

Formulacija i karakterizacija samo-mikroemulgujućih nosača lekovitih supstanci na bazi biokompatibilnih nejonskih surfaktanata

Ljiljana M. Djekić, Marija M. Primorac

Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju, Beograd, Srbija

Izvod

Razvoj samo-mikroemulgujućih nosača je značajna savremena strategija za unapređenje peroralne primene teško rastvorljivih aktivnih supstanci. Cilj rada bio je formulacija i karakterizacija samo-mikroemulgujućih nosača na bazi smeše biokompatibilnih nejonskih surfaktanata (PEG-8 kaprilno/kaprinski gliceridi (Labrasol®) i PEG-40 hidrogenizovano ricinusovo ulje (Cremophor® RH40)) za peroralnu primenu ibuprofena i *in vitro* karakterizacija njihove fizičke stabilnosti i veličine kapi nakon dispergovanja u vodenim medijumima različite pH vrednosti i *in vitro* profila oslobađanja lekovite supstance iz nosača. Rezultati karakterizacije ukazali su na značaj vrste i koncentracije ulja i masenog odnosa upotrebljenih surfaktanata za sposobnost samo-mikroemulgovanja, kapacitet za solubilizaciju ibuprofena i njegovu brzinu oslobađanja iz nosača.

Ključne reči: samo-mikroemulgujući nosači lekovitih supstanci; mikroemulzije; Labrasol®; Cremophor® RH40; ibuprofen.

Dostupno na Internetu sa adrese časopisa: <http://www.ache.org.rs/HI/>

Samo-mikroemulgujući nosači lekovitih supstanci (eng. Self-microemulsifying drug delivery systems, SMEDDS) su izotropne smeše surfaktanata (HLB* > 12), ulja ($\leq 20\%$) i eventualno, hidrofilnih rastvarača. Aktivna supstanca je rastvorena u nosaču. Nakon peroralne primene SMEDDS, u kontaktu sa vodom u gastro-intestinalnom traktu (GIT), pri blagoj agitaciji pod uticajem motiliteta želuca i tankog creva, formira se nosač tipa ulje-u-vodi (u/v) mikroemulzija [1]. Mikroemulzije su optički izotropni, transparentni, termodinamički stabilni sistemi. Njihovo formiranje je brzo i odvija se gotovo spontano. Veličina kapi mikroemulzija se kreće u rasponu od 10–100 nm [2–4]. Kako je veličina kapi mikroemulzionog nosača vrlo mala, ukupna površina filma surfaktanta na granici između uljane i vodene faze je izuzetno velika, pa imaju visok kapacitet za solubilizaciju teško rastvorljivih aktivnih supstanci i potencijal za poboljšanje njene apsorpcije i ukupne biološke raspoloživosti. U ovom slučaju apsorpcija lekovite supstance se odigrava gotovo nezavisno od uticaja hrane i endogenih faktora (digestija lipida iz nosača i sekrecija žuči i pankreasnog soka), a kod izrazito liposolubilnih lekovitih supstanci moguća je apsorpcija limfnim putem i zaobilazanje metabolizma u jetri [5–7]. Veliki broj farmakološki aktivnih supstanci koje su već u upotrebi, kao i one čija se potencijalna primena u farmakoterapiji

istražuje, ima ograničenu rastvorljivost u vodi, odnosno, biološkim tečnostima. Njihova apsorpcija iz konvencionalnih farmaceutskih preparata je uglavnom nekompletna i varijabilna tj., apsorbuje se samo deo primenjene doze, što je nedovoljno za postizanje terapijskog efekta, a neresorbovani deo lekovite supstance izaziva neželjene efekte usled neodgovarajuće biodistribucije. Ta saznanja su podsticaj za razvoj SMEDDS i drugih strategija za povećanje rastvorljivosti i/ili brzine rastvaranja teško rastvorljivih lekovitih supstanci [8]. Formulacija SMEDDS je komplikovana jer samo smeše određenih farmaceutskih ekscipijenasa u uskom rasponu koncentracija mogu u kontaktu sa vodenim medijumom da obrazuju u/v mikroemulziju. Lekovita supstanca takođe može da utiče na proces mikroemulgovanja i veličinu kapi. Nakon mešanja SMEDDS sa vodenom fazom, hidrofilni sastojci, kao što su etanol i tečni polietilenglikoli, se u njoj rastvaraju, pa može doći do smanjenja njihove koncentracije u međupovršinskom filmu, destabilizacije formiranog mikroemulzionog nosača i precipitacije lekovite supstance. Rizik za precipitaciju se naročito povećava sa porastom koncentracije hidrofilnih korastvarača, pa se izbegava njihova upotreba, međutim, time se smanjuje disperzibilnost SMEDDS u vodenom medijumu [1]. Imperativ pri formulisanju SMEDDS je da oni formiraju u/v mikroemulzije i efikasno solubilizuju inkorporiranu terapijsku dozu lekovite supstance, u što širem rasponu koncentracija vodene faze i pH vrednosti. Još uvek nema generalnih smernica koje se odnose na formulisanje ovog tipa nosača, kao ni literaturnih podataka o kinetici oslobađanja lekovitih supstanci. Takođe, proces formiranja u/v mikroemulzionog nosača *in situ* nije detaljno razjašnjen i predstavlja predmet aktuelnih istraživanja.

NAUČNI RAD

UDK 619.03:66:544:54

Hem. Ind. 68 (5) 565–573 (2014)

doi: 10.2298/HEMIND130825083D

Preписка: Lj. Djekić, Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija.

E-pošta: ljiljanadjek@gmail.com

Rad primljen: 25. avgust, 2013

Rad prihvaćen: 8. novembar, 2013

*Hidrofilno-lipofilna ravnoteža (eng. *hydrophilic-lipophilic balance*, HLB).

