

# Primjena ciklodekstrina u razvoju oftalmika za topikalnu primjenu

---

Hasnaš, Lana

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:477457>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**



Repository / Repozitorij:

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



**Lana Hasnaš**

**Primjena ciklodekstrina u razvoju oftalmika za  
topikalnu primjenu**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2022 .

Ovaj diplomski rad je prijavljen na Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen u Zavodu za farmaceutsku tehnologiju pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Marija Juga.

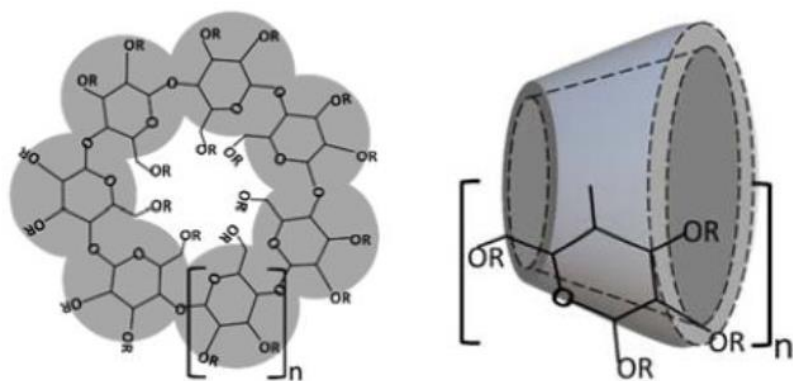
*Zahvaljujem se svojoj mami Kseniji na podršci tijekom cijelog studija!*

## Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Obrazloženje teme.....	5
3. Materijali i metode.....	6
4. Rezultati i rasprava.....	7
4.1. Građa i barijere oftalmičkoj apsorpciji lijeka.....	7
4.2. Putevi oftalmičke primjene lijeka.....	11
4.2.1. Topikalna primjena lijekova.....	11
4.2.2. Sistemska primjena lijekova.....	11
4.2.3. Intraokularna primjena lijekova.....	11
4.2.4. Periokularna primjena lijekova.....	12
4.3. Bolesti oka s visokim rizikom od gubitka vida.....	12
4.3.1. Senilna makularna degeneracija.....	13
4.3.2. Dijabetička retinopatija.....	14
4.3.3. Glaukom.....	15
4.3.4. Katarakt.....	16
4.4. Izazovi u razvoju topikalnih oftalmika.....	16
4.5. Primjena ciklodekstrina u razvoju oftalmika za topikalnu primjenu.....	21
4.5.1. Aksitinib.....	21
4.5.2. Azitromicin.....	22
4.5.3. Deksametazon.....	24
4.5.4. Dorzolamid.....	30
4.5.5. Diklofenaknatrij.....	34
4.5.6. Latanoprost.....	35
4.5.7. Vorinostat.....	40
5. Zaključci.....	41
6. Popis kratica i simbola.....	42
7. Literatura.....	44
8. Sažetak/Summary.....	48/49
Temeljna dokumentacijska kartica/ Basic documentation card	

## 1. Uvod

Bolesti oka zahvaćaju veliki dio svjetskog stanovništva, a neke od njih dovode do gubitka vida i sljepoće. U najvećem broju slučajeva do toga dolazi kod pacijenata koji obolijevaju od dijabetičke retinopatije, senilne makularne degeneracije te katarakte i glaukoma. Najveći problem predstavljaju bolesti stražnjeg segmenta oka koje zahtijevaju dostavu lijekova do intraokularnih tkiva. Zbog kompleksne građe oka koja rezultira nizom dinamičkih i statičkih barijera za lipofilne i hidrofilne molekule, potrebno je uspostaviti različite načine primjene lijekova u oko (Löscher i sur, 2022). Kako bi doskočili izazovima u liječenju bolesti oka do danas se koristi topikalna, sistemska, periokularna, suprakoroidalna i intravitrealna primjena lijeka u oko (Lorenzo – Veiga i sur, 2021). Za liječenje bolesti prednjeg segmenta najčešće se koristi topikalna, a za bolesti stražnjeg segmenta intravitrealna primjena lijeka (Loftsson i Stefansson, 2021). Međutim, kod topikalne primjene, zbog učestale lakrimacije, kornealne drenaže i konjuktivalne apsorpcije, lijekovi se brzo razrjeđuju i eliminiraju iz suznog filma pa im je, posljedično, smanjena oftalmička bioraspoloživost i farmakološka aktivnost (Johannesson i sur., 2014b). Nadalje, svoj terapijski potencijal ispoljava manje od 5% topikalno primijenjene doze lijeka, dok se oko 95% lijeka eliminira u sistemsku cirkulaciju preko nazolakrimalnog kanala te dovodi do nuspojava. Topikalnom primjenom topikalno lijekovi se u oko apsorbiraju kornealnim i nekornealnim putem. Kornealna apsorpcija obuhvaća otapanje lijeka u suznom filmu, penetraciju rožnice, razdjeljivanje u očnoj vodici i dostavu do intraokularnih tkiva. Nekornealnim putem, lijek mora proći spojnicu i bjeloočnicu te doći do vaskulature stražnjeg segmenta oka. Posljedično, ovim putem do intraokularnih tkiva dolazi manje od 0,1% primijenjene doze. Pritom male i hidrofilne molekule lakše nadilaze barijere oka od većih i hidrofobnih (Loftsson i Stefansson, 2021). Intravitrealne injekcije, koje se najčešće primjenjuju u liječenju senilne makularne degeneracije i dijabetičke retinopatije, postižu učinkovite terapijske doze u stražnjem segmentu oka, no zbog vrlo invazivnog pristupa i učestalog doziranja pacijenti ne pokazuju dobru suradljivost. Zbog svega navedenoga, posljednjih se godina intenzivno ispituju novi principi s ciljem učinkovitije intraokularne dostave lijeka topikalnom primjenom, a u tom segmentu veliki potencijal primjene pokazuju ciklodekstrini i farmaceutski oblici lijekova s ciklodekstrinima (Lorenzo – Veiga i sur, 2021).



<b>Ciklodekstrin</b>	<b>n</b>	<b>R</b>	<b>Sinonim</b>	<b>Farmakopejska monografija</b>
$\alpha$ -ciklodekstrin ( $\alpha$ CD)	6	H	alfadex	Ph. Eur., USP/NF, JP
$\beta$ -ciklodekstrin ( $\beta$ CD)	7	H	betadex	Ph. Eur., USP/NF, JP
2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin (HP $\beta$ CD)	7	-CH <sub>2</sub> CHOHCH <sub>3</sub> ili H	hidroksipropilbetadex	Ph. Eur., USP/NF
sulfobutil- $\beta$ -ciklodekstrin natrij (SBE $\beta$ CD)	7	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup> Na <sup>+</sup> ili H	betadex sulfobutilnatrij	USP/NF
metil- $\beta$ -ciklodekstrin (M $\beta$ CD)	7	-CH <sub>3</sub> ili H	metilbetadex	-
$\gamma$ -ciklodekstrin ( $\gamma$ CD)	8	H	gammadex	Ph. Eur., USP/NF, JP

Slika 1. Strukturne značajke ciklodekstrina obuhvaćenih farmakopejskim monografijama u Europskoj farmakopeji (Ph. Eur.), Američkoj farmakopeji (USP/NF) i Japanska farmakopeja (JPC) (prilagođeno prema Saokham i sur., 2018).

Ciklodekstrini su derivati oligosaharida građeni od nekoliko  $\alpha$ ,D- glukopiranoznih jedinica koje su međusobno povezane  $\alpha$ -1,4-glikozidnim vezama. Najčešći su prirodni ciklodekstrini  $\alpha$ -ciklodekstrin građen od 6,  $\beta$ -ciklodekstrin građen od 7,  $\gamma$ -ciklodekstrin građen od 8 jedinica,  $\delta$ -ciklodekstrin od 9 i  $\epsilon$ -ciklodekstrin od 10 glukopiranoznih jedinica. Ti monosaharidi zauzimanju konformaciju stolca pa su ciklodekstrini oblikovani kao krnji stožac

sa šupljinom u sredini (Slika 1). S obzirom na to da su hidroksilne skupine glukopiranoza orijentirane prema vanjskom okolišu te s molekulama vode tvore vodikove veze, a ugljikovi i kisikovi atomi omeđuju središnju šupljinu, vanjski dio ciklodekstrina pokazuje hidrofilna, a unutrašnjost lipofilna svojstva. Ta strukturna karakteristika ciklodekstrina ključna je za nastanak inkluzijskih kompleksa, na čemu se temelji njihova primjena u farmaceutskoj tehnologiji. Inkluzijski kompleksi nastaju kada se ciklodekstrini i lipofilne molekule nađu u istom vodenom mediju u dovoljno visokim koncentracijama. Pri tome dolazi do uklapanja lipofilne molekule, ili njenog sterički kompatibilnog dijela u lipofilnu centralnu šupljinu molekule ciklodekstrina te uspostave slabih kemijskih interakcija koje uključuju van der Waalsove sile, elektrostatske sile, vodikove veze i ionske interakcije. Pri nastajanju inkluzijskih kompleksa ne dolazi do nastajanja novih ni kidanja postojećih kovalentnih veza. Stanje u otopini definirano je dinamičkom ravnotežom između slobodnih i kompleksiranih molekula lijeka. Kako je vrijeme poluraspada inkluzijskog kompleksa svega nekoliko desetaka milisekundi, u sustavu je prisutna stalna formulacije i disocijacije inkluzijskih kompleksa (Brewster i Loftsson, 2007).

