

Primena dizajna smeše u formulaciji i karakterizaciji čvrstih samo-nanoemulgujućih terapijskih sistema sa karbamazepinom

Marko Z. Krstić, Svetlana R. Ibrić

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

Izvod

U radu je prikazana priprema i karakterizacija formulacija čvrstih samo-nanoemulgujućih terapijskih sistema sa slabo rastvorljivom, visokodoziranom lekovitom supstancom, karbamazepinom. U prvoj fazi je primenom dizajna smeše odabran tečni samo-nanoemulgujući terapijski sistem (SNEDDS) koji se sastojao iz triglicerida srednje dužine lanca, Polisorbata 80, Labrasol®-a i Transcutol®-a HP. Odabran tečni SNEDDS je adsorbovan na 4 porozna nosača: Neusilin® UFL2, Neusilin® FL2, Sylysia® 320 i dijatomit. Udeo karbamazepina je bio stalan (20%), a manji je odnos adsorpcioni nosač:SNEDDS, 1:1 i 1:2. Iz izrađenih formulacija je ispitana brzina rastvaranja karbamazepina i izvršena je karakterizacija primenom termogravimetrijske analize, diferencijalno skenirajuće kalorimetrije, infracrvene spektroskopije sa Furijeovom transformacijom, difrakcije X-zraka na uzorcima u prahu i skenirajuće elektronske mikroskopije. Dizajn smeše se pokazao kao korisna tehnika za optimizaciju SNEDDS. Formulacijom čvrstih SNEDDS je postignuto značajno povećanje brzine rastvaranja karbamazepina u odnosu na čist karbamazepin i komercijalne tablete karbamazepina sa trenutnim oslobađanjem.

Ključne reči: brzina rastvaranja, dizajn smeše, Polisorbata 80, Transcutol® HP, Labrasol®, Neusilin® UFL2, Neusilin® FL2, Sylysia® 320, dijatomiti, karbamazepin.

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

NAUČNI RAD

UDK 615:615.03:66

Hem. Ind. 70 (5) 525–537 (2016)

doi: 10.2298/HEMIND150623059K

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. S obzirom na to da većinu karakteriše dobra permeabilnost (klasa II prema biofarmaceutskom sistemu klasifikacije [1]), brzina rastvaranja lekovite supstance predstavlja ograničavajući faktor za njihovu resorpciju i biološku raspoloživost [2]. Jedan od pristupa za prevazilaženje ovog problema jeste primena formulacija čvrstih samo-emulgujućih terapijskih sistema (engl. *solid self-emulsifying drug delivery system* – SSEDSS). SSEDSS imaju niz prednosti u odnosu na tečne samo-emulgujući terapijski sistem (engl. *self-emulsifying drug delivery system* – SEDDS), kao što su poboljšanje i smanjenje varijabilnosti resorpcije lekovite supstance, poboljšanje permeabilnosti, lakša procesna kontrola i niži troškovi proizvodnje i transporta, veća stabilnost proizvoda i bolja prihvatljivost od strane pacijenta [3,4]. Tehnika prevođenja tečnih SEDDS u čvrste koja se poslednjih godina u velikoj meri koristi jeste adsorpcija na hidrofobni nosač. Ovakvom formulacijom SSEDSS se postiže povećanje brzine rastvaranja i potencijalno biološke raspoloživosti, usled solubilizacije lekovite supstance od strane

komponenti SEDDS i boljeg kvašenja usled velike specifične površine poroznih adsorpcionih nosača [5,6]. Kao porozni adsorbensi poslednjih godina se istražuju sintetski i prirodni adsorbensi na bazi magnezijum-aluminometasilikata i slijicijum-dioksida [5–7]. Usled kompleksnosti formulacije SSEDSS i velikog broja pomoćnih supstanci koje ulaze u njen sastav, veliki izazov za istraživače predstavlja formulacija ovih sistema sa visokodoziranom lekovitom supstancama, kako bi dobijeni farmaceutski oblik imao prihvatljivu masu za pacijenta [5]. Tečni SEDDS su izotropna mešavina ulja, surfaktanta i/ili korastvarača/kosurfaktanta koja emulgovanjem, odnosno nakon razblaživanja vodom (u kontaktu sa vodom u gastro-intestinalnom traktu (GIT)) i blagom mešanju pod uticajem motiliteta želuca i tankog creva [8,9] formira finu ulje-u-vodi emulziju. Time solubilizovana lekovita supstanca postaje dostupna za resorpciju. U zavisnosti od sastava formulacije i veličine kapi unutrašnje faze emulzije koja nastaje nakon razblaživanja vodom, samo-emulgujući terapijskog sistemi se dele na: samo-mikroemulgujuće (engl. *self-microemulsifying drug delivery system* – SMEDDS, veličina kapi do 100 nm), samo-nanoemulgujuće (engl. *self-nanoemulsifying drug delivery system* – SNEDDS, veličina kapi od 100 do 300 nm) i samo-emulgujuće (veličina kapi preko 300 nm) (SEDDS) [9–13]. Prilikom odabira tečnog samo-emulgujućeg terapijskog sistema do sada je najčešće korišćena tehnika konstruisanja pseudo-ternernih faznih dijagrama, gde je smeši ulja, surfaktanta i kosurfaktanta dodavana vodena faza u kapima [5]. Ovu metodu

Preписка: M.Z. Krstić, Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju, Vojvode Stepe 450, Beograd, Srbija.

E-pošta: mkrstic109@gmail.com

Rad primljen: 23. jun, 2015

Rad prihvaćen: 6. oktobar, 2015

karakteriše veliki broj eksperimenata i dugotrajnost, uz vizuelno praćenje promena u sistemu, što sa sobom nosi određeni stepen subjektivnosti. Iz tog razloga, u radu je ispitana mogućnost primene eksperimentalnog dizajna, tipa smeše (engl. *mixture design*), kao alternativa konstruisanju pseudo-ternernih faznih dijagrama, u odabiru tečnog SNEDDS. Dizajn smeše predstavlja vrstu eksperimentalnog dizajna koja se koristi kada se ispituje formulacija koju čine više različitih sastojaka, čiji je zbir udela stalan. Postoje različiti tipovi dizajna smeše, ali D-optimalni eksperimentalni dizajn se najčešće koristi jer se može prilagoditi svakom eksperimentalnom planu. Omogućava da se na osnovu najmanjeg broja eksperimenata pouzdano može doći do određenih zaključaka. D-optimalnim dizajnom (D od determinanta–determinanta matrice koja se koristi za određivanje koeficijena jednačine tj. modela) moguće je lako i efikasno pronaći najbolji podskup eksperimenata iz seta eksperimenata, na osnovu zadatog kriterijuma, tj. postavljenih ograničenja. Za svaki od ulaznih parametara postavljaju se granične vrednosti (donja i gornja) u okviru kojih se oni mogu varirati, s tim što donja vrednost ne sme biti jednaka nuli [14].

Kao model supstanca, korišćen je karbamazepin, antiepileptik, koji prema Biofarmaceutskom sistemu klasifikacije spada u klasu II. Odlikuje se visokom permeabilnošću i niskom rastvorljivošću u vodi (0,271 mg/mL, 37 °C) koja je uzrok ograničene resorpcije i niske bioraspoloživosti pri oralnoj primeni [15,16]. Kako bi se ispitali uticaji razlike u specifičnoj strukturi i površini adsorpcionih nosača, u radu su korišćeni tri sintetska adsorbensa, na bazi magnezijum-aluminometasilikata (Neusilin® UFL2 i Neusilin® FL2) i slijum-dioksida (Sylysia® 320), i jedan prirodni adsorpcioni nosač (dijatomit).

Cilj ovog rada je formulacija čvrstih samo-nanoemulgujućih terapijskih sistema (SSNEDDS) sa visokim udelom lekovite supstance, karbamazepina, radi povećanja njegove brzine rastvaranja. Dodatni ciljevi su bili da se proceni mogućnost primene dizajna smeše u odabiru tečnog samo-nanoemulgujućeg terapijskog sistema sa odgovarajućim odnosom lipid/surfaktant/kosurfaktant, kao i da se ispita uticaj vrste i udela adsorpcionog nosača na brzinu oslobađanja i promenu polimorfnog oblika karbamazepina.

EKSPERIMENTALNI DEO

Materijal

Korišćena model supstanca karbamazepin (KBZ), odgovara specifikacijama navedenim u monografiji Ph. Eur. 8.0. Trigliceridi srednje dužine lanca, kaprilno-kaprilski trigliceridi (Mygliol® 812, Sasol GmbH, Nemačka) kao masna faza, Polisorbat 80 (Tween® 80, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Nemačka) i PEG-8 kaprilno/kaprin-

ski gliceridi (Labrasol®, Gattefosse Batch, Francuska) kao surfaktanti, a kao kosurfaktant korišćen je dietilenglikolmonooletar (Transcutol® HP, Gattefosse Batch, Francuska). Kao adsorpcioni nosači korišćeni su Neusilin® UFL2 (Fuji Chemical Industry, Japan), Neusilin® FL2 (Fuji Chemical Industry, Japan), Sylysia® 320 (Fuji Sylysia Chemical, Japan) i dijatomiti (Mount Sylvania, Pty. Ltd, Australija). Kao referentni preparat ispitivan je registrovani proizvod na teritoriji Republike Srbije tablete karbamazepina sa trenutnim oslobađanjem.