Ibuprofen ((*RS*)-2-(4-izobutilfenil)propanska kiselina) pripada grupi nesteroidnih antiinflamatornih lekova (NSAIL). Uobičajeno se primenjuje u dozi od 200–400 mg na 4–6 h, kao analgetik i antipiretik, odnosno, 300–400 mg svakih 6–8 h, u terapiji reumatoidnog artritisa i osteoartritisa. Registrovani su lekovi sa ibuprofenom u obliku tableta, kapsula i oralnih suspenzija [9]. Ibuprofen deluje kao neselektivni inhibitor enzima ciklooksigenaza (COX-I i COX-II), odgovornih za sintezu prostaglandina, koji se smatraju medijatorima bola i inflamacije. Analgetsko, antipiretsko i antinflatamatorno dejstvo je posledica dejstva ibuprofena na COX-I, dok dejstvo na COX-II izaziva neželjene reakcije kao što je iritacija GIT. Ibuprofen je praktično nerastvorljiv u vodi [10]. Ispitivanja su pokazala da ova supstanca, zbog slabo kisele prirode (pK_a 4,38) [11], ima pH zavisnu rastvorljivost, pa se smatra da se bolje rastvara u tankom crevu, gde je pH vrednost viša u odnosu na početne delove GIT [12]. Permeabilnost ibuprofena u kulturi radioaktivno obeleženih Caco-2 ćelija je visoka (vrednost koeficijenta permeabilnosti (P_{app}) iznosi 55×10^{-6} cm/s) [13], što ukazuje na laku apsorpciju rastvorene supstance iz GIT. Inkorporiranje ibuprofena u nosače tipa SMEDDS je potencijalno koristan pristup da se obezbedi poboljšanje rastvorljivosti i brz početak delovanja uz istovremeno izbegavanje visokih lokalnih koncentracija lekovite supstance, čime se smanjuje rizik za ispoljavanje neželjenih efekata u GIT [14,15]. Mogućnost upotrebe SMEDDS kao potencijalnih nosača za peroralnu primenu ibuprofena do sada gotovo da nije istraživana. Cilj ovog rada bio je formulacija samo-mikroemulgujućih nosača na bazi smeše nejonskih surfaktanata za peroralnu primenu ibuprofena u obliku tvrdih kapsula i *in vitro* karakterizacija njihove sposobnosti samo-mikroemulgovanja u kiselim i slabo alkalnim vodenim medijumima, kapaciteta za solubilizaciju inkorporirane lekovite supstance nakon dispergovanja i *in vitro* profila oslobađanja lekovite supstance iz nosača.

EKSPERIMENTALNI DEO

Materijal

Kao surfaktanti korišćene su komercijalno dostupne nejonske površinski aktivne supstance PEG-8 kaprilno/kaprinski gliceridi (Labrasol®, Gattefosse, Francuska) i polioksil-40 hidrogenizovano ricinusovo ulje (Cremophor® RH40, BASF, Nemačka). Labrasol® je označen kao surfaktant, a Cremophor® RH40 kao kosurfaktant. Kao potencijalna uljana faza upotrebljeni su trigliceridi srednje dužine lanaca (Crodamol® GTCC, Croda, Velika Britanija) i maslinovo ulje (Cropur® Olive, Croda, Velika Britanija). Ibuprofen je dobijen od farmaceutske kompanije Galenika a.d. (Beograd, Srbija).

Metode

Priprema surfaktant/kosurfaktant/ulje smeša i inkorporiranje ibuprofena

U prvoj fazi istraživanja pripremljene su dve grupe smeša surfaktanta, kosurfaktanta i ulja. Prva grupa (M1-M10) pripremljena je sa srednjelančanim trigliceridima, a za pripremu druge grupe smeša (O1-O10) korišćeno je maslinovo ulje. Koncentracija ulja kod uzorka M1-M5 i O1-O5 iznosila je 10%, a kod uzoraka M6-M10 i O6-O10 bila je 20%. Uzorci pripremljeni sa istom koncentracijom ulja razlikovali su se u pogledu masenog odnosa surfaktanta i kosurfaktanta (K_m), čija je vrednost iznosila: 9:1, 7:3, 5:5, 3:7 i 1:9. U tabeli 1 prikazan je sastav pripremljenih smeša surfaktant/kosurfaktant/ulje.

Tabela 1. Sastav ispitivanih surfaktant/kosurfaktant/ulje smeša (mas.%)

Table 1. Composition of the investigated surfactant/cosurfactant/oil mixtures (mass%)

Uzorak	Surfaktant ^a	Kosurfaktant ^b	Ulje
M1	81,0	9,0	10,0 ^c
M2	63,0	27,0	10,0 ^c
M3	45,0	45,0	10,0 ^c
M4	27,0	63,0	10,0 ^c
M5	9,0	81,0	10,0 ^c
M6	72,0	8,0	20,0 ^c
M7	56,0	24,0	20,0 ^c
M8	40,0	40,0	20,0 ^c
M9	24,0	56,0	20,0 ^c
M10	8,0	72,0	20,0 ^c
O1	81,0	9,0	10,0 ^d
O2	63,0	27,0	10,0 ^d
O3	45,0	45,0	10,0 ^d
O4	27,0	63,0	10,0 ^d
O5	9,0	81,0	10,0 ^d
O6	72,0	8,0	20,0 ^d
O7	56,0	24,0	20,0 ^d
O8	40,0	40,0	20,0 ^d
O9	24,0	56,0	20,0 ^d
O10	8,0	72,0	20,0 ^d

^aLabrasol®; ^bCremophor® RH40; ^cCrodamol® GTCC; ^dCropur® Olive

Smeše su pripremljene u staklenim bočicama sa širokim grlom (9 cm×6 cm), tako što su precizno izmerene potrebne količine sastojaka, koji su zatim izmešani na magnetnoj mešalici, na sobnoj temperaturi. U cilju lakšeg odmeravanja kosurfaktant (Cremophor® RH40) je pre odmeravanja termostatan tokom 30 min u vodenom kupatilu na temperaturi od 37 °C, tako da mu se konzistencija menja iz polučvrste u tečnu. Pripremljenim smešama je dodat ibuprofen, u koncentraciji od

10%, uz mešanje na magnetnoj mešalici, na sobnoj temperaturi, do potpunog rastvaranja lekovite supstance.

Karakterizacija surfaktant/kosurfaktant/ulje smeša sa ibuprofenom

Karakterizacija surfaktant/kosurfaktant/ulje smeša sa ibuprofenom izvršena je u cilju selekcije potencijalnih SMEDDS formulacija i obuhvatila je organoleptičko ispitivanje uzoraka, ispitivanje sposobnosti dispergovanja u 0,1 M HCl i fosfatnom puferu pH 7,2 (USP). Na osnovu dobijenih rezultata izvršen je izbor potencijalnih SMEDDS formulacija kod kojih je određena veličina kapi i polidisperzitet nakon dispergovanja i ispitana je *in vitro* brzina oslobađanja ibuprofena.

Organoleptički pregled

Vizuelni pregled pripremljenih surfaktant/kosurfaktant/ulje/ibuprofen smeša izvršen je 48 h od izrade, pri čemu su one čuvane na sobnoj temperaturi. Uzorci su posmatrani u cilju detekcije prozirnosti i homogenost ili znakova fizičke nestabilnosti, kao što su zamućenost, raslojavanje i precipitacija lekovite supstance.