Ciklodekstrini su prvi put opisani 1981. godine kada je Francuz A. Villiers primijetio da amilaze iz bakterije *Bacillus maceraus* razgrađuju škrob na oligosaharide građene nekoliko mohosaharida. Te je spojeve definirao kao dekstrine i nazvao ih celulozinima. Kasnije je mikrobiolog Franz Schardinger uočio da se radi o spojevima od 6, 7, 8 i više glukopiranoznih jedinica, izolirao one najmanje te ih nazvao  $\alpha$ -dekstrin i  $\beta$ -dekstrin. Osim toga, uočio je da djelovanjem native bakterijske amilaze nastaje smjesa od 60%  $\alpha$ -dekstrina, 20%  $\beta$ -dekstrina dok ostalo otpada na oligosaharide veće molekularne mase, proteine, linearne i razgranate oligosaharide i slična onečišćenja. Kako bi dobili čišću smjesu s većim udjelom ciklodekstrina od interesa znanstvenici su se počeli koristiti genetičkim inženjerstvom. Uspješno su dizajnirali i izolirali izotipove ciklodektrin glukoziltransferaze s većim afinitetom za nereducirajuće krajeve linearne amiloze koja mijenja svojstva  $\alpha$ -1,4- glikozidne veze što, posljedično, dovodi do ciklizacije spojeva. Na taj su način proizvedene smjese ciklodekstrina s visokim udjelom  $\alpha$ -,  $\beta$ - i  $\gamma$ - ciklodekstrina. Iako se primarno koriste kao solubilizatori, prirodni ciklodekstrini imaju ograničenu topljivost u vodi. Iz tog razloga njihovi inkluzijski kompleksi s nekim izrazito lipofilnim spojevima ne postižu zadovoljavajuće koncentracije aktivnih tvari (Brewster i Loftsson, 2007). Međutim, hidroksilne skupine s vanjske strane stožca pokazuju veliku kemijsku reaktivnost i potencijal za formiranje derivata (Haimhoffer i sur., 2019). Tako tretiranjem prirodnih ciklodekstrina propilen oksidom nastaju

hidroksipropilirani derivati (HP $\alpha$ CD, HP $\beta$ CD i HP $\gamma$ CD), tretiranjem monokloroacetičnom kiselinom nastaju karboksimetilirani derivati (CM $\beta$ CD) koji pokazuju pH ovisnu topljivost, djelovanjem metil jodida nastaju nasumično metilirani (DIMEB i RAMEB), a djelovanjem 4-butilsulfona nastaju sulfobutil eter derivati (SBE $\beta$ CD). Te kemijske modifikacije dovode do promjene kristalnih struktura nativnih ciklodekstrina pa nastaju amorfní oblici koji tvore mnogo stabilnije inkluzijske komplekse. Usto, značajno doprinose solubilizacijskim svojstvima ciklodekstrina, a aktivni sastojci dosežu višestruko veće koncentracije. Ciklodekstrini se široko primjenjuju u farmaceutskoj, kozmetičkoj i prehrambenoj industriji (Jansook i sur., 2018) te je trenutno registrirano 35 farmaceutskih oblika lijekova koji sadrže ciklodekstrine, a riječ je o otopinama ili čvrstim oblicima (prašci, tablete, kapsule, čepići). Njihova je temeljna uloga povećati topljivost, stabilnost, bioraspoloživost i učinkovitost djelatne tvari. Osim toga, poboljšavaju organoleptička svojstva lijekova, smanjuju iritaciju i osjetljivost te interakcije lijekova s drugim pomoćnom tvarima u obliku. Tri najvažnija prirodna derivata  $\alpha$  -,  $\beta$  - i  $\gamma$  - ciklodekstrin imaju svoje monografije u japanskom farmaceutskom kodeksu, dok su  $\alpha$  - i  $\beta$  - ciklodekstrin dodatno uvršteni u američku i europsku farmakopeju. Sva se tri prirodna derivata nalaze na GRAS (*Generally recognised as safe*) listi dodataka prehrani koju odobrava Američka agencija za hranu i lijekove (FDA). HP $\beta$ CD se kao i SBE $\beta$ CD nalazi na FDA listi pomoćnih tvari. Osim toga, HP $\beta$ CD ima svoju monografiju u europskoj farmakopeji (Brewster i Loftsson, 2007).

Ciklodekstrini djeluju i kao promotori apsorpcije. Za razliku od ostalih promotora apsorpcije kao što su etanol i dimetil sulfoksid, ne penetriraju u membrane stanica i mukozne sluznice. Njihova se sposobnost poboljšanja bioraspoloživosti i dostave lijekova u tkiva temelji na višem stupnju solubilizacije što pak vodi prema većoj koncentraciji lijekova i potiče pasivnu difuziju prema mjestima manje koncentracije (Jansook i sur., 2018).



## 2. Obrazloženje teme

Bolesti oka sve su češće među starijim stanovništvom. Kako je oko malen, ali složen i važan organ, liječenje takvih bolesti predstavlja veliki zdravstveni izazov (Lorenzo – Veiga i sur, 2021). U najvećem se broju slučajeva lijekovi primjenjuju topikalno, u obliku kapi za oči. Takav je način primjene za pacijente prihvatljiv i bezbolan, međutim, zbog treptanja, razrjeđenja pripravka suznim filmom i male površine oka, apsorpcija lijeka je ograničena (Yang i Lockwood, 2022). U oku su prisutne mnogobrojne statičke i dinamičke barijere koje ograničavaju apsorpciju lijeka s površine. Dinamičke su barijere krvne žile kroz koje neprestano protječe krv i povezuju oko sa sistemskom cirkulacijom, te očne komore kroz koje se također neprestano izmjenjuje tekućina i suzni film. Te barijere ograničavaju apsorpciju kako lipofilnih tako i hidrofilnih tvari (Löscher i sur., 2022). Bolesti stražnjeg segmenta oka uglavnom se liječe intravitrealnim injekcijama ili implantantima. Takav pristup za pacijente je vrlo neugodan i bolan, a dovodi do brojnih nuspojava te zahtijeva prethodnu pripremu i učestalo doziranje (Lorenzo – Veiga i sur, 2021.)

Cilj ovog diplomskog rada je istražiti potencijale primjene ciklodekstrina u svrhu unaprjeđenja terapije i bioraspoloživosti lijekova koji se primjenjuju u oko. Ciklodekstrini stvaranjem inkluzijskih kompleksa povećavaju topljivost lipofilnih tvari vodenom mediju te povećanje njihove stabilnosti, smanjuju razgradnju i lokalnu iritaciju tkiva (Brewster i Loftsson, 2007.) Razmatrat će se anatomska i fiziološka građa oka, okularne barijere i konvencionalne metode primjene lijekova u oko. Opisane su najčešće bolesti koje u razvijenim zemljama uzrokuju slabovidnost i sljepoću te farmakološka terapija za iste. Razjašnjeni su izazovi u oblikovanju, proizvodnji i primjeni farmaceutskih oblika za oftalmičku primjenu lijekova te suvremene tehnike i spoznaje kojima se nadilaze barijere koje ograničavaju oftalmičku apsorpciju lijeka. U tom smislu, razmatrat će se uloga pomoćnih tvari, na primjer polimera, soli, suotapala te različitih nosača lijekova u povećanju okularne bioraspoloživosti lijeka. Biti će opisane karakteristike, kemijska i fizikalna svojstva ciklodekstrina i drugih solubilizatora te mehanizmi kojima djeluju. Na kraju, biti će uspoređeni farmakokinetički, klinički i sigurnosni profili djelatnih tvari od najvećeg kliničkog značaja za farmakoterapiju najčešćih bolesti oka koje neadekvatnim liječenjem mogu dovesti do gubitka vida.

### 3. Materijali i metode

U izradi ovog preglednog diplomskog rada korišteni su različiti preglednici znanstvene literature kao što su baze podataka (PubMed i Scopus), društvena mreža Research Gate, znanstvene i stručne knjige te mrežne stranice sa srodnom tematikom, uključujući mrežne stranice Europske agencije za lijekove i Američke agencije za hranu i lijekove. Više od 95% ovog diplomskog rada temeljeno je na radovima objavljenima u znanstvenim časopisima. Metode rada uključivale su uglavnom pretraživanje uz pomoć ključnih riječi vezanih za određeno potpoglavlje ovog diplomskog rada.