Metode

Odabir tečnog samo-nanoemulgujućeg terapijskog sistema primenom dizajna smeše

Formulacija tečnog samo-nanoemulgujućeg terapijskog sistema. Primenom optimizacione tehnike, dizajna smeše, uz pomoć kompjuterskog programa *Design Expert®* (version 8.0.7.1, Stat-Ease, Inc, Minneapolis, MN, USA), definisan je D-optimalni eksperimentalni dizajn smeše koju čine tri komponente, sastojci SEDDS: lipidna faza (A – kaprilno-kaprilski trigliceridi), surfaktant (B – smeša Polisorbat 80 i Labrasol® u odnosu 1:1) i kosurfaktant (C – Transcutol® HP). Ove tri komponente predstavljaju ulazne parametre i njihov ukupan zbir udela je 100%. Granične vrednosti (opsezi) udela ovih komponenti postavljene su na osnovu literaturnih podataka i prethodnih *screening* studija i bile su sledeće: $10\% \leq A \leq 30\%$, $40\% \leq B \leq 60\%$ i $30\% \leq C \leq 50\%$.

Primenom D-optimalnog eksperimentalnog dizajna dobijen je eksperimentalni plan (prikazan u delu Rezultati i diskusija – tabela 2) koji se sastojao od 16 formulacija SEDDS.

Merenje veličine kapi i indeksa polidisperziteta primenom fotonske korelacione spektroskopije

Nakon razblaživanja svih izrađenih SEDDS sa visoko prečišćenom vodom u odnosu SEDDS:voda 10:90 i mešanja na vorteksu (Vortex mixer V1 plus, Boeco, Nemačka) određena je veličina kapi i indeks polidisperziteta dobijenih emulzija (izlazni parametri, Y_1 i Y_2).

Veličina kapi i indeks polidisperziteta određivani su 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°. Rad uređaja je integrisan sa softverom (*Dispersion Technology Software*, DTS). Dobijeni rezultati prikazani su kao prosečna veličina kapi (Z-ave) i indeks polidisperziteta (*Pdl*), za tri uzastopna merenja.

Modelovanje uticaja ulaznih na izlazne parametre primenom dizajna smeše

D-optimalnim eksperimentalnim dizajnom smeše moguće je dobiti odgovarajući matematički model (jednačine (1)–(4)), koji opisuje uticaj udela komponenta SEDDS kao nezavisno promenljivih na veličinu kapi i *Pdl* kao zavisno promenljive. Modeli, koje je moguće dobiti su:

$$\text{linearni: } Y = b_1A + b_2B + b_3C \quad (1)$$

$$\text{kvadratni: } Y = b_1A + b_2B + b_3C + b_{12}AB + b_{13}AC + b_{23}BC \quad (2)$$

$$\text{specijalni kubni: } Y = b_1A + b_2B + b_3C + b_{12}AB + b_{13}AC + b_{23}BC + b_{123}ABC \quad (3)$$

$$\text{kubni: } Y = b_1A + b_2B + b_3C + b_{12}AB + b_{13}AC + b_{23}BC + b_{123}ABC + \gamma_{12}AB(A-B) + \gamma_{13}AC(A-C) + \gamma_{23}BC(B-C) \quad (4)$$

gde su b_1 – b_{123} i γ_{12} – γ_{23} koeficijenti koji pokazuju uticaj nezavisno promenljivih, kao i njihovih međusobnih interakcija na vrednost zavisno promenljive. Vrednosti koeficijenata izračunavane su višestrukom linearnom regresionom analizom, korišćenjem softvera *Design Expert*® (version 8.0.7.1, Stat-Ease, Inc, Minneapolis, MN, USA).

Matematički model koji najbolje opisuje vezu između ulaznih i izlaznih parametara bira se na osnovu poređenja nekoliko statističkih parametara, uključujući standardnu devijaciju (*Sd*), koeficijent višestruke korelacije (R^2), prilagođen koeficijent višestruke korelacije (prilagođeni R^2) i predvidiv ostatak zbira kvadrata (*PRESS*). *PRESS* pokazuje koliko dobro model fituje podatke i za izabrani model njegova vrednost treba da bude manja u poređenju sa drugim modelima. Za razliku od vrednosti *PRESS*, vrednosti za R^2 i prilagođeni R^2 treba da budu veće u odnosu na druge modele, dok vrednost standardne devijacije treba da bude manja. Kompromisom između postavljenih zahteva vrši se odabir pogodnog matematičkog modela. Nakon odabira matematičkog modela regresionom analizom određene su vrednosti koeficijenta u modelu i posle eliminacije članova, koji nisu statistički značajni ($p > 0,05$) dobijeni su finalni matematički modeli.

Matematički model, tj. finalna jednačina, razmatra L-pseudo vrednosti ulaznih parametara (*A*, *B* i *C*), koje se kreću od 0 do 1. Vrednost 0 se dodeljuje donjoj granici, a vrednost 1 gornjoj granici ulaznih parametara, dok se sve ostale vrednosti izračunavaju iz sledećih jednačina:

Kaprilno–kaprinski trigliceridi (*A*):

$$A_{1(L-Pseudo)} = (A_1 - 10)/20 \quad (5)$$

Polisorbat 80:Labrasol® (1:1, smeša surfaktantna (*B*):

$$B_{1(L-Pseudo)} = (B_1 - 40)/20 \quad (6)$$

Transcutol® HP (kosurfaktant) (*C*):

$$C_{1(L-Pseudo)} = (C_1 - 30)/20 \quad (7)$$

gde su A_1 , B_1 i C_1 bilo koje vrednosti udela lipida, surfaktanta i kosurfaktanta, redom, u okviru postavljenih granica.

Optimizacija formulacije tečnog samo-nanoemulgujućeg terapijskog sistema

Nakon uspostavljanje korelacije između ispitivanih parametara i dobijanja modela izvršena je optimizacija sa zahtevima da veličina kapi bude od 100 do 200 nm, a *Pdl* od 0,1 do 0,2. Pod ovim uslovima, dva odgovora su kombinovana tako da se odredi optimizaciona oblast i dobije SNEDDS visoke stabilnosti, na šta nam ukazuje zadata vrednost *Pdl*. Iz različitih delova optimizacione oblasti odabrane su 3 formulacije SNEDDS kojima je nakon razblaživanja vodom (10:90) određena veličina kapi i *Pdl*, primenom fotonske korelacione spektroskopije, radi procene uspešnosti predviđanja. Od te tri formulacije odabrana je jedna formulacija sa najmanjim udelom surfaktanata i kosurfaktanata, koja je korišćena za izradu čvrstih samo-nanoemulgujućih terapijskih sistema.

Formulacija čvrstih samo-nanoemulgujućih terapijskih sistema

Odabrani tečni SNEDDS je nanet na četiri različita adsorpciona nosača (Neusilin® UFL2, Neusilin® FL2, Sylysia® 320 i dijatomit). Udeo KBZ bio je konstantan (20%), a odnos tečnog SNEDDS i adsorpcionog nosača iznosio je 1:1 i 2:1. SSNEDDS su izrađeni tako što je prethodno izrađenoj homogenoj smeši adsorpcionog nosača i KBZ postepeno u malim količinama uz mešanje dodavan tečni SNEDDS do dobijanja uniformne smeše, koja je nakon toga prosejana kroz sito od nerđajućeg čelika, veličine promera 300 μm. Izrađeno je 8 formulacija prikazanih u tabeli 1.

Tabela 1. Formulacije čvrstih samo-nanoemulgujućih terapijskih sistema sa KBZ-om

Table 1. Formulation of solid self-nanoemulsifying drug delivery systems containing carbamazepine

Broj formulacije	Vrsta nosača i odnos nosač:SNEDDS	Oznaka formulacije
F1	Neusilin FL2:SNEDDS 1:1	NFL2_SNEDDS_1_1
F2	Neusilin FL2:SNEDDS 1:2	NFL2_SNEDDS_1_2
F3	Neusilin UFL2:SNEDDS 1:1	NUFL2_SNEDDS_1_1
F4	Neusilin UFL2:SNEDDS 1:2	NUFL2_SNEDDS_1_2
F5	Sylysia 320:SNEDDS 1:1	Syl_SNEDDS_1_1
F6	Sylysia 320:SNEDDS 1:2	Syl_SNEDDS_1_2
F7	Dijatomiti:SNEDDS 1:1	Dij_SNEDDS_1_1
F8	Dijatomiti:SNEDDS 1:2	Dij_SNEDDS_1_2

Karakterizacija čvrstih samo-nanoemulgujućih terapijskih sistema sa KBZ-om

In vitro procena brzine rastvaranja KBZ-a

Ispitivanje brzine rastvaranja KBZ-a iz izrađenih SSNEDDS i komercijalno dostupnih tableta KBZ-a sa trenutnim oslobađanjem izvedeno je u aparaturi sa rotirajućom lopaticom (Erweka DT70, Nemačka) pod sledećim eksperimentalnim uslovima: medijum – prečišćena voda, zapremina medijuma – 900 ml, temperatura medijuma – 37 °C i brzina obrtanja rotirajuće lopatice – 50 rpm. Po 4 ml uzorka je uzimano nakon 10, 20, 30, 60, 90 i 120 min uz nadoknađivanje medijuma posle uzorkovanja. U uzorcima je, nakon filtriranja, količina rastvorenog KBZ-a određivana spektrofotometrijski (Evolution 300, Termo Fisher Scientific, Engleska) na 287 nm. Za svaki od izrađenih SSNEDDS izvedeno je po tri ispitivanja i procenat rastvorenog KBZ-a izražen je kao srednja vrednost.

