produljeni učinak (Lavasanifar i sur., 2002).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Poboljšanje topljivosti teško topljivih djelatnih tvari u svrhu izrade gotovih farmaceutskih oblika vrlo je važno i aktualno pitanje suvremene farmacije. Brojni su načini kojima je moguće povećati topljivost teško topljivih djelatnih tvari bilo pri izradi pojedinog farmaceutskog oblika lijeka ili na mjestu njegove apsorpcije (*in situ*). Primjerice, suvremeni načini poboljšanja topljivosti djelatne tvari pri izradi obuhvaćaju: prilagodbu kristalnog oblika djelatne tvari (priprava topljivijih kristalnih polimorfa, kristalnih soli ili kokristala), prilagodbu pH oblika, izradu farmaceutskih oblika trenutnog oslobađanja djelatne tvari uz dodatak solubilizatora, prevođenje djelatne tvari u amorfno stanje, uklapanje djelatne tvari u ciklodekstrinske komplekse, smanjivanje veličine čestica krutine djelatne tvari postupcima mikro- i/ili nanonizacije.

Nadalje, poboljšanje topljivosti teško topljive djelatne tvari moguće je postići i na mjestu njezine apsorpcije izradom farmaceutskih oblika koji se osnivaju na lipidima i solubilizatorima (primjerice, samoemulgirajući terapijski sustavi iz kojih nosači s uklopljenom djelatnom tvari nastaju na mjestu apsorpcije učinkom polarnih bioloških tekućina).

Često korišten način poboljšanja topljivosti teško topljivih djelatnih tvari je micelarna solubilizacija. Komparativne prednosti micelarnih disperzija s otopljenim/solubiliziranim lijekom su jednostavna tehnologija izrade koja *a priori* osigurava relativno jednostavno uvećanje mjerila (eng. *scale up*) s ciljem industrijske proizvodnje. U slučaju zahtijeva za sterilnošću gotovih lijekova, postupci sterilne izrade (primjerice, bakteriološka filtracija, toplinski postupci sterilizacije, aseptička izrada) micelarnih disperzija s otopljenim/solubiliziranim lijekom vrlo su lako prilagodljivi i/ili kompatibilni s klasičnim industrijskim linijama izrade sterilnih pripravaka.

S farmaceutsko-tehnološkog stajališta, neionski solubilizatori u određenim područjima koncentracija i/ili temperatura samoorganiziranjem stvaraju micele. Relativno je dobro poznato da različiti dodaci (elektroliti, PAT, teško topljive djelatne tvari) ometaju ili poboljšavaju samoorganiziranje i stvaranje takvih micela. Stoga je cilj ovog diplomskog rada ispitati mogućnosti solubilizacije deksametazona kao modelne teško topljive djelatne tvari u ternarnim sustavima deksametazona, različitih neionskih solubilizatora i Krebs-Ringerovog pufera kao složene otopine elektrolita, a sve pri temperaturi koja je specifična za određeno mjesto apsorpcije djelatne tvari. Uz solubilizacijski kapacitet pojedinh neionskih micela s

obzirom na deksametazon, bit će određena veličina micela s uklopljenim deksametazonom i njihova disperznost, a kao osnovne značajke fizičke stabilnosti micelarnih sustava pri čuvanju i primjeni.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. MATERIJALI

Poloksamer 188 triblok kopolimer (zaštićeni naziv: Pluronic® F68, Sigma-Aldrich, Njemačka) i Cremophor EL® (BASF, Njemačka) upotrebljeni su kao solubilizatori u svim pokusima bez dodatnog pročišćavanja, s obzirom da su takve sirovine komercijalno dostupne za izradu farmaceutskih oblika lijekova u farmaceutskoj industriji. Natrijev klorid, kalijev klorid, natrijev hidrogenkarbonat, natrijev dihidrogenkarbonat dihidrat, magnezijev sulfat heptahidrat, glukoza monohidrat (Kemig, Hrvatska), kalcijev klorid (Sigma-Aldrich), HEPES (AppliChem, Njemačka) analitičkog stupnja čistoće uporabljeni su za pripravu Krebs-Ringerovog pufera (pH = 7,4). Za sve pokuse uporabljena je redestilirana voda specifične provodnosti < 1 μS cm^{-1}.

Ostale uporabljene kemikalije analitičkog su stupnja čistoće, proizvođača Kemika, Hrvatska.

3.2. METODE

3.2.1. PRIPRAVA KREBS-RINGEROVOG PUFERA

Krebs-Ringerov pufer (pH = 7,4) pripravljen je odvagom 6,8 g NaCl, 0,4 g KCl, 0,158 g $NaH_2PO_4 \times 2H_2O$, 2,1 g $NaHCO_3$, 0,26 g $CaCl_2 \times 2H_2O$, 0,2 g $MgSO_4 \times 7H_2O$, 3,575 g HEPES te 1,1 g D-glukoza monohidrata u odmjernoj tikvici od 1 l; koja je zatim nadopunjena potrebnim volumenom redestilirane vode. pH vrijednost pufera podešena je na 7,4 10 M NaOH. Prije upotrebe pufer je filtriran kroz membranski filter veličine pora 0,20 μm kako bi se uklonili mogući tragovi nečistoća.

3.2.2. PRIPRAVA ISHODNIH OTOPINA SOLUBILIZATORA

Ishodne otopine F68 (5 %, *m*/*V*) pripravljene su otapanjem F68 u dijelu potrebnog volumena Krebs-Ringerovog pufera (pH = 7,4); najmanje 24 sata pri 34°C. Nakon potpunog

otapanja sirovina, odmjerne tikvice su nadopunjene do oznake Krebs-Ringerovim puferom (pH = 7,4). Ishodne otopine su homogenizirane mućkanjem tek nakon potpunog nadopunjavanja kako bi se izbjeglo pjenjenje u prethodnim fazama priprave.

Ishodne otopine Cremophora EL (5 %, *m*/*V*) pripravljene su otapanjem Cremophora EL u dijelu potrebnog volumena Krebs-Ringerovog pufera (pH = 7,4) 1 sat pri sobnoj temperaturi. Nakon potpunog otapanja sirovina, odmjerne tikvice su nadopunjene do oznake Krebs-Ringerovim puferom (pH = 7,4). Ishodne otopine su homogenizirane mućkanjem tek nakon potpunog nadopunjavanja kako bi se izbjeglo pjenjenje u prethodnim fazama priprave.

3.2.3. PRIPRAVA MJERNIH SUSTAVA ZA ISPITIVANJE TOPLJIVOSTI

Mjerni sustavi pripravljeni su iz ishodnih otopina solubilizatora i krutine deksametazona u Erlenmeyerovim tikvicama od 50 ml korištenjem Krebs-Ringerova pufera (pH 7,4) kao disperzijskog sredstva. Mjerni sustavi pripravljeni su s variranom koncentracijom solubilizatora (5×10^{-4} – 5 %, *m*/*V*) i konstantnom masom krutine deksametazona (10 mg). Svi mjerni sustavi pripravljeni su u volumenu od 30 ml. Slijepe probe bez deksametazona pripravljene su za svaki koncentracijski niz na isti način kao i uzorci, samo bez dodatka deksametazona, a radi poništavanja mogućeg utjecaja solubilizatora pri spektrofotometrijskom određivanju sadržaja solubiliziranog deksametazona.