Ispitivanje sposobnosti dispergovanja u vodenim medijumima

Sposobnost dispergovanja surfaktant/kosurfaktant/ulje smeša sa ibuprofenom ispitivana je u 0,1 M HCl (pH 1,2) i fosfatnom puferu (USP, pH 7,2). U erlenmajer je odmereno 250 ml medijuma i dodat je 1 g ispitivanog uzorka. Uzorci su mučkani tokom 30 min na laboratorijskom šejkeru (IKA KS 260-Basic, Ika, Nemačka), na sobnoj temperaturi, a zatim je izvršen organoleptički pregled u cilju detektovanja zamućenosti, koalescencije kapi uljane faze ili raslojavanja. Kod odabranih homogenih, bistrih ili opalescentnih uzoraka analizirana je veličina kapi.

Određivanje veličine kapi i polidisperziteta

Veličina kapi određivana je tehnikom fotonske korelacione spektroskopije pri čemu je korišćen uređaj Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments, Velika Britanija), na temperaturi od $20 \pm 0,1$ °C. Uređaj je opremljen He-Ne laserom koji generiše upadnu koherentnu monohromatsku svetlost talasne dužine 633 nm. Svetlost rasuta nakon prolaska kroz kivetu sa uzorkom detektuje se pod uglom od 90°. Uređaj je kalibrisan standardnom disperzijom polistirena prečnika 63 nm. Rad uređaja je integrisan sa softverom (*Dispersion Technology Software*, DTS) koji operiše algoritmima preko kojih se obezbeđuje optimalno podešavanje optičke konfiguracije instrumenta za svaki set eksperimentalnih uslova, kontroliše i sprovodi merenje i izvodi analiza podataka i kreira izveštaj o sprovedenom merenju. Dobijeni rezultati prikazani su kao prosečna veličina kapi (*Z-ave*) i indeks polidisperziteta (*Pdl*), za tri uzastopna merenja.

In vitro ispitivanje brzine oslobađanja ibuprofena

Ispitivanje brzine oslobađanja ibuprofena sprovedeno je na uređaju Erweka DT70 (Erweka, Nemačka), uz korišćenje rotirajuće lopatice (USP II aparatura), na temperaturi od $37 \pm 0,5$ °C. Ispitivane SMEDDS formulacije su prethodno napunjene u tvrde želatinske kapsule veličine 0. U ispitivanju je korišćena količina SMEDDS formulacija koja sadrži 200 mg ibuprofena. Kao medijum je upotrebljen fosfatni pufer pH 7,2 (USP) u količini od 900 ml. Brzina mešanja medijuma lopaticom bila je 50 obrt/min. Eksperimentalni uslovi usklađeni su sa propisima USP 30-NF 25 [16] za ispitivanje brzine rastvaranja ibuprofena iz oralnih suspenzija i tableta. U definisanim vremenskim intervalima (10, 20, 30, 40, 50 i 60 min) vršeno je uzorkovanje približno 5 ml medijuma i izvršena nadoknada čistim medijumom iste temperature. Koncentracija lekovite supstance u uzorcima određivana je UV spektrofotometrijski (spektrofotometar Carry 50, Varian, Nemačka) na talasnoj dužini maksimuma apsorpcije ($\lambda_{\text{ibuprofen}} = 220$ nm). Na isti način ispitana je brzina rastvaranja ibuprofena iz registrovanih lekova u obliku mekih želatinskih kapsula (Rapidol®, PharmaSwiss, Srbija) i obloženih tableta (Brufen®, Galenika, Srbija), sa istom dozom lekovite supstance (200 mg). Dobijeni rezultati predstavljaju srednju vrednost 6 određivanja za svaki uzorak.

REZULTATI I DISKUSIJA

Fizička stabilnost i disperzibilnost surfaktant/kosurfaktant/ulje/ibuprofen smeša

Na tržištu su dostupni različiti farmaceutski ekscipijensi iz grupe lipida u površinski aktivnih supstanci koji mogu da se upotrebe kao sastojci farmaceutskih preparata za peroralnu primenu, međutim, samo mali broj takvih ekscipijenasa ima fizičko-hemijske osobine koje su pogodne za formulaciju SMEDDS nosača [17]. U ovom istraživanju, sa ciljem da se postigne zadovoljavajuća disperzibilnost formulacije, korišćena je kombinacija dve nejonske površinski aktivne supstance, bez dodavanja hidrofилnih korastvarača. Kao surfaktant upotrebljen je nejonski tenzid PEG-8 kaprilno/kaprinski gliceridi (Labrasol®) koji predstavlja smešu mono-, di- i triglicerida i mono- i di- estara C8-C10 masnih kiselina i polietilenglikola 200-400. To je uljasta tečnost blede žute boje. Relativna gustina mu je ~1,0, a indeks refrakcije iznosi ~1,4 na 20 °C. Može da sadrži slobodne (neesterifikovane) makrogole. Ovaj ekscipijens je u skladu sa zahtevima koji su navedeni u monografiji kaprilno/kaprinskih makrogolglicerida (Ph. Eur. 8.0) u pogledu hemijskog sastava, fizičko-hemijskih osobina i sadržaja etilenoksida (<1 ppm) i dioksana (<10 ppm). Uvršten je u FDA IIG listu ekscipijenasa (*eng. Food and Drug Administration Inactive Ingredient Guide*, FDA

IIG)* za upotrebu u oralnim rastvorima i kapsulama. Ima visoku HLB vrednost (~14) i upotrebljava se kao efikasan solubilizator teško rastvorljivih lekovitih supstanci. U dosadašnjim istraživanjima pokazano je da Labrasol® u kombinaciji sa drugim nejonskim surfaktantima, može da obrazuje biokompatibilne mikroemulzije, što povećava njihov farmaceutski značaj [18–23]. Kao kosurfaktant korišćen je nejonski tenzid PEG-40 hidrogenizovano ricinusovo ulje (Cremophor® RH40). Dobija se etoksilacijom hidrogenizovanog ricinusovog ulja i dominantno se sastoji do polietoksilovanih hidrogenizovanih triglicerida ricinolne kiseline sa prosečno 40 mol etilenoksida. HLB vrednost ovog tenzida iznosi 14–16. Cremophor® RH40 je u dosadašnjim istraživanjima korišćen kao surfaktant ili kosurfaktant za stabilizaciju nejonskih mikroemulzija koje su ispitivane kao nosači za peroralnu primenu lekovitih supstanci [24,25]. Ulja upotrebljena u ovom radu bili su srednjelančani trigliceridi (Crodamol® GTCC) i maslinovo ulje (Cropur® Olive). Fizičko–hemijske osobine korišćenih ulja navedene su u tabeli 2.

ostalih sastojaka u smeši koji predstavljaju bistre tečnosti, ima neproziran izgled i polučvrstu konzistenciju na sobnoj temperaturi. Nakon termostiranja u vodenom kupatilu na 37 °C, sve smeše su bile homogene, bistre tečnosti. Ibuprofen je rastvoren u smešama u koncentraciji od 10 mas.%. Svi uzorci sa ibuprofenom bili su homogeni na sobnoj temperaturi (kao što je ilustrovano kod grupe uzoraka M1–M5 pripremljenih sa srednjelančanim trigliceridima, na slici 1a), odnosno, homogene, bistre tečnosti na 37 °C (slika 1b).

