

OPTIMIZACIJA I KARAKTERIZACIJA D- α -TOKOFEROL NANOEMULZIJE

Ana Piškulić, Zrinka Badurina Huljev, Lela Munjas Jurkić,
Zdravka Knežević, Maša Safundžić Kučuk, Leo Štefan

JADRAN-GALENSKI LABORATORIJ d.d.,
Svilno 20, HR-51 000 Rijeka

UVOD

Suhu oko ili keraktokonjuktivitis sicca je multifaktorna bolest oka, a najčešće je uzrokovana okolišnim čimbenicima poput izloženosti onečišćenjima, UV zrakama i/ili kroničnom primjenom činičnih kapi s konzervansima kao npr. u terapiji glaukoma. Navedeni čimbenici potiču stvaranje reaktivnih kisikovih vrsta te povećavaju oksidacijski stres i upalu očne površine [1,2]. D- α -tokoferol (1) je antioksidans koji ima dokazani terapijski učinak, a lipidne emulzije s netopljivim D- α -tokoferolom opisane su u literaturi u terapiji suhog oka [3]. S ciljem postizanja optimalne dostave D- α -tokoferola i jednostavnijeg proizvodnog postupka, provedena je predformulacijska studija razvoja nanoemulzije s vodotopljivim 1 i neionskim emulgatorom u skladu s postavljenim QTPP [4] zahtjevima. Nanoemulzije su termodinamički stabilni sustavi, disperzije ulja u vodi (U/V) ili vode u ulju (V/U) stabilizirane surfaktantima i kosurfaktantima s veličinom kapljica 10 – 100 nm [5], a imaju sposobnost duljeg zadržavanja na površini oka [6].

PRIPREMA NANOEMULZIJE

Priprema nanoemulzija uključuje pripremu triju otopina. Otopina A dobiva se miješanjem natrijevog klorida, natrijevog-hijaluronata, trometamola, dinatrij-edetata, klorovodične kiseline i glicerola u pročišćenoj vodi. Otopina B sastoji se od D- α -tokoferola u formi TPGS 1 i Polisorbata 80®, dok se otopina C sastoji od lipidne faze koju sačinjava Koliphor 80® i ricinusovo ulje. Miješanjem otopina A, B i C i filtracijom kroz 0,2 μ m filter dobiva se opalescirajuća nanoemulzija koja se zatim dozira u HDPE bočicu s 3K pumpicom.



Slika 1. Otopina nakon sjednjenja otopina A, B i C.