Termogravimetrijska analiza (TGA)

TGA merenja su izvršena na TGA Q5000 termalnom analizatoru (TA Instruments, SAD) sa dvadesetpetopozicionim autosamplerom. Tokom analize su korišćene aluminijumske posude, u koje su stavljani uzorci u količini od 3 do 5 mg, analizirani u temperaturnom opsegu od 20 do 320 °C pri brzini zagrevanja od 10 °C/min, u struji azota, sa protokom od 25 ml/min.

Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (DSC)

DSC merenja izvršena su na DSC Q2000 termalnom analizatoru (TA Instruments, Nemačka). Precizno odmerene mase uzoraka (1–2 mg) stavljane su u T-Zero® aluminijumske posude, koji su potom hermetički zatvarane, i analizirani u temperaturnom opsegu od 20 do 200 °C pri brzini zagrevanja od 10 °C/min, u struji azota, sa protokom od 50 ml/min. Instrument je kalibrisan korišćenjem indijum standarda. Entalpija, početne temperature i temperature topljenja su automatski izračunavane korišćenjem originalnog softvera (TA Instruments, Nemačka).

Mikroskopija na vrućoj ploči (engl. Hot stage microscopy – HSM)

HSM snimanja izvršena su korišćenjem Mettler Toledo Hot Stage mikroskopa (Hot-Stage FP82HT, Controller/processor FP 90, Microscope DME Model 13595, Camera PL-A622 firewire camera, Mettler Toledo, Nemačka) i softvera Studio Capture 3.1, u temperaturnom opsegu od 20 do 250 °C.

Difrakcija X-zracima na uzorcima u prahu (PXRD)

PXRD analiza je izvršena na difraktometru Bruker D8 Advance (Bruker, Nemačka), na sobnoj temperaturi, opremljenog bakarnom anodom ($\lambda = 0,15418$ nm, 40 kV, 40 mA). Uzorci, prethodno po potrebi usitnjeni, stavljani su na kvarcnu ploču sa aluminijumskim drža-

čem. Reflektovana svetlost je detektovana na Lynx-eye PSD detektoru.

Infracrvena spektrofotometrija sa Furijeovom transformacijom (FTIR)

FTIR spektri su dobijeni korišćenjem Perkin Elmer Spectrum One FTIR spektrometra (Perkin Elmer, Waltham, SAD) spojenog sa horizontalnim Golden Gate MKII jedno-reflektivnim ATR sistemom (Specac, 214 Kent, Velika Britanija), opremljenog sa Zn–Se sočivom i povezanog sa odgovarajućim softverom.

Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM)

Praškasti uzorci su fiksirani na odgovarajuće nosače za uzorke pomoću trake koja je lepljiva sa obe strane, zatim su sušeni na vazduhu, a nakon toga obloženi ultra tankim slojem zlata (10 nm). SEM snimanja su izvršena na uređaju HITACHI SU 8000 (Hitachi, Japan), pri naponu od 2000 V.

REZULTATI I DISKUSIJA

Optimizacija formulacije tečnog samo-nanoemulgujućeg terapijskog sistema

U Tabeli 2 prikazani su ulazni i izlazni parametri koji odgovaraju eksperimentalnom planu dobijenom korišćenjem softvera *Design Expert*® (version 8.0.7.1, Stat-Ease, Inc, Minneapolis, MN, USA). Jasno se vidi da se sa malim variranjem udela lipida, surfaktanta i kosurfaktanta dobijaju velike razlike u veličini kapi i vrednosti *Pdl*. Tako se veličina kapi kreće u rasponu od 118,7 nm u formulaciji 4 (20,64% lipida, 40,00% smeše surfaktanta i 39,36% kosurfaktanta) do 513,1 nm u formulaciji 3 (10,01% lipida, 40,00% smeše surfaktanta i 49,99% kosurfaktanta). Na osnovu vrednosti *Pdl* uočena je velika razlika u stabilnosti dobijenih emulzija. Neočekivano formulacija 3 sa najmanjim udelom lipida, a najvećim udelom kosurfaktanta, ima vrednost *Pdl* 1 i najveću veličinu kapi, što ukazuje na nestabilnost ove formulacije. Ova formulacija potencijalno ukazuje da kosurfaktant (Transcutol® HP), čiji je udeo u ovoj formulaciji na najvišem nivou, ima najmanji pozitivni uticaj na stabilnost sistema. Sa druge strane formulacija 15 (13,64% lipida, 42,85% smeše surfaktanta i 43,51% kosurfaktanta) ima vrednost *Pdl* 0,076, što ukazuje na to da ova formulacija ima najveću stabilnost.

Uzimajući u obzir pomenute statističke parametre (*Sd*, R^2 , prilagođeni R^2 i *PRESS* vrednost) izabrani matematički model koji najbolje opisuje odnos između ulaznih i izlaznog parametara, veličine kapi, je specijalni kubni. Nakon isključivanja parametara koji nemaju statistički značaj ($p > 0,05$) dobijena je finalna jednačina (tabela 3). Vrednosti koeficijenata uz *A*, *B* i *C* ukazuju na efekat ovih promenljivih na odgovor sistema. Pozitivan znak koeficijenta ukazuje na sinergistički efekat, dok negativan označava antagonistički efekat na odgovor.

Tabela 2. Eksperimentalni plan dobijen primenom dizajna smeše (ulazni i izlazni parametri)

Table 2. Experimental matrix obtained by applying mixture design (input and output parameters)

Broj formulacije	Ulazni parametri			Izlazni parametri	
	A: kaprilno–kaprinski trigliceridi,%	B: Polisorbat 80:Labrasol® (1:1), %	C: Transcutol® HP, %	Y ₁ : Veličina kapi nm	Y ₂ : Pdl
1	15,05	42,07	42,88	232,6±28,85	0,151±0,041
2	13,70	52,86	33,44	162,7±3,52	0,291±0,019
3	10,01	40,00	49,99	513,1±5,25	1,000±0,009
4	20,64	40,00	39,36	118,7±5,29	0,213±0,025
5	15,05	42,07	42,88	232,6±28,85	0,151±0,041
6	10,01	59,99	30,00	193,0±2,29	0,205±0,006
7	20,70	49,30	30,00	150,0±5,11	0,226±0,010
8	10,00	49,08	40,92	188,7±7,21	0,283±0,014
9	20,64	40,00	39,36	118,7±5,29	0,213±0,025
10	23,81	43,04	33,15	189,8±6,07	0,300±0,020
11	29,99	40,01	30,00	202,1±6,52	0,387±0,010
12	10,01	59,99	30,00	193,0±2,29	0,205±0,006
13	16,57	46,42	37,01	318,7±6,60	0,459±0,008
14	29,99	40,01	30,00	202,1±6,52	0,387±0,010
15	13,64	42,85	43,51	233,6±8,56	0,076±0,013
16	20,70	49,30	30,00	150,0±5,11	0,226±0,010

Takođe, veći koeficijent uz nezavisnu promenljivu ima veći uticaj na promenu odgovora.

Na isti način je izvršena statistička obrada za drugi izlazni parametar, *Pdl*, pri čemu je odabran kubni model i na osnovu njega formirana finalna matematička jednačina (tabela 3).

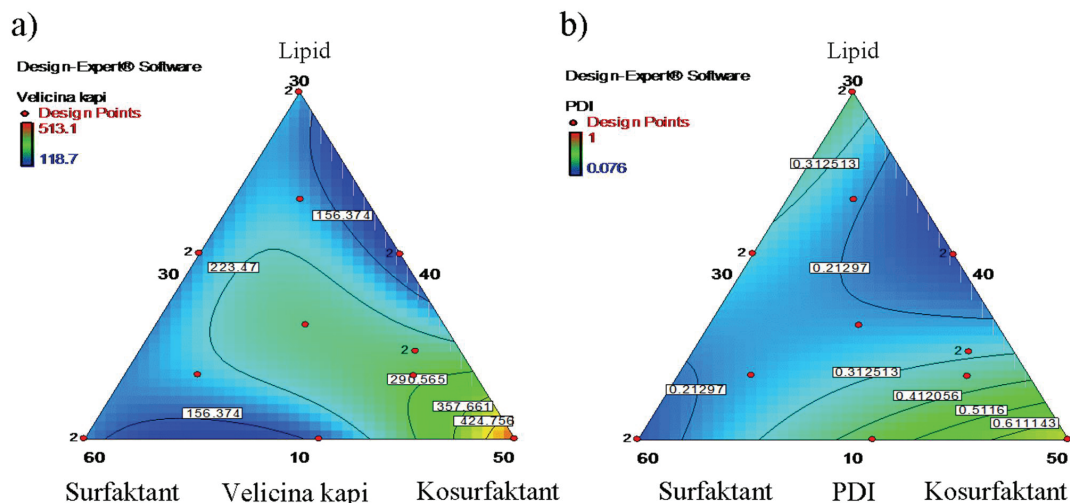
Na slici 1 dati su konturni dijagrami koji pokazuju promene vrednosti veličine kapi i *Pdl* u zavisnosti od udela komponenata SEDDS. U uglovima dijagrama su smešteni maksimalni udeli kaprilno–kaprinskih triglicerida, Polisorbat® 80:Labrasol® (1:1) i Transcutol® HP, dok se njihovi minimalni udeli nalaze na stranama dijagrama nasuprot uglovima, redom. Između uglova i sup-

rotnih strana dijagrama vrednosti komponenata smeše se postepeno smanjuju. Crvene tačke na konturnom dijagramu predstavljaju izrađene i ispitane formulacije SEDDS. Generalno su konturni dijagrami predstavljeni rasponom boja od najtamnije plave, do najintenzivnije crvene, gde najtamnijoj plavoj boji odgovaraju najniže vrednosti za veličinu kapi i *Pdl*, dok najintenzivnijoj crvenoj odgovaraju najviše vrednosti za veličinu kapi i *Pdl* u formulacijama.