3.2.4. PROTOKOL SOLUBILIZACIJE DEKSAMETAZONA U MJERNIM SUSTAVIMA

Pripravljeni mjerni sustavi s deksametazonom miješani su u orbitalnoj termostatiranoj mješalici (Environmental shaker inkubator ES 20/60, Biosan, Latvija) pri 34°C, 130 rpm i tijekom 24 sata. Suspenzije deksametazona u Krebs-Ringerovom puferu bez dodatka solubilizatora pripravljene su s ciljem određivanja topljivosti deksametazona u Krebs-Ringerovom puferu. Nakon 24 sata disperzije su filtrirane kroz membranski filter veličine pora 0,45 μm (Filtres Fioroni, Francuska) s ciljem odjeljivanja otopljenog/solubiliziranog od neotopljenog deksametazona. Bistre otopine (filtrati) korišteni su za spektrofotometrijsko određivanje sadržaja otopljenog/solubiliziranog deksametazona i određivanje veličine i raspodjele veličina micela pri c > cmc metodom fotonske korelacijske spektroskopije.

3.2.5. ODREĐIVANJE SADRŽAJA OTOPLJENOG/SOLUBILIZIRANOG DEKSAMETAZONA

Sadržaj otopljenog/solubiliziranog deksametazona u filtratima određen je spektrofotometrijskom metodom pri λ = 241 nm. Za izradu baždarnog dijagrama iz ishodne metanolne otopine deksametazona (1 mg ml^{-1}) pripravljen je koncentracijski niz otopina deksametazona u Krebs-Ringerovom puferu (pH = 7,4). Značajke baždarnog pravca su sljedeće: y = 0,0419x + 0,008; r^2 = 0,9991. Sadržaj otopljenog/solubiliziranog deksametazona određen je u filtratima razrijeđenim Krebs-Ringerovom puferom (1:5-1:10), a za svaki mjereni uzorak izrađena je slijepa proba odgovarajuće koncentracije solubilizatora, a s ciljem poništavanja moguće apsorbancije solubilizatora. Rezultati određivanja sadržaja otopljenog/solubiliziranog deksametazona prikazani su kao ovisnost koncentracije otopljenog deksametazona u disperzijskom sredstvu o rastućoj koncentraciji solubilizatora u sustavima. Sva su mjerenja ponavljana tri puta sa svježe pripravljenim mjernim sustavima.

3.2.6. ODREĐIVANJE VELIČINE I DISPERZNOSTI MICELA

Veličina i disperznost micela u filtratima određena je fotonskom korelacijskom spektroskopijom (PCS) (Zetasizer 3000HS, Malvern Instruments). PCS metodom određuje se veličina dispergiranih čestica u području od 2 nm do 3 μm. Mjerenje se provodi obasjavanjem uzorka monokromatskom koherentnom laserskom zrakom. Fotomultiplikatorom se bilježi intenzitet svjetlosti raspršene na česticama pod određenim kutom i prevodi u električni signal koji se prenosi do digitalnog korelatora, što generira autokorelacijske funkcije. Veličina čestica izračunava se iz korelacijskih funkcija uporabom različitih algoritama PCS komercijalnih programa. Dispergirane se čestice stalno gibaju (Brownovo gibanje) što rezultira stalnim fluktuiranjem promatranog intenziteta raspršene svjetlosti tijekom vremena. Brzina Brownovog gibanja definirana je translacijskim difuzijskim koeficijentom (D). Veličina čestica dobivena PCS mjerenjima izračunata je uporabom Stokes-Einsteinove jednadžbe:

$$d_h = \frac{kT}{3\pi\eta D},$$

gdje je d_h hidrodinamički promjer, D translacijski difuzijski koeficijent, k Boltzmannova konstanta, T termodinamička temperatura, η viskoznost.

Promjer čestice dobiven PCS metodom vrijednost je koja govori o difuziji čestice unutar otopine i naziva se hidrodinamičkim promjerom (d_h). To je promjer okrugle čestice (sfere) koja bi imala jednaki translacijski difuzijski koeficijent kao čestica koja se promatra.

U mjernim sustavima uporabljen je monokromatski koherentni 10 mW He-Ne laser (λ = 633 nm), a kut detekcije raspršene svjetlosti bio je 90°. Mjerenja filtrata provođena su pri 34°C u području koncentracija solubilizatora većem od njegovih cmc (c > cmc) pri odgovarajućoj temperaturi. Za obradu podataka uporabljen je *CONTIN* algoritam. Rezultati mjerenja prikazani su kao srednje vrijednost tri mjerenja $d_h \pm$ SD.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. VELIČINA I RASPODJELA VELIČINA MICELA PLURONICA® F68 S ILI BEZ UKLOPLJENOG DEKSAMETAZONA

Pluronic® F68 (poloksamer 188) pripada skupini visokomolekulskih neionskih površinski aktivnih tvari, a primjenjuje se kao solubilizator pri izradi otopina ili sredstvo za močenje pri izradi suspenzija. Pluronic® F68 je amfifilna molekula koja u otopini pri određenim uvjetima koncentracije (c > cmc) stvara sferične micele. Na stvaranje micela Pluronica® F68 utječu različiti dodaci u sustavu (primjerice, različite soli, suotapala, djelatne tvari i sl.). Upravo je iz toga razloga potrebno ispitati stvaranje micela Pluronica® F68 u složenom sustavu elektrolita Krebs-Ringerovog pufera, odnosno pri temperaturi 34°C. Bez obzira na znatno niže vrijednosti cmc Pluronica® F68 objavljene u literaturi, pri ispitivanim eksperimentalnim uvjetima ovoga rada sferične micelarne agregate Pluronica® F68 bilo je moguće odrediti metodom fotonske korelacijske spektroskopije tek pri koncentraciji 0,2 % (m/V). Rezultati određivanja veličine i raspodjele veličine micela Pluronica® F68 prikazani su tablicom 1. Veličina micela Pluronica® F68, odnosno njihov hidrodinamički promjer (d_h) u rasponu koncentracija 0,2 - 2,0 % (m/V) je u području 9,6 - 12,8 nm. Istodobno, vrijednosti indeksa polidisperznosti (0,154 - 0,216) svjedoče o relativno uskoj raspodjeli veličina micela, a što upućuje na relativno stabilne micelarne agregate s obzirom na raspodjelu veličina micela. Moguće je zaključiti da Pluronic® F68 pri zadanim eksperimentalnim uvjetima stvara procesom samoorganiziranja relativno stabilne micelarne agregate unutar nanometarskog raspona veličina, a pri koncentraciji većoj od 0,2 % (m/V).

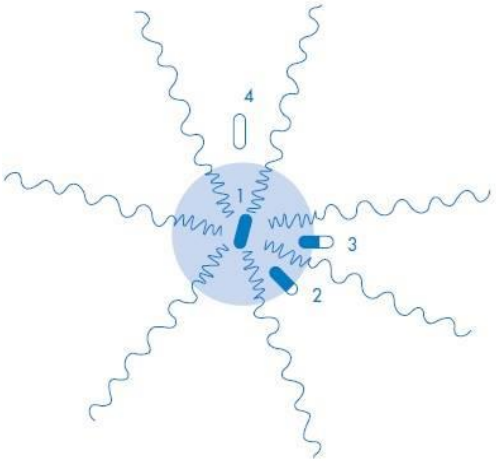
Tablica 1. Veličina i raspodjela veličina micela Pluronica® F68 u Krebs-Ringerovom puferu pri 34 °C.

F68 (%, *m/V*)	d_h (nm) ± SD	PDI ± SD
0,2	9,9 ± 2,4	0,178 ± 0,033
0,5	12,3 ± 2,9	0,216 ± 0,033
1,0	9,6 ± 0,7	0,154 ± 0,011
2,0	12,8 ± 0,5	0,200 ±0,006

Tablica 2. Veličina i raspodjela veličina micela Pluronica® F68 s uklopljenim deksametazonom u Krebs-Ringerovom puferu pri 34 °C

F68 (%, *m/V*)	d_h (nm) ± SD	PDI ± SD
0,5	24,3 ± 3,1	0,342 ± 0,039
1,0	47,7 ± 10,7	0,511 ± 0,025
2,0	51,8 ± 11,3	0,485 ± 0,105

Deksametazon je u micele Pluronica® F68 fizički uklopljen metodom izravnog otapanja. Deksametazon je relativno hidrofobna djelatna tvar čija topljivost nije ovisna o pH vrijednosti medija. Na osnovu takvih fizičko-kemijskih značajki deksametazona moguće je očekivati njegovo uklapanje u hidrofobnu jezgru micela Pluronica® F68. Rezultati određivanja veličine i raspodjele veličine micela Pluronica® F68 s uklopljenim deksametazonom prikazani su tablicom 2. Micele Pluronica® F68 s uklopljenim deksametazonom su dva do pet puta veće u odnosu na veličinu praznih micela Pluronica® F68.