OPTIMIZACIJA I KARAKTERIZACIJA Odabir surfaktanta

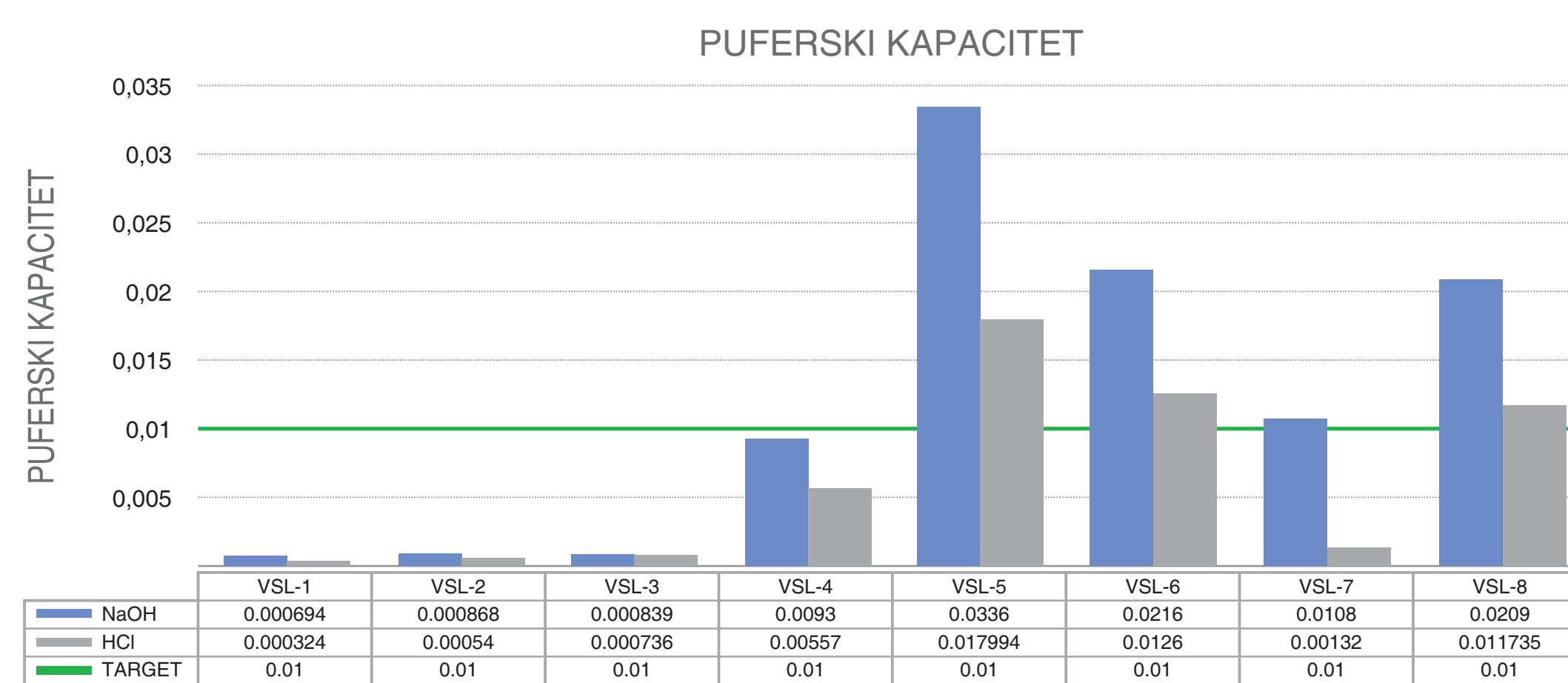
Kako bi se razvila stabilna nanoemulzija, nužno je odabrati odgovarajući surfaktant koji će „obložiti“ kapljice ulja i tako tvoriti stabilnu emulziju. Na temelju vizualnog izgleda formulacije i „cloud point“ testa (tablica 1) za izradu prototipova odabrana je kombinacija neionskih surfaktanata, Kolliphora RH40® i Polisorbata 80®.

Surfaktant	HLB	Vizualni izgled formulacije	Cloud point test 15% otopina surf.	Odabir
Polisorbat 80®	15	Mliječno bijela emulzija	73°C – „oblačić“ 85°C – zamućena otopina	✗
Kolliphor RH40®	15	Blago opalescirajuća emulzija	75°C – „oblačić“ 85°C – zamućena otopina	✗
Kolliphor RH40® + Polisorbat 80®	Udio Kolliphora x 15 + udio Polisorbata 80 x 15 = 15	Blago opalescirajuća emulzija	69°C – „oblačić“ 77°C – zamućena otopina	✓