Sa slike 1 jasno se vidi da se sa povećanjem udela surfaktanta, a smanjenjem udela lidipa i kosurfaktanta dobijaju SEDDS koji nakon razblaživanja vodom, imaju manju veličinu kapi i manji *Pdl*, što je značajno sa

Tabela 3. Faktori modela, njegovog redukovano oblika i dobijeni matematički model za veličinu kapi i *Pdl*; matematički model redukovano specijalnog kubnog modela za veličinu kapi: $189,93A + 173,72B + 491,85C - 906,92AC - 720,63BC + 4027,17ABC$;matematički model redukovano kubnog modela za *Pdl*: $0,41A + 0,16B + 0,71C - 1,73AC$ Table 3. The factors of the model, its reduced form, and the resulting mathematical model for droplet size and *Pdl*

Faktori i njihova značajnost pre redukovanja modela		Faktori i njihova značajnost nakon redukovanja modela	
Veličina kapi			
Faktori	<i>p</i> vrednost	Faktori	<i>p</i> vrednost
AB	0,1310	Nije značajan	–
AC	< 0,0001	AC	<0,0001
BC	0,0012	BC	0,0020
ABC	0,0011	ABC	0,0023
<i>Pdl</i>			
AB	0,6966		
AC	0,0086	AC	0,0093
BC	0,1180		
ABC	0,3892		

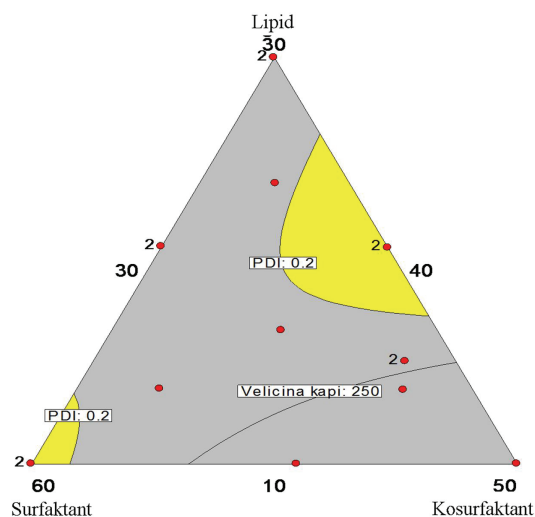


Slika 1. 2D konturni dijagram zavisnosti izlaznih od ulaznih parametara za a) veličinu kapi i b) *Pdl*.
Figure 1. 2D contour plots for the effect of input parameters on the outputs for a) droplet size and b) *Pdl*.

aspekta stabilnosti dobijenih sistema. Takođe se uočava da se pri srednjim vrednostima udela svih komponenti sistema dobija formulacija koja ima zadovoljavajuću stabilnost na šta ukazuje vrednost *Pdl* koja je manja od 0,3 i veličina kapi od oko 250 nm.

Na slici 2 je prikazan prihvatljiv region u kom se ukrštaju zadate vrednosti odgovora (veličina kapi od 100 do 200 nm i *Pdl* od 0,1 do 0,2).

Radi procene sposobnosti dizajna smeše da predvidi odgovore sistema, iz različitih delova optimizacione regije konturnog dijagrama odabrane su tri formulacije koje zadovoljavaju postavljene kriterijume za veličinu kapi i *Pdl*. Rezultati dobijeni merenjem veličine kapi i *Pdl* izrađenih SNEDDS nakon razblaženja vodom (u odnosu 10:90) pomoću fotonske korelacione spektroskopije upoređeni su sa predviđenim vrednostima kako bi se proverilo da li odabrani matematički modeli daju dobru korelaciju (tabela 4). Poređenjem dobijenih i predviđenih vrednosti uočava se da se primenom dizajna smeše može pouzdano predvideti veličina kapi i *Pdl* izrađenih SEDDS, jer je razlika između predviđenih i eksperimentalno dobijenih vrednosti za veličinu kapi i *Pdl* u okviru standardne devijacije izmerenih odgovora.



Slika 2. 2D konturni dijagram sa regionima u okviru kojih se nalaze optimalne formulacije.
Figure 2. 2D contour plots with areas having the optimal formulation.

Formulacija broj O₂ je odabrana za izradu SSNEDDS, jer pored toga što zadovoljava zadate opsege za veličinu kapi i *Pdl*, ima i visok udeo triglicerida (21,12%), a manji udeo surfaktanta (42,24%), što je značajno sa aspekta bezbednosti primene, jer visok udeo surfak-

Tabela 4. Udeli komponenta tri odabrane test optimalne formulacije, predviđene i dobijene vrednosti veličine kapi i *Pdl*
Table 4. Ratios of components for the three selected test optimal formulations, predicted and obtained values of droplet size and *Pdl*

Formulacija	Lipid, %		Surfaktant, %		Kosurfaktant, %		Predviđene vrednosti		Eksperimentalno dobijene vrednosti	
	Kaprilno–kaprilski trigliceridi	Polisorbat 80/Labrasol® (1:1)	Transcutol® HP	Veličina kapi nm	<i>Pdl</i>	Veličina kapi nm	<i>Pdl</i>			
O ₁	22,27	43,06	34,67	150,96	0,192	153,2±3,56	0,194±0,023			
O ₂	21,12	42,24	36,64	147,94	0,161	157,02±9,21	0,184±0,036			
O ₃	11,14	58,15	30,71	171,07	0,187	160,80±10,84	0,176±0,012			

tanata može dovesti do iritacije na nivo gastrointestinalnog trakta [17,18].

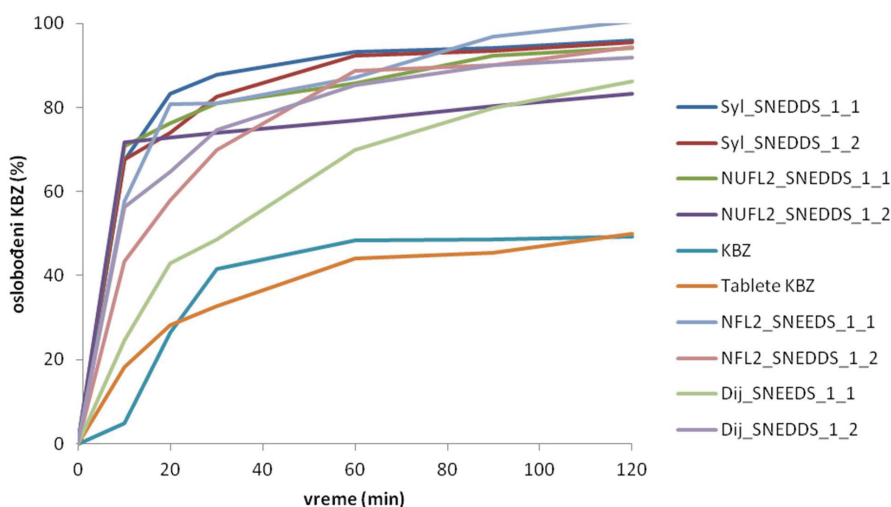
In vitro profili brzine rastvaranja KBZ-a iz SSNEDDS

Profili brzine rastvaranja KBZ iz izrađenih SSNEDDS, kao i profil brzine rastvaranja čistog KBZ i KBZ iz komercijalnih tableta sa trenutnim oslobađanjem prikazani su na slici 3. Sa grafika se može videti da se formulisanjem SSNEDDS povećava brzina rastvaranja KBZ. Povećanje brzine rastvaranja jeste posledica sinergizma između komponenti SNEDDS i adsorpcionog nosača. SNEDDS dovodi do povećanja brzine rastvaranja prvenstveno usled solubilizacije KBZ, a adsorpcioni nosači dovode do povećanja brzine rastvaranja usled boljeg kvašenja zahvaljujući velikoj specifičnoj površini. Formulacijom SSNEDDS sa KBZ postiže se povećanje njegove brzine rastvaranja u odnosu na čist KBZ i komercijalne tablete sa trenutnim oslobađanjem KBZ-a. U prvih 10 min se iz svih 8 formulacija SSNEDDS postiže visok procenat oslobođenog KBZ, koji se kreće u rasponu od 40–80% KBZ, a čistog KBZ svega 4,91%, odnosno 18,19% KBZ iz tableta sa trenutnim oslobađanjem. Najverovatnije u tih prvih 10 min dolazi do oslobađanja KBZ sa površine adsorpcionih nosača. Razlike koje postoje su verovatno posledica u razlikama u specifičnoj površini adsorpcionih nosača. Najveće povećanje brzine rastvaranja KBZ u početnom trenutku, ali i kasnije postignuto je korišćenjem nosača Sylysia® 320, zatim Neusilin® UFL2, pa Neusilin® FL2 i najmanje povećanje korišćenjem dijatomita. Ovakvi rezultati su očekivani imajući u vidu specifičnu površinu datih nosača. Sylysia® 320 i Neusilin® UFL2 imaju specifičnu površinu od 300 m²/g [19–22], Neusilin® FL2 150 m²/g [19–21], dok je specifična površina dijatomita daleko manja i iznosi 30,92 m²/g [23,24]. Formulacija koja je pokazala najveći procenat oslobođenog KBZ jeste formulacija F5 koja sadrži jed-

