

Ciklodekstrini u formulacijama nesteroidnih protuupalnih lijekova

Rogulj, Daniela; Jug, Mario

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2020, 76, 469 - 485**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:134775>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-06**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Ciklodekstrini u formulacijama nesteroidnih protuupalnih lijekova

DANIELA ROGULJ, MARIO JUG

Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet,

Zavod za farmaceutsku tehnologiju, A. Kovačića 1, 10 000 Zagreb, Hrvatska

Uvod

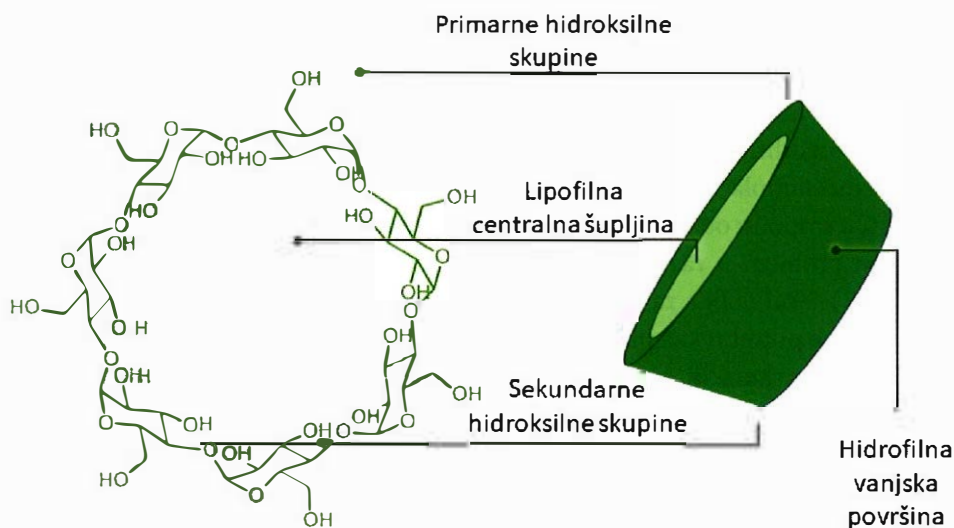
Nesteroidni protuupalni lijekovi (NSAID) su kemijski heterogena skupina lijekova koja dijeli sličan mehanizam djelovanja, indikacije i nuspojave. U kliničkoj se praksi najčešće koriste u liječenju akutne i kronične boli, vrućice, akutnih upalnih, ali i kroničnih bolesti kao što su reumatoidni artritis i osteoartritis. Široki raspon primjene posljedica je protuupalnog, antipiretskog i analgetskog učinka lijekova iz ove skupine. Nadalje, neki od njih se koriste u liječenju akutnog i kroničnog gihta, dok se acetilsalicilatna kiselina zbog svog antitrombotskog učinka u manjim dozama koristi i u prevenciji kardiovaskularnih bolesti. Posljednjih godina otkrivena je moguća antitumorska aktivnost NSAID i pogodan učinak u liječenju neurodegenerativnih bolesti. Njihova upotreba, posebice kronična, povećava se s dobi pacijenata pri čemu 10 do 40 % ljudi starijih od 65 godina koristi receptne ili bezreceptne NSAID (1). Većina NSAID, osim paracetamola i acetilsalicilne kiseline, su lipofilne slabe kiseline s pKa vrijednosti u rasponu od 3,5 do 4,5 s ograničenom topljivosti u vodi, što predstavlja značajan problem u razvoju optimalne formulacije te pridonosi nuspojavama lijeka (2,3). Kod oblika za oralnu primjenu niska topljivost u vodi često ograničava vrijeme potrebno za postizanje terapijski učinkovitih koncentracija NSAID u sistemskoj cirkulaciji, a produženi kontakt lijeka sa sluznicom probavnog sustava dovodi do iritacije i ulceracije, naročito u gornjem dijelu probavnog trakta (4). U isto vrijeme, niska topljivost NSAID ograničava razvoj i terapijsku učinkovitost oblika za parenteralnu i topikalnu primjenu lijeka, zahtijevajući primjenu različitih posrednika topljivosti kao što su suotapala i površinski aktivne tvari koji često uzrokuju iritacije na mjestu primjene (2,3). Ciklodekstrini (CD)

su multifunkcionalne pomoćne tvari s povoljnim utjecajem na topljivost, kemijsku stabilnost te bioraspoloživost i farmakokinetiku lijekova (5,6). Njihova sposobnost da poboljšaju biofarmaceutski značajne karakteristike lijekova ograničene topljivosti u vodi stvaranjem inkluzijskih kompleksa potakla je primjenu CD u razvoju novih formulacija NSAID (7), unaprijeđenih karakteristika u smislu poboljšane terapijske učinkovitosti i sa smanjenom učestalosti nuspojava.

Stoga, cilj ovog rada je prikazati prednosti primjene CD u razvoju formulacija NSAID te istaknuti njihov utjecaj na bioraspoloživost, brzinu nastupa analgetskog učinka, kemijsku stabilnost i podnošljivost pojedinih predstavnika navedene skupine lijekova. Osobita će se pažnja posvetiti usporedbi učinkovitosti i podnošljivosti CD formulacija pojedinih NSAID s konvencionalnim oblicima istih lijekova koji koriste druge pomoćne tvari i tehnologije oblikovanja.

Strukturne značajke CD

CD su skupina nereducirajućih cikličkih oligosaharida, koji su poznati više od 120 godina. Prirodni α CD, β CD i γ CD produkti su bakterijske razgradnje škroba, a građeni su od 6, 7 ili 8 α -1,4-vezanih D-glukopiranoza. U novije vrijeme sintetizirani su mali CD građeni od 3 ili 4 D-glukopiranoza, a poznati su i veliki CD građeni od više od 8 glukopiranoznih jedinica, no njihov potencijal primjene u suvremenoj farmaceutici se još istražuje (6). Svojom strukturom CD nalikuju na krnji stožac s centralnom šupljinom (slika 1.). Hidroksilne skupine



Slika 1. ► Shematski prikaz strukture molekule β CD

glukopiranoznih jedinica su orijentirane prema vanjskoj površini molekule, dajući joj hidrofilni karakter. Pri tome, primarne hidroksilne skupine su orijentirane prema užem kraju stošca, a sekundarne skupine se nalaze na širem kraju molekule. Centralna šupljina molekule omeđena je ugljikovim skeletima glukopiranoza, što joj daje lipofilni karakter koji svojom polarnosti odgovara onoj razrijeđenog etanola, a njen volumen je određen brojem glukopiranoza u strukturi CD (tablica 1.) (8).