Slika 1. Shematski prikaz smještaja lijeka u pojedinim odjeljcima micele. Hidrofobna molekula uklopljena je u hidrofobnu jezgu (položaj 1), molekule s hidrofobnim i hidrofilnim regijama smještene su tako da je hidrofoban dio uklopljen u jezgru, a hidrofilan dio u hidrofilni omotač (položaj 2 i 3), hidrofilna molekula uklopljena je u hidrofilni omotač (položaj 4) (Torchilin i sur., 2001).

Općenito, molekule djelatne tvari uklopljene u micele mogu povećati osnovnu veličinu micela na dva načina. Osnovna veličina micela može biti povećana jer su u njezinoj jezgi uklopljene molekule djelatne tvari i/ili jer je broj molekula površinski aktivnih tvari po miceli (agregacijski broj) povećan kako bi se pokrila nabujala jezgra (Attwood i Florence, 2006). Povećanje veličina micela Pluronica® F68 moguće je posljedica ekstenzivnog uklapanja

deksametazona u hidrofobnu jezgru micela, a što je u skladu s dosadašnjim literaturnim opažanjima (slika 1). Molekule deksametazona povećavaju jezgru micela za svoju veličinu i što je potreban veći broj molekula Pluronica® F68 kako bi jezgra micele u potpunosti bila prekrivena hidrofilnim omotačem micela

4.2. VELIČINA I RASPODJELA VELIČINA MICELA CREMOPHORA® EL S ILI BEZ UKLOPLJENOG DEKSAMETAZONA

Cremophor® EL je neionska površinski aktivna tvar koja se često koristi kao solubilizator pri izradi otopina; primjerice pri izradi parenteralne otopine paklitaksela - hidrofobne antitumorske djelatne tvari (Taxol®). Jednako kao i Pluronic® F68, Cremophor® EL je amfifilna molekula koja pri određenim uvjetima u otopini procesom samoorganiziranja stvara micele. Rezultati ispitivanja veličine i raspodjele veličina micela Cremophora® EL u složenom sustavu elektrolita Krebs-Ringerovog pufera i pri temperaturi 34°C prikazani su tablicom 3.

Tablica 3. Veličina i raspodjela veličina micela Cremophora® EL u Krebs-Ringerovom puferu pri 34 °C.

Cremophor® EL (%, *m/V*)	d_h (nm) ± SD	PDI ± SD
1,0	15,6 ± 1,0	0,232 ± 0,13
2,5	13,3 ± 0,1	0,056 ± 0,02
5,0	13,5 ± 0,4	0,168 ± 0,035

Veličinu micela Cremophora® EL, odnosno njihov hidrodinamički promjer (d_h) bilo je moguće odrediti metodom fotonske korelacijske spektroskopije u rasponu koncentracija 1,0 - 5,0 % (*m/V*). Micele Cremophora® EL su u rasponu veličina 13,3 - 15,6 nm (tablica 3.) i nešto su veće od micela Pluronica® F68 (tablica 1.). Vrijednosti indeksa polidisperznosti micela Cremophora® EL (0,056 - 0,232; tablica 3.) svjedoče o relativno uskoj raspodjeli veličina micela, odnosno o relativno stabilnim micelarnim agregatima pri zadanim eksperimentalnim uvjetima medija i temperature.

Tablica 4. Veličina i raspodjela veličina micela Cremophora® EL s uklopljenim deksametazonom u Krebs-Ringerovom puferu pri 34°C.

Cremophor® EL (%, *m/V*)	d_h (nm) ± SD	PDI ± SD
1,0	14,9 ± 0,3	0,140 ± 0,038
2,5	13,7 ± 0,1	0,062 ± 0,022
5,0	13,3 ± 0,0	0,051 ± 0,010

Tablicom 4. prikazani su rezultati određivanja veličine micela Cremophora® EL s uklopljenim deksametazonom. Veličine micela su u rasponu 13,3 - 14,9 nm i relativno su slične vrijednostima veličine praznih micela Cremophora® EL (tablica 3). Takve rezultate je moguće objasniti relativno velikim volumenom hidrofobne jezgre micela Cremophora® EL koji je raspoloživ za uklapanje hidrofobnog deksametazona. Za razliku od micela Cremophora® EL, veličina micela Pluronica® F68 s uklopljenim deksametazonom je znatno veća u odnosu na prazne micele Pluronica® F68, a zbog relativno malog volumena hidrofobne jezgre koja se pri uklapanju deksametazona ekstenzivno povećava.

Vrijednosti indeksa polidisperznosti micela Cremophora® EL s uklopljenim deksametazonom su u rasponu 0,051 - 0,140 (tablica 4.) i manje su u odnosu na raspon vrijednosti indeksa polidisperznosti micela Cremophora® EL bez deksametazona (tablica 3). Na osnovu opisanog opažanja moguće je zaključiti da uklapanje deksametazona u micele Cremophora® EL povoljno utječe na stabilnost micela Cremophora® EL.

4.3. UTJECAJ PLURONICA® F68 NA TOPLJIVOST DEKSAMETAZONA

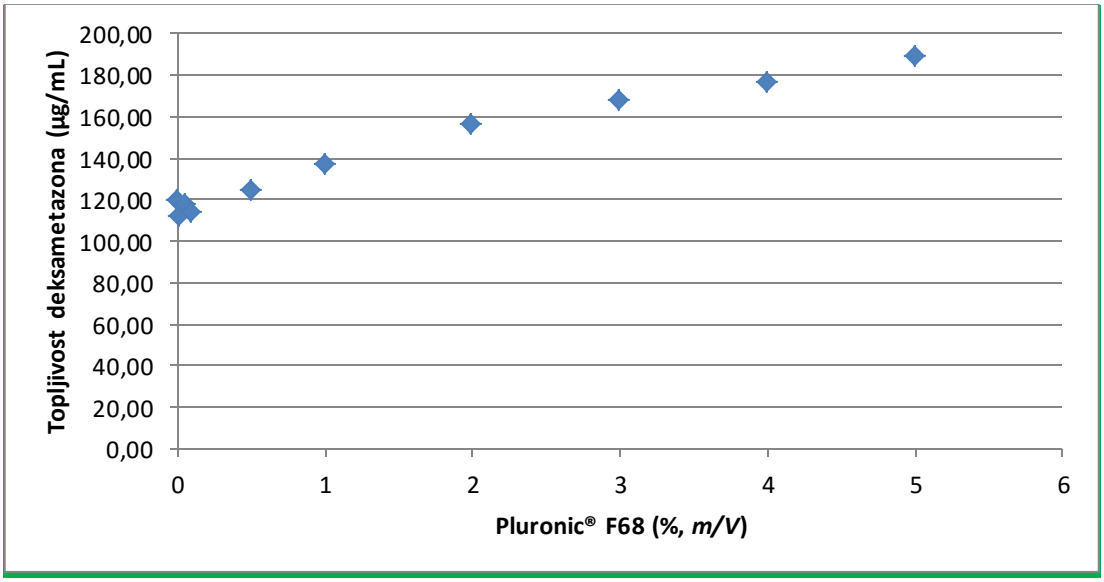
Deksametazon je teško topljiva djelatna tvar, a jedan od načina poboljšanja njegove topljivosti je uklapanje u micele procesom micelarne solubilizacije. Pri koncentracijama Pluronica® F68 manjim od cmc pri izabranim uvjetima sastava medija i temperature u sustavu su prisutni unimeri Pluronica® F68 za koje se ne očekuje utjecaj na, odnosno povećanje topljivosti deksametazona. Kako se topljivost deksametazona povećava njegovim uklapanjem u hidrofobnu jezgru micela, znate promjene topljivosti deksametazona je moguće očekivati u rasponu koncentracija Pluronica® F68 u kojem su u sustavu prisutne micele.