Inkorporiranje ibuprofena nije uticalo na izgled i fizičku stabilnost ispitivanih formulacija M1–M10 i O1–O10, a takođe nisu uočene promene u izgledu ili precipitacija lekovite supstance iz nosača tokom 12 meseci čuvanja na sobnoj temperaturi.

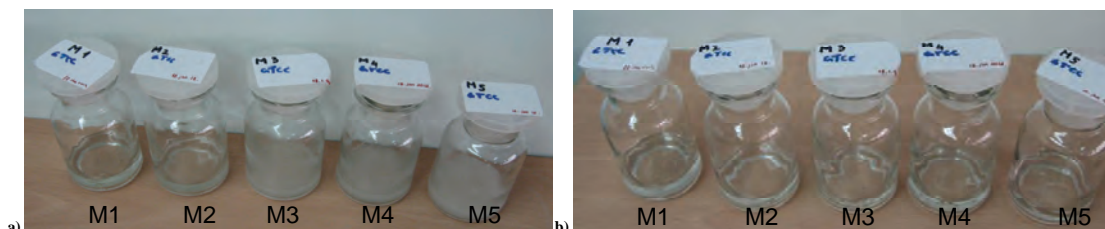
Sposobnost samo-mikroemulgovanja surfaktant/kosurfaktant/ulje formulacija sa ibuprofenom

Ispitan je uticaj vrste i koncentracije ulja i K_m vrednosti na sposobnost dispergovanja i formiranja u/v mik-

Tabela 2. Hemijski naziv, izgled, relativna gustina (d), indeks refrakcije (n) i viskozitet (η) korišćenih ulja

Komercijalni naziv i proizvođač	Crodamol® GTCC (Croda, Velika Britanija)	Cropure® Olive (Croda, Velika Britanija)
Hemijski naziv	Trigliceridi, srednje dužine lanaca ^a ; srednje-lančani trigliceridi ^b	Maslinovo ulje, rafinisano ^a ; maslinovo ulje ^b
Izgled	Bistra, bezbojna ili slabo žućkasta tečnost bez mirisa	Bistra tečnost karakterističnog mirisa
n	1,4500 ($t = 20\text{ °C}$)	1,4662 ($t = 15\text{ °C}$)
η / mPa·s	30 ($t = 20\text{ °C}$)	63,28 ($t = 25\text{ °C}$)

^aPh. Eur. 8.0; ^bUSP 30/NF 25



Slika 1. Izgled formulacija M1–M5 koji su pripremljeni sa srednjelančanim trigliceridima i sadrže 10% ibuprofena: a) na sobnoj temperaturi i b) na 37 °C.

Figure 1. The appearance of the formulations M1–M5 prepared with medium chain triglycerides (oil phase) and loaded with ibuprofen (10 mass%): a) at room temperature; b) at 37 °C.

U prvoj fazi istraživanja pripremljene su smeše surfaktant/kosurfaktant/ulje M1–M10, sa srednjelančanim trigliceridima, i O1–O10, sa maslinovim uljem, bez lekovite supstance. Na sobnoj temperaturi, smeše su bile homogene, bistre tečnosti ili homogeni, opalescentni ili zamućeni polučvrsti sistemi. Promene u izgledu i konzistenciji dovedene su u vezu sa smanjenjem K_m vrednosti, odnosno sa povećanjem udela kosurfaktanta. Kosurfaktant Cremophor® RH40, za razliku od

roemulzije iz M1–M10 i O1–O10 formulacija sa ibuprofenom u vodenim medijumima. Kriterijumi koji su korišćeni pri selekciji potencijalnih SMEDDS bili su $Z\text{-ave} \leq 100\text{ nm}$ i $Pdl \leq 0,250$ (monodisperzni uzorci), nakon dispergovanja u kiselom i alkalnom medijumu.

Disperzije formulacija O1–O10 u kiselom medijumu (0,1M HCl (pH 1,2)) imale su opalescentan ili zamućen izgled, pri čemu je kod formulacija O6–O10, koje sadrže 20% maslinovog ulja, uočeno i izdvajanje ulja na površini disperzije. Izgled disperzija formulacija O1–O10 sa maslinovim uljem, u fosfatnom puferu pH 7,2 prikazan je na slici 2.

* FDA IIG navodi supstance koje su odobrene za upotrebu kao pomoćne materije u farmaceutskim preparatima na tržištu SAD.

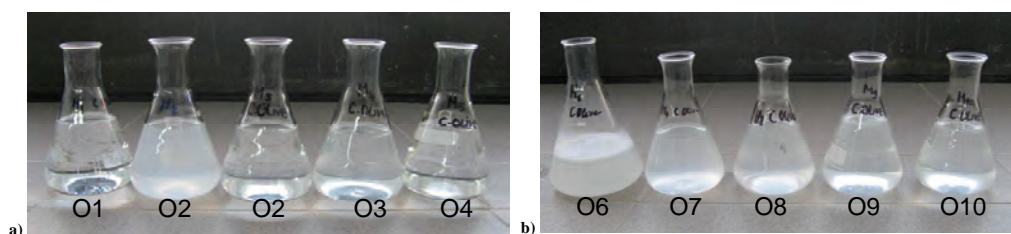
Disperzije formulacija O1–O5, koje su pripravljene sa 10% maslinovog ulja, bile su homogene, bistre ili opalescentne (slika 2a), dok su disperzije formulacija O6–O10, gde je koncentracija maslinovog ulja iznosila 20%, imale opalescentan ili zamućen izgled, a uočeno je i izdvajanje uljane faze na površini disperzije (slika 2b). Kod nekih uzoraka iz grupe O6–O10 uočeno je i izdvajanje lekovite supstance u vidu taloga. Uzorci u kojima je uočeno raslojavanje, u kiselom i/ili alkalnom medijumu, i/ili precipitacija aktivne supstance isključeni su kao potencijalni SMEDDS. Analiza veličine kapi kod homogenih disperzija pokazala je da je samo u disperziji uzorka O5 (10% maslinovog ulja, K_m 1:9) u alkalnom medijumu, prosečna veličina kapi bila manja od 100 nm, međutim, prosečna veličina kapi u kiselom medijumu bila je veća od 100 nm i indeks polidisperziteteta $Pdl > 0,250$, pa je ovaj uzorak isključen iz daljeg razmatranja kao potencijalni SMEDDS. Kod ostalih disper-

zija prosečna veličina kapi bila je $>> 100$ nm i neujednačena ($Pdl > 0,250$), pa nisu razmatrani u nastavku istraživanja.