Tablica 1. ► Fizikalno-kemijske karakteristike farmaceutski značajnih ciklodekstrina (6,8,9).

Derivat	Broj glukopiranoznih jedinica u molekuli CD	Promjer centralne šupljine CD (Å)	Prosječni broj supstituenata u molekuli CD	Molekulska masa (Da)	Topljivost u vodi pri 25 °C (mg/mL)	Log $P_{w/o}$	Površinska napetost (mN/m)
α -ciklodekstrin (α CD)*	6	4,5–5,3	–	972	145	–13	71
β -ciklodekstrin (β CD)*		6,0–6,5	–	1135	18,5	–14	71
nasumično metilirani β -ciklodekstrin (RAMEB)**			9,7–13,6	1312	>500	–	62
dimetil- β -ciklodekstrin (DIMEB)	7	5,8–6,5	12–16	1331	570	–6	57,5–54,1
2-hidroksipropil- β -ciklodekstrin (HP β CD)**			2,8–10,5	1400	>1200	–11	54,8–57,5
sulfobutil- β -ciklodekstrin (SBE β CD)**			6,2–6,9	2163	>1200	–10	71
γ -ciklodekstrin (γ CD)*			–	1297	232	–17	71
2-hidroksipropil- γ -ciklodekstrin (HP γ CD)**	8	7,5–8,3	3,0–5,4	1576	800	–13	71

* prirodni CD nastali enzimskom razgradnjom škroba

** kemijski modificirani derivati prirodnih CD

Stvaranje inter- i intra-molekularnih vodikovih veza između C2 i C3 hidroksilnih skupina susjednih glukopiranoznih jedinica smanjuje interakciju CD s molekulama vode u otopini te pridonosi stvaranju vrlo stabilne kristalne rešetke. Zbog toga prirodni ciklodekstrini i osobito β CD pokazuju manju topljivost u vodi u odnosu na odgovarajuće linearne maltodekstrine. Supstitucija hidroksilnih skupina na molekuli CD sprečava nastajanje navedenih veza i rezultira značajnim povećanjem topljivosti takvog derivata u vodi. Posljedično, sintetizirani su mnogobrojni derivati CD (6,8), a lista farmaceutski značajnih CD prikazana je u tablici 1. i obuhvaća hidrofilne derivate, dok lipofilni CD nisu od farmaceutskog značaja. Pri tome, za postizanje optimalne topljivosti i sposobnosti stvaranja inkluzijskih kompleksa, nužno je da broj supstituiranih -OH skupina po glukopiranoznoj jedinici bude nizak.

Metabolizam i sigurnost primjene CD

Nakon oralne primjene, γ CD i njegovi derivati se u potpunosti razgrađuju u probavnom sustavu djelovanjem salivarnih i pankreatičnih α -amilaza. Nasuprot tome, α CD, β CD i njihovi hidrofilni derivati su otporni na djelovanje α -amilaza te se razgrađuju djelovanjem bakterijskih enzima u kolonu. Visoka molekulska masa, veliki broj skupina s potencijalom stvaranja vodikove veze i naglašena hidrofilnost ograničavaju intestinalnu permeabilnost CD (6). Sve navedeno pridonosi ograničenoj oralnoj apsorpciji CD u ljudi i životinja, koja iznosi svega 0,1 do 3 % primijenjene doze. Zbog toga su CD praktički netoksični oralnom primjenom. Preporučena ukupna dnevna doza α CD, β CD, γ CD i HP β CD doseže 6g/dan, 0,5g/dan, 10 g/dan i 8g/dan, dok primjena viših doza dovodi do diareje, s obzirom na osmotsku aktivnost CD (10). Nasuprot tome, RAMEB zbog nešto veće lipofilnosti karakteriziran je oralnom bioraspodjelivosti od 12 %. Prirodni α CD i β CD nisu prikladni za parenteralnu primjenu zbog nefrotoksičnosti, dok od hidrofilnih derivata metilirani CD kao površinski aktivne tvari uzrokuju značajnu hemolizu (8). HP β CD, SBE β CD, γ CD i HP γ CD sigurni su za parenteralnu primjenu, pri čemu pokazuju nizak volumen distribucije i brzu eliminaciju glomerularnom filtracijom u bubregu. Farmakokinetičke studije pokazuju da se više od 90 % parenteralno primijenjene doze HP β CD i SBE β CD eliminira iz tijela unutar 6 sati te više od 99,9 % nakon 24 sata, uslijed čega kod pojedinaca s normalnom bubrežnom funkcijom ne postoji opasnost od akumulacije kroničnom primjenom. Međutim, kod bolesnika s klirensom kreatinina <10 mL/min, postoji opasnost od akumulacije CD, čiji klinički značaj tek treba ispitati (6). Moguća je primjena hidrofilnih CD u širokom rasponu koncentracija na nazalnu, bukalnu, vaginalnu i rektalnu sluznicu, dok u slučaju RAMEB, primijenjena

koncentracija (~5 %) i vrijeme izloženosti trebaju biti ograničeni. Prirodni CD i njihovi hidrofilni derivati ne apsorbiraju se u značajnijem opsegu putem kože (0,02 % i 0,3 % primijenjene doze za HP β CD i RAMEB) te ne uzrokuju iritaciju kože. Međutim, kod okluzivnih uvjeta transdermalna apsorpcija CD može biti značajnija (10).