Tablicom 5. su prikazani rezultati ispitivanja topljivosti deksametazona u širokom rasponu koncentracija Pluronica® F68. U rasponu koncentracija Pluronica® F68 0,01 - 0,1 % (*m/V*) ne povećava se topljivost deksametazona i moguće je zaključiti da u tome rasponu koncentracija

Pluronica® F68 nisu prisutne micele u sustavu pri izabranim uvjetima sastava medija (složena otopina soli i djelatne tavri) i temperature (34°C). Povećanje topljivosti deksametazona vidljivo je pri koncentraciji Pluronica® F68 0,1 % (*m*/*V*) i iznosi 4,49 %. Daljnjim porastom koncentracije Pluronica® F68 povećava se i topljivost deksametazona sve do 58,76 % za koncentraciju Pluronica® F68 5 % (*m*/*V*).

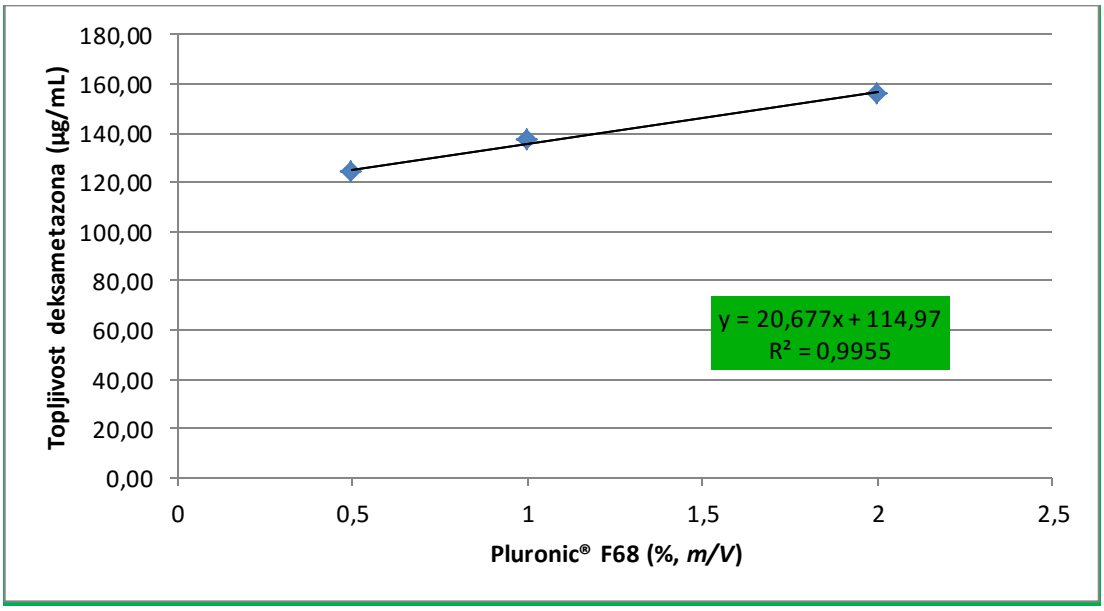
Tablica 5. Utjecaj Pluronica® F68 na topljivost deksametazona.

Pluronic® F68 (%, *m*/*V*)	Topljivost deksametazona (µg/mL)	Povećanje topljivosti (%)
0	119,15	
0,01	111,93	-6,05844376
0,05	117,72	-1,19945634
0,1	113,94	-4,37648658
0,5	124,50	4,492014951
1	136,85	14,85558953
2	155,92	30,85966701
3	167,68	40,73054706
4	176,02	47,73020727
5	189,16	58,75637105

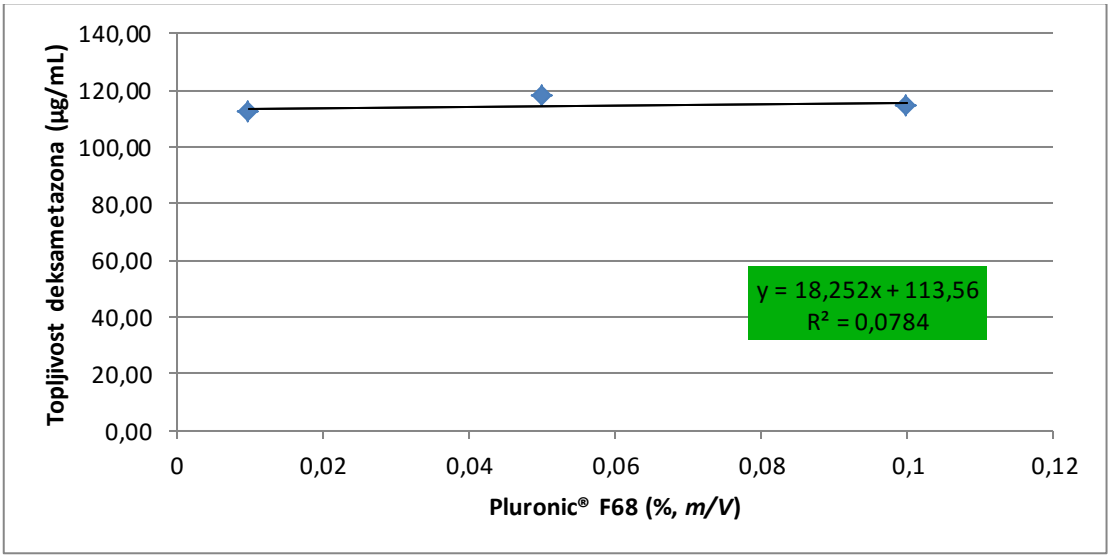


Slika 2.Promjene topljivosti deksametazona ovisno o povećanju koncentracije Pluronica® F68 u Krebs-Ringerovom puferu pri 34 °C.

Promjene topljivosti deksametazona ovisno o povećanju koncentracije Pluronica® F68 prikazane su slikom 2., a iz čega se opaža kako topljivost deksametazona linearno raste do koncentracije Pluronica® F68 od 2% (*m*/*V*), a nakon toga postiže plato, tj. horizontalni dio krivulje ovisnosti topljivosti deksametazona o koncentraciji Pluronica® F68.



Slika 3. Pravac dobiven linearnom regresijskom analizom uzlaznog dijela krivulje ovisnosti topljivosti deksametazona o povećanju koncentracije Pluronica® F68 u Krebs-Ringerovom puferu pri 34°C.



Slika 4. Pravac dobiven lineranom regresijskom analizom horizontalnog dijela krivulje ovisnosti topljivosti deksametazona o povećanju koncetracije Pluronica® F68 u Krebs-Ringerovom puferu pri 34 °C.