Pretraga baze Scopus uključivala je sljedeće ključne riječi: *cyclodextrin, cyclodextrins, ocular delivery, eye diseases, eye anatomy, ocular barriers, eye drops, intravitreal injections, glaucoma, age – related ocular conditions, cataract, open – angle glaucoma, closed - angle glaucoma, diabetic retinopathy, topical delivery*

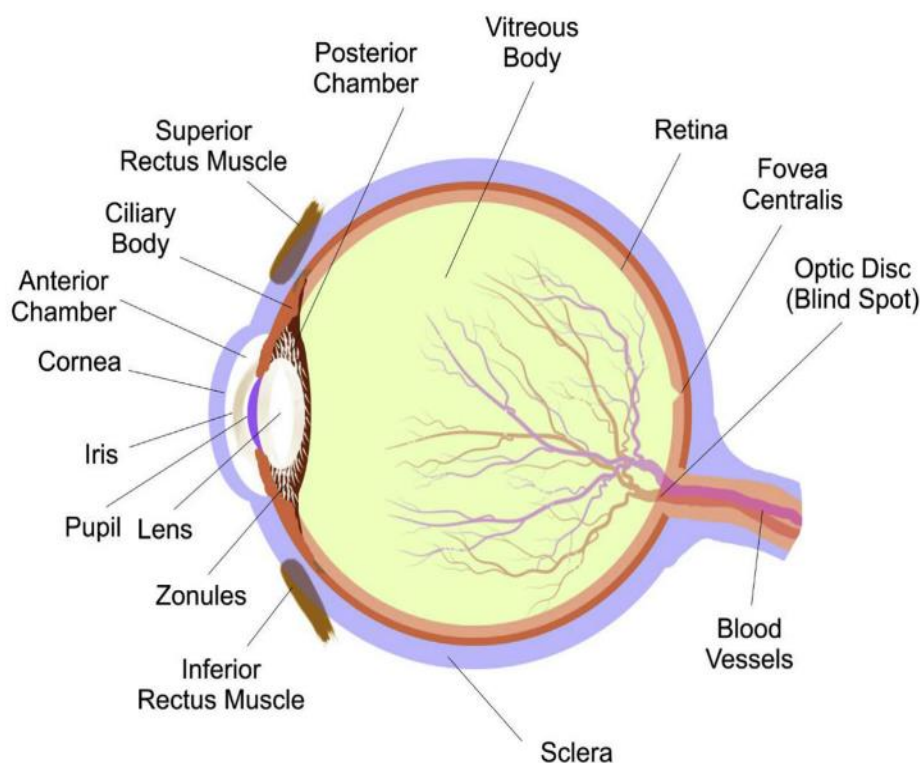
Pretraga baze PubMed uključivala je sljedeće ključne riječi: *gama – cyclodextrin, beta – cyclodextrin, glaucoma, ocular delivery upareno s diseases, eye diseases upareno s cyclodextrins, inclusion complexes, age-related macular oedema, dexamethasone*

Iz relevantnih članaka izdvojeni su najvažniji podaci, rezultati i zaključci, te su pregledno prikazani u ovom diplomskom radu.

## 4. Rasprava

### 4.1. Građa oka i barijere oftalmičkoj apsorpciji lijeka

Oko je malen organ kompleksne anatomije i fiziologije (Slika 2). Prema položaju, njegova se struktura može podijeliti na prednji i stražnji segment. Prednji segment oka čine tkiva koja su na granici s okolinom; rožnica, zjenica, spojnica, leća, iris i cilijarno tijelo i prednja očna komora ispunjena očnom vodicom. Stražnji segment oka čine bjeloočnica, mrežnica, retinalni pigmentni epitel, staklasto tijelo i optički živac (Lorenzo – Veiga i sur, 2021.). Obzirom na vrlo složenu građu i raznolikost tkiva, barijere oka se mogu podijeliti na anatomske i fiziološke. Fiziološke su barijere mala površina prednjeg segmenta, opetovano stvaranje i drenaža suznog filma te treptanje. Anatomske se barijere dijele na statičke i dinamičke (Agrahari i sur., 2016). Rožnica, spojnica, bjeloočnica, retina te krvno-vodena i krvno - retinalna vaskulatura su statičke barijere apsorpciji lijeka u oku. Dinamičke su efluks pumpe, eliminacija lijeka limfom te protok krvi žilnicom i spojnicom (Löscher i sur., 2022).



Slika 2. Poprečni presjek oka (preuzeto iz Chaudhari i sur., (2019) uz suglasnost izdavača).

Prva je barijera koju djelatna tvar mora proći prekornealni, tj. suzni film. Ljudsko oko, tj. lakrimalne i Meibomove žlijezde stvaraju od 5 do 7  $\mu\text{L}$  suznog filma, debljine je 3  $\mu\text{m}$  koji je građen od tri sloja. Vanjski je sloj suznog filma lipidne prirode, sadrži masne kiseline,

trigliceride, voskove, kolesterol i fosfolipide. Zadaća mu je spriječiti isparavanje suznog filma s površine oka. Srednji je sloj suznog filma vodeni sloj koji djeluje kao lubrikant te je bogat proteinima, ionima i enzimima. Unutarnji sloj čine glikozirani mucini velike molekulske mase i negativnog naboja (Pflugfelder i Stern, 2020; Lee i Rhee, 2022).

Rožnica je avaskularno vezivno tkivo građeno od 3 stanična i 2 potporna sloja. Stanični su slojevi epitel, stroma i endotel. Na samoj je površini oka epitel. Prekriven je suznim filmom i građen od 4 do 6 slojeva nekeratiniziranih, stratificiranih, skvamoznih stanica. Od ukupno 6, površinski je sloj epitela građen od 2 ili 3 sloja (Del Monte i Kim, 2011). Međusobno povezana strukturama koje se nazivaju tijesni spojevi (eng. *tight junctions*) koji sprečavaju paracelularnu apsorpciju lijekova hidrofилnih svojstava i molekulske mase veće od 5 kDa (Wang i sur., 2021). Ispod epitela nalazi se Bowmanova membrana. To je glatki sloj vezivnog tkiva bez stanica. njegova je uloga održavanje oblika rožnice. Ispod Bowmanove membrane nalazi se stroma, najdeblji dio rožnice. Dominantne su stanice strome keratinociti, oni sintetiziraju komponente izvanstaničnog matriksa koji je građen od lamela kolagenih vlakana. Ispod strome nalazi se amorfna Descemetova membrana. Najdublji je dio rožnice endotel građen kao monosloj stanica koje nalikuju pčelinjem saću (DelMonte i Kim, 2011). Zbog svega navedenog, rožnicu lakše prolaze lijekovi lipofilnih svojstava s Log D vrijednostima 2-3 i to transcelularno, dok je za hidrofилne moguća samo paracelularna penetracija kroz slojeve epitela i endotela. Dominantni mehanizam prijenosa lijekova je pasivna difuzija (Löscher i sur., 2022).

Kako je stroma građena od 78% vode, a endotel relativno dehidriran, prema prednjoj očnoj komori postoji osmotski gradijent koji bez utroška energije osigurava protok vode prema unutrašnjosti oka. Mada je sam proces pasivne prirode, kako bi se osmotski gradijent održao, u endotelu postoje dva sustava koji održavaju promet iona: Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> crpka na membrana stanica i sustav karboanhidraza u citoplazmi stanica (DelMonte i Kim, 2011).

Spojnica je oka visoko vaskularizirana sluznica s mukoznom membranom i relativno propusnim epitelom. Spojnice je zbog izostanka tijesnih spojeva među stanicama epitela permeabilnija nego rožnica. Propušta hidrofилne molekule veličine do 10 kDa. Iz istog je razloga eliminacija lijekova koji se apsorbiraju u prednju očnu vodicu izglednija, a bioraspoloživost, posljedično, manja (Lee i Rhee, 2022).

Nakon apsorpcije kroz rožnicu topikalno primijenjeni lijekovi ulaze u prednju očnu sobicu (Löscher i sur., 2022). Ispunjava je 200 µL tekućine koja sastavom sliči krvnoj plazmi s nešto nižom koncentracijom proteina (Wang i sur., 2021). Stvara u zrakastom tijelu brzinom od

2 – 3  $\mu\text{L}/\text{min}$  te neprestano protječe kroz prostor stražnje očne sobice prema prednjoj. Očna se vodica i istom se brzinom izljuje u Schlemmov kanal ili se apsorbira u žilnicu. Obje rute očnu vodicu usmjeravaju prema sistenskoj cirkulaciji (Lee i Rhee 2022.)

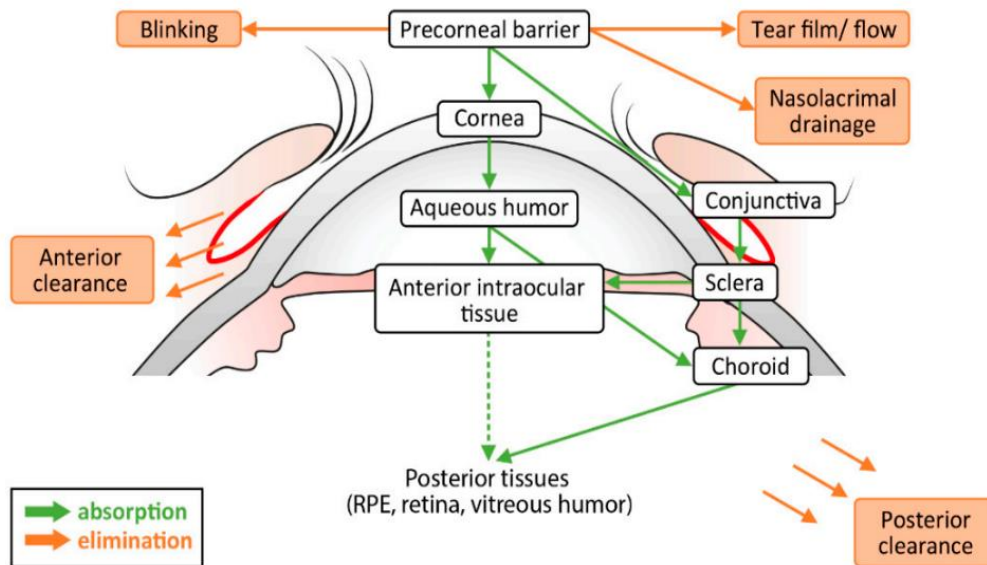
Bjeloočnica je građena od proteoglikana, kolagenih vlakana i glikoproteina koji su međusobno povezani u složeno vezivno tkivo hidrofилnog karaktera. Prolaz molekula kroz bjeloočnicu najviše ovisi o njihovoj veličini tako da male molekule lakše prolaze nego velike. Nadalje, lakše prolaze hidrofилne molekule negativnog naboja (Lee i Rhee, 2022).