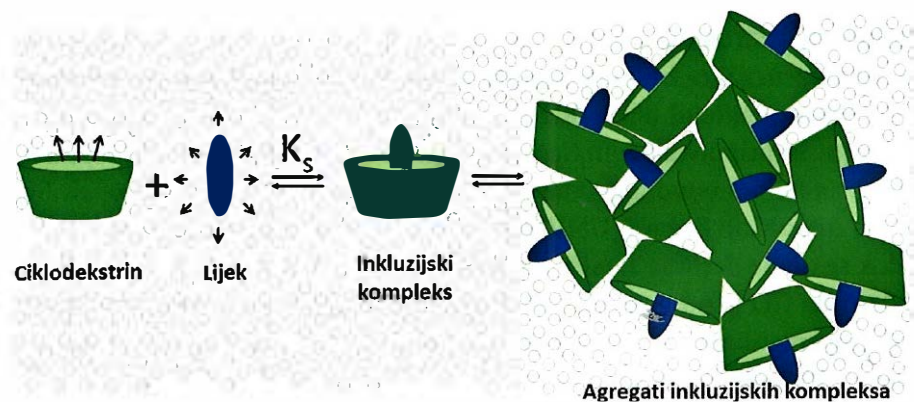
Regulatorni status CD

Američka agencija za hranu i lijekove (engl. *Food and Drug Administration*, FDA) svrstava prirodni α CD, β CD i γ CD u tvari koje su općenito prepoznate kao sigurne za primjenu (engl. *Generally Recognised as Safe*, GRAS), a zajedno s HP β CD su opisani u monografijama Europske farmakopeje i Farmakopeje Sjedinjenih Američkih Država (USP/NF). SBE β CD je opisan monografijom u USP/NF, dok se ostale derivate smatra srodnim tvarima. Glavni regulatorni problem kod derivata CD je homogenost produkta, odnosno njegova izomerna čistoća. Primjerice, metilirani derivati β CD su komercijalno dostupni u izomernoj čistoći od 50 %, 80 % ili 95 %, no 100 % čist 2,6-dimetil- β CD nije dostupan (8). U Europskoj uniji dozvoljena je uporaba β CD kao prehranbenog aditiva (E459) s preporučenim dnevnim unosom od 5mg/kg/dan (8,10). U pravilu, CD se smatraju pomoćnim tvarima te su β CD, HP β CD, SBE β CD, γ CD i HP γ CD navedeni na FDA listi pomoćnih tvari (engl. *FDA's list of Inactive Pharmaceutical Ingredients*) (11). Međutim, prilikom podnošenja Zahtjeva za izdavanje odobrenja za stavljanje gotovog lijeka u promet za formulaciju u kojoj se pojedini CD primjenjuje na ljudima prvi put, potrebno je, kao i u slučaju djelatne tvari, podastrijeti opsežne dokaze o neškodljivosti i sigurnosti primjene za korišteni CD. Od toga se može odstupiti samo ukoliko je taj CD već ranije korišten u registriranom lijeku s istim putem primjene i u istoj koncentraciji (8).

Nastajanje inkluzijskih kompleksa

Inkluzijski kompleksi nastaju ireverzibilnim uklapanjem teško topljivog lijeka ili češće sterički kompatibilne lipofilne skupine lijeka u centralnu šupljinu molekule CD (Fig. 2). Pri tome dolazi do oslobađanja energijom bogatih molekula vode iz centralne šupljine CD te uspostavljanja niza interakcija između lijeka i CD, kao što su vodikove veze, van der Waals veze i hidrofobne interakcije, kao i ionske veze u slučaju nabijenih lijekova i CD derivata. Sve navedeno pridonosi steričkoj i termodinamičkoj stabilizaciji sustava, zbog čega inkluzijski kompleksi nastaju spontano u vodenom mediju. Pri tome ne dolazi do pucanja ili stvaranja kovalentnih veza (5,8). Nastajanje inkluzijskog kompleksa je reverzibilan proces karakteriziran uspostavljanjem dinamičke ravnoteže između asocijacije i disocijacije

kompleksa (slika 2.). Taj proces opisuje se konstantom stabilnosti kompleksa (K_s), čija vrijednost varira u rasponu od 2 M^{-1} (fenofibrat) do $40\,000 \text{ M}^{-1}$ (telmisartan) (8). Najčešće nastaju ekvimolarni kompleksi, ali opisani su i kompleksi višeg reda u kojemu je jedna molekula lijeka uklopljena u 2 ili više CD (6).



Slika 2. ► Shematski prikaz nastajanja inkluzijskih kompleksa i postupka njihove agregacije u otopini.

γ CD i ostali prirodni CD se u vodenom mediju samoorganiziraju u agregate (12). Nastajanje agregata je dodatno potencirano nastajanjem inkluzijskih kompleksa (slika 2.), uslijed čega kemijski modificirani CD, koji samostalno ne pokazuju sklonost agregaciji, stvaraju agregate, zbog amfipatske strukture nastalih kompleksa. Nastajanje agregata treba uzeti u obzir prilikom razvoja tekućih pripravaka za topikalnu primjenu s visokom koncentracijom CD, s obzirom da može utjecati na fizikalno-kemijska svojstva i učinkovitost oblika.

Apsorpcija putem bioloških membrana i vezanje na odgovarajući receptor su ključni koraci koji određuju terapijsku učinkovitost lijeka. Stoga, nakon primjene u obliku inkluzijskog kompleksa, lijek se najprije mora osloboditi iz kompleksa, s obzirom da CD ograničavaju transport lijeka kroz biološke membrane te sterički ometaju vezanje lijeka s receptorom. Oslobođanje lijeka iz kompleksa događa se uglavnom uslijed razrjeđenja pripravka do kojeg dolazi nakon oralne ili parenteralne primjene. Nadalje, ostali mehanizmi, kao što su vezanje lijeka za proteine plazme, kompeticija lijeka i žučnih soli u probavnom sustavu te razdjeljivanje lijeka u tkiva će također pridonijeti disocijaciji kompleksa. U pravilu, oralnom i parenteralnom primjenom dolazi do brzog i potpunog oslobađanja lijeka iz kompleksa, dok nastajanje izrazito stabilnih kompleksa ($K_s > 10^5 \text{ M}^{-1}$) može utjecati na farmakokinetiku lijeka nakon parenteralne primjene. Kod topikalne

primjene razrjeđenje pripravaka je ograničeno te CD mogu nepovoljno utjecati na lokalnu apsorpciju i učinak lijeka. Zbog toga, u razvoju topikalnih pripravaka primjenom CD treba izbjegavati uporabu izrazito visokih koncentracija CD (8,13).

Nastajanje inkluzijskih kompleksa povećava topljivost, poboljšava brzinu otapanja, kemijsku stabilnost i bioraspodivnost različitih lijekova, čineći multifunkcionalnu tehnološku platformu koja može pridonijeti terapijskoj učinkovitosti i sigurnosti primjene različitih lijekova, naročito jer CD smanjuju iritaciju i ostale nuspojave lijekova, pridonose apsorpciji lijeka putem bioloških membrana, sprečavaju inkompatibilnosti u formulaciji, mijenjaju nepovoljna organoleptička svojstva lijeka te čak prevode tekućine i hlapljive tvari u tehnološki prihvatljivije praške dobrih nasipnih karakteristika. Zahvaljujući svojoj multifunkcionalnosti, CD imaju naglašeni potencijal primjene u razvoju novih lijekova, uključujući reformulaciju postojećih lijekova, omogućavajući nove putove njihove primjene. U nekim slučajevima, dodatak polimera, organskih kiselina, metalnih iona ili lipida mogu pojačati funkcionalnost CD nastajanjem ternarnih kompleksa (5,6,8). Trenutno, CD su korišteni u razvoju otprilike 56 oblika lijekova koji se nalaze u kliničkoj primjeni diljem svijeta, a veliki broj formulacija se nalazi u naprednim fazama kliničkih istraživanja. Međutim, mogućnosti primjene CD prelaze te okvire s obzirom da pokazuju značajan potencijal primjene u razvoju suvremenih nosača lijekova nanometarskih dimenzija, genskoj terapiji i tkivnom inženjeringu te razvoju inovativnih biosenzora za molekularnu dijagnostiku (9).