Slike 3. i 4. prikazuju pravce dobivene linearnom regresijskom analizom uzlaznog/horizontalnog dijela krivulje ovisnosti topljivosti deksametazona o povećanju koncentracije Pluronica® F68. Jednadžbe pravaca su y = 20,677 x + 114,97 (slika 3.) za uzlazni dio krivulje te y =18,252 x + 113,56 (slika 4.) za horizontalni dio krivulje. Korištenjem matematičkog izraza rješavanja jednadžbe s dvije nepoznanice dobivena je vrijednost x = 0,581443 što predstavlja vrijednost cmc (%) izračunatu iz ovisnosti topljivosti deksametazona o koncentraciji Pluronica® F68 u sustavu. Literaturna je vrijednost cmc (%) Pluronica® F68 0,1% (Jiao i sur., 2008.). Usporedbom literaturne cmc vrijednosti Pluronica® F68 s vrijednošću cmc određene ovim radom uočljivo je da je cmc vrijednost određena ovim radom 5,8 puta veća od literaturne vrijednosti. Opažene razlike moguće je objasniti na osnovu različitih metoda kojima su cmc vrijednosti određene, ali i razlikama u sastavu medija i temperaturi određivanja cmc vrijednosti Pluronica® F68. Naime, cmc vrijednost Pluronica® F68 koja je određena ovim radom je vrijednost koja je određena u složenom sustavu (složena otopina soli i djelatne tvari, suspenzija djelatne tvari) u kojem svaka sastavnica sustava može pozitivno ili negativno utjecati na cmc vrijednost. Tako određena cmc vrijednost se nužno razlikuje od cmc vrijednosti površinski aktivne tvari određene u binarnom sustavu voda/površinski aktivna tvar.

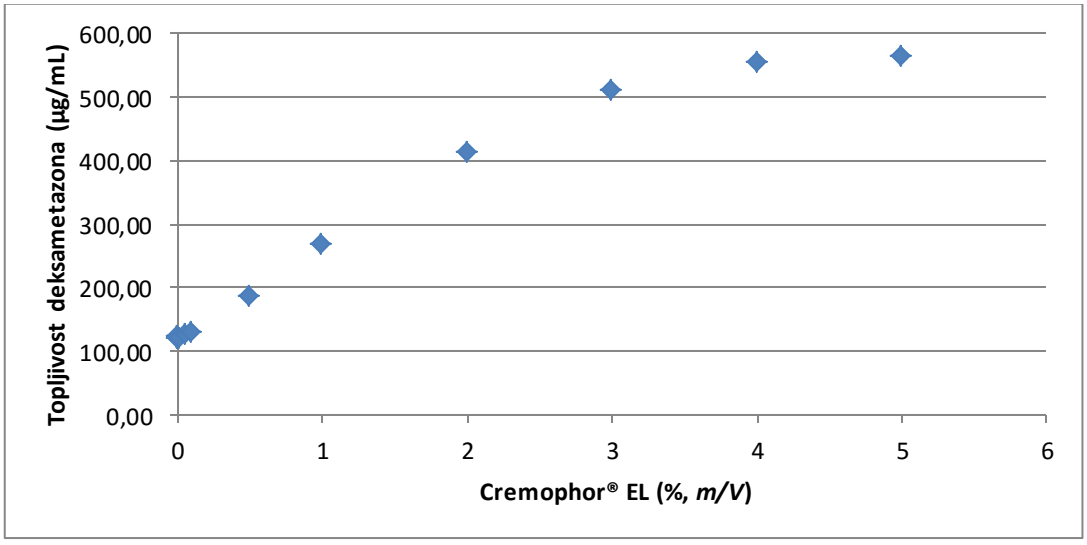
4.4. UTJECAJ CREMOPHORA® EL NA TOPLJIVOST DEKSAMETAZONA

Pri koncentracijama Cremophora® EL manjim od cmc pri izabranim uvjetima sastava medija i temperature u sustavu su prisutni unimeri Cremophora® EL za koje se ne očekuje utjecaj na, odnosno povećanje topljivosti deksametazona. Kako se topljivost deksametazona povećava njegovim uklapanjem u hidrofobnu jezgru micela Cremophora® EL, znate promjene topljivosti deksametazona je moguće očekivati u rasponu koncentracija Cremophora® EL u kojem su u sustavu prisutne micele Cremophora® EL.

Tablica 6. Utjecaj Cremophora® EL na topljivost deksametazona.

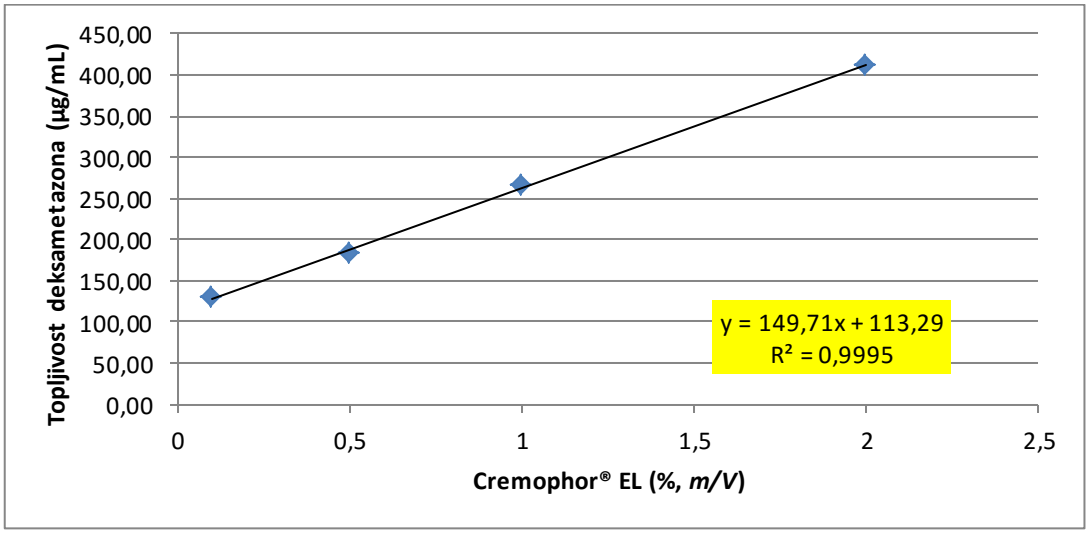
Cremophor® EL (%, *m/V*)	Topljivost deksametazona (µg/mL)	Povećanje topljivosti (%)
0	120,49	0,00
0,005	124,10	3,00
0,01	120,84	0,29
0,05	125,29	3,98
0,1	129,37	7,37
0,5	184,84	53,40
1	265,84	120,63
2	412,06	241,97
3	510,80	323,92
4	555,23	360,79
5	562,55	366,87

Rezultati određivanja topljivosti deksametazona u širokom rasponu koncentracija Cremophora® EL prikazani su Tablicom 6. U rasponu koncentracija Cremophora® EL 0,005 - 0,1 % (*m*/*V*) ne povećava se topljivost deksametazona i moguće je zaključiti da u tome rasponu koncentracija Cremophora® EL nisu prisutne micele u sustavu pri izabranim uvjetima sastava medija (složena otopina soli i djelatne tavri) i temperature (34°C). Povećanje topljivosti deksametazona vidljivo je pri koncentraciji Cremophora® EL 0,5 % (*m*/*V*) i iznosi 53,40 %. Daljnjim porastom koncentracije Cremophora® EL povećava se i topljivost deksametazona sve do 366,87 % za koncentraciju Cremophora® EL 5 % (*m*/*V*).