Posle dispergovanja formulacija M1–M5, koje su pripravljene sa 10% srednjelančanih triglicerida, u kiselom i alkalnom medijumu, formirane su transparentne disperzije, osim kod formulacije M1, gde je disperzija bila opalescentna (slika 3).

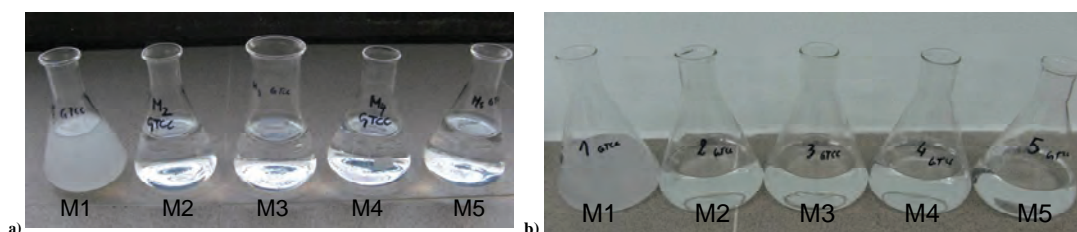
Vrednosti Z_{ave} i Pdl disperzija dobijenih iz formulacija M1–M5, u kiselom i alkalnom medijumu, prikazane su u tabeli 3.

Prosečna veličina kapi kod disperzija u kiselom medijumu kretala se u rasponu od 20,1–96,0 nm, a raspodela veličina je bila uska ($Pdl < 0,250$) i ukazivala na monodisperzne uzorke. Dobijeni rezultati pokazali su da su se u kiselom medijumu iz formulacija M1–M5 formirali mikroemulzioni nosači pri svim K_m vrednostima. U alkalnom medijumu iz uzoraka M2–M4 takođe



Slika 2. a) Izgled formulacija sa ibuprofenom M1–M5 (sadrže 10% maslinovog ulja) i b) M6–M10 (sadrže 20% maslinovog ulja), nakon dispergovanja u fosfatnom puferu, pH 7,2.

Figure 2. a) The appearance of the ibuprofen loaded formulations M1–M5 (prepared with 10% of olive oil) and b) M6–M10 (prepared with 20% of olive oil), dispersed in phosphate buffer (pH 7.2).



Slika 3. Izgled formulacija sa ibuprofenom M1–M5 (sadrže 10% srednjelančanih triglicerida) nakon dispergovanja u: a) 0,1 M HCl (pH 1,2); b) fosfatnom puferu, pH 7,2.

Figure 3. The appearance of the ibuprofen loaded formulations M1–M5 (prepared with 10% of medium chain triglycerides) dispersed in: a) 0.1M HCl (pH 1.2); b) phosphate buffer (pH 7.2).

Tabela 3. Prosečna veličina kapi (Z_{ave}) i indeks polidisperziteteta (Pdl) Labrasol®/Cremophor® RH40/Crodamol® GTCC formulacija sa 10 mas.% ibuprofena, nakon dispergovanja u različitim medijumima (1 g/250 ml)

Table 3. Average droplet size (Z_{ave}) and polydispersity index (Pdl) of Labrasol®/Cremophor® RH40/Crodamol® GTCC formulations with ibuprofen (10 mass%), after dispersion in different media (1 g/250 ml)

Uzorak	Medijum			
	0,1 M HCl (pH 1,2)		Fosfatni pufer, pH 7,2 (USP)	
	Z_{ave} / nm	Pdl	Z_{ave} / nm	Pdl
M1	96,01±1,89	0,248±0,024	911,1±15,6	0,198±0,003
M2	28,60±0,25	0,068±0,008	22,83±0,06	0,075±0,017
M3	20,09±0,15	0,034±0,012	16,80±0,06	0,040±0,017
M4	19,42±0,10	0,233±0,003	14,50±0,03	0,070±0,025
M5	55,76±0,54	0,243±0,007	15,90±0,42	0,188±0,035

su formirane disperzije sa kapima čija je prosečna veličina bila u rasponu od 22,8–14,5 nm, međutim, kod uzorka M1 (K_m 9:1) veličina kapi bila je $\gg 100$ nm (tabela 3). Uočeno je da je pri veličini kapi približno 100 nm i većoj, izgled disperzija bio opalescentan, dok su disperzije sa kapima sitnijim od 100 nm bile transparentne. Razlike u izgledu uzoraka su očekivane, budući da se sa smanjenjem veličine kapi smanjuje intenzitet rasipanja vidljive svetlosti. Kod uzorka M1, kod koga prevladava Labrasol® u smeši sa kosurfaktantom (K_m 9:1), kao i kod uzorka M5, gde prevladava Cremophor® RH40 u smeši sa surfaktantom (K_m 1:9), uočen je veći uticaj pH vrednosti na veličinu kapi disperzija (tabela 3). Iz formulacije M1 u kiseloj sredini se obrazuje mikroemulzija, dok se u alkalnoj sredini formira emulzija sa kapima prosečne veličine oko 900 nm. Dispergovanjem formulacije M5 u kiselom medijumu formirana je u/v mikroemulzija sa prosečnom veličinom kapi 55,8 nm, dok je u alkalnom medijumu prosečna veličina kapi bila oko 3 puta manja. Generalno, i u disperzijama uzoraka M2, M3 i M4, veličina kapi u alkalnom medijumu je nešto manja u poređenju sa kiselim medijumom. Ova zapažanja navela su na pretpostavku da je ibuprofen, zbog jako ograničene rastvorljivosti u kiselom medijumu uglavnom solubilizovan u međupovršinskom filmu, dok u alkalnoj sredini ima veću rastvorljivost u vodenom medijumu, pa je samo delimično solubilizovan u kapima mikroemulzionog nosača, zbog čega je njihov hidrodinamički prečnik manji. U disperzijama formulacija M2, M3 i M4, kod kojih su K_m vrednosti iznosile 7:3, 5:5, odnosno, 3:7, uočeno je formiranje mikroemulzija sa sitnim kapima čija je prosečna veličina manja od 30 nm. Može se pretpostaviti da se pri ovim K_m vrednostima uspostavlja sinergizam između surfaktanta i kosurfaktanta, na kome se zasniva veća sposobnost samo-mikroemulgovanja srednjelančanih triglicerida, zbog relativno male molarne zapremine ovog ulja, kao i slabiji uticaj pH vrednosti na proces dispergovanja i stabilnost formirane disperzije, u poređenju sa uzorcima M1 i M5. Dobijeni rezultati bili su u saglasnosti sa zapažanjem iz studija faznog ponašanja smeša Labrasol®/Cremophor® RH40 sa uljima male molarne zapremine (srednjelančani trigliceridi i izopropilmiristat), da se maksimalni sinergizam za solubilizaciju vodene faze (prečišćena voda) i formiranje v/u mikroemulzija ispoljava pri približno ujednačenom masenom odnosu ova dva tenzida, odnosno, u rasponu K_m od 4:6 do 6:4 [20–22].