CD u oftalmičkim oblicima NSAID

Diklofenaknatrij se zahvaljujući izraženom protuupalnom djelovanju primjenjuje oftalmički kao 0,1 % otopina za različite indikacije, uključujući inhibiciju perioperativne mioze tijekom kirurškog liječenja katarakte te za ubrzavanje postoperativnog oporavka nakon zahvata kao što su operacija katarakte, argonska laserska trabekuloplastika, operacija strabizma, radijalna keratotomija ili nakon slučajne neprobojne traume oka. Primjenjuje se i za ublažavanje simptoma sezonskog alergijskog konjunktivitisa. S druge strane, analgetskim djelovanjem uspješno smanjuje bol u stanjima kao što su fotorefraktivna keratektomija i erozija rožnice (14). Zahvaljujući izraženom protuupalnom učinku i većoj sigurnosti primjene, diklofenaknatrij uspješno zamjenjuje topikalne kortikosteroide u liječenju upalnih procesa na oku, s obzirom na brojne nuspojave povezane s topikalnom oftalmičkom primjenom kortikosteroida, kao što su povećanje očnog tlaka, odgođeno cijeljenje rana i povećanje rizika od infekcija. U svijetu su registrirane mnogobrojne formulacije diklofenaknatrija za oftalmičku upotrebu, koje se međusobno razlikuju s obzirom na sastav formulacije, u prvom redu s obzirom na pomoćne tvari za osiguravanje topljivosti lijeka i konzervanse.

Prvi registrirani oblici kapi za oči s diklofenaknatrijem razvijeni su korištenjem makrogolricinoleata kao solubilizatora te su konzervirani tiomersalom, čija je oftalmička primjena povezana s različitim reakcijama hipersenzibilnosti, kao što je kontaktni dermatitis, folikularni konjunktivitis i keratokonjunktivitis (15). Oftalmička primjena formulacija konzerviranih tiomersalom posebice je rizična u bolesnika s dijabetesom i sindromom suhog oka te nakon oftalmičkih operacija zbog povećane osjetljivosti površine oka. Zbog toga su danas dostupne očne kapi diklofenaknatrija u kojima je tiomersal zamijenjen sorbinskom kiselinom (Naclof[®], kapi za oči otopina, Excell Vision) ili pripravci bez konzervansa u jednodoznim spremnicima (Voltarol Ophtha[®] Unit Doses, Thea Pharmaceuticals Ltd). Primjenom HP γ CD osigurano je otapanje terapijski učinkovite doze diklofenaknatrija u volumenu prikladnom za oftalmičku primjenu (Voltaren Ophtha CD[®], Novartis i Voltarol Ophtha, Thea Pharmaceuticals), čime su iz formulacije izostavljeni tenzidi kao što su makrogolgličeroi ricinoleat i polioksil-35-ricinusovo ulje, koji su prepoznati kao potencijalni iritansi oka. Osim toga, nastajanje inkluzijskog kompleksa omogućilo je konzerviranje pripravka fiziološki podnošljivijim benzalkonijevim kloridom, koji je kao slaba baza kemijski inkompatibilan s djelatnom tvari (14). Klinička ispitivanja su pokazala da je formulacija diklofenaknatrija s CD terapijski ekvivalentna onoj baziranoj na tenzidima, uz značajno smanjenje učestalosti iritacije nakon kronične primjene (15). To se, osim primjeni fiziološki podnošljivijeg konzervansa, može pripisati i CD posredovanom smanjenju lokalnih toksičnih učinaka koje diklofenaknatrij kao slaba kiselina uzrokuje u kontaktu sa sluznicom oka (16).

Očne kapi s indometacinom (Indocollyre[®], 1 mg/mL otopina, Laboratoire Chauvin) razvijene su primjenom HP β CD (omjer lijeka i CD 1:10) koji djeluje kao solubilizator te zajedno s kiselim pH pripravaka osigurava kemijsku stabilnost lijeka u otopini (17). Indikacije pripravka su istovjetne kao i za očne kapi s diklofenaknatrijem, no podaci o njihovoj kliničkoj učinkovitosti i sigurnosti primjene su ograničeni.

Brojna pretklinička istraživanja su dokazala značajan potencijal primjene CD u razvoju oftalmičkih otopina s ostalim NSAID, kao što su flurbiprofen i piroksikam, pri čemu su CD osim za osiguravanje topljivosti djelatne tvari pokazali učinkovitost u smanjenju oftalmičke iritacije uzrokovane NSAID, povećanju njihove transkornealne apsorpcije te sprečavanju njihove inkompatibilnosti s benzalkonijevim kloridom (18). Stoga možemo očekivati povećanje broja registriranih oftalmičkih pripravaka NSAID razvijenih primjenom CD u kliničkoj praksi.