Staklasto tijelo je najveća struktura oka. Kod odraslog je čovjeka volumena 5-6 ml. Čini je 98% vode, a ostatak otpada na glikozaaminoglikane i kolagen negativnog naboja koji tvore kompleks vlakana prosječne veličine pora oko 550 nm (Wang i sur., 2021). Obzirom na elektrostatička svojstva tih makromolekula, kroz staklasto tijelo lakše difundiraju male molekule negativnog naboja, a najdulje se u tom mediju zadržavaju velike molekule hidrofилnih karakteristika. Takvi su lijekovi najčešće eliminirani putem očne vodice koja se iz prednje očne sobice ulijevaju u cirkulaciju. Za razliku od njih, lipofilni se lijekovi manjih dimenzija u staklastom tijelu zadržavaju kraće te se eliminiraju apsorpcijom u mrežnicu, a potom u žilnicu i sistensku cirkulaciju (Löscher i sur., 2022).

Krvno – vodenu barijeru (BAB) čine epitelni slojevi šarenice i cilijarnog tijela. Te su stanice međusobno povezane tijesnim spojevima koji limitiraju prolaz velikih molekula. (Lee i Rhee, 2022).

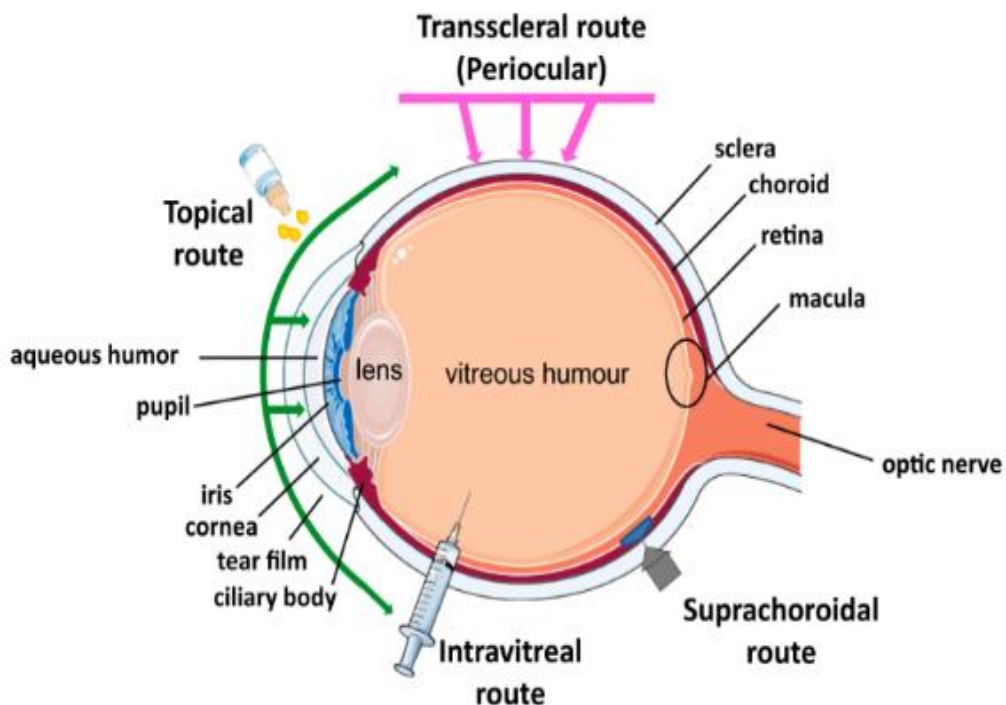
Žilnica je visokovaskularizirano tkivo koje se nalazi između bjeloočnice i retinalnog – pigmentnog epitela. Građena je od 5 slojeva koji zasebno ograničavaju penetraciju lijekova u oko. Prvi je sloj Bruchova membrana, sloj bez stanica, s mnoštvom vlakana kolagena i elastina. Drugi je sloj koriokapilarni. To su kapilare s velikim porama koje omogućuju prolaz velikih molekula. Ispod koriokapilarnog sloja prolaze dva sloja tankih kapilara koji uz koriokapilarni čine dinamičku barijeru stražnjeg segmenta oka. uz bjeloočnicu leži suprakoroidalni sloj s visokim udjelom kolagena, fibrogena i melanocita. S Bruchovom membranom čini statičku barijeru. Kako statičke, tako i dinamičke barijere, sprečavaju penetraciju hidrofилnih molekula (Lee i Rhee, 2022).

Krvno – retinalna barijeru čine kapilare retinalnog endotela i retinalni pigmentni epitel te predstavlja fiziološku barijeru stražnjeg dijela oka. Stanice endotela povezane su tijesnim spojevima koje mogu inhibirati penetraciju molekula lijeka iz sistenske cirkulacije u stražnji segment oka (Lee i Rhee, 2022).



Slika 3. Prikaz puteva apsorpcije i eliminacije lijekova kod topikalne oftalmičke primjene (preuzeto iz Löscher i sur., 2022).

#### 4.2. Putevi oftalmičke primjene lijeka



Slika 4. Putevi primjene lijekova koji se koriste u liječenju bolesti oka (preuzeto iz Lorenzo-Veiga i sur. (2021) uz suglasnost izdavača)

#### **4.2.1. Topikalna primjena lijekova**

Kod liječenja bolesti prednjeg segmenta oka, u 90% slučajeva se lijek primjenjuje topikalno (Slika 4.), najčešće primjenom kapi za oči (Yang i Lockwood, 2022). Razlog je tome prihvatljiva cijena preparata, malo sistemskih učinaka lijeka, jednostavnost primjene te mogućnost samostalne primjene od strane pacijenta (Lorenzo – Veiga i sur, 2021). Međutim, bioraspoloživost djelatnih tvari limitirana je jer se na površini oka zadržava manje od 5% primijenjene doze, a ostatak je eliminiran putem nazolakrimalne drenaže i potencijalno izaziva sistemske nuspojave. Da bi se lijek uopće apsorbirao u oko, molekula mora biti topljiva u vodenoj fazi suznog filma. Nadalje, suzni se film stvara i eliminira brzinom od 1,2  $\mu\text{L}/\text{sek}$  pa se djelatna tvar na površini na zadržava vrlo kratko. Potom, molekula lijeka mora difundirati kroz lipofilne barijere rožnice i spojnice. Kod bolesti stražnjeg segmenta oka, topikalni se preparati primjenjuju rjeđe jer tada djelatna tvar mora penetrirati kroz sva tri sloja suznog filma te nadvladati statičke i dinamičke barijere oka (Loftsson i Stefansson, 2021).

#### **4.2.2. Sistemska primjena lijekova**

Sistemska primjena lijekova u oko uključuje peroralni i intravenozni put. Prvenstvena je namjena dostava lijekova u stražnji segment oka (Lorenzo – Veiga i sur, 2021). Sistemska primjena omogućuje dostavu hidrofilnih lijekova u stražnji segment oka (Lee i Rhee, 2022). Pri tome je nužna primjena razmjerno velike količine lijeka kako bi nakon razrjeđenja u krvnim žilama u tkivima oka postigle zadovoljavajuće terapijske koncentracije, što uzrokuje pritom brojne sistemske nuspojave i toksičnost. Nadalje, pri ulasku u stražnji segment oka djelatna tvar mora proći kroz tijesne spojeve u krvno – retinalnoj i krvno – vodenoj barijeri što dodatno narušava bioraspoloživost lijeka nakon sistemske primjene (Lorenzo – Veiga i sur, 2021).

#### **4.2.3. Intraokularna primjena lijekova**

Najzastupljeniji oblik intraokularne primjene lijeka je intravitrealnim putem (Slika 4). Pritom se koriste implantanti i injekcije, i to za liječenje bolesti stražnjeg segmenta oka kao što su makularni edem i senilna makularna degeneracija. Metoda je vrlo invazivna i za pacijente neugodna, količina pripravaka je ograničena na 100  $\mu\text{L}$ , zahtijeva učestalo doziranje (Lorenzo – Veiga i sur, 2021.) te uzrokuje nuspojave poput endoftalmitisa i bakterijskih infekcija (Agrahari i sur., 2016). Iako intravitealni put primjene osigurava dostavu lijeka vrlo blizu mjesta djelovanja, staklasto tijelo predstavlja najznačajniju barijeru za transport lijeka do stražnjeg segmenta oka. Zbog stalnog prometa tekućine u oku djelatne se tvari iz staklovine eliminiraju putem stražnje ili prednje očne komore u sistemske cirkulaciju (Lorenzo – Veiga i sur, 2021).