Tablica 1. Odabir surfaktanta

Odabir puferskog sustava

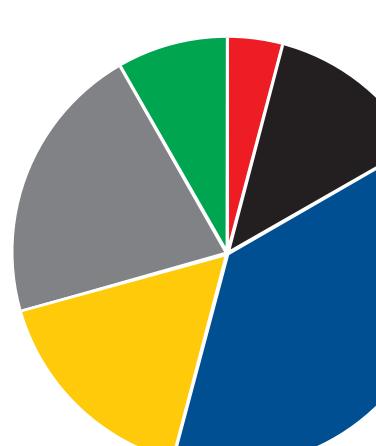
Puferski sustav u oftalmološkim formulacijama mora osigurati stabilan pH tijekom definiranog roka valjanosti, a pH mora biti u neutralnom području suzne otopine oka. Ispitana je upotreba nekoliko različitih puferskih sustava i pH područja (citratni puferi, boratni puferi i TrisHCl pufer). Nisu ispitani fosfatni puferi, iako su najstabilniji u ciljanom pH području, nisu prikladni za dugoročnu primjenu u oku zbog mogućih nuspojava. Na temelju ispitanih puferskih kapaciteta formulacija s različitim puferskim sustavima, odabran je TrisHCl pufer i pH područje 8,0 (slika 2). Za oftalmološke formulacije smatra se da je vrijednost puferskog kapaciteta jednaka ili veća od 0,01, optimalna da se osigura stabilan pH formulacije.



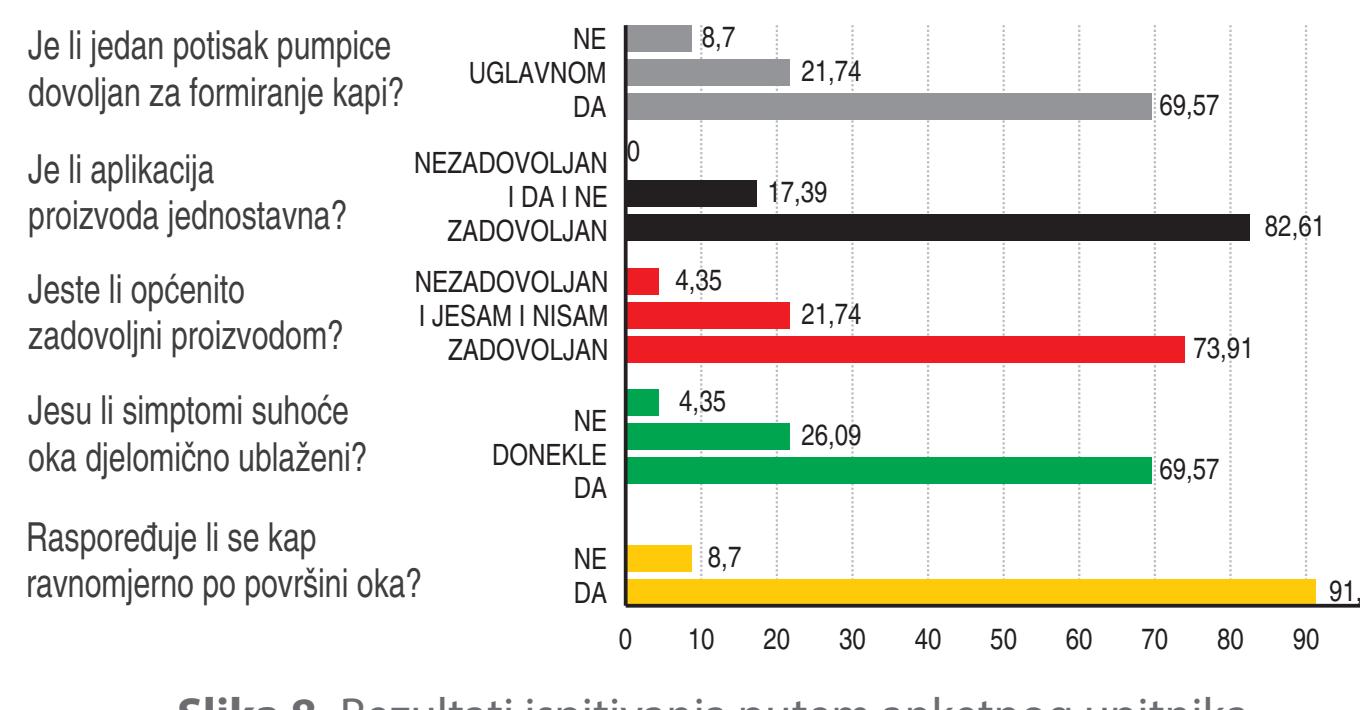
Slika 2. Puferski kapacitet formulacija s različitim puferskim sustavima (prikazan TrisHCl pufer).