CD u oblicima za parenteralnu primjenu NSAID

Diklofenaknatrij je jedan od najpropisivanijih NSAID u svijetu. Nastajanje inkluzijskih kompleksa s HP β CD povećava topljivost lijeka otprilike 7,5 puta, omogućavajući razvoj stabilnih vodenih otopina prikladnih za subkutanu, intramuskularnu i intravensku primjenu (19). Ranije dostupna parenteralna formulacija diklofenaka (Voltarol® Ampule, Novartis) razvijena je korištenjem polietilenglikola i benzilnog alkohola kao suotapala, a sadržavala je dozu od 75 mg lijeka u 3 mL pripravka. Ova otopina je prikladna isključivo za intramuskularnu primjenu, a prije intravenske primjene nužno ju je razrijediti sa 50 ili 100 mL fiziološke otopine natrijeva klorida ili glukoze, uz puferiranje dodatkom natrijevog bikarbonata, nakon čega je moguća njena primjena 30 minutnom intravenskom infuzijom. Međutim, pri tome postoji opasnost od precipitacije lijeka zbog smanjenja količine suotapala uslijed razrjeđenja što može uzrokovati ozbiljne i po život opasne nuspojave (7). Primjenom HP β CD razvijene su parenteralne formulacije diklofenaka koje sadrže istovjetnu dozu lijeka u značajno manjem volumenu pripravka (75 mg diklofenaknatrija u 1 ili 2 mL pripravka) te se mogu izravno primijeniti kao intravenska bolus injekcija, osiguravajući postizanje analgetskog učinka u značajno kraćem vremenu u odnosu na infuziju Voltarola (20), uz istovjetno trajanje analgetskog učinka za oba tipa pripravka. Pri tome formulacija s HP β CD pokazuje značajno manju učestalost tromboflebitisa od 1,2 % u odnosu na 6,8 % za Voltarol® (21). Bioraspoloživost formulacije je ekvivalentna Voltarolu, bez obzira je li primijenjena kao intramuskularna ili intravenska injekcija. Intravenska primjena HP β CD parenteralne formulacije diklofenaknatrija u obliku bolus injekcije omogućuje postizanje 3,8 puta veće maksimalne plazmatske koncentracije lijeka (c_{max}) u 10 puta kraćem vremenu u odnosu na 30 minutnu infuziju Voltarola (0,05 odnosno 0,5 sati), što pridonosi klinički značajno bržem nastupu analgetskog djelovanja lijeka kada je primijenjen kao formulacija s HP β CD, bez povećanog rizika od nuspojava. Farmakokinetički parametri nakon jednokratne i uzastopne primjene su usporedivi. Odsustvo akumulacije uzastopnom primjenom i linearna farmakokinetika formulacije diklofenaka s HP β CD osigurava mogućnost primjene u bolesnika s kompleksnim analgetskim režimom ili onih koji primaju multimodalnu analgeziju (20). Intravenska primjena diklofenaknatrija s HP β CD nije povezana s povećanim rizikom od razvoja kardiovaskularnih nuspojava ukoliko se primjenjuje kraće od 5 dana kao analgetska terapija bolesnicima nakon ortopedskih zahvata te kirurških zahvata u abdomenu i zdjelici (22). Nadalje, kratkotrajna primjena ovog pripravka, tipična za akutni tretman postoperativne boli, u bolesnika s normalnom bubrežnom funkcijom ne nosi dodatni rizik od oštećenja bubrežne funkcije (23). Blaga do umjerena

bubrežna i jetrena insuficijencija ne utječe značajnije na farmakokinetiku lijeka nakon jednokratne primjene, dok se kod bolesnika s blagom do umjerenom bubrežnom insuficijencijom opaža smanjeni klirens HP β CD kod uzastopne primjene. S obzirom da pripravak sadrži relativno male količine HP β CD (~0,3 g), njegove koncentracije kod bolesnika s ograničenom funkcijom bubrega su značajno niže od onih koje se povezuju s potencijalno toksičnim učincima. Iz toga proizlazi da se intravenska formulacija diklofenaknatrija s HP β CD može primjenjivati bolesnicima s blagom do umjerenom insuficijencijom bubrega i jetre u uobičajenom terapijskom režimu, bez potrebe za redukcijom doze (24). U SAD je parenteralna formulacija HP β CD-diklofenaknatrija (Dyloject[®], Pfizer) registrirana kao monoterapija za liječenje blage do umjerene boli, a u kombinaciji s opioidnim analgeticama za liječenje jake boli. Preporučena doza je 37,5 mg, primijenjena kao bolus injekcija tijekom 15 s svakih 6 sati, a maksimalna dnevna doza ne smije prijeći 150 mg. U Europskoj uniji, parenteralni HP β CD-diklofenaknatrij je dostupan kao Akis[®] (Flynn Pharma) i sadrži 75 mg lijeka u 1 mL pripravka, koji je prikladan za intramuskularnu ili subkutanu primjenu za liječenje akutne boli. Ista formulacija može se primijeniti i kao intravenska bolus injekcija za liječenje postoperativne boli u bolničkom okruženju. Osim toga, u Europskoj uniji je odobren i Dicloin[®], otopina za injekciju s HP β CD (IBSA), koji je dostupan u rasponu doza od 25, 50 i 75 mg/mL, a indiciran je samo za subkutanu ili intramuskularnu primjenu (25). Novija klinička istraživanja pokazuju da se Akis[®]/Dicloin[®] može primijeniti i kao lokalna submukozna injekcija prije kirurškog vađenja umnjaka, odmah nakon primjene lokalne anestezije. Primjenom doza u rasponu od 5 do 50 mg postiže se značajno bolja kontrola boli prvih 6 sati nakon zahvata, čime se smanjuje potreba za oralnom primjenom analgetika. Zanimljivo, lokalnom primjenom doze od 5 mg postiže se značajno bolji analgetski učinak nego primjenom viših doza od 12,5 i 25 mg diklofenaka (26).

CD u oblicima za oralnu primjenu NSAID

Piroksikam je nesteroidni protuupalni lijek koji se primjenjuje za simptomatsko liječenje bolesnika s kroničnim reumatskim bolestima kod kojih je potrebna protuupalna i/ili analgetska terapija, a njegova primjena često je praćena gastrointestinalnim nuspojavama kao što su ulcerozni stomatitis, nelagoda u abdomenu, mučnina, povraćanje, konstipacija, dispepsija, nadutost, proljev, bol u abdomenu, indigestija te egzacerbacija ulceroznog kolitisa i Crohnove bolesti, s većom učestalošću kod dugotrajne primjene i starijih bolesnika koji najčešće i pate od bolesti za čije je liječenje indiciran piroksikam. Pripremom inkluzijskog kompleksa s β CD u omjeru lijeka i CD 1:2,5 kristalični piroksikam prelazi u