#### **4.2.4. Periokularna primjena lijekova**

Periokularna dostava lijekova uključuje subkonjunktivalnu, subtenonsku, retrobulbarnu, peribulbarnu, i suprakoroidalnu primjenu (Slika 4., Lorenzo-Veiga i sur., 2021). Kod subkonjunktivalne primjene moguće je dostaviti lijekove u prednji i stražnji segment oka i najčešće se koriste injekcije (Raghava i sur., 2004). Kod subtenonske primjene lijekovi se apliciraju u šupljinu između bjeloočnice i Tenonove kapsule. Kod retrobulbarne primjene lijekovi se iglom primjenjuju u stražnji dio izvan očne jabučice te postoji mogućnost oštećenja vidnog živca (Agrahari i sur., 2016). Retrobulbarna primjena omogućuje postizanje visokih koncentracija lijekova u stražnjem segmentu oka, ali može uzrokovati hemoragiju, infekcije i respiratorni arest (Raghava i sur., 2004). Za razliku od retrobulbarne primjene, peribulbarne injekcije dostavljaju lijekove ispod ili iznad očne jabučice u ravnini ekvatora te je rizik od ozljeda i oštećenja tkiva manji (Agrahari i sur., 2016). Aplikacija između bjeloočnice i žilnice naziva se suprakoroidalna primjena (Lorenzo – Veiga i sur, 2021).

### **4.3. Bolesti oka s visokim rizikom od gubitka vida**

Ljudsko oko je kompleksan, ali osjetljiv i izrazito važan organ. Mada ga odlikuju brojne fiziološke i anatomske barijere, tijekom cijelog je života izravno izložen okolišnim čimbenicima i podložan promjenama povezanim s općim stanjem organizma. Bolesti oka su brojne, zahvaćaju milijune ljudi diljem svijeta, uzrokujući velike troškove pojedincima i zdravstvenim sustavima, a prate ih neugodni simptomi i narušena kvaliteta života. U oftalmologiji postoji široki spektar bolesti koje zahvaćaju različite dijelove i segmente oka, a simptomi i tijek bolesti mogu biti lakši, ali i vrlo teški. Pacijenti kod bolesti kao što je sindrom suhog oka ne odlaze liječniku jer se stanje ne manifestira na oštrinu vida, već kao nelagoda u oku (Chaudhari i sur., 2019). Često posežu za samoliječenjem pri čemu se često koriste umjetnim suzama s natrijevim hijaluronatom (Yang i Lockwood, 2022). Bolesti oka povezane s infekcijama zbog imunoloških reakcija u intraokularnim tkivima dovode do crvenila, iritacije, upale i slabljenja vida. Najteže posljedice koje rezultiraju gubitkom vidne oštine, a u nekim slučajevima javljaju se kod bolesti oka kao što su senilna makularna degeneracija, dijabetička retinopatija, glaukom i katarakta. U nekim slučajevima te bolesti dovode do trajnog gubitka vida (Chaudhari i sur, 2019).



### **4.3.1. Senilna makularna degeneracija**

Senilna makularna degeneracija drugi je po redu uzrok gubitka vida i sljepoće u razvijenom svijetu. Studije su pokazale da pacijenti uslijed senilne makularne degeneracije proživljavaju više stresa, teže se nose s fizičkim aktivnostima te općenito imaju lošiju kvalitetu života u odnosu na ljude iste dobi koji ne boluju od te bolesti. Obzirom da se radi od populaciji starije životne dobi, gubitak vida povećava vjerojatnost padova i lomova što značajno otežava svakodnevne obaveze (Thomas i sur., 2021).

#### *Faktori rizika i prevalencija*

Najveći je faktor rizika starija životna dob, tj. stariji od 60 godina. Međutim to mogu biti i hipertenzija, pretilost, alkoholizam, postojeći rizik od kardiovaskularnih bolesti, dijabetička retinopatija i visoke razine HDL-a (Deng i sur., 2021).

#### *Patofiziologija*

Zbog starenja u stanicama retinalnog pigmentnog epitela nakupnja se lipofuscin te se zbog visokih razina HDL – a talože lipidni radikali i peroksidi (Deng i sur., 2021). Ti radikali, osim što napadaju stanice fotoreceptora, uzrokuju oštećenje stanica retinalnog pigmentnog epitela pa se sadržaj tih stanica, ponajviše enzimi, izlijeva na Bruchovu membranu. Zbog ateroskleroze i povišenih vrijednosti HDL – a dolazi do propadanja žila koje opskrbljuju retinu. Smanjen je dovod kisikom te su aktivirani lokalni upalni procesi koji dovode do proizvodnje većih količina slobodnih radikala i vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGF). On uzrokuje stvaranje novih krvnih žila, odnosno neovaskularizaciju. Bolest je karakterizirana pojavom lezija ili druza koje se nakupljaju između bazalne membrane retinalnog pigmentnog epitela i unutarnjeg kolagenog sloja Bruchove membrane (Mitchell i sur., 2018).

#### *Liječenje*

U prvoj se liniji liječenja senilne makularne degeneracije koriste intravitrealne injekcije anti – VEGF molekule kao što su pegabtanib, ranibizumab, bevacizumab i aflinercept koje inhibiraju VEGF – om uzrokovanu neovaskularizaciju (Deng i sur., 2021).

Također, intravitrealno se koriste i neki kortikosteroidi: triamcinolon acetamid, fluorocinolon acetat, deksametazon (Lorenzo – Veiga i sur., 2021).

### **4.3.2. Dijabetička retinopatija**

#### *Klasifikacija bolesti i simptomi*

Dijabetička retinopatija vodeći je uzrok gubitka vida i sljepoće u cijelom svijetu. Kako od ove bolesti boluje oko 90 milijuna ljudi, ona predstavlja veliki ekonomski teret za zdravstvo (Heng i sur., 2013). Prema težini i simptomima dijabetička se retinopatija dijeli na neproliferativnu i proliferativnu. Neoproliferativna je faza lakši početni oblik bolesti karakteriziran promjenama u vaskularnoj permeabilnosti i krvnom protoku krvnih žila retine. Taj je stadij često asimptomatski i ne utječe značajno na kvalitetu života bolesnika. Proliferativna faza bolesti karakterizirana je ishemijom i neovaskularizacijom te uzrokuje hemoragiju i nastanak makularnog edema. Popraćena je gubitkom vida i povećava rizik od ablacije retine (Antonetti i sur., 2021).

#### *Faktori rizika i prevalencija*

Najvažniji su faktori rizika anemija, trajanje šećerne bolesti i razina kontrole hiperglikemije. Osim toga, povišene serumske vrijednosti lipida i kolesterola, hipertenzija i povišena vrijednost HbA1c (Antonetti i sur., 2021).

#### *Patofiziologija*

Sama je etiologija dijabetičke retinopatije usko povezana s dugogodišnjom hiperglikemijom. Povišene vrijednosti glukoze u krvi oštećuju renalne pericite zbog nedostatne razgradnje glukoze. Dolazi do promjene u redoks stanju NADPH i pojave oksidacijskog stresa. To dovodi do narušene regulacije protoka krvi, povećane vaskularne permeabilnosti tj. nastanka mikroaneurizama uz mogućnost formiranja makularnog edema (Antonetti i sur., 2021). Tkivo proizvodi VEGF koji dovodi do neovaskularizacije i povećane vaskularne permeabilnosti (Heng i sur., 2013).

#### *Liječenje*

U liječenju dijabetičke retinopatije koriste se intravitrealne injekcija anti – VEGF faktora, kao što su aflibercept, bevacizumab, ranibizumab koji neutralizacijom vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGF) smanjuju neovaskularizaciju. U obliku intravitrealnih implantanata koriste se kortikosteroidni lijekovi: triamcinolon acetat i deksametazon u prvoj liniji te fluocinolon acetat u drugoj liniji (Striglia i sur., 2020).

### 4.3.3. Glaukom

#### *Klasifikacija bolesti i simptomi*

Glaukom je bolesti oka popraćena oštećenjem retinalnih ganglija. Aksoni su tih stanica dio optičkog živca, a tijelo dio retine. Posljedica je takve degeneracije propadanje vidnog diska i gubitak vida. Prema svojim se karakteristikama bolesti dijeli na glaukom otvorenog kuta i glaukom zatvorenog kuta. Pogađa oko 70 milijuna ljudi diljem svijeta te je vodeći uzrok gubitka vida razvijenih zemalja. Od potpunog gubitka vida pati tek 10% oboljelih (Weinreb i sur., 2014).

#### *Prevalencija i faktori rizika*

Glaukom se najčešće javlja kod ljudi crnačkog porijekla starije dobi koji su osobnoj ili obiteljskoj anamnezi imaju glaukom ili povišeni intraokularni tlak (Weinreb i sur., 2014).

#### *Patofiziologija*

Temelj je patofiziologije glaukoma povećani intraokularni tlak uzrokovan disbalansom proizvodnje očne vodice u zrakastom tijelu i eliminacije iste putem trabekularne mreže ili cilijarnog mišića. Kod glaukoma otvorenog kuta uzrok je neadekvatne eliminacije putem trabekularne mreže ili Schlemmovog kanala. Višak tekućine stvara pritisak na bjeloočnicu u prednjem segmentu oka. Taj se pritisak prenosi na dijelove stražnjeg segmenta, točnije na retinalne ganglije, što dovodi do mehaničkog oštećenja aksona u optičkom disku (Weinreb i sur., 2014).