Primjensko ispitivanje

Evaluacija prototipa formulacije VSL-524 s 0,5% trometamola provedena je na 27 ispitanika od čega su 24 pripadnici ženskog, a 4 muškog spola, dok je dobna raspodjela prikazana na sliči 7, a 85% ispitanika ima simptome suhog oka.



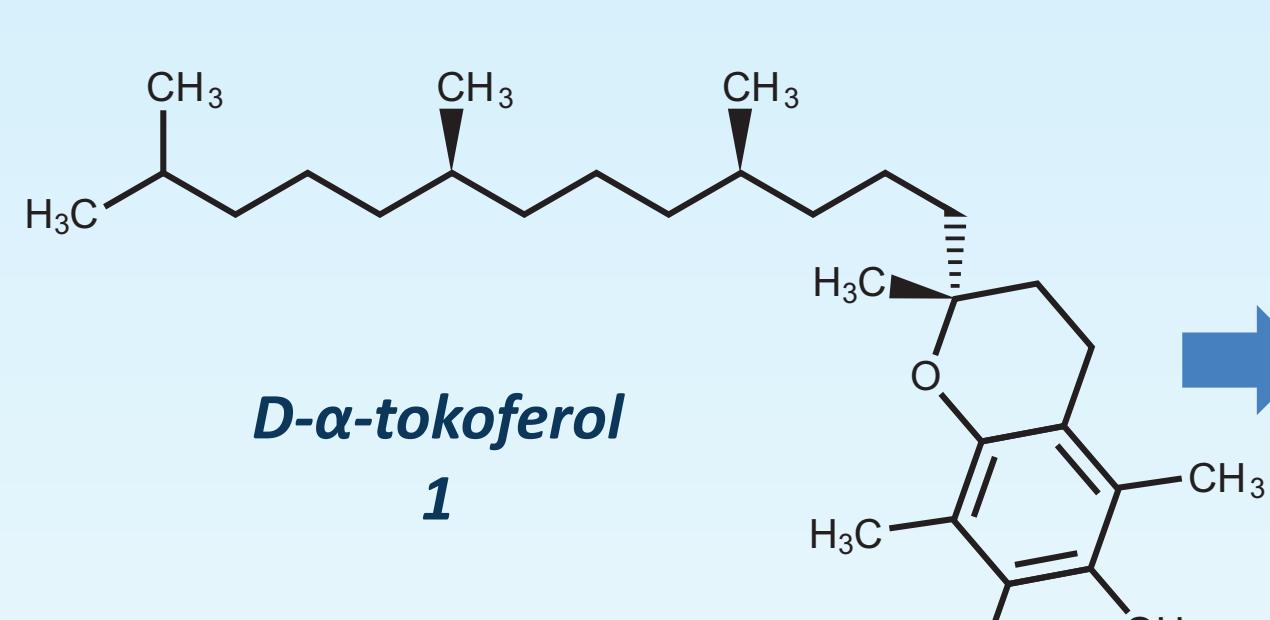
Slika 7. Dobna raspodjela među ispitanicima.



Slika 8. Rezultati ispitivanja putem anketnog upitnika.