Disperzije uzoraka pripremljenih sa 20 % srednjelančanih triglicerida (M6–M10), bile su opalescentne ili zamućene, u kiselom i alkalnom medijumu. Analizom veličine kapi kod pripremljenih disperzija utvrđeno je da je $Z\text{-ave} \geq 100$ nm i $Pdl > 0,250$, pa na osnovu toga nisu bili zadovoljeni kriterijumi koji ukazuju na formi-

ranje mikroemulzija, tj. monodisperznih sistema sa veličinom kapi ispod 100 nm.

Na osnovu dobijenih rezultata utvrđeno je da maslinovo ulje nije bilo pogodno za formulaciju SMEDDS sa ibuprofenom, verovatno zbog toga što se pretežno sastoji od triglicerida masnih kiselina dugog lanca, dominantno oleinske kiseline, koji imaju relativno veliku molarnu zapreminu i nisu pogodni za samo-mikroemulgovanje. U sastavu srednjelančanih triglicerida prevladavaju C8–C12 masne kiseline, pa je njihova molarna zapremina manja u poređenju sa sastojcima maslinovog ulja, a viskozitet niži i lakše podležu procesu formiranja kapi nanometarskih dimenzija (< 100 nm) u prisustvu upotrebijene smeše nejonskih surfaktanata. Za formiranje mikroemulzija bila je značajna i koncentracija upotrebijenog ulja, pa je uočeno da je proces bio otežan pri koncentraciji od 20% srednjelančanih triglicerida, što je ukazivalo da ukupna koncentracija smeše surfaktanta nije bila dovoljna da omogući proces samo-mikroemulgovanja. Na osnovu rezultata sprovedene karakterizacije u celini, kao nosači SMEDDS tipa označeni su uzorci M1–M5 koji sadrže 10% srednjelančanih triglicerida kao uljanu fazu.

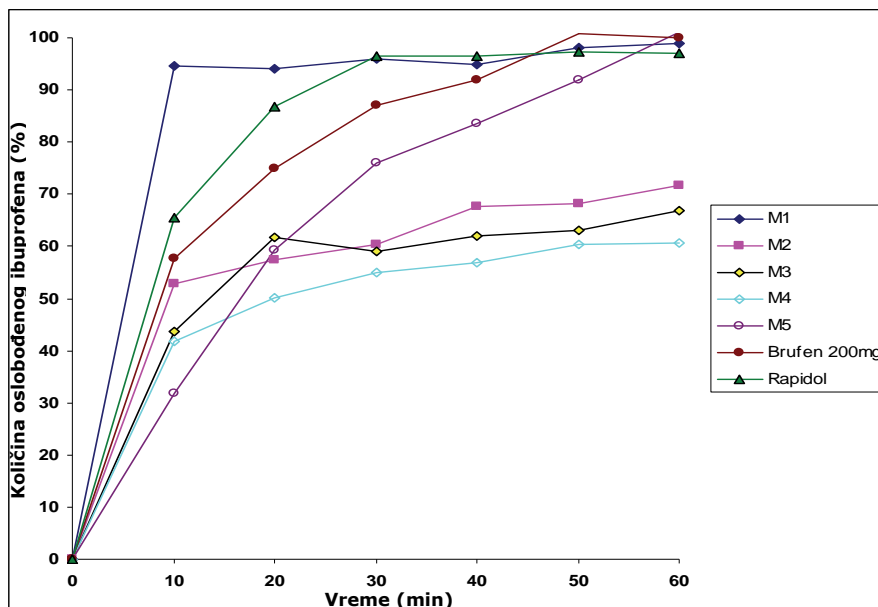
Kinetika *in vitro* oslobađanja ibuprofena

Profili oslobađanja ibuprofena iz SMEDDS nosača M1–M5, u obliku tvrdih želatinskih kapsula, obloženih tableta (Brufen®) i mekih kapsula (Rapidol®), prikazani su na slici 4.

Rastvaranje/oslobađanje* ibuprofena iz ispitivanih komercijalnih uzoraka kao i iz uzoraka M1 i M5 bilo je u skladu sa zahtevom američke farmakopeje (USP 30–NF 25), odnosno, posle 60 min bilo je oslobođeno/rastvoreno više od 80% supstance. Profili oslobađanja ibuprofena iz uzoraka M1 i M5 su se međusobno razlikovali. Oslobađanje ibuprofena iz uzorka M1 bilo je kompletno već posle 10 min, dok je oslobađanje iz komercijalnih uzoraka i uzorka M5 bilo sporije, tako da je posle 10 min oslobođeno ~55 (Brufen®), ~65 (Rapidol®), odnosno, ~30 % (M5) supstance. Nasuprot tome, oslobađanje ibuprofena iz uzoraka M2, M3 i M4 bilo je znatno sporije, tako da se za 60 min oslobodilo ~70 % supstance.

Dobijeni rezultati su dovedeni u vezu sa rezultatima i pretpostavkama koje su postavljene prilikom karakterizacije sposobnosti samo-mikroemulgovanja nosača. Mada se u kiseloj sredini iz uzorka M1 formira u/v mikroemulzija, u alkalnom medijumu koji je upotrebljen za ispitivanje brzine rastvaranja/oslobađanja, obrazuje se emulzija koja ima manji kapacitet za solubilizaciju ibu-

* Obložene tablete Brufen® sadrže aktivnu supstancu u čvrstom obliku, pa se tokom ovog ispitivanja odigrava njeno rastvaranje, dok meke kapsule Rapidol® sadrže ibuprofen rastvoren u polietilenglikolu 400, pa se u toku testa prati njeno oslobađanje iz farmaceutskog oblika.