#### *Liječenje*

U liječenju glaukoma koriste se lijekovi koji djeluju na sniženje intraokularnog tlaka. To su analozi prostangladina kao što su bimatoprost, latanoprost, tafluprost i travoprost i kolinergični agonisti; pilokarpin i karbakol djeluju tako da povećavaju otjecanje očne vodice. Istim mehanizmom djeluju  $\beta$ -blokatori (timolol, levobunolol, carbolol, betaksolol, metipranolol, dok  $\alpha_2$  – agonisti (apraklonidin i brimonidin) i inhibitori karboanhidraze (dorzolamid, acetazolamid i brinzolamid) reduciraju proizvodnju očne vodice (Lorenzo – Veiga i sur, 2021). Glaukom zatvorenog kuta liječi se operativno (Weinreb i sur., 2014).

#### **4.3.4. Katarakt ili siva mrena**

##### *Klasifikacija bolesti*

Katarakta može biti subkapsularna kada se razvija iza leće, nuklearna kada se razvija u kori leće ili kortikalna kada zahvaća koru (Lorenzo – Veiga i sur, 2021.). Najzastupljeniji je uzrok sljepoće u nerazvijenim zemljama.

##### *Faktori rizika i prevalencija*

Najznačajniji je faktor rizika starija životna dob, međutim razvoju katarakte doprinose dugoročna uporaba kortikosteroida, pušenje, dijabetes, hipertenzija, alkoholizam, ozljede oka, izloženost sunčevom UV zračenju i pretilost (Lorenzo – Veiga i sur, 2021.)

##### *Patofiziologija*

Usljed starenja leća gubi svoju formu i smanjuje se njena transparentnost. Katarakt, ovisno o tome koji dio leća zahvaća, može biti kortikalni, nuklearni ili subkapsularni (Lorenzo – Veiga i sur, 2021.)

##### *Liječenje*

Najučinkovitije liječenje je operativni zahvat. Odmah po operativnom zahvatu pacijentu se u obliku intravitrealne injekcije aplicira suspenzija deksametazona koja ublažava upalne procese uzrokovane operacijom. Mogu se koristiti i drugi kortikosteroidi kao što je difluprednat i loteprednol etabonat u obliku kapi za oči (Lorenzo – Veiga i sur, 2021).

#### **4.4. Izazovi u razvoju topikalnih oftalmika**

Kapi za oči čine 90% preparata za topičku oftalmičku primjenu. Osim što osiguravaju lokalni učinak lijeka uz minimalnu sistemsku apsorpciju te posljedično nisku pojavnost sistemskih nuspojava, kapi za oči jednostavna su i neinvazivna metoda primjene lijeka za većinu pacijenata. Uglavnom su formulirane kao vodena otopina u kojoj je djelatna tvar u potpunosti otopljena, dok oko 20% oblika na tržištu čine suspenzije. To su disperzije djelatnih tvari u vodenom mediju koje se prije uporabe moraju promućkati kako bi se postigla jednolika distribucija djelatne tvari. Oftalmičkih primjenom najviša stopa apsorpcije lijeka postiže se odmah po aplikaciji, što je posljedica visoke lokalne koncentracije lijeka, a apsorpcija se odvija kinetikom nultog reda. Međutim, zbog treptanja, poticanja lakrimacije i nazolakrimalne drenaže, djelatna se tvar na površini oka zadržava vrlo kratko pa je nužno učestalo doziranje

što često dovodi do neadherencije bolesnika i izostanka terapijskog učinka lijeka. Do slabe adherencije može dovesti više čimbenika. Obzirom da je često riječ o starijim pacijentima, otežavajuća je okolnost što aplikacija kapi za oči zahtijeva spretnost i složeni režim doziranja, a nerijetko dovodi do iritacije i peckanja kože oko očiju. Posljedično, i akutna i kronična primjena kapi za oči podliježu proizvoljnom doziranju pacijenata. Čak i kada je postignuta visoka adherencija, djelatne tvari, zbog anatomske i fiziološke barijere oka te brze eliminacije s površine oka, ne postižu zadovoljavajuću bioraspodjelivost. Zbog navedenih razloga, proveden je značajan broj istraživanja alternativnih oblika kapi za oči koje omogućuju produljeno vrijeme zadržavanja na površini oka i poboljšanu permeaciju djelatnih tvari u oko. Nadalje, raste interes za druge tehnologije, kao što su leće i umetci s rezervoarom djelatnih tvari, koje omogućuju produljeno i kontrolirano oslobađanje (Yang i Lockwood, 2022).

Oftalmička primjena zahtijeva mali volumen pripravka koji se vrlo kratko zadržava na površini oka. Kao što je već ranije prikazano, najveći volumen tekućeg pripravka konjunktivne vrećice i površine oka iznosi 25 i 8  $\mu\text{L}$ , dok primjena većeg volumena pripravka izaziva refleksno treptanje čime se uklanja višak tekućine. Normalna učestalost treptanja je 15-20 puta u minuti, čime se osigurava izmjena suznog filma i njegova drenaža putem nazolakrimalnog duktusa, čime se primijenjeni lijek uklanja s površine oka. Normalna sekrecija suza je kontinuirani proces koji se odvija brzinom 1.2  $\mu\text{L}/\text{min}$ , dok primjena pripravka u volumenu većem od maksimalnog kapaciteta oka, kao i primjena formulacija koji sadrže potencijalno iritirajuće pomoćne tvari te čestice veće od 90  $\mu\text{m}$  pridonose bržoj eliminaciji pripravka s površine oka uslijed pojačanog lučenja suza i učestalijeg treptanja.

Kako bi se osiguralo uklapanje klinički relevantne doze lijeka u volumen pripravka koji je prikladan za oftalmičku primjenu, koriste se različiti principi, koji uključuju primjenu suotapala, formiranje prolijekova i soli s poboljšanom topljivosti, uporabu solubilizatora i ciklodekstrina. Ukoliko primjenom ovih principa nije moguće osigurati zadovoljavajuću topljivost lijeka u pripravku, on se formulira kao suspenzija pri čemu je od ključne važnosti veličina dispergiranih čestica lijeka (Chaudhari i sur., 2019; Wroblewska i sur., 2021). Prema Europskoj farmakopeji, u uzorku koji sadržava 10  $\mu\text{g}$  čvrste faze, najviše 20 čestica može imati promjer veći od 25  $\mu\text{m}$  i najviše dvije od njih mogu imati promjer veći od 50  $\mu\text{m}$ . Niti jedna od tih čestica ne smije imati promjer veći od 90  $\mu\text{m}$ . Zbog toga je kod oblikovanja kapi suspenzija neophodna uporaba mikroniziranih djelatnih tvari, kao i korištenje odgovarajućih stabilizatora suspenzije, kao što tenzidi koji djeluju kao sredstva za močenje te hidrokoloide.

Za tekuće oftalmike oblikovane kao otopine, za osiguranje topljivosti lijeka u volumenu prikladnom za primjenu u oko koriste se suotapala kao što su glicerol, propilenglikol, makrogol 400 te površinski aktivne tvari polisorbat 20 (polioksietilen sorbitan monolaurat, HLB=16,7), polisorbat 80 (polioksietilen sorbitan monooleat, HLB=15), polioksietilen glicerol monostearat (Cremophor, HLB 10). No njihova primjena je ograničena, jer u visokim koncentracijama izazivaju iritaciju oka, dok tenzidi destabiliziraju strukturu suznog filma. U tom smislu, kao zanimljiva alternativa primjeni suotapala i tenzida za poboljšanje topljivosti djelatnih tvari mogu se koristiti i ciklodektrini (Wroblewska i sur., 2021). Kao što je već ranije objašnjeno, njihovo se djelovanje temelji na stvaranju inkluzijskih kompleksa s lipofilnim tvarima u vodenom okolišu. No, solubilizacijski je učinak ciklodekstrina također ograničen, pa ga je potrebno dodatno unaprijediti, što se može postići dodatkom treće komponente u sustav, pri čemu nastaju ternarni kompleksi. Treća su komponenta ternarnih kompleksa hidrofilni polimeri kao što su HPMC (hidroksipropilmetil celuloza ili hipromeloza), PVA (polivinilalkohol), poloxameri, hijaluronska kiselina (HA), karboksimetil celuloza, polivinilpirolidon (PVP), Carbopol 940, alginat, kitozan i heksadimetrim bromid. Povećavaju topljivost nativnih ciklodekstrina uspostavljajući vodikove veze s njihovim vanjskim hidroksilnim skupinama, a istovremenom interakcijom sa skupinama ciklodekstrina i lijeka pridonose stabilnosti nastalog inkluzijskog kompleksa. Hipromeloza je neionogeni polimer koji u niskim koncentracijama (< 1%, m/V) stabilizira inkluzijske komplekse i povećava im topljivost. Ternarni kompleksi s polivinilalkoholom stabilniji su i manje skloni stvaranju agregata od binarnih kompleksa iste djelatne tvari i ciklodekstrina. dok poloksameri, osim stabilizacije kompleksa omogućuju usporeno oslobađanje djelatne tvari (Jansook i Loftsson, 2022).

Ternarni kompleksi mogu nastati i formiranjem soli. Najčešće se koriste soli jabučne, limunske, vinske, octene ili maslačne kiseline (malati, citrati, tartarati, acetati i mesilati). Povećavaju topljivost nativnih ciklodekstrina uspostavljajući vodikove veze s njihovim vanjskim hidroksilnim skupinama te stvaraju soli lijekova koji su slabe kiseline ili baze. Lijek u obliku soli je bolje topljivosti u vodi, čime se poboljšava njihova interakcija s ciklodekstrinima, pa raste njihov solubilizacijski potencijal (Jansook i Loftsson, 2022).