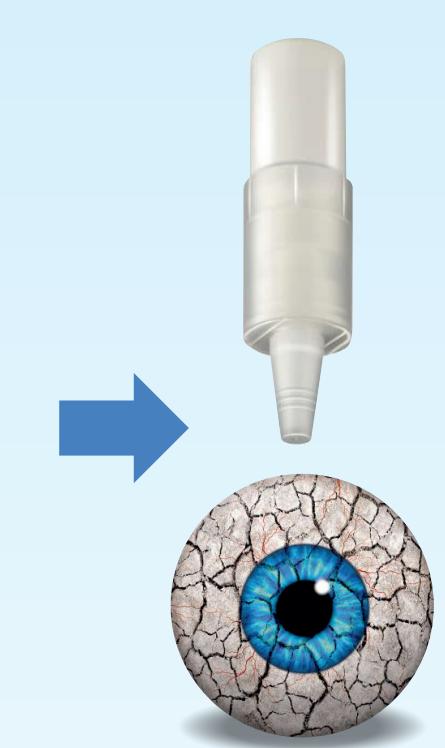
LITERATURA

- [1] S. Seen, L.Tong, Acta Ophthalmol. 96 (2018) 412-420.
- [2] K. Tsubota, et al. Ocul Surf. 15 (2017) 65–76.
- [3] J. Xin, et al. Drug Dev Ind Pharm. 42 (2016) 525-534.
- [4] J.N. Sangshetti, et al. Arab. J. Chem 10 (2017) 412-425.
- [5] V.Š. Chavda, Chapter 4 – Nanobased Nano drug delivery: A comprehensive review, Mico and Nano Technologies (2019)
- [6] R.G. Alany, R.G. J. Control. Release 111 (2016) 145–152.
- [7] D.A.H. Hanaor, et al. J. Eur. Ceram. Soc. 32 (2012) 235-244.



QTPP zahtjevi

pH 6,5-8,5
Osmolalnost 0,270-0,320 Osmol/kg
|zeta potencijal|>30mV
Indeks polidisperzije <0,7
Sadržaj D- α -tokoferola 80-120%
Veličina kapljica <100nm