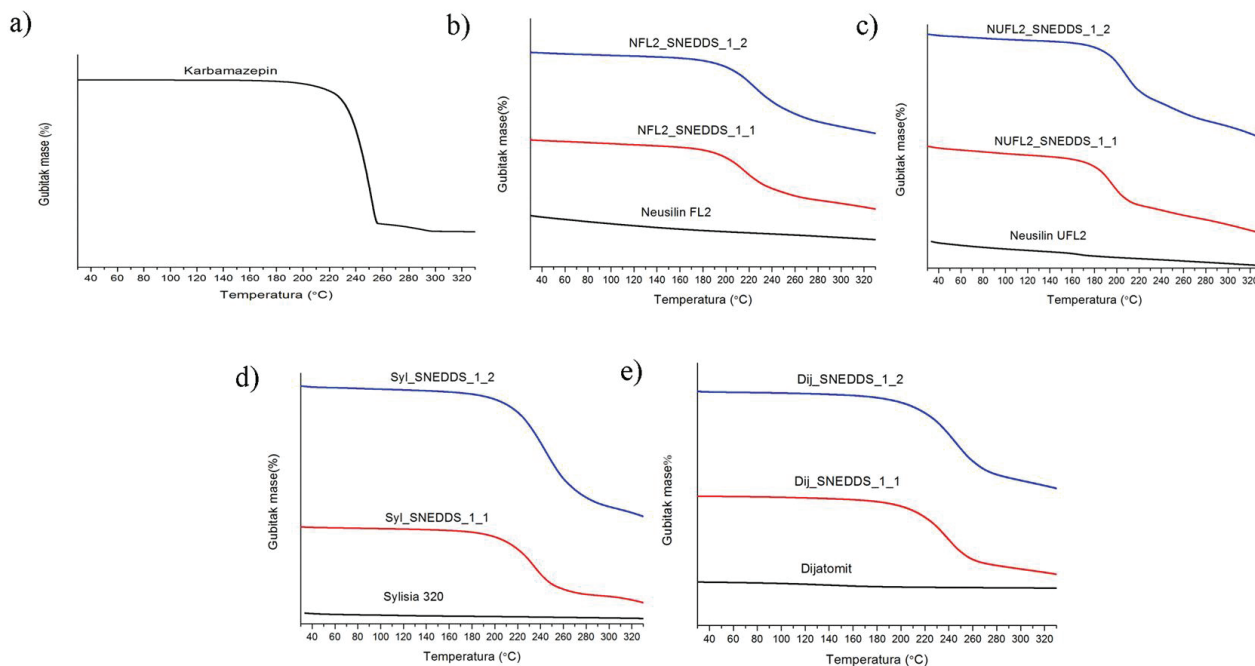
nak udeo SNEDDS i adsorpcionog nosača (Sylysia® 320), iz ove formulacije je za 30 minuta oslobođeno oko 90% karbamazepina. Nakon 30 min kod obe formulacije sa Sylysia® 320 uočeno je oslobađanje više od 80% KBZ, što ogovara farmakopejskom zahtevu za preparate sa trenutnim oslobađanjem. Razlike koje se javljaju nakon 10 min u brzini oslobađanja KBZ-a iz formulacija u kojima su kao nosači korišćeni Sylysia® 320, zatim Neusilin® UFL2 su posledice specifične strukture ova dva nosača. Poznato je da Neusilin® UFL2 ima malu veličinu čestica (2–8 μm) i da poseduje uske i duge pore [25] u koje tečni SNEDDS može da uđe nakon adsorbovanja i „zarobi” određenu količinu KBZ, pa je to možda razlog za nešto niži procenat oslobođenog KBZ u odnosu na sisteme sa Sylysia® 320. Sa profila brzina oslobađanja KBZ iz formulacija sa različitim odnosima SNEDDS i adsorpcionog nosača, uočava se veće povećanje brzine oslobađanja iz formulacijama kod kojih je jednak odnos SNEDDS-a i adsorpcionog nosača, u odnosu na formulacije gde je odnos SNEDDS:nosač 2:1. Ovaj uticaj smanjenja brzine rastvaranja KBZ sa povećanjem udela SNEDDS je u suprotnosti sa rezultatima koje su dobili Milović i saradnici [19], a može se objasniti time da se povećanjem udela SNEDDS-a zatvara određeni broj pora na samom nosaču, pa se time „zarobljava” dodatna količina KBZ i na taj način usporava njegovo rastvaranje. Pri primeni dijatomita, u prvih 10 min dolazi do oslobađanja velikog procenta KBZ (oko 50%), jer se oslobađa KBZ adsorbovan na površinu nosača. Nakon toga dolazi do postepenog oslobađanja KBZ iz šupljina nosača zbog njegove specifične stukture [7,24].

Karakterizacija SSNEDDS

Termogravimetrijska analiza (TGA). Na slici 4 prikazane su TGA krive čistog KBZ i formulacija SSNEDDS sa različitim čvrstim nosačima: Neusilin® FL2, Neusilin®



Slika 3. In vitro profili brzine rastvaranja KBZ-a iz izrađenih čvrstih samo-nanoemulgujućih terapijskih sistema.
Figure 3. In vitro profiles of CBZ dissolution rate from solid self-nanoemulsifying drug delivery systems.



Slika 4. TGA krive; a) KBZ i formulacije sa: b) Neusilin® FL2, c) Neusilin® UFL2, d) Sylysia® 320 i e) dijatomitima.
 Figure 4. The TGA curves; a) pure carbamazepine and formulations with: b) Neusilin® FL2, c) Neusilin® UFL2 d) Sylysia® 320 and e) diatomites.

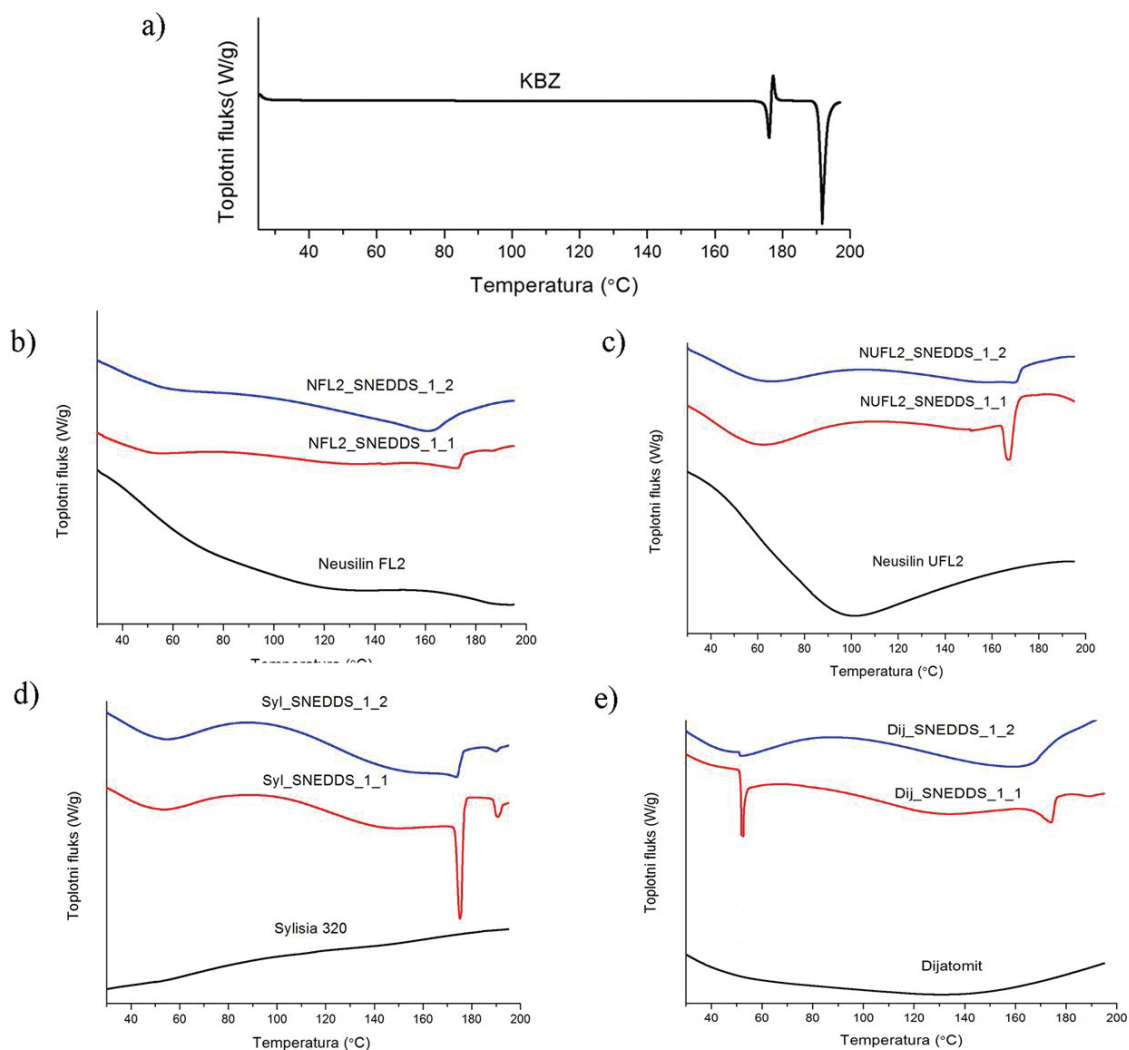
UFL2, Sylysia® 320 i dijatomitima. Kod čistog KBZ se u opsegu od 20 do 200 °C uočava gubitak mase od 0,769%, a nakon toga u temperaturnom opsegu od 200 do 250 °C nagli gubitak mase od oko 75%. Ovakav nagli gubitak mase predstavlja početak degradacije čistog KBZ i opisan je u literaturi [5,7,26]. Svi adsorpcioni nosači su se pokazali stabilnim, i tokom zagrevanja nije uočen veći gubitak mase. Kod formulacija SSNEDDS sa KBZ uočen je mali gubitak mase do 200 °C, čime je pokazana njihova stabilnost na povišenim temperaturama. Međutim, daljim zagrevanjem ispitivanih formulacija uočava se nagla promena mase, kao posledica degradaciji KBZ.

Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (DSC). Na slici 5 su prikazani DSC termogrami KBZ i formulacija SSNEDDS sa Neusilin® FL2, Neusilin® UFL2, Sylysia® 320 i dijatomitima kao čvrstim nosačima. Na slici 5a uočava se niz termalnih događaja, koji su zabeleženi tokom zagrevanja uzoraka. Uočljivo je da se tokom zagrevanja, uzorak čistog KBZ topi, što odgovara prvom endotermnom piknu na 175,08 °C koji se pripisuje topljenju polimorfnog oblika III, nakon toga uočava se egzotermni pik na 176,63 °C, koji potiče od rekristalizacije polimorfnog oblika III u polimorfni oblik I. Na 190,95 °C uočava se još jedan endotermni pik koji potiče od topljenja polimorfnog oblika I KBZ. Ovi rezultati za čist KBZ su u saglasnosti sa rezultatima predstavljenim u literaturi [5,7,17,27–29]. Na DSC krivama za čiste nosače (Neusilin® FL2, Neusilin® UFL2, Sylysia® 320 i dijatomit) uočavaju se širi ne tako izraženi endotermni pikovi, što verovatno predstavlja posledicu inicijalnog gubitka vlage.

Na DSC krivama izrađenih SSNEDDS formulacija sa Neusilin® FL2 uočavaju se endotermni pikovi topljenja. Kod formulacije NFL2_SNEEDDS_1_1 uočavamo dve tačke topljenja na 158,60 (slabije izraženi pik) i na 183 °C. Prvi pik je verovatno posledica topljenja polimorfne forme III, a drugi pik topljenja polimorfne forme I. Ovi pikovi se javljaju na nešto nižim temperaturama u odnosu na čist KBZ i literaturne podatke, što je verovatno posledica međusobne interakcije KBZ sa pomoćnim supstancama [7]. Kod formulacije NUFL2_SNEEDDS_1_2 prilikom zagrevanja dolazi do inicijalnog gubitka vlage, a nakon toga se uočava pik slabog intenziteta na 130,31 °C i široki endotermni pik topljenja na 160 °C, koji takođe ukazuju na to da se radi o polimorfnom obliku III KBZ [27]. Jasni egzotermni rekristalizacioni pikovi prelaska KBZ iz polimorfnog oblika III u polimorfni oblik I, nisu uočeni kod svih uzoraka.

Kod formulacija sa Neusilin® UFL2 uočavamo slične promene kao kod formulacija sa Neusilin® FL2 samo se temperature razlikuju za par stepeni. Na DSC krivoj za formulaciju NUFL2_SNEEDDS_1_1 endotermni pik topljenja KBZ je na 164 °C. Slične promene uočene su i kod formulacija sa Sylysia® 320 i dijatomitima. Na osnovu DSC krivih može se pretpostaviti da je KBZ u svim formulacijama SSNEDDS ostao u polimorfnom obliku III [27].

Mikroskopija na vrućoj ploči (HSM). Na mikrofografiji čistog KBZ (nije prikazano) do temperature od oko 160 °C se ne uočavaju nikakve promene. Na temperaturi od 170,4 °C dolazi do topljenja prizmatičnih kristala KBZ (polimorfni oblik III, što odgovara prvom endotermnom piknu na DSC termogramu). Nakon toga na temperaturi



Slika 5. DSC termogrami; a) KBZ i formulacije sa: b) Neusilin® FL2, c) Neusilin® UFL2, d) Sylysia® 320 i e) dijatomitima.

Figure 5. The DSC thermograms; a) pure carbamazepine and formulations with: b) Neusilin® FL2, c) Neusilin® UFL2 d) Sylysia® 320 and e) diatomites.

od oko 177,9 °C dolazi do naknadne rekristalizacije i pojave igličastih kristala, što odgovara rekristalizacionom pikom na DSC krivoj KBZ (prelazak KBZ iz polimorfnog oblika III u polimorfni oblik I). Na temperaturi od 190,4 °C dolazi do topljenja kristalne forme I, što odgovara drugom endotermnom pikom na DSC krivoj KBZ.

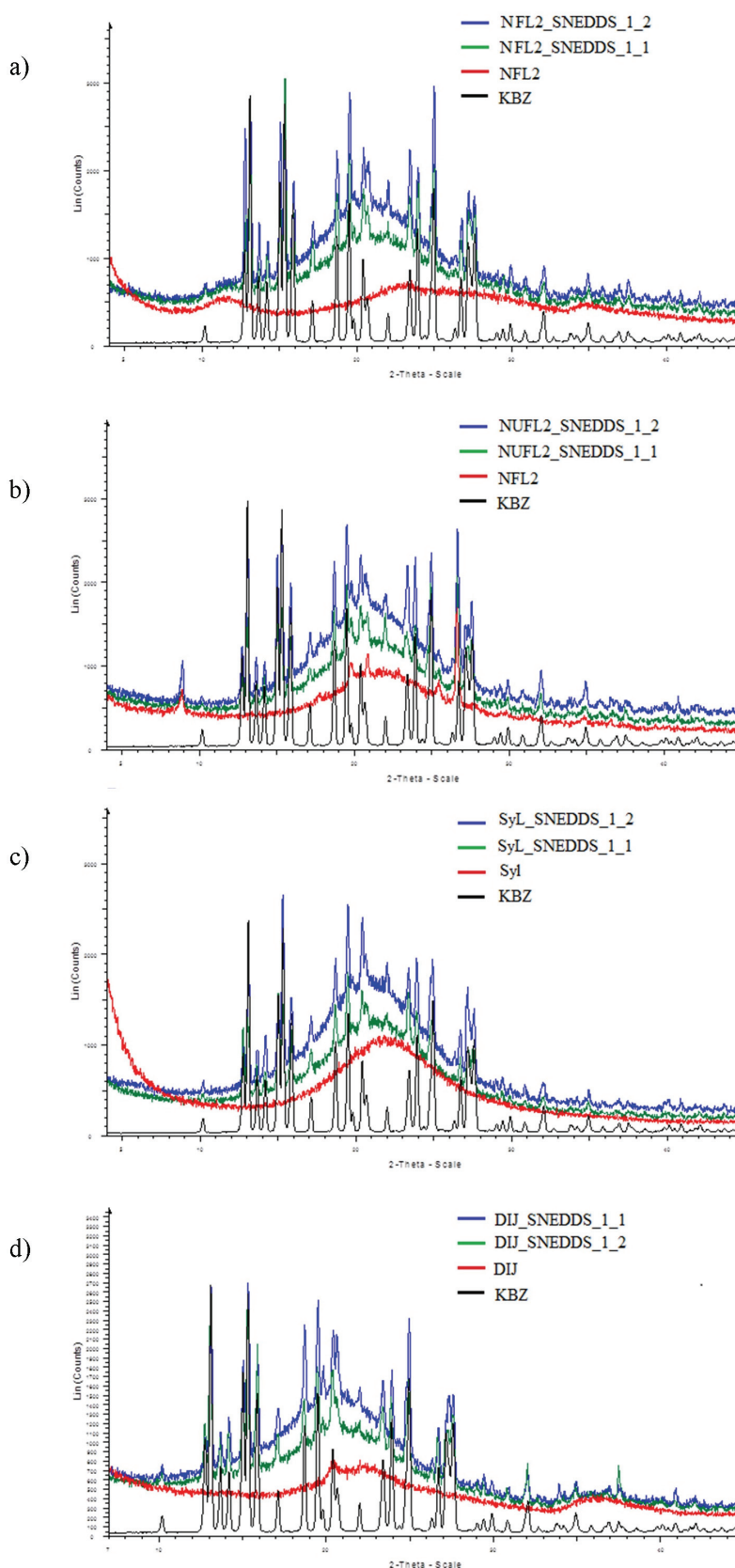
Zbog male količine KBZ (20%) u formulaciji SSNEDDS se teško uočavaju jasne promene kao kod čistog KBZ, tokom analize formulacija primenom HSM.