Slika 4. Profil oslobađanja ibuprofena iz SMEDDS formulacija M1–M5 (u obliku tvrdih želatinskih kapsula) i registrovanih obloženih tableta (Brufen®) i mekih želatinskih kapsula (Rapidol®).

Figure 4. Ibuprofen release profile from SMEDDS M1–M5 (in hard gelatin capsules) and marketed coated tablets (Brufen®) and soft gelatin capsules (Rapidol®).

profena, pa se on brzo oslobađa i rastvara u medijumu. Sporije oslobađanje iz nosača M2, M3 i M4 dovedeno je u vezu sa formiranjem u/v mikroemulzije sa sitnim kapima i očuvanjem njene stabilnosti i strukture u alkalnom medijumu, zbog uspostavljanja snažnijeg sinergizma između surfaktanta i kosurfaktanta u stabilizaciji međupovršinskog filma. Time je verovatno ograničeno oslobađanje molekula lekovite supstance koji su locirani unutar ovog filma. Na sličan način se može objasniti i proces oslobađanja ibuprofena iz uzorka M5, međutim, verovatno zbog slabijeg sinergizma između surfaktanta i kosurfaktanta, pri K_m 1:9, oslobađanje supstance iz ovog nosača je slabije ograničeno u odnosu na nosače M2, M3 i M4. Razlike u profilima oslobađanja ibuprofena iz uzoraka M1 i M5 dovedene su u vezu sa različitom solubilizacionom moći surfaktanta i kosurfaktanta. Cremophor® RH 40 je verovatno „snažniji“ solubilizator u sistemu ulje/voda, u poređenju sa Labrasol®, jer ima duže ugljovodonične lance u hidrofilnom i lipofilnom delu molekula, a time i veću sposobnost da solubilizuje ulje u vodenoj fazi [26,27]. Zbog toga je u disperziji uzorka M5, koji sadrži višestruko više Cremophor® RH 40 (K_m 1:9) struktura u/v mikroemulzije očuvana, dok se stabilnost mikroemulzije narušava nakon dispergovanja uzorka M1, gde dominira Labrasol® (K_m 9:1).

ZAKLJUČAK

U radu je izvršena formulacija i *in vitro* karakterizacija SMEDDS koji sadrže Labrasol®, Cremophor® RH

40, Crodamol® GTCC (10%) i ibuprofen (10%), M1–M5. Pripremljeni uzorci imali su zadovoljavajuću fizičku stabilnost tokom 12 meseci čuvanja na sobnoj temperaturi. Ispitivani SMEDDS imali su zadovoljavajući kapacitet za solubilizaciju inkorporiranog ibuprofena nakon dispergovanja u kiseloj i slabo alkalnoj sredini. Rezultati *in vitro* karakterizacije pokazali su da sposobnost samomikroemulgovanja u kiseloj i alkalnoj sredini, veličina kapi formirane u/v mikroemulzije i brzina oslobađanja solubilizovane lekovite supstance značajno zavise od masenog odnosa surfaktanta i kosurfaktanta (K_m). Oslobađanje ibuprofena bilo je u skladu sa zahtevom USP 30-NF 25 (najmanje 80% oslobođene supstance nakon 60 min), iz uzoraka M1 (K_m 9:1) i M5 (K_m 1:9), pri čemu je celokupna količina oslobođena već posle 10 min iz nosača M1, dok je oslobađanje bilo znatno sporije iz nosača M5 (~30%), kao i iz komercijalnih uzoraka (obložene tablete Brufen® (~55%) i meke želatinske kapsule Rapidol® (~65%), koji su ispitani pod istim uslovima. Dobijeni rezultati ukazali su da uzorak M1 predstavlja potencijalni SMEDDS koji u kiseloj sredini želuca može da formira u/v mikroemulziju i obezbedi efikasnu solubilizaciju teško rastvorljive supstance, a nakon prelaska u tanko crevo, ona se brzo oslobađa iz formiranog nosača i dostupna je za apsorpciju.

Zahvalnica

Istraživanje je realizovano u okviru projekata III 46010 i TR 34007, koje finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