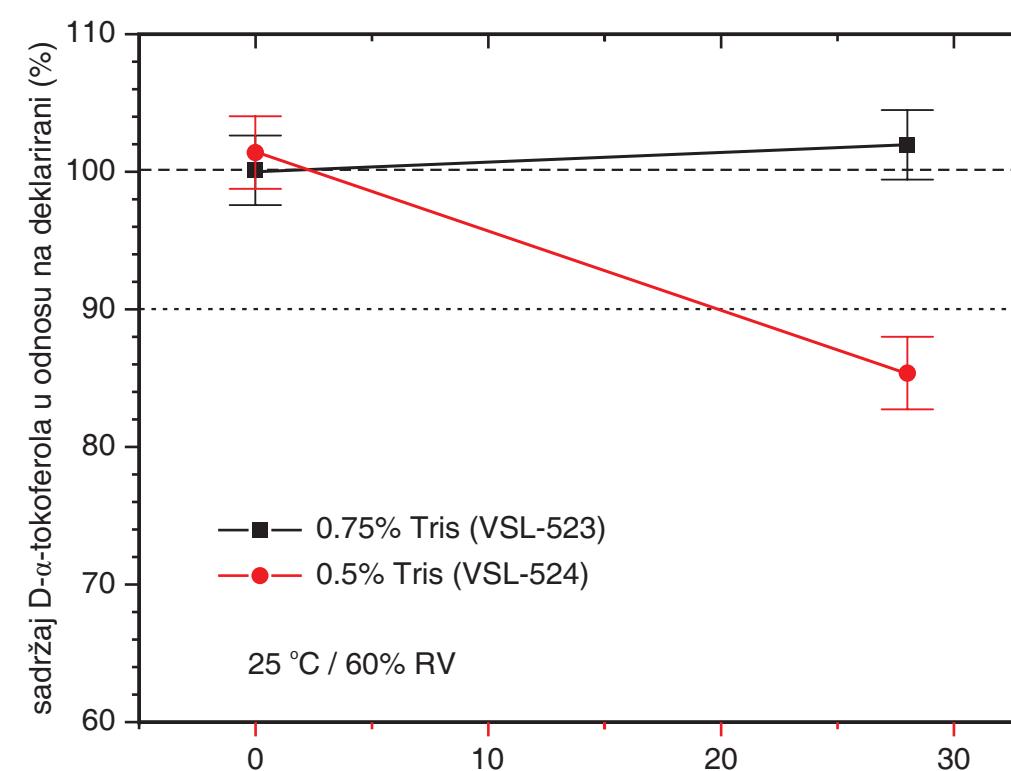


Stabilnost D- α -tokoferol nanoemulzija

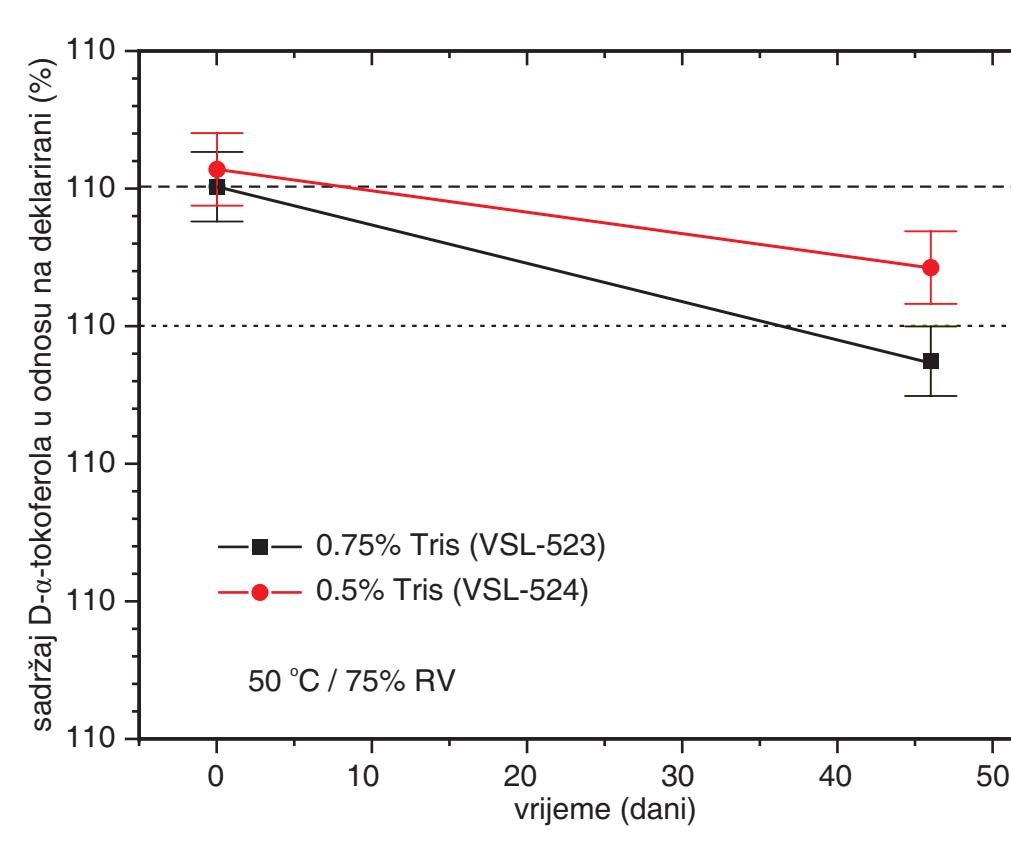
Provedene su studije stabilnosti prototipova VSL-523 (0,75% trometamola) i VSL-524 (0,5% trometamola) pri uvjetima 25°C/60%RV i 50°C/75%RV, a sumarni rezultati prikazani su u tablici 2. Parametri osobine, pH, osmolalnost i viskoznost nisu se značajno mijenjali tijekom 28 dana na oba navedena uvjeta. Zeta potencijal nalazi se unutar stabilnog područja (izvan ± 30 mV) [7].