Ternarni kompleksi mogu se postići i kombiniranjem više različitih derivata ciklodekstrina, odnosno više djelatnih tvari u jednoj formulaciji. Tako se često kombiniraju lijekovi različitih fizikalno - kemijskih svojstava jer je sposobnost ciklodekstrina da kompleksira jedan lijek obrnuta proporcionalna njegovom afinitetu prema drugom lijeku (Jansook i Loftsson, 2022).

Nerijetko se poboljšanje topljivosti lijekova postiže formiranjem prolijevova. Tkiva prednjeg segmenta oka bogata su esterazama, aminopeptidazama i amidazama koje metaboliziraju lijekove pa se djelatne tvari primjenjuju u obliku estera i amida koji se lakše otapaju i lakše nadilaze lipofilne barijere oka (Wroblewska i sur., 2021).

Kapi za oči se po primjeni brzo ispiru s površine oka, a za otopljene lijekove to znači brzu eliminaciju i slabu oftalmičku bioraspoloživost, koja iznosi oko 5% primijenjene doze lijeka. Viskozni sustavi bolje prijanjaju na površinu oka i dulje se zadržavaju što izravno doprinosi kornealnoj apsorpciji i okularnoj bioraspoloživosti lijekova. Za povećanje viskoznosti najčešće se koriste hidrofilni polimeri, *in situ* gelovi i masti za oči (Yang i Lockwood, 2022).

Kako bi se postiglo produljeno zadržavanje na površini oka u oftalmičke se pripravke dodaju prirodni, polusintetski i sintetski polimeri koji na sebe navlače velike količine vode i daju viskoelastične gelove. Sintetski su polimeri polietilenglikol (PEG), poliakrilati, siloksani i polivinilalkohol (PVA). Prirodni su polimeri hijaluronska kiselina, alginat, derivati celuloze, kitozan i kolagen (Wroblewska i sur., 2021). Uspostavljaju stabilne nekovantne veze s mucinom na površini oka, što omogućuje dulje zadržavanje pripravka na mjestu primjene i bolju kornealnu penetraciju djelatne tvari (Yang i Lockwood, 2022). Iste se sirovine koriste za proizvodnju oftalmičkih hidrogelova. To su materijali koji formiranju trodimenzionalne strukture, a u šupljinama tih struktura mogu pohraniti veliku količinu vode. Za povećanje viskoznosti uvelike se koriste *in situ* gelovi. To su formulacije polimera koje se primjenjuju u tekućem obliku, a u kontaktu s površinom oka prelaze u gel stanje. Promjena fizičkih svojstava može biti potaknuta promjenom temperature, pH – vrijednosti ili prisustvom iona u okolišu polimera. Pri formiranju o temperaturi ovisnih gelova *in situ* najčešće se koristi poloksameri (npr. Pluronic 127). Hidrogelovi na bazi poloksamera često se kombiniraju s derivatima celuloze kako bi se postigao učinka produljenog oslobađanja lijeka u oku. Celulozaacetatftalat i polimeri akrilatne kiseline formiraju pH – ovisne *in situ* gelove (Wroblewska i sur., 2021.), a ion – osjetljive alginat i gelan guma (Yang i Lockwood, 2022).

U proizvodnji masti za oči najčešće se koristi vazelin. Iako uzrokuje zamućenje vida, osjećaj masnih očiju i kože oko očiju, masti za oči su ekonomične, tehnologija proizvodnje nije izrazito kompleksna, a temperatura taljenja vazelina je približno jednaka tjelesnoj temperaturi i ne izazivaju iritacije (Yang i Lockwood, 2022).

Osim toga, produljeno se vrijeme zadržavanja lijekova na površini oka može postići i primjenom naprednih formulacija i nosača lijekova koji se danas intenzivno istražuju. Neki su

od njih su liposomi, niosomi, micelle, dendrimeri, kubosomi, okularni implatanti, okularni umetci i kontaktne leće (Wroblewska i sur., 2021). Zbog svoje su velike površine i dobrih mukoadhezivnih svojstava, nosači nanometarskih dimenzija pogodni su za okularnu primjenu jer kapsuliranjem djelatne tvari sprečavaju enzimsku razgradnju, omogućuju kontrolirano oslobađanje te se dugo zadržavaju na površini oka (Yang i Lockwood, 2022).

Čvrste lipidne nanočestice sadrže lipidni matriks od fosfatililkolina ili kolesterola stabiliziran surfaktantima. Jednostavne su za proizvodnju te ih je moguće sterilizirati autoklaviranjem. Obzirom na dimenzije, polimerni sustavi za okularnu dostavu lijekova mogu se podijeliti na mikročestice (1-10  $\mu\text{m}$ ) i nanočestice (10-10 000 nm). Tvore mikro- i nanosfere koje se ponašaju kao polimerom obavijeni rezervoari djelatnih tvari. Pri uporabi, lipidna ovojnica se postupno razgrađuje što omogućuju oslobađanje lijeka (Wroblewska i sur., 2021).

Liposomi su vezikule građene od jednog ili višekcentričnih dvosloja. Biokompatibilni su, biorazgradivi i amfoterni, a pogoduju otapanju i hidrofilnih i hidrofobnih tvari. Međutim, djelatne tvari ne stabiliziraju učinkovito. Liposomima vrlo slični niosomi, građeni od neionogenih surfaktanata, sa znatno većim kapacitetom stabilizacije. Omogućuju produljeno vrijeme zadržavanja na površini oka i doprinose biorasploživosti oftalmički primjenjenog lijeka. Diskosomi su njihova modifikacija lanolinom. Hibridizirane vezikule koje poboljšavaju penetraciju, također su građene od dvosloja fosfolipida lipida i neionogenih surfaktanata. Nadalje, dendrimeri su polimerne trodimenzionalne strukture sfernog oblika koje zahvaljujući raznovrsnim funkcionalnim skupinama na svojoj površini uspostavljaju čvrste nekovalentne veze s djelatnom tvari. Na taj način omogućuju kontrolirano oslobađanje lijeka, dulje vrijeme zadržavanja na površini oka i poboljšanu biorasploživost. Kubosomi su koloidni tekući kristali građeni od glicerol monooleata, vode i poloxamera 407 te vežu hidrofilne i hidrofobne lijekove (Wroblewska i sur., 2021).

Okularni umetci umeću se u konjunktivalnu vrećicu i zadržavaju se u oka dulje od konvencionalnih oblika, omogućuju produljeno oslobađanje djelatne tvari i reduciraju gubitke lijekova lakrimacijom. Dije se na čvrste i polučvrste oblike, a građeni su od derivata celuloze, metilceluloze, etilceluloze (Mydriaser<sup>®</sup>, Thea Pharmaceuticals Ltd), hidroksipropilmetilceluloze (Lacrisert<sup>®</sup>, Bausch&Lomb); polivinilpirolidina, polivinilalkohola (NODS: *New Ophthalmic Delivery System*), kitozana i karboksikmetilitozana, želatine, alginata i polimera akrilne kiseline (Wroblewska i sur., 2021).

Implantanti su čvrsti dozirni oblici koji se kirurški ugrađuju u oko. Osim od polimera celuloze i kopolimera glikolne i akrilatne kiseline, mogu biti načinjeni od silikona i titana.



Takvi, metali implantati, imaju ovojnice od polimera omogućuju kontrolirano oslobađanje lijeka tijekom nekoliko godina (Wroblewska i sur., 2021).

Leće koje sadrže lijekove najčešće su građene od polimera 2-hidroksietilmetilakrilata i etilenglikoldimetilakrilata, a u novije vrijeme i od silikona. Za razliku od ostalih neinvazivnih metoda, omogućuju kontinuiranu dostavu lijeka u oka do 21 dan. Najjednostavnija metoda aplikacije leća je natapanje otopinom djelatne tvari, ali tako se ne apsorbira dovoljno djelatne tvari i dolazi do brzog otpuštanja. Zato se leće često obogaćuju nanočesticama koje kapsuliraju lijek te se proizvode leće od biorazgradivih hidrogela (Wroblewska i sur., 2021).

#### **4.5. Primjena ciklodekstrina u razvoju oftalmika za topikalnu primjenu**

Ciklodekstrini se u tekućim farmaceutskim oblicima za topikalnu primjenu u oko primjenjuju u prvom redu kako bi povećali topljivost lipofilnih lijekova ograničene topljivosti u vodi, a sekundarno s ciljem poboljšanja transkornealne apsorpcije lijekova. Do sada je značajan broj formulacija registriran i nalaze se u svakodnevnoj kliničkoj praksi. To su kapi za oči s indometacinom (Indocollyre<sup>TM</sup>/ Indocollirio<sup>TM</sup>, Chauvin i Bausch & Lomb) koje su razvijene primjenom HP $\beta$ CD, Vorikonazol otopina za oko (riječ je o Vefend<sup>®</sup> otopini za intravensku primjenu (Pfizer) mimo odobrenog indikacijskog područja) koja sadrži SBE $\beta$ CD, kapi za oko s 1% kloramfenikola (Chlorocil<sup>®</sup>, Laboratório Edol) koje sadrže M $\beta$ CD te kapi za oko s 0,1% diklofenaka (Voltaren Ophtha<sup>TM</sup>, Novartis) koje su razvijene primjenom HP $\gamma$ CD. Osim solubilizacije klinički relevantne doze lijeka, ciklodekstrini u ovim pripravcima djeluju kao nosači lipofilnih lijekova čime olakšavaju njihov transport lijeka suzni film do površine rožnice (Loftsson i Stefanson, 2021). Pri tome valja naglasiti da ciklodekstrini solubiliziraju lijek bez nepovoljnog utjecaja na njegovu lipofilnost čime ne mijenjaju intrinzičku permeabilnost lijeka kroz lipofilne membrane, koja je za lipofilne lijekove uglavnom visoka.