Difrakcija X-zracima na uzorcima u prahu (PXRD). Da bi se potvrdile pretpostavke dobijene HSM, DSC i TGA analizom da se KBZ nalazi u svim formulacijama SSNEDDS u kristalnoj formi i da verovatno tokom zagrevanja u nekim formulacijama dolazi do prelaska KBZ-a u amorfnu formu izvršena je PXRD analiza. Ova tehnika osim što predstavlja zlatni standard i tehniku izbora u utvrđivanju polimorfnih oblika KBZ, izvodi se na sobnoj temperaturi, pa je uticaj zagrevanja uzorka tokom analize isključen.

Slika 6 ilustruje PXRD difraktograme KBZ i odgovarajućih SSNEDDS. Na difraktogramu čistog KBZ uočavaju se visokointenzivni difrakcioni pikovi za sledeće 2θ uglove: 13,02, 15,22, 15,78, 19,40, 24,92, 27,50 i 31,86°, koji su u skladu sa literaturnim rezultatima karakterističnim za kristalni oblik III KBZ [7,27,28]. Očekivano je da se na difraktogramu nosača ne uočavaju nikakvi pikovi jer je sam nosač u amorfnom stanju.

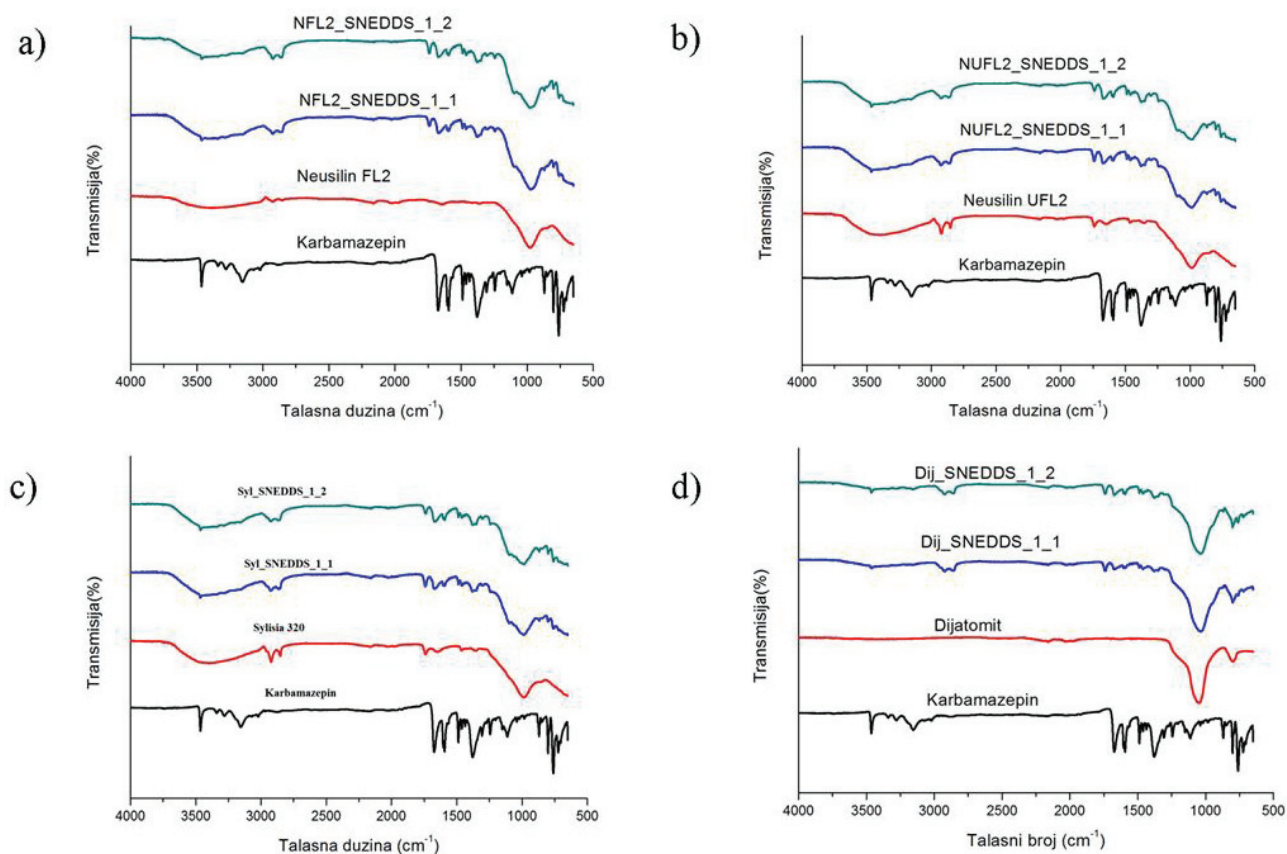
Svi karakteristični pikovi za polimorfni oblik III KBZ nalaze se i na difraktogramima svih izrađenih formulacija SSNEDDS, što ukazuje i potvrđuje pretpostavku da je KBZ u svim formulacijama ostao u polimorfnom obliku III.

Infracrvena spektrofotometrija sa Furijevom transformacijom (FTIR). Na slici 7 su prikazani spektri KBZ, adsorpcionih nosača i formulacija SSNEDDS. Spektar KBZ-a ukazuje da je on u polimorfnom obliku III. Na taj zaključak ukazuju karakteristične trake na 3462 (–NH valenciona vibracija), 1674 (–CO–R vibracija), 1593 i



Slika 6. PXR D difraktogrami KBZ i i formulacija sa: a) Neusilin® FL2, b) Neusilin® UFL2, c) Sylsya® 320 i d) diatomitima.

Figure 6. PXR D diffractograms of pure carbamazepine and formulations with: a) Neusilin® FL2, b) Neusilin® UFL2 c) Sylsya® 320 and d) diatomites.



Slika 7. FTIR spektri KBZ i i formulacija sa: a) Neusilin® FL2, b) Neusilin® UFL2, c) Sylysia® 320 i d) dijamitima.

Figure 7. FTIR spectra of pure carbamazepine and formulations with: a) Neusilin® FL2, b) Neusilin® UFL2 c) Sylysia® 320 and d) diatomites.

1605 cm^{-1} (opseg za -C=C- i -C=O vibraciju i -NH deformaciju) [7,27]. U svim formulacijama izrađenih SSNEEDS uočavaju se ove trake, što ukazuje da nije došlo do značajne interakcije između KBZ i nosača i da je KBZ ostao u polimorfnoj formi III.

Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM). Na slici 8 prikazane su SEM mikrofografije izrađenih formulacija pod različitim uveličanjem. Na svim mikrofografijama uočavaju se neravnine koje potiču od kristala samog KBZ.

ZAKLJUČAK

U ovom radu je pokazano da se tehnika eksperimentalnog dizajna, dizajna smeše, može koristiti sa velikom uspešnošću u odabiru tečnog samo-nanoemulgujućeg terapijskog sistema. Ova tehnika, u odnosu na standardnu korišćenu tehniku konstruisanja pseudo-ternernih faznih dijagrama u odabiru tečnog samo-emulgujućeg terapijskog sistema, daje niz prednosti u pogledu šireg opsega i odnosa komponenti sistema koje se ispituju, preciznijih i objektivnijih parametara koji se prate u odnosu na vizuelno praćenje promene sistema. Takođe, broj eksperimenata i utrošak korišćenih ekscipijenasa je daleko manji, pa je samim tim ušteda u vremenu i novcu velika.

Formulacijom čvrstih samo-nanoemulgujućih terapijskih sistema sa KBZ postignuto je značajno povećanje brzine rastvaranja KBZ u odnosu na čist KBZ i tablete KBZ sa trenutnim oslobađanjem. Najveća brzina rastvaranja KBZ postignuta je iz formulacije sa Sylysia® 320 i pri odnosu, adsorpcioni nosač:SNEDDS od 1:1. Iz ove formulacije je za 30 min oslobođeno oko 90% KBZ, dok je čistog KBZ za isto vreme oslobođeno svega 41%. Osim iz formulacija sa Sylysia® 320, značajno povećanje brzine oslobađanja KBZ je postignuto i iz formulacija u kojima je kao adsorbens korišćen Neusilin® UFL2, dok je nešto sporije oslobađanje KBZ postignuto korišćenjem Neusilin® FL2, ali ipak brže u odnosu na čist karbamazepin. U formulacijama SSNEEDS, iz kojih je postignuto najsporije oslobađanje karbamazeipina, kao adsorpcioni nosač korišćeni su dijamiti. Primenom analitičkih tehnika je utvrđeno da je KBZ u svim formulacijama SSNEEDS ostao u farmakološki najaktivnijem polimorfnom obliku III.

Dalja istraživanja bi treba da idu u formulaciji finalnog farmaceutskog oblika, tableta ili kapsula, kao i u proceni *in vivo* ponašanja formulisanog sistema.

Zahvalnica

Istraživanje je realizovano u okviru projekata TR 34007, koje finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije. Zahvalnost dugujemo i studentkinjama Ani Vuletić i Tijani Antić koje su nam pomogle u izvođenju dela eksperimenata.