Tablica 2. Sumarni prikaz rezultata ispitanih parametara na uvjetima 25°C/60%RV i 50°C/75%RV tijekom 28 dana.

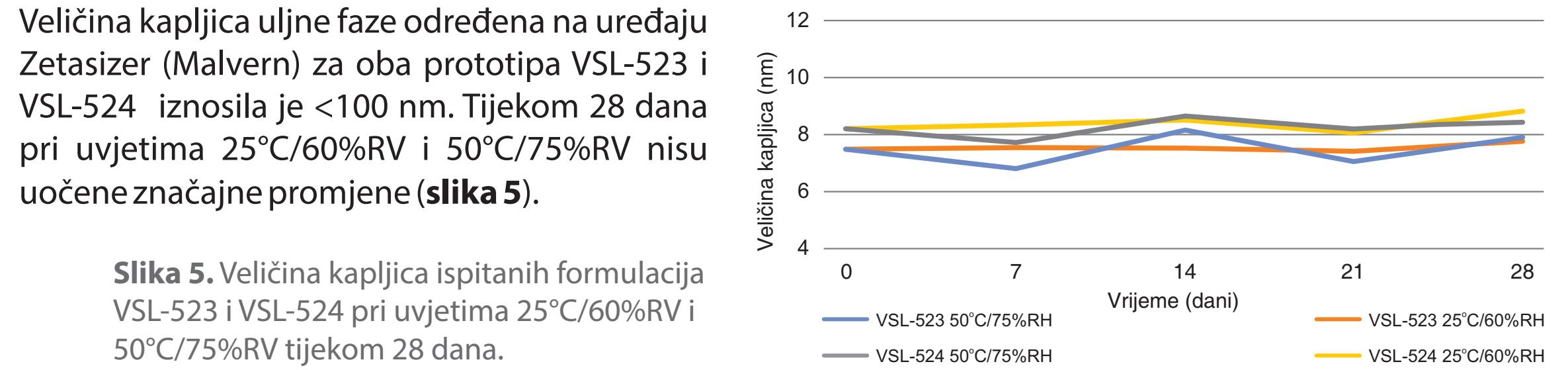
Parametar	Točka uzorkovanja	K.br. VSL-523		K.br. VSL-524	
		1 u formi TPGS 0,5%	Ricinusovo ulje 0,25%	1 u formi TPGS 0,5%	Ricinusovo ulje 0,25%
Osobine	T0	Trometamol 0,75%		Trometamol 0,5%	
	T28	HCl 3,66%		HCl 2,47%	
pH	T0	8,00		8,00	
	T28	7,95	7,94	7,97	7,92
Osmolalnost (osmol/kg)	T0	0,307		0,298	
	T28	0,306	0,306	0,297	0,298
Viskoznost (mPas)	T0	5,3		5,3	
	T28	5,2	4,6	5,1	4,6
Zeta potencijal (mV)	T0	-40,9		-44,8	
	T28	-47,3	-37,3	-33,5	-37,0
Indeks polidisperzije	T0	0,273		0,291	
	T28	0,323	0,287	0,294	0,296



Slika 3. Sadržaj 1 za dva ispitana prototipa VSL-523 (0,75% Tris) i VSL-524 (0,5% Tris) pri uvjetima 25°C/60%RV tijekom 28 dana, s označenom standardnom pogreškom.