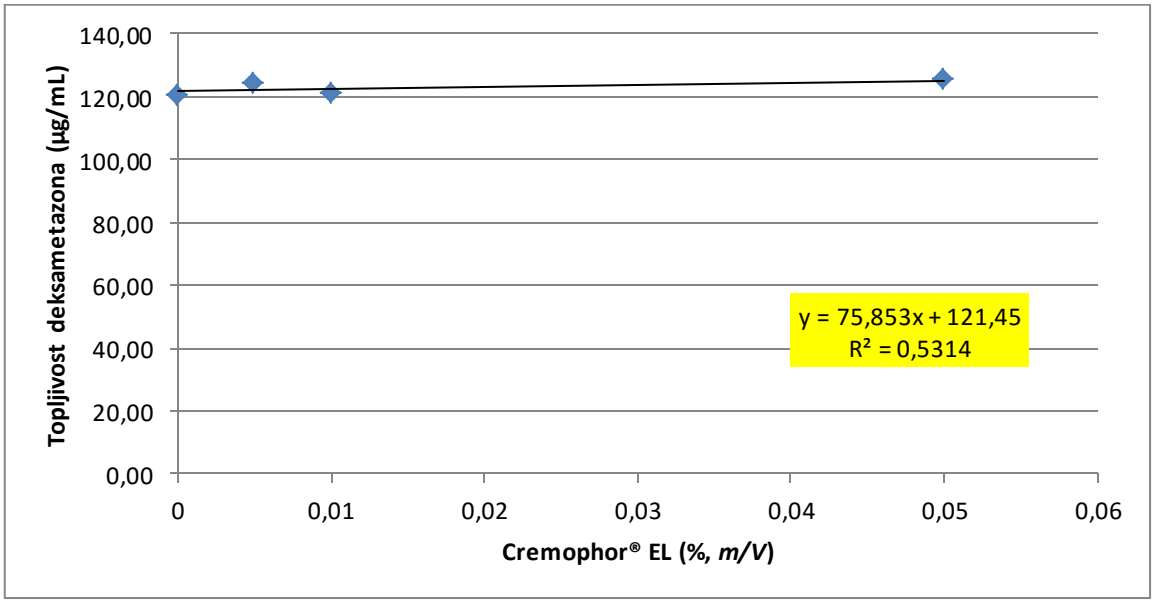


Slika 5. Promjene topljivosti deksametazona ovisno o povećanju koncentracije Cremophora® EL u Krebs-Ringerovom puferu pri 34 °C

Promjene topljivosti deksametazona ovisno o povećanju koncentracije Cremophora® EL (slika 5.) pokazuju kako topljivost deksametazona linearno raste do koncentracije Cremophora® EL 2 % (*m*/*V*), a nakon toga se postiže plato ovisnosti topljivosti deksametazona o koncentraciji Cremophora® EL



Slika 6. Pravac dobiven linearnom regresijskom analizom uzlaznog dijela krivulje ovisnosti topljivosti deksametazona o povećanju koncentracije Cremophora® EL u Krebs-Ringerovom puferu pri 34 °C.



Slika 7. Pravac dobiven lineranom regresijskom analizom horizontalnog dijela krivulje ovisnosti topljivosti deksametazona o povećanju koncentracije Cremophora® EL u Krebs-Ringerovom puferu pri 34°C.

Slike 6. i 7. prikazuju pravce dobivene linearnom regresijskom analizom uzlaznog/horizontalnog dijela krivulje ovisnosti topljivosti deksametazona o povećanju koncentracije Cremophora® EL. Jednadžbe pravaca su y = 149,71 x + 113,29 (slika 6.) za uzlazni dio krivulje te y = 75,853 x + 121,45 (slika 7.) za horizontalni dio krivulje. Upotrebom matematičkog izraza rješavanja jednadžbe s dvije nepoznanice dobivena je vrijednost x = 0,11048 što predstavlja cmc (%) dobivenu iz topljivosti deksametazona. BASF specifikacija Cremophora® EL navodi cmc (%) 0,02 (u vodi pri 20 ºC). Usporedbom literaturne i cmc vrijednosti određene ovim redom uočljivo je da je cmc vrijednost određena ovim radom 5,525 puta veća od literaturnog podatka. Rasprava vezana za razlike u cmc vrijednostima Pluronica® F68 koja je sastavni dio poglavlja 4.3. na jednak se način odnosi i moguće ju je primijeniti vezano za razlike u cmc vrijednostima Cremophora® EL.

Promatranjem rezultata prikazanih Slikom 2. i Slikom 5. uočljivo je da krivulje nakon linearnog uzlaznog dijela postužu plato. Točka infleksije prijelaza iz linearnog u horizontalni dio krivulje i za Pluronic® F68 i za Cremophor® EL je koncentracija 2 % (*m*/*V*). Postojanje platoa usko je povezano sa solubilizacijskim kapacitetom površinski aktivne tvari.

U slučaju kada je djelatna tvar smještena u jezgri micele, kapacitet solubilizacije se povećava s porastom duljine alkilnog lanca površinski aktivne tvari. Postoji granica do koje se može povećati kapacitet nakon te granice dolazi do rasta micela, ali nema povećanja topljivosti. Dužina polioksietilenskog lanca neionske površinski aktivne tvari na svoju sposobnost otapanja ovisi o smještaju uklopljene djelatne tvari unutar micele i komplicira odgovarajuće promjene u veličini micele. Agregacijski se broj smanjuje s povećanjem duljine hidrofilnog dijela lanca tako da se i broj molekula djelatne tvari otopljenih po miceli također smanjuje; ukupan iznos otopljen po molu površinski aktivne tvari (broj molekula djelatne tvari po miceli, broj micela po molu) zapravo se povećava zbog većeg broja micela (Attwood i Florence, 2006).

Povećanje topljivosti u sustavu s Pluronicom® F68 proteže se od 4,49% za koncentraciju Pluronica® F68 0,5% do 58,76% za koncentraciju 5%. Povećanje topljivosti upotrebom Cremophora EL proteže se od 3% za koncentraciju Cremophora® EL 0,01% do 366,87% za koncentraciju 5%. Kopolimerne micele poput Pluronica® F68 sustavi su s većim solubilizacijskim kapacitetom zbog većeg broja micela koje nastaju pri samoorganiziranju (niža cmc vrijednost) i/ili veće hidrofobne micelarne jezgre i bilo bi logično da je topljivost deksametazona veća u sustavu gdje je upotrebljen Pluronic® F68 kao solubilizator, no eksperimentalni rezultati pokazuju drugačiju situaciju. Uočljivo je šest puta veće povećanje topljivosti deksametazona kada se kao solubilizator upotrebljava Cremophor® EL. Odlučujući

čimbenik u solubilizaciji je kompatibilnost teško topljive djelatne tvari i hidrofobne micelarne jezgre, iako međudjelovanje djelatne tvari s hidrofilnim micelarnim omotačem i međudjelovanje s otapalom u manjoj mjeri mogu utjecati na proces solubilizacije. Veće povećanje topljivosti kada se kao solubilizator upotrebljava Cremophor® EL moguće je povezati upravo s tezom da je deksametazon kompatibilniji s hidrofobnom jezgrom micela načinjenin od Cremophora® EL, nego s jezgrom micela načinjenih od Pluronica® F68.

Povezivanje veličine i raspodjele veličina micela s utjecajem solubilizatora na topljivost deksametazona može ukazati na još jedan razlog šest puta veće topljivosti u sustavu u kojem je upotrebljen Cremophor® EL kao solubilizator. Veličina micela Cremophora® EL bez i s uklopljenim deksametazonom ne razlikuje se skoro uopće što navodi na zaključak da s povećanjem koncentracije Cremophora® EL raste broj samih micela, a ne i njihova veličina. Veći broj micela može uklopiti veću količinu djelatne tvari što naposlijetku dovodi do većeg povećanja topljivosti djelatne tvari. Iz rezultata je vidljivo kako postoji razlika u veličini micela izgrađenih od Pluronica® F68 s ili bez uklopljenog deksametazona. Micele s uklopljenim deksametazonom su veće od onih bez djelatne tvari. Povećanjem koncentracije Pluronica® F68 raste veličina micela, ali ne i njihov broj što rezultira manjom količinom uklopljenog lijeka sveukupno.

5. ZAKLJUČAK

Micelarna solubilizacija učinkovit je način poboljšanja topljivosti teško topljivih djelatnih tvari poput deksametazona. Deksametazon je glukokortikoid i zbog svoje steroidne strukture teško je topljiv u vodi što predstavlja problem pri izradi vodenih otopina s deksametazonom.