amorfni produkt koji zbog naglašenog hidrofilnog karaktera pokazuje značajno povećanu topljivost i brzinu otapanja *in vitro* i *in vivo*. Taj se kompleks priprema primjenom superkritične CO₂ tehnologije, čime se u potpunosti izbjegava potreba za uporabom potencijalno toksičnih organskih otapala, a dostupan je od 1988. godine na tržištu kao Brexin® ili Cicladol® (Chiesi Farmaceutici). Riječ je o prvom oralnom pripravku baziranom na CD na europskom tržištu, a osim u obliku oralnih tableta, praška za oralnu otopinu i šumećih tableta, dostupan je i u obliku supozitorija (27). Klinička ispitivanja su pokazala da povećana brzina otapanja kompleksa kod Brexin® tableta pridonosi 61 % većoj brzini apsorpcije u odnosu na konvencionalnu tabletu (Feldene®, Pfizer) uz nepromijenjen analgetski i protuupalni učinak lijeka (28). Pretklinička istraživanja na zečevima su pokazala da je porast brzine apsorpcije piroksikama proporcionalan molarnom udjelu CD u kompleksu te raste do omjera 1:2,5 dok daljnji porast molarnog udjela βCD u kompleksu (tj. 1:3 i 1:4) nepovoljno djeluje na brzinu apsorpcije (29). Zahvaljujući poboljšanoj topljivosti i brzini otapanja lijeka nakon stvaranja kompleksa s βCD, terapijske koncentracije lijeka u sistemsnoj cirkulaciji se postižu već 30 minuta nakon oralne primjene Brexin® tableta, dok je kod primjene Felden® tableta za to potrebno čak 2 sata. Međutim, nastajanje inkluzijskog kompleksa ne utječe na bioraspoloživost piroksikama, koja je usporediva za obje formulacije. Obje formulacije osiguravaju učinkovitu analgeziju 20 h za što je zaslužno dugo poluvrijeme eliminacije djelatne tvari (30). Osim bržeg nastupa analgetskog učinka, nastajanje kompleksa s βCD rezultira i smanjenjem gastrointestinalne toksičnosti lijeka, koja je istovremeno posljedica neselektivne inhibicije ciklooksigenaze kao i produženog kontakta slabo topljivog lijeka kiselog karaktera sa sluznicom nakon oralne primjene. Nepovoljan učinak piroksikama je naročito izražen na sluznici želuca jer piroksikam pokazuje manju topljivost pri kiseloj pH vrijednosti koja je prisutna u želucu. Poboljšana topljivost i veća brzina otapanja lijeka nakon nastajanja kompleksa s βCD reducira vrijeme kontakta lijeka sa sluznicom želuca, uslijed čega se smanjuje njena iritacija. To rezultira smanjenom učestalosti gastrointestinalnih nuspojava lijeka kada je primijenjen u obliku kompleksa s βCD, što je potvrđeno i u kliničkim studijama (27). Čini se da primjena u obliku inkluzijskih kompleksa s βCD i HPβCD pridonosi gastrointestinalnoj podnošljivosti i drugih NSAID, kao što su nimesulid, edotolak, fenilbutazon, naproksen, indometacin i ketorolak, rezultirajući smanjenom učestalosti i manjim opsegom gastričkih lezija (19). U usporedbi s konvencionalnim oralnim tabletama, primjena kompleksa piroksikama s βCD u obliku efervescentnih tableta rezultira značajno bržom apsorpcijom lijeka, pri čemu se terapijska koncentracija lijeka u plazmi postiže već 15 minuta nakon oralne primjene

(27). Kroničnom primjenom nije došlo do promjene farmakokinetičkih parametara za ispitivane formulacije, te nema potrebe za prilagodbom doze pri dugotrajnoj upotrebi oblika s inkluzijskim kompleksom piroksikama. Međutim, dugotrajna primjena Brexin® tableta starijim bolesnicima rezultira nešto višom ravnotežnom koncentracijom piroksikama u krvi nego što je to slučaj kod mlađih bolesnika na kroničnoj terapiji, no to ne uzrokuje klinički značajne učinke. Na poslijetku, β CD nije bilo moguće detektirati u plazmi i urinu bolesnika ni nakon primjene jedne doze, kao ni nakon dva tjedna uzastopne primjene što potvrđuje da se iz lumena crijeva apsorbira u zanemarivoj količini. Kliničke studije koje su ispitivale potencijal različitih formulacija NSAID za liječenje kronične boli donjeg dijela leđa su pokazale da Brexin® prašak za oralnu primjenu omogućuje značajnije ublažavanje boli uz povećanje pokretljivosti u odnosu na Felden® tablete, uzrokujući manju incidenciju nuspojava (31). Uz to, dokazana je prednost njegove primjene i u liječenju reumatskih i muskuloskeletalnih oboljenja, primarne dismenoreje, ublažavanja postoperativne boli, uključujući i onu nakon stomatoloških zahvata kao i u liječenju ostalih bolnih stanja. Velika metaanaliza podataka objavljenih kliničkih studija pokazuje da kompleks piroksikama s β CD pokazuje usporedivu učinkovitost kao i tenoksikam, diklofenak i nabumeton, ali uz brži nastup djelovanja i bolju gastrointestinalnu podnošljivost. Pri tome valja naglasiti kako primjena piroksikama nije povezana s povećanim rizikom od razvoja kardiovaskularnih nuspojava kao što su infarkt miokarda ili inzult. Zbog svega navedenoga, inkluzijski kompleks piroksikama s β CD predstavlja bolju terapijsku opciju u odnosu na standardne NSAID, što je potvrđeno s više od 30 godina kliničkog iskustva u Europi i Sjevernoj Americi (27).

Vrlo niska topljivost i hidrofobnost nimesulida dovodi do značajnih tehnoloških poteškoća u razvoju oralnog oblika te rezultira varijabilnom bioraspoloživosti nakon oralne primjene. Navedeni problemi su uspješno riješeni pripremom inkluzijskog kompleksa nimesulida s β CD, koji je primjenjivan u obliku oralne tablete (Nimedex®, Novartis) (32). Klinička istraživanja su pokazala da inkluzijski kompleks nimesulida pokazuje istovjetnu učinkovitost kao i sam lijek u liječenju osteoartitisa, uz manju incidenciju gastrointestinalnih nuspojava (33), te da je njegovom primjenom moguće ostvariti brži nastup analgetskog djelovanja nakon artroskopskog zahvata. Oralna primjena Nimedex® tablete dovodi do statistički značajnijeg smanjenja intenziteta boli 15 minuta nakon primjene, osiguravajući jednako vrijeme trajanja analgetskog učinka kao i konvencionalna tableta nimesulida (34). Međutim, zbog izražene hepatotoksičnosti lijeka neovisne o CD, Europska agencija za lijekove je 2010. godine ograničila spektar indikacija

za primjenu ovog lijeka koji je danas lijek druge linije za kratkotrajno liječenje akutne boli te primarne dismenoreje, pri čemu je trajanje liječenja ograničeno na 15 dana. Nimesulid/ β CD je danas dostupan u Republici Italiji kao prašak za oralnu suspenziju u dozi koja je ekvivalentna 400 mg nimesulida (Nimedex[®], Italfarmaco S.p.A.) (35).

Literaturni podaci nedvojbeno potvrđuju značajan potencijal CD u razvoju oralnih oblika lijekova ograničene topljivosti kao što su NSAID. U tekućim oblicima CD omogućuju osiguravanje topljivosti i kemijske stabilnosti lijeka, istovremeno omogućujući maskiranje neugodnog okusa lijeka (6). Kod čvrstih oblika glavna uloga CD je u osiguravanju veće brzine oslobađanja lijeka. Pri tome, CD mogu poboljšati oralnu bioraspodivnost lijekova II. i IV. skupine lijekova prema biofarmaceutskoj klasifikaciji lijekova, za otprilike 150 %. Međutim, u nekim slučajevima taj učinak može izostati, naročito u slučaju nastajanja izrazito stabilnih kompleksa ili primjene velikog suviška CD u formulaciji (13).