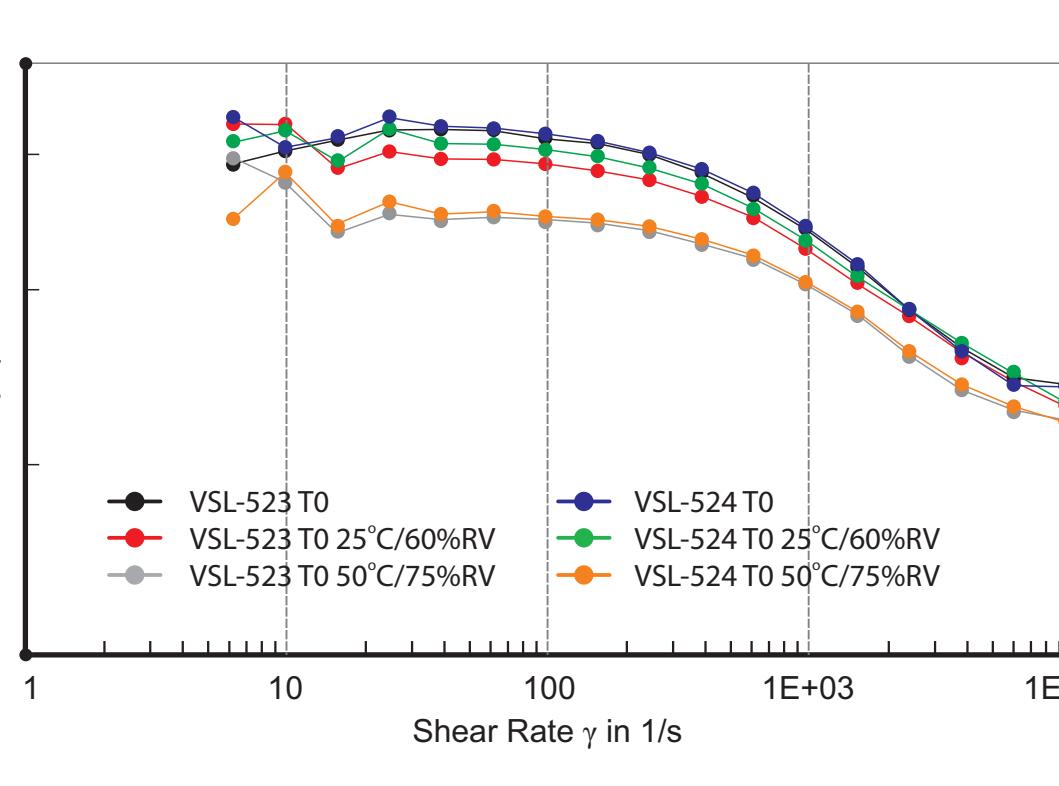


Slika 4. Sadržaj 1 za dva ispitana prototipa VSL-523 (0,75% Tris) i VSL-524 (0,5% Tris) pri uvjetima 25°C/60%RV tijekom 28 dana, s označenom standardnom pogreškom.



Veličina kapljica uljne faze određena na uređaju Zetasizer (Malvern) za oba prototipa VSL-523 i VSL-524 iznosila je <100 nm. Tijekom 28 dana pri uvjetima 25°C/60%RV i 50°C/75%RV nisu uočene značajne promjene (slika 5).

Slika 5. Veličina kapljica ispitanih formulacija VSL-523 i VSL-524 pri uvjetima 25°C/60%RV i 50°C/75%RV tijekom 28 dana.



Reološka karakterizacija (profil viskoznosti) oba prototipa provedena je na reometru MCR 102 (Anton Paar). Tijekom 28 dana pri uvjetu 25°C/60%RV nije uočena promjena u profilu viskoznosti za oba prototipa, dok je na uvjetu 50°C/75%RV uočen blagi pad viskoznosti, što je karakteristično za uvjet više temperature (slika 6).

Slika 6. Reogram ispitanih formulacija VSL-523 i VSL-524 pri uvjetima 25°C/60%RV i 50°C/75%RV tijekom 28 dana.

ZAKLJUČAK

Na temelju provedenih ispitivanja zaključeno je da oba prototipa formulacije D- α -tokoferol 1 nanoemulzije, rezultiraju stabilnim parametrima, ali je zbog manjeg udjela puferskog sustava, kao vodeća formulacija za daljnji razvoj odabrana formulacija VSL-524 s 0,5% trometamola.