LITERATURA

- [1] A.V. Kyatanwar, K. R. Jadhav, V. J. Kadam, Self Micro-Emulsifying Drug Delivery System (SMEDDS): Review, *Int. J. Pharm.* **3(1)** (2010) 75–83.
- [2] L.X. Yu, G.L. Amidon, J.E. Polli, H. Zhao, M.U. Mehta, D.P. Conner, V.P. Shah, L.J. Lesko, M.L. Chen, V.H. Lee, A.S. Hussain, Biopharmaceutics classification system: the scientific basis for biowaiver extensions, *Pharm. Res.* **19** (2002) 921–925.
- [3] P. Sudheer, N. Kumar, S. Puttachari, U. Shankar, R.S. Thakur, Approaches Development of Solid – Self Micron Emulsifying Drug Delivery System: Formulation Techniques and Dosage Forms – a review, *Asian J. Pharm. Life Sci.* **2** (2010) 214–225.
- [4] H. Ma, M. Chu, K. Itagaki, P. Xin, X. Zhou, D. Zhang, Y. Wang, J. Fu, S. Sun, Formulation and *in vitro* Characterization of a novel Solid lipid-based drug delivery system, *Chem. Pharm. Bull.* **62** (2014) 1173–1179.
- [5] M. Krstic, S. Razic, Lj. Djekić, V. Dobricic, M. Momcilovic, D. Vasiljevic, S. Ibric, Application of a Mixture Experimental Design in the Optimization of the Formulation of Solid Self-Emulsifying Drug Delivery Systems Containing Carbamazepine, *Lat. Am. J. Pharm.* **34** (2015) 885–894.
- [6] M. Milović, J. Đuriš, D. Vasiljević, Z. Đurić, S. Ibrić, Potencijalna primena surfaktantnih sistema u formulaciji farmaceutskih oblika sa teško rastvorljivim lekovitim supstancama, *Hem. Ind.* **66** (2012) 667–676.
- [7] M. Krstic, S. Razic, D. Vasiljevic, Dj. Spasojevic, S. Ibric, Application of experimental design in examination of the dissolution rate of carbamazepine from formulations. Characterization of the optimal formulation by DSC, TGA, FT-IR and PXRD analysis, *J. Serb. Chem. Soc.* **80** (2015) 209–222.
- [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] 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.
- [10] E.J. Acosta, T. Nguyen, A. Witthayapanyanon, J.H. Harwell, D.A. Sabatini, Linker-Based Bio-Compatible Microemulsions, *Enviro. Sci. Tech.* **39** (2004) 1275–1282.
- [11] F. Kesiosoglou, S. Panmai, Y.H. Wu, Application of nanoparticles in oral delivery of immediate release formulations, *Curr. Nanosci.* **3** (2007) 183–190.
- [12] M. Rosen, *Surfactants and Interfacial Phenomena*. 3rd ed., John Wiley & Sons. Hoboken, NJ, 2004.
- [13] Lj. Djekic, M. Primorac, Formulacija i karakterizacija samo-mikroemulgujućih nosača lekovitih supstanci na bazi biokompatibilnih nejonskih surfaktanata, *Hem. Ind.* **68** (2014) 565–573.
- [14] L. Eriksson, N. Johansson, C. Kettaneh-Wold, S. Wikström, S. Wold, *Design of Experiments: Principles and Applications*, 3rd ed., MKS Umetrics AB, Umea, 2008.
- [15] S. Mitchell, T. Reynolds, T. Dasbach, A compaction process to enhance dissolution of poorly water-soluble drugs using hydroxypropyl methylcellulose, *Int. J. Pharm.* **250** (2003) 3–11.
- [16] R. Talukder, C. Reed, T. Dürig, M. Hussain, Dissolution and Solid-State Characterization of Poorly Water-Soluble Drugs in the Presence of a Hydrophilic Carrier, *AAPS Pharm. Sci. Tech.* **12** (2011) 1227–1233.
- [17] A.P. Rogerio, C.L. Dora, E.L. Andrade, J.S. Chaves, L. Silva, E. Lemos-Senna, J.B. Calixto, Anti-inflammatory effect of quercetin-loaded microemulsion in the airways allergic inflammatory model in mice, *Pharm. Res.* **61** (2010) 288–297.
- [18] J.S. Yuan, M. Ansari, M. Samaan, E. Acosta, Linker-based lecithin microemulsions for transdermal delivery of lidocaine, *Int. J. Pharm.* **349** (2008) 130–143.
- [19] M. Milovic, J. Djuris, Lj. 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.
- [20] S. Hailu, R. Bogner, Complex Effects of Drug/Silicate Ratio, Solid-State Equivalent pH, and Moisture on Chemical Stability of Amorphous Quinapril Hydrochloride Coground with Silicates, *J. Pharm. Sci.* **100** (2011) 1503–1515.
- [21] Fuji Chemical Industry Co., Ltd. (2009). The Specialty Excipinet Neusilin®, dostupno na linku http://www.harke.com/fileadmin/images/pharma/Broschueren/Fuji_Neusilin.pdf (poslednji pristup 30.06.2015.).
- [22] <http://www.fujisilysia.com/products/sylysia/> (poslednji pristup 01.07.2015.).
- [23] M.S. Aw, S. Simović, Y. Yu, J. Addai-Mensah, D. Losic, Porous silica microshells from diatoms as biocarrier for drug delivery applications, *Powder. Technol.* **223** (2012) 52–58.
- [24] M.S. Aw, S. Simovic, J. Addai-Mensah, D. Losic, Silica microcapsules from diatoms as new carrier for delivery of therapeutics, *Nanomedicine* **6** (2011) 159–173.
- [25] V. Agarwal, A. Siddiqui, H. Ali, S. Nazzal, Dissolution and powder flow characterization of solid self-emulsified drug delivery system (SEDDS), *Int. J. Pharm.* **366** (2009) 44–52.
- [26] Z. Qi, D. Zhang, F. Chen, J. Miao, B. Ren, Thermal decomposition and non-isothermal decomposition kinetics of carbamazepine, *Russ. J. Phys. Chem., A* **88** (2014) 2308–2313.
- [27] A.L. Grzesiak, M. Lang, K. Kim, A.J. Matzeger, Comparison of the Four Anhydrous Polymorphs of Carbamazepine and the Crystal Structure of Form, *Int. J. Pharm. Sci.* **92** (2003) 2260–2271.

- [28] C. Rustichelli, G. Gamberini, V. Ferioli, M.C. Gamberini, R. Ficarra, S. Tommasini, Solid-state study of polymorphic drugs: Carbamazepine, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **23** (2000) 41–54.
- [29] Y. Kobayashi, S. Itai, K. Yamamoto, Physicochemical properties and bioavailability of carbamazepine polymorphs and dehydrate, *Int. J. Pharm.* **193** (2000) 137–146.

SUMMARY

APPLICATION OF MIXTURE EXPERIMENTAL DESIGN IN FORMULATION AND CHARACTERIZATION OF SOLID SELF-NANOEMULSIFYING DRUG DELIVERY SYSTEMS CONTAINING CARBAMAZEPINE

Marko Z. Krstić, Svetlana R. Ibrić

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

(Scientific paper)

One of the problems with orally used drugs is their poor solubility, which can be overcome by creating solid self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS). The aim is to choose the appropriate SNEDDS using mixture design and adsorption of SNEDDS on a solid carrier to improve the dissolution rate of carbamazepine. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) consisting of oil phase (caprylic-capric triglycerides), a surfactant (Polisorbat 80 and Labrasol® (1:1)) and cosurfactant (Transcutol® HP) are formed by applying mixture design. 16 formulations were formulated, where the proportion of lipids, surfactant and cosurfactant were varied (input parameters) in the following ranges: 10–30%, 40–60%, 30–50%, respectively. After dilution of SEDDS with water (90% water), the droplet size and polydispersity index (Pdl) of the obtained emulsions (output parameters) were measured using photon correlation spectroscopy. After processing data, appropriate mathematical models that describe the dependence of input and output parameters were selected. The optimized SNEDDS was adsorbed on the carbamazepine and solid carrier physical mixture, containing 20% carbamazepine. Neusilin® UF12, Neusilin® FL2, Sylysia® 320 and diatomite were used as the carriers. The ratio of SNEDDS:carrier was 1:1 or 2:1. Dissolution testing was carried out in the rotation paddles apparatus. Characterization of solid SNEDDS was performed using the hot stage microscopy (HSM), thermogravimetric analysis (TGA), differential scanning calorimetry (DSC), infrared spectrophotometry with Fourier transformation (FT-IR), scanning electron microscopy (SEM) and X-ray diffraction (PXRD). Selected SNEDDS consisting of lipids (21.12%), surfactant (42.24%) and cosurfactant (36.64%) had a droplet size 157.02 ± 34.09 nm and *Pdl* 0.184 ± 0.021 . Drug release profiles showed that in all formulations dissolution rate increased (the fastest drug release was observed in formulations with Sylysia® 320). It can be concluded that in all formulations carbamazepine is present in the thermodynamically most stable polymorphic form III. Formulation of solid SNEDDS can significantly increase dissolution rate of carbamazepine, with conservation of the polymorphic form III CBZ and potentially increased bioavailability.

Keywords: Dissolution rate • Mixture design • Polisorbat 80 • Labrasol® • Transcutol® HP • Neusilin® UF12 • Neusilin® FL2 • Sylysia® 320 • Diatomite • Carbamazepine