Nadalje, valja voditi računa da će kod lijekova koji se primjenjuju u dozama većim od 50 mg primjena CD u razvoju formulacije rezultirati značajnim povećanjem voluminoznosti pripravka, pa ih tada neće biti moguće formulirati u tabletu ili kapsulu, koje se smatraju najprihvatljivijim oblicima za oralnu primjenu (36).

Zaključak

Primjeri formulacija NSAID razvijenih primjenom CD koji se nalaze u kliničkoj praksi nedvojbeno potvrđuju prednosti primjene ovih lijekova u obliku inkluzijskih kompleksa. Povećanje topljivosti lijeka posredovano CD omogućuje uklapanje doze lijeka u volumen pripravka koji je prikladan za primjenu bez potrebe za uporabom potencijalno iritirajućih tenzida i suotapala, što je važno u razvoju parenteralnih i oftalmičkih pripravaka. Kod čvrstih oblika za oralnu primjenu interakcija s CD osigurava brže otapanje lijeka nakon primjene što rezultira bržim postizanjem terapijski učinkovitih koncentracija NSAID u sistemskoj cirkulaciji, a to rezultira klinički značajno ranijim nastupom analgezije uz smanjenje pojavnosti gastrointestinalnih nuspojava NSAID. Sve navedeno čini CD prihvatljivom tehnološkom platformom za razvoj novih, učinkovitijih i sigurnijih farmaceutskih oblika NSAID.

7-8
2020

Cyclodextrin enabled formulations of non-steroidal anti-inflammatory drugs

D. Rogulj i M. Jug

Abstract Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), a group of chemically heterogeneous compounds, are among the most widely prescribed drugs commonly used to manage pain, fever and inflammatory diseases, such as rheumatoid arthritis and osteoarthritis. Beside aspirin and paracetamol, NSAIDs are weak acids with limited aqueous solubility that raises difficulties in their formulation and therapeutic action, often leading to variable oral bioavailability, delayed onset of analgesic action and increased risk of adverse gastrointestinal effects. Cyclodextrins (CDs) are multifunctional excipients able to modify unfavourable physicochemical properties of different drugs through inclusion complex formation. For example, inclusion complexation with hydroxypropyl- γ -cyclodextrin (HP γ CD) enabled the development of diclofenac sodium ophthalmic solution without the need to use potentially irritant surfactants and cosolvents. By that, the incompatibility issues between the drug and benzalkonium chloride were also avoided, providing the benefits to preserve the formulation with a physiologically more acceptable compound. All this resulted in better ocular tolerance of the formulation. Inclusion complexation with hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP β CD) enabled the development of parenteral, ready to use diclofenac sodium solution, suitable for subcutaneous, intramuscular and intravenous administration. When applied as a fast-intravenous bolus, diclofenac/HP β CD solution provides faster analgesic action of the drug compared to conventional, co-solvent based diclofenac solution, that needs to be diluted and buffered prior the administration as a 30-minute infusion. Another clinically important benefit of diclofenac/HP β CD solution is in a lower incidence of thrombophlebitis at the administration site. Inclusion complexation of piroxicam with β CD resulted in amorphous, readily wettable and fast dissolving products. When applied orally, such complex provides much faster drug absorption with the consequent faster achievement of therapeutically active drug concentrations in the systemic circulation. All this translates into the clinically significant faster onset of drug action accompanied by a lower incidence of gastrointestinal irritation and ulceration, that normally accompanies the administration of conventional, CD free oral formulations of piroxicam. The selected examples

clearly demonstrate the potential of CD to facilitate the development of novel NSAID formulations with enhanced efficiency and safety.

1. S. Bacchi, P. Palumbo, A. Sponta and M. F. Coppolino, Clinical Pharmacology of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs: A Review, *Antiinflamm. Antiallergy. Agents Med. Chem.* 11 (2012) 52–64.;
2. R. Altman, B. Bosch, K. Brune, P. Patrignani and C. Young, Advances in NSAID development: Evolution of diclofenac products using pharmaceutical technology, *Drugs* 75 (2015) 859–877.
3. J. Irvine, A. Afrose and N. Islam, Formulation and delivery strategies of ibuprofen: challenges and opportunities, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 44 (2018) 173–183.
4. I. Bjarnason, C. Scarpignato, E. Holmgren, M. Olszewski, K. D. Rainsford and A. Lanas, Mechanisms of Damage to the Gastrointestinal Tract From Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs, *Gastroenterology* 154 (2018) 500–514.
5. S. Jacob and A. B. Nair, Cyclodextrin complexes: Perspective from drug delivery and formulation, *Drug Dev. Res.* 79 (2018) 201–217.
6. P. Jansook, N. Ogawa and T. Loftsson, Cyclodextrins: structure, physicochemical properties and pharmaceutical applications, *Int. J. Pharm.* 535 (2018) 272–284.
7. M. G. De Oliveira, A. G. Guimarães, A. A. Araújo, J. S. Quintans, M. R. Santos and L. J. Quintans-Júnior, Cyclodextrins: Improving the therapeutic response of analgesic drugs: A patent review, *Expert Opin. Ther. Pat.* 25 (25) 897–907.
8. S. V. Kurkov and T. Loftsson, Cyclodextrins, *Int. J. Pharm.* 453 (2013) 167–180.;
9. G. Crini, S. Fourmentin, É. Fenyvesi, G. Torri, M. Fourmentin and N. Morin-Crini, Cyclodextrins, from molecules to applications, *Environ. Chem. Lett.* 16 (2018) 1361–1375.
10. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/questions-answers-cyclodextrins-used-excipients-medicinal-products-human-use_en.pdf, datum pristupa: 17.12.2019.
11. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/iig/index.cfm>, datum pristupa 17.12.2019.
12. A. Ryzhakov, T. Do Thi, J. Stappaerts, L. Bertoletti, K. Kimpe, A. R. Sá Couto, P. Saokham, G. Van den Mooter, P. Augustijns, G. W. Somsen, S. Kurkov, S. Inghelbrecht, A. Arien, M. I. Jimidar, K. Schrijnemakers and T. Loftsson, Self Assembly of Cyclodextrins and Their Complexes in Aqueous Solutions, *J. Pharm. Sci.* 105 (2016) 2556–2569.
13. T. Loftsson, M. D. Moya-Ortega, C. Alvarez-Lorenzo and A. Concheiro, Pharmacokinetics of cyclodextrins and drugs after oral and parenteral administration of drug/cyclodextrin complexes, *J. Pharm. Pharmacol.* 68 (2016) 544–555.
14. B. Bodaghi, Diclofenac sodium 0.1% ophthalmic solution: Update on pharmacodynamics, clinical interest and safety profile, *Expert Rev. Ophthalmol.* 3 (2008) 139–148.
15. U. Mester, C. Lohmann, U. Pleyer, G. Steinkamp, E. Volcker, H. Kruger and P. S. Raj, A comparison of two different formulations of diclofenac sodium 0.1% in the treatment