Rezultati istraživaja utjecaja neionskih solubilizatora na topljivost deksametazona u Krebs-Ringerovom puferu pri 34 ºC pokazali su da:

- veličina micela Pluronica® F68, odnosno njihov hidrodinamički promjer (d_h) u rasponu koncentracija 0,2 - 2,0 % (*m*/*V*) je u području 9,6 - 12,8 nm.
- micele Pluronica® F68 s uklopljenim deksametazonom su dva do pet puta veće u odnosu na veličinu praznih micela Pluronica® F68.
- micele Cremophora® EL su u rasponu veličina 13,3 - 15,6 nm i nešto su veće od micela Pluronica® F68.
- veličine micela Cremophora® EL s uklopljenim deksametazonom su u rasponu 13,3 - 14,9 nm i relativno su slične vrijednostima veličine praznih micela Cremophora® EL.
- Topljivost deksametazona ne povećava se u rasponu koncentracija Pluronica® F68 0,01 - 0,1 % (*m*/*V*). Povećanje topljivosti deksametazona vidljivo je pri koncentraciji Pluronica® F68 0,1 % (*m*/*V*) i iznosi 4,49 %. Daljnjim porastom koncentracije Pluronica® F68 povećava se i topljivost deksametazona sve do 58,76 % za koncentraciju Pluronica® F68 5 % (*m*/*V*).
- Topljivost deksametazona nepovećava se u rasponu koncentracija Cremophora® EL 0,005 - 0,1 % (*m*/*V*). Povećanje topljivosti deksametazona vidljivo je pri koncentraciji Cremophora® EL 0,5 % (*m*/*V*) i iznosi 53,40 %. Daljnjim porastom koncentracije Cremophora® EL povećava se i topljivost deksametazona sve do 366,87 % za koncentraciju Cremophora® EL 5 % (*m*/*V*).
- Vrijednost cmc (%) izračunata iz ovisnosti topljivosti deksametazona o koncentraciji Pluronica® F68 u sustavu iznosi 0,581443 što je 5,8 puta veća vrijednost od literaturne vrijednosti cmc koja je 0,1%.
- Vrijednost cmc(%9 izračunata iz ovisnosti topljivosti deksametazona o koncentraciji Cremophora® EL u sustavu iznosi 0,11048 što je 5,525 puta veće od literaturnog podatka koji navodi da je cmc 0,02 % (*m*/*V*).

Eksperimentalni rezultati pokazuju šest puta veće povećanje topljivosti kada se kao solubilizator upotrebljava Cremophor® EL u odnosu na sustav gdje je upotrebljen Pluronic® F68. Nema razlike u veličini micela Cremophora® EL bez i s uklopljenog deksametazona, a jasno je vidljivo kako postoji razlika u veličini micela građenih od Pluronica® F68 s ili bez uklopljenog deksametazona.

6. LITERATURA

Allen C, Yu Y, Eisenberg A, Maysinger D. Cellular internalization of PCL(20)-b-PEO(44) block copolymer micelles. Biochim Biophys Acta, 1999, 1421, 32-38.

Attwood D, Florence AT. Physicochemical Priciples of Pharmacy. London, Chicago, Pharmaceutical press, 2006, 201-222.

Booth JJ, Omar M, Abbott S, Shimizu S. Hydrotrope accumulation around the drug: the driving force for solubilization and minimum hydrotrope concentration for nicotinamide and urea. Phys Chem Chem Phys, 2015, 17, 8028-8037.

Butler JM, Dressman JB. The developability classification system: application of biopharmaceutics concepts to formulation development. J Pharm Sci, 2010, 99, 4940-4954.

Chen H, Khemtong C, Yang X, Chang X, Gao J. Nanonization strategies for poorly water-soluble drugs. Drug Discov Today,2011, 16, 354-360.

Cherniakov I, Domb AJ, Hoffman A. Self-nano-emulsifying drug delivery systems: an update of the biopharmaceutical aspects. Expert Opin Drug Deliv,2015, 1-13.

El-Houssieny BM, El-Dein EZ, El-Messiry HM. Enhancement of solubility of dexibuprofen applying mixed hydrotropic solubilization technique. Drug Discov Ther, 2014, 8, 178-184.

Gao L, Zhang DR, Chen MH. Drug nanocrystals for the formulation of poorly soluble drugs and its application as a potential drug delivery system. J Nanopart Res, 2008,10, 845-862.

Jalšenjak I, Jalšenjak V, Filipović-Grčić J. Farmaceutika. Zagreb, Školska knjiga, 1998.

Jones M, Leroux J. Polymeric micelles - a new generation of colloidal drug carriers. Eur J Pharm Biopharm, 1999, 48, 101-111.

Junghanns JUAH, Muller RH. Nanocrystal technology, drug delivery and clinical applications. Int J Nanomed, 2008, 3, 295-309.

Jug M, Bećirević-Laćan M. Ciklodekstrini – nosači lijekova Farm Glas, 2002, 58, 189-2014.

Kabanov AV, Alakhov VY. Pluronic block copolymers in drug delivery: from micellar nanocontainers to biological response modifiers. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst, 2002, 19, 1-72.

Kabanov AV, Batrakova EV, Alakhov VY. Pluronic block copolymers as novel polymer therapeutics for drug and gene delivery. J Control Release, 2002a, 82, 189-212.

Kabanov AV, Lemieux P, Vinogradov S, Alakhov V. Pluronic block copolymers: novel functional molecules for gene therapy. Adv Drug Deliv Rev, 2002b, 54, 223-233.

Kim JY, Kim S, Pinal R, Park K. Hydrotropic polymer micelles as versatile vehicles for delivery of poorly water-soluble drugs. J Control Release, 2011, 152, 13-20.

Lavasanifar A, Samuel J, Sattari S, Kwon GS. Block copolymer micelles for the encapsulation and delivery of amphotericin B. Pharm Res, 2002, 19, 418-422.

Li P, Zhao L, Yalkowsky SH. Combined effect of cosolvent and cyclodextrin on solubilization of nonpolar drugs. J Pharm Sci, 1999, 88, 1107-1111.

Lobenberg R, Amidon GL. Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards. Eur J Pharm Biopharm 50, 2000, 3-12.

Loch C, Zakelj S, Kristl A, Nagel S, Guthoff R, Weitschies W, Seidlitz A. Determination of permeability coefficients of ophthalmic drugs through different layers of porcine, rabbit and bovine eyes. Eur J Pharm Sci, 2012, 47, 131-138.

Lukyanov AN, Gao Z, Mazzola L, Torchilin VP. Polyethylene glycol-diacyllipid micelles demonstrate increased acculumation in subcutaneous tumors in mice. Pharm Res, 2002, 19, 1424-1429.

Maheshwari RK, Jagwani Y. Mixed hydrotropy: novel science of solubility enhancement. Indian J Pharm Sci, 2011, 73, 179-183.

Miyako Y, Khalef N, Matsuzaki K, Pinal R. Solubility enhancement of hydrophobic compounds by cosolvents: role of solute hydrophobicity on the solubilization effect. Int J Pharm, 2010, 393, 48-54.

Mu L, Elbayoumi TA, Torchilin VP. Mixed micelles made of poly(ethylene glycol)-phosphatidylethanolamine conjugate and d-alpha-tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate as pharmaceutical nanocarriers for camptothecin. Int J Pharm, 2005, 306, 142-149.

Muller RH, Gohla S, Keck CM. State of the art of nanocrystals--special features, production, nanotoxicology aspects and intracellular delivery. Eur J Pharm Biopharm, 2011, 78, 1-9.

Pepić I. Magistarski rad, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2004.

Sažetak opisa svojstava lijekova, 2013.,http://www.halmed.hr/upl/lijekovi/SPC/UP-I-530-09-13-02-255_.pdf, pristupljeno 30.08.2015.