LITERATURA

- [1] C.W. Pouton, Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system, *Eur. J. Pharm. Sci.* **29** (2006) 278–287.
- [2] M. Kahlweit, Microemulsions, *Annu. Rep. Prog. Chem., C* **95** (1999) 89–115.
- [3] J. Sjöblom, R. Lindbergh, S.E. Friberg, Microemulsions - phase equilibria characterization, structures, applications and chemical reactions, *Adv. Colloid Interfac.* **65** (1996) 125–287.
- [4] R. Strey, Microemulsion microstructure and interfacial curvature, *Colloid Polym. Sci.* **272** (1994) 1005–1019.
- [5] C.J.H. Porter, C.W. Pouton, J.F. Cuine, W.N. Charman, Enhancing intestinal drug solubilisation using lipid-based delivery systems, *Adv. Drug Delivery Rev.* **60** (2008) 673–691.
- [6] J.A. Yáñez, S.W.J. Wang, I.W. Knemeyer, M.A. Wirth, K.B. Alton, Intestinal lymphatic transport for drug delivery, *Adv. Drug Delivery Rev.* **63** (2011) 923–942.
- [7] R. Holm, A. Müllertz, H. Mu, Bile salts and their importance for drug absorption, *Int. J. Pharm.* (2013), doi: 10.1016/j.ijpharm.2013.04.003.
- [8] K. Kawakami, Modification of physicochemical characteristics of active pharmaceutical ingredients and application of supersaturatable dosage forms for improving bioavailability of poorly absorbed drugs, *Adv. Drug Delivery Rev.* **64** (2012) 480–495.
- [9] Nacionalni registar lekova, NRL 2012. Agencija za lekove i medicinska sredstva Srbije, Beograd, 2012.
- [10] European Pharmacopoeia, eighth ed., Council of Europe, Strasbourg, 2010.
- [11] M. Meloun, S. Bordovská, L. Galla, The thermodynamic dissociation constants of four non-steroidal anti-inflammatory drugs by the least-squares nonlinear regression of multiwavelength spectrophotometric pH-titration data, *J. Pharmaceut. Biomed.* **45** (2007) 552–564.
- [12] H. Potthast, J.B. Dressman, H.E. Junginger, K.K. Midha, H. Oeser, V.P. Shah, H. Vogelpoel, D.M. Barends, Bio-waiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Ibuprofen, *J. Pharm. Sci.* **94** (2005) 2121–2131.
- [13] B.A. Khan, S. Bakhsh, H. Khan, T. Mahmood, A. Rasul, Basics of Self Micro Emulsifying Drug Delivery System, *Journal of Pharmacy and Alternative Medicine*, 2012 (dostupno na: www.iiste.org).
- [14] H. Araya, S. Nagao, M. Tomita, M. Hayashi. The novel formulation design of self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) type O/W microemulsion I: enhancing effects on oral bioavailability of poorly water soluble compounds in rats and beagle dogs, *Drug. Metab. Pharmacokinet.* **20** (2005) 244–256.
- [15] B.B. Subudhi, S. Mandal, Self-Microemulsifying Drug Delivery System: Formulation and Study Intestinal Permeability of Ibuprofen in Rats, *J. Pharm.* (2013), Article ID 328769 (<http://dx.doi.org/10.1155/2013/328769>).
- [16] The United States Pharmacopoeia, 30/National Formulary 25, Pharmacopoeia Convention Inc., Rockville, MD, 2007.
- [17] A. Sprunk, C.J. Strachan, A. Graf, Rational formulation development and in vitro assessment of SMEDDS for oral delivery of poorly water soluble drugs, *Eur. J. Pharm. Sci.* **46** (2012) 508–515.
- [18] L. Djordjevic, M. Primorac, M. Stupar, D. Krajisnik, Characterization of caprylocaproyl macroglycerides based microemulsion drug delivery vehicles for an amphiphilic drug, *Int. J. Pharm.* **271** (2004) 11–19.
- [19] L. Djordjevic, M. Primorac, M. Stupar, In vitro release of diclofenac diethylamine from caprylocaproyl macroglycerides based microemulsions, *Int. J. Pharm.* **296** (2005) 73–79.
- [20] L. Djekic, M. Primorac, S. Filipic, D. Agbaba, Investigation of surfactant/cosurfactant synergism impact on ibuprofen solubilization capacity and drug release characteristics of nonionic microemulsions, *Int. J. Pharm.* **433** (2012) 25–33.
- [21] L. Djekic, M. Primorac, J. Jockovic, Phase behaviour, microstructure and ibuprofen solubilization capacity of pseudo-ternary nonionic microemulsions, *J. Mol. Liq.* **160** (2011) 81–87.
- [22] L. Djekic, M. Primorac, The influence of cosurfactants and oils on the formation of pharmaceutical microemulsions based on PEG-8 caprylic/capric glycerides, *Int. J. Pharm.* **352** (2008) 231–239.
- [23] M. Milovic, J. Djuris, L. Djekic, D. Vasiljevic, S. Ibric, Characterization and evaluation of solid self-microemulsifying drug delivery systems with porous carriers as systems for improved carbamazepine release, *Int. J. Pharm.* **436** (2012) 58–65.
- [24] S. Agatonovic-Kustrin, B.D. Glass, M.H. Wisch, R.G. Alany, Prediction of stable microemulsion formulation for the oral delivery of a combination of antitubercular drugs using ANN methodology, *Pharm. Res.* **20** (2003) 1760–1764.
- [25] H. Arya, M. Tomita, M. Hayashi, The novel formulation design of O/W microemulsion for improving the gastrointestinal absorption of poorly water-soluble compounds, *Int. J. Pharm.* **305** (2005) 61–74.
- [26] J. Chlebicki, P. Majtyka, Effect of Oxypropylene Chain Length on the Surface Properties of Dialkyl Glycerol Ether Nonionic Surfactants, *J. Colloid Interface Sci.* **220** (1999) 57–62.
- [27] Y. Bayrak, M. Iscan, Studies on the phase behavior of the system non-ionic surfactant/alcohol/alkane/H₂O, *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Aspects* **268** (2005) 99–103.

SUMMARY

FORMULATION AND CHARACTERISATION OF SELF-MICROEMULSIFYING DRUG DELIVERY SYSTEMS BASED ON BIOCOMPATIBLE NONIONIC SURFACTANTS

Ljiljana M. Djekic, Marija M. Primorac

University of Belgrade, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology and Cosmetology, Belgrade, Serbia

(Scientific paper)

Development of self-dispersing drug delivery systems (SMEDDS) is a modern strategy for oral delivery improvement of poorly soluble drugs. Self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDS) are isotropic mixtures of oils and hydrophilic surfactants, which form oil-in-water (o/w) microemulsions by dilution in aqueous media (*e.g.*, gastrointestinal fluids). Formulation of SMEDDS carriers requires consideration of a large number of formulation parameters and their influences on process of self-microemulsifying and releasing of drug. The aim of this work was formulation and characterization of SMEDDS for oral administration of ibuprofen. In the experimental work, two series of potential SMEDDS were prepared (M1–M10), using surfactant (Labrasol[®], Gattefosse), cosurfactant (PEG-40 hydrogenated castor (Cremophor[®] RH40), and oil (medium chain triglycerides (Crodamol[®] GTCC) and olive oil (Cropur[®] Olive)), at surfactant-to-cosurfactant mass ratios (K_m) 9:1, 7:3, 5:5, 3:7, and 1:9, and 10 or 20% of the oil phase. Ibuprofen was dissolved in formulations in concentration of 10%. Characterization of the investigated formulations included evaluation of physical stability, self-microemulsification ability in 0.1 M HCl (pH 1.2) and phosphate buffer pH 7.2 (USP) and *in vitro* drug release. Formation of o/w microemulsions with the average droplet size (Z_{ave}) up to 100 nm, was observed in dispersions of formulations prepared with 10 mass% of medium chain triglycerides, within the entire investigated range of the K_m values (M1–M5). These formulations were selected as SMEDDS. Results of characterization pointed out the importance of the type and concentration of the oil as well as the K_m value for the self-microemulsifying ability, as well as drug release kinetics from the investigated SMEDDS. Ibuprofen release was in accordance with the request of USP 30-NF 25 (at least 80% after 60 min) from the formulations M1 (K_m 9:1) and M5 (K_m 1:9). Furthermore, the ibuprofen release was completed after 10 min from formulation M1, while the release from the carrier M5 (~30%) as well as from the commercial tablets Brufen[®] (~55%) and soft capsules RapidoI[®] (~65%), examined under the same conditions, was significantly slower. The present study revealed that the formulation M1 represents a potential SMEDDS which efficiently dissolves ibuprofen in acidic media, with potential to minimize the side effects, while on introduction into alkaline intestinal environment, the drug may rapidly release from the carrier and undergo absorption.

Keywords: Self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDS) • Microemulsions • Labrasol[®] • Cremophor[®] RH40 • Ibuprofen