- of inflammation following cataract-intraocular lens surgery, *Drugs R D* 3 (2002) 143–151.
16. H. Abdelkader, Z. Fathalla, H. Moharram, T. F. S. Ali and B. Pierscionek, Cyclodextrin Enhances Corneal Tolerability and Reduces Ocular Toxicity Caused by Diclofenac., *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2018 (2018) 5260976.
 17. M. A. Halim Mohamed and A. A. Mahmoud, Formulation of indomethacin eye drops via complexation with cyclodextrins, *Curr. Eye Res.* 36 (2011) 208–216.
 18. M. Ahuja, A. S. Dhake, S. K. Sharma and D. K. Majumdar, Topical ocular delivery of NSAIDs, *AAPS J.* 10 (2008) 229–241.
 19. C. Scavone, A. C. Bonagura, S. Fiorentino, D. Cimmaruta, R. Cenami, M. Torella, T. Fossati and F. Rossi, Efficacy and Safety Profile of Diclofenac/Cyclodextrin and Progesterone/Cyclodextrin Formulations: A Review of the Literature Data, *Drugs R. D.* 16 (2016) 129–140.
 20. F. Mermelstein, D. A. Hamilton, C. Wright, P. G. Lacouture, A. Ramaiya and D. B. Carr, Single-Dose and Multiple-Dose Pharmacokinetics and Dose Proportionality of Intravenous and Intramuscular HP β CD-Diclofenac (Dyloject) Compared with Other Diclofenac Formulations, *Pharmacother. J. Hum. Pharmacol. Drug Ther.* 33 (2013) 1012–1021.
 21. R. D. Colucci, C. Wright, F. H. Mermelstein, D. G. Gawarecki and D. B. Carr, Dyloject[®], a novel injectable diclofenac solubilised with cyclodextrin: Reduced incidence of thrombophlebitis compared to injectable diclofenac solubilised with polyethylene glycol and benzyl alcohol, *Acute Pain* 11 (2009) 15–21.
 22. T. J. Gan, N. Singla, S. E. Daniels, P. G. Lacouture, L. H. Min, C. R. D. Reyes and D. B. Carr, Cardiovascular safety of hydroxypropyl- β -cyclodextrin–diclofenac in the management of acute postsurgical pain: a pooled analysis of 2 randomized, double-blind, placebo- and active comparator-controlled phase III clinical trials, *J. Clin. Anesth.* 31 (2016) 249–258.
 23. S. E. Daniels, T. J. Gan, D. A. Hamilton, N. Singla, P. G. Lacouture, O. Johnson, L. H. Min, C. R. D. Reyes and D. B. Carr, A Pooled Analysis Evaluating Renal Safety in Placebo- and Active Comparator-Controlled Phase III Trials of Multiple-Dose Injectable HP β CD-Diclofenac in Subjects with Acute Postoperative Pain, *Pain Med.* 17 (2016) 2378–2388.
 24. D. A. Hamilton, C. C. Ernst, W. G. Kramer, D. Madden, E. Lang, E. Liao, P. G. Lacouture, A. Ramaiya and D. B. Carr, Pharmacokinetics of Diclofenac and Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin (HP β CD) Following Administration of Injectable HP β CD-Diclofenac in Subjects With Mild to Moderate Renal Insufficiency or Mild Hepatic Impairment, *Clin. Pharmacol. Drug Dev.* 7 (2018) 110–122.
 25. G. M. Keating, H. A. Blair and G. L. Plosker, Diclofenac sodium injection (Akis[®], Dicloin[®]) in the management of pain: a guide to its use in the EU, *Drugs Ther. Perspect.* 32 (2016) 1–5.

26. P. Gorecki, K. D. Rainsford, P. Taneja, Y. Bulsara, D. Pearson, D. Saund, B. Ahmed and T. Dietrich, Submucosal Diclofenac for Acute Postoperative Pain in Third Molar Surgery: A Randomized, Controlled Clinical Trial, *J. Dent. Res.* 97 (2018) 381–387.
27. C. Scarpignato, Piroxicam- β -Cyclodextrin: A GI Safer Piroxicam, *Curr. Med. Chem.* 20 (2013) 2415–2437.
28. X. Deroubaix, A. Stockis, A. M. Allemon, E. Lebacqz, D. Acerbi and P. Ventura, Oral bioavailability of CHF1 194, an inclusion complex of piroxicam and β -cyclodextrin, in healthy subjects under single dose and steady-state conditions, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 47 (1995) 531–536.
29. M. Skiba, F. Bouchal, T. Boukhris, F. Bounoure, H. Fessi, S. Fatmi, N. Chaffai and M. Lahiani-Skiba, Pharmacokinetic study of an oral piroxicam formulation containing different molar ratios of β -cyclodextrins, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 75 (2013) 311–314.
30. D. Wang, R. Miller, J. Zheng and C. Hu, Comparative population pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis for piroxicam-beta-cyclodextrin and piroxicam., *J. Clin. Pharmacol.* 40 (2000) 1257–66.
31. S. T. Chang, L. C. Chen, C. C. Chang, H. Y. Chu, M. F. Hsieh and K. C. Tsai, Efficacy and Safety of Piroxicam Beta-Cyclodextrin Sachets for Treating Chronic Low Back Pain: A Randomised, Parallel, Active-Controlled Trial, *J. Med. Sci.* 28 (2008) 111–120.
32. A. K. Singla, M. Chawla and A. Singh, Nimesulide: some pharmaceutical and pharmacological aspects-an update., *J. Pharm. Pharmacol.* 52 (2000) 467–486.
33. A. Fioravanti, L. Storri, S. Di Martino, S. Bisogno, V. Oldani, A. Scotti and R. Marcolongo, A randomized, double-blind, multicenter trial of nimesulide-beta-cyclodextrin versus naproxen in patients with osteoarthritis, *Clin. Ther.* 24 (2002) 504–519.
34. M. Vizzardì, C. Sagarriga Visconti, L. Pedrotti, N. Marzano, M. Berruto and A. Scotti, Nimesulide beta cyclodextrin (nimesulide-betadex) versus nimesulide in the treatment of pain after arthroscopic surgery, *Curr. Ther. Res.* 59 (1998) 162–171.
35. <https://www.codifa.it/farmaci/n/nimedex-nimesulide-betadex-analgesci-fans>, datum pristupa: 24.03.2020.
36. T. Loftsson and M. E. Brewster, Pharmaceutical applications of cyclodextrins: Basic science and product development, *J. Pharm. Pharmacol.* 62 (2010) 1607–1621.

Primijeno 6. travnja 2020.