Shegokar R, Muller RH. Nanocrystals: Industrially feasible multifunctional formulation technology for poorly soluble actives. Int J Pharm, 2010, 399, 129-139.

Singh B, Beg S, Khurana RK, Sandhu PS, Kaur R, Katare OP. Recent advances in self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS). Crit Rev Ther Drug Carrier Syst, 2014, 31, 121-185.

Sinha B, Muller RH, Moschwitzer JP. Bottom-up approaches for preparing drug nanocrystals: formulations and factors affecting particle size. Int J Pharm, 2013, 453, 126-141.

Torchilin VP. PEG-based micelles as carriers of contrast agents for different imaging modalities. Adv Drug Deliv Rev, 2002, 54, 235-252.

Wang J, Mongayt D, Torchilin VP. Polymeric micelles for delivery of poorly soluble drugs: preparation and anticancer activity in vitro of paclitaxel incorporated into mixed micelles based on poly(ethylene glycol)-lipid conjugate and positively charged lipids. J Drug Target, 2005, 13, 73-80.

7. SAŽETAK/SUMMARY

Bioraspoloživost djelatnih tvari uvelike ovisi o topljivosti same djelatne tvari stoga povećanje topljivosti pridonosi bioraspoloživosti djelatne tvari. Jedna od mogućnosti povećanja topljivosti je primjena neionskih površinski aktivnih tvari.

Ispitana je modelna teško topljiva tvar deksametazon u ternarnim sustavima deksametazona, neionskih solubilizatora Pluronica® F68 i Cremophora® EL, Krebs-Ringerovog pufera kao složene otopine elektrolita pri temperaturi od 34 ºC karakteristične za oko kao mjesto apsorpcije djelatne tvari.

Sadržaj otopljenog/solubiliziranog deksametazona u filtratima određen je spektrofotometrijskom metodom pri λ = 241 nm, a veličina i disperznost micela u filtratima određena je fotonskom korelacijskom spektroskopijom (PCS). Rezultati pokazuju da neionske površinski aktivne tvari Pluronic® F68 i Cremophor® EL povećavaju topljivost deksametazona. Cremophor® EL šest puta više povećava topljivost od Pluronica® F68.

Djelatne tvari steroidne strukture poput deksametazona teško su topljivi u vodi te uklapanje u micele građene od neionskih površinski aktivnih tvari u velikoj mjeri poboljšava njihovu topljivost. Nastale otopine su prozirne i stabilne na sterilizaciju te udovoljavaju propisima za očnu primjenu. Ovo istraživanje omogućava jasnu viziju solubilizacijskog potencijala neionskih površinski aktivnih tvari.

The bioavailability of active substances greatly depends on the solubility of the active substance. Therefore, increase of the solubility contributes bioavailability of the active substance. One of the possibilities to increase the solubility is use of nonionic surfactants.

For model, sparingly soluble substance dexamethasone is tested, in ternary systems of dexamethasone, nonionic solubilizers of Pluronic® F68 and Cremophor® EL, Krebs-Ringer buffer as compound solution of electrolits at 34 ºC, which is typical for the eye as a place of the absorption of active substance.

The content of the solubilizeddexamethasone in the filtrates is defined by spectrophotometric method at λ = 241 nm, and the size and dispersion of the micelles in the filtrates is defined by photon correlation spectroscopy (PCS). The results show that the nonionic surfactants Pluronic® F68 and Cremophor® EL increase the solubility of dexamethasone. Cremophor® EL increases the solubility six times more than Pluronic® F68.

Active substances with steroid structure such as dexamethasone are hardly soluble in water, and fitting of the micella built of nonionic surfactants largely improves their solubility. The resulting solutions are clear and stable to sterilization, and they satisfy the regulations for eye application. This research enables the clear vision of solubilzation potential of nonionic surfactants.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Zavod za farmaceutsku tehnologiju
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

MOGUĆNOST POVEĆANJA TOPLJIVOSTI DEKSAMETAZONA PRIMJENOM NEIONSKIH POVRŠINSKI AKTIVNIH TVARI

Ana Rogar

SAŽETAK

Bioraspoloživost djelatnih tvari uvelike ovisi o topljivosti same djelatne tvari stoga povećanje topljivosti pridonosi bioraspoloživosti djelatne tvari. Jedna od mogućnosti povećanja topljivosti je primjena neionskih površinski aktivnih tvari. Ispitana je modelna teško topljiva tvar deksametazon u ternarnim sustavima deksametazona, neionskih solubilizatora Pluronica® F68 i Cremophora® EL, Krebs-Ringerovog pufera kao složene otopine elektrolita pri temperaturi od 34 ºC karakteristične za oko kao mjesto apsorpcije djelatne tvari.Sadržaj otopljenog/solubiliziranog deksametazona u filtratima određen je spektrofotometrijskom metodom pri $\lambda = 241$ nm, a veličina i disperznost micela u filtratima određena je fotonskom korelacijskom spektroskopijom (PCS). Rezultati pokazuju da neionske površinski aktivne tvari Pluronic® F68 i Cremophor® EL povećavaju topljivost deksametazona. Cremophor® EL šest puta više povećava topljivost od Pluronica® F68. Djelatne tvari steroidne strukture poput deksametazona teško su topljivi u vodi te uklapanje u micele građene od neionskih površinski aktivnih tvari u velikoj mjeri poboljšava njihovu topljivost. Nastale otopine su prozirne i stabilne na sterilizaciju te udovoljavaju propisima za očnu primjenu. Ovo istraživanje omogućava jasnu viziju solubilizacijskog potencijala neionskih površinski aktivnih tvari.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 47 stranica, 7 grafičkih prikaza, 6 tablica i 32 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: topljivost, deksametazon, Pluronic ® F68,Cremophor ® EL, neionske površinski aktivne tvari

Mentor: **Dr. sc. Ivan Pepić**, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Ivan Pepić**, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Anita Hafner, *izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Lovorka Vujić, *viša asistentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: rujan 2015.

Basic documentation card

University of Zagrebu
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Department of Pharmaceutical Technology
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

THE POSSIBILITY OF INCREASING THE SOLUBILITY OF DEXAMETHASONE USING NON-IONIC SURFACTANTS

Ana Rogar

SUMMARY

The bioavailability of active substances greatly depends on the solubility of the active substance. Therefore, increase of the solubility contributes bioavailability of the active substance. One of the possibilities to increase the solubility is use of nonionic surfactants. For model, sparingly soluble substance dexamethasone is tested, in ternary systems of dexamethasone, nonionic solubilizers of Pluronic® F68 and Cremophor® EL, Krebs-Ringer buffer as compound solution of electrolits at 34 ºC, which is typical for the eye as a place of the absorption of active substance. The content of the solubilized dexamethasone in the filtrates is defined by spectrophotometric method at λ = 241 nm, and the size and dispersion of the micelles in the filtrates is defined by photon correlation spectroscopy (PCS). The results show that the nonionic surfactants Pluronic® F68 and Cremophor® EL increase the solubility of dexamethasone. Cremophor® EL increases the solubility six times more than Pluronic® F68. Active substances with steroid structure such as dexamethasone are hardly soluble in water, and fitting of the micella built of nonionic surfactants largely improves their solubility. The resulting solutions are clear and stable to sterilization, and they satisfy the regulations for eye application. This research enables the clear vision of solubilzation potential of nonionic surfactants.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 47 pages, 7 figures, 6 tables and 32 references. Original is in Croatian language.

Keywords: solubility, dexamethasone, Pluronic® F68,Cremophor® EL, nonionic surfactants

Mentor: **Ivan Pepić**, **Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Ivan Pepić**, **Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Anita Hafner, **Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Lovorka Vujić, **Ph.D.** *Senior Assistant* , University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: September 2015.