U nastavku će se na odabranim primjerima iz literature opisati prednosti koje se mogu ostvariti primjenom ciklodekstrina u razvoju farmaceutskih oblika lijekova za oftalmičku primjenu.

##### **4.5.1. Aksitinib**

Aksitinib je inhibitor tirozin kinaze kojeg je FDA 2012. godine odobrila za liječenje karcinoma bubrega, zbog njegovog antiangiogenog učinka. Djeluje kao selektivni blokator nekoliko izoformi receptora za vaskularni endotelni faktor rasta (VEGFR1, VEGFR2,

VEGFR3) i receptor za faktor sazrijevanja trombocita (PDFGR). Novija istraživanja pokazuju da bi aksitinib s obzirom na mehanizam djelovanja mogao imati i potencijalu primjenu u liječenju neovaskularne makularne degeneracije. No u tu svrhu potrebno je razviti odgovarajući terapijski sustav koji će topikalnom osigurati dostavu klinički učinkovitih doza lijeka u stražnji segment oka, s obzirom da je intravitrealna primjena povezana s nizom poteškoća što je već detaljno obrazloženo. Također, lijek pokazuje izrazito nisku topljivost u vodi ( $0,2\mu\text{g/mL}$ ) što značajno otežava razvoj odgovarajuće formulacije. Huang i sur. (2021) razvili su kapi za oči, otopinu koja sadrži kompleks koji je nastao spontanom udruživanjem aksitiniba, HP $\beta$ CD, hipromeloze i kofeina koji djeluje kao stabilizator nastalog kompleksa. Time je topljivost lijeka povećana čak 60 000 puta. Kompleks je pripremljen otapanjem aksitinima u ledenoj octenoj kiselini koja je zatim pomiješana s otopinom HP $\beta$ CD, hipromeloze i kofeina u vodi uz soniciranje. Pripremljena otopina je zatim osušena tehnikom sušenja raspršivanjem uz naknadno sušenje u vakuumu pri  $120^{\circ}\text{C}$  kako bi se uklonili tragovi otapala, a zatim je nastali produkt rehidriran u sterilnoj vodi za injekcije i profiltriran kroz filter pora  $0,2\mu\text{m}$ . Pripremljena otopina sadrži 8,49 % lijeka, a s obzirom na pH (6,75), osmolarnost ( $580 \pm 2.89\text{ mOsM/kg}$ ) i viskoznost (9.26 cP) prikladna je za oftalmičku primjenu te pokazuje primjerenu kemijsku stabilnost. Istraživanja na modelu kunića indiciraju učinkoviti transport lijeka u stražnji segment oka nakon topikalne primjene, s obzirom da su 30 minuta nakon primjene koncentracije lijeka u retini i žilnici bile 900 i 750 puta veće od IC<sub>50</sub> vrijednosti lijeka, koja iznosi  $7.7\text{ ng/mL}$ . U isto vrijeme, topikalna primjena suspenzije s 2% lijeka rezultirala je koncentracijama koje su bile ispod granice određivanja korištene analitičke metode ( $0.5\text{ ng/mL}$ ). Tijekom ispitivanja nije uočena iritacija niti oštećenje oka. Razvijena formulacija pokazala je usporediv antiangiogeni učinak kao i intravitrealna injekcija bevacizumaba (Avastin, Genentech/Roche) na animalnim modelima bolesti (štakor i zec). Maksimalni terapijski učinak uočen je u skupinama koje su primale formulaciju s 0,8 i 1.2% (m/v) aksintiniba (Huang i sur., 2021). Ovi rezultati potvrđuju veliki potencijal primjene ove formulacije bazirane na ciklodekstrinima u antiangiogenjskoj terapiji koju je potrebno potvrditi u kliničkim istraživanjima.

#### **4.5.2. Azitromicin**

Azitromicin je polusintetski makrolidni antibiotik. Djeluje naspram širokog spektra Gram negativnih bacila pa se koristi u liječenju okularnih toksoplazmoza. Izrazito je lipofilan ( $\log K_{o/w} = 4.02$ ), pa pokazuje dobru permeabilnost u tkiva iz kojih se polako eliminira ( $t_{1/2}=68\text{ h}$ ). Glavni ograničavajući faktor u razvoju oftalmičkih oblika azitromicina je njegova vrlo niska

topljivost u vodi (2.37 mg/L pri 25 °C). Zbog toga je oftalmička primjena azitromicina veliki izazov. Konvencionalne formulacije kao što su masti za oči, kapi za oči (suspencije, uljne otopine i emulzije) brzo se eliminiraju nazolakrimalnom drenažom s površine pa je njegova bioraspoloživost ograničena na 38% (Thakur i sur., 2022). Nadalje, azitromicin u kontaktu s kožom uzrokuje bol, oticanje i osip. Također, zahtijeva učestalo doziranje što dovodi do iritacije oka, svrbež, peckanje, crvenilo, čak i simptoma gripe. U Republici Hrvatskoj registriran je pripravak u obliku kapi za oko, otopine u kojem je azitromicin otopljen u smjesi triglicerida s masnim kiselinama srednje dužine lanaca (Tablica 1).

Tablica 1. Farmaceutski oblici za topikalnu oftalmičku primjenu azitromicina registrirani u Republici Hrvatskoj ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)).

Zaštićeno ime	Djelatna tvar	Farmaceutski oblik	Indikacija
Azyter 15 mg/g kapi za oko, otopina u jednodoznom spremniku	Azitromicin dihidrat	kapi za oko, otopina u jednodoznom spremniku	Lokalno antibakterijsko kurativno liječenje konjunktivitisa uzrokovanog osjetljivim sojevima: <ul style="list-style-type: none"> <li>• bakterijski konjunktivitis u djece i odraslih,</li> <li>• trahomski konjunktivitis, uzrokovan sa <i>Chlamydia trachomatis</i>, u djece i odraslih</li> </ul>

Kako bi se prevladali formulacijski problemi koji proizlaze iz niske topljivosti azitromicina, Thakur i sur. (2022) su priredili inkluzijski kompleks azitromicina sa SBE $\beta$ CD. Rezultati solubilizacijskih ispitivanja ukazuju na nastajanje inkluzijskog kompleksa u stehiometrijskom omjeru lijek/CD 1:2. Osim što značajno povećava topljivost azitromicina u vodi, SBE $\beta$ CD također i kemijski stabilizira lijek, sprečavajući otvaranje laktonskog prstena u vodenom mediju. Kompleks je pripremljen metodom gnječenja, u kojoj se smjesa lijeka i ciklodekstrina ovlažuje pročišćenom vodom do konzistencije paste, a sušenjem u vakuumu pripremljen je kompleks amorfne strukture koji je uklopljen u *in situ* gelirajući matriks, koji je svojim reološkim i ostalim fizičko-kemijskim karakteristikama prikladan za oftalmičku primjenu. *In situ* gelirajući sustav razvijen je varirajući koncentracije karbomera 934P i hipromeloze K4M. Formulacija optimalnih reoloških svojstava i prikladnog profila oslobađanja

lijeka pripremljena je korištenjem 0,2% ispitivanih polimera. Od ostalih pomoćnih tvari, optimalna formulacija sadržavala je 0,1% natrijevog edeata, 0,1 % benzalkonijevog klorida, 0,4% limunske kiseline i 1.12% dinatrijevog hidrogenfosfata. Sustav mijenja viskoznost primjenom u oko uslijed promjene pH vrijednosti (s 6.0 na 7.4) te pokazuje pseudoplastična svojstva. Ispitivanja na zečevima pokazala su da navedena formulacija ne uzrokuje iritaciju oka, a uklapanje lijeka u kompleks s SBE $\beta$ CD ne utječe nepovoljno na njegov antimikrobni učinak (Thakur i sur., 2022). Zbog svega navedenog, ova formulacija ima veliki potencijal da unaprijedi oftalmičku primjenu azitromicina, a njena učinkovitost još se mora ispitati i potvrditi u kliničkim istraživanjima.

### 4.5.3. Deksametazon

Deksametazon je sintetski, fluorirani glukokortikoid sa snažnim protuupalnim i imunosupresivnim djelovanjem, koje je približno 30 puta snažnije od djelovanja fiziološkog glukokortikoida hidrokortizona, dok su štetni učinci poput mineralokortikoidnih učinaka manje izraženi. Supresija upalne reakcije nastupa neovisno o odaslanom podražaju, a prvenstveno se odvija lokalno. Široko se primjenjuje u oftalmologiji, sam ili u kombinaciji s drugim lijekovima (Loftsson i Stefansson, 2021.). Pregled farmaceutskih oblika s deksametazonom za oftalmičku primjenu i njihove indikacije prikazane su u Tablici 2.

Tablica 2. Farmaceutski oblici za topikalnu primjenu deksametazona u oko registrirani u Republici Hrvatskoj ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)).

Zaštićeno ime	Djelatna tvar	Farmaceutski oblik	Indikacija
Maxidex 1 mg/ml kapi za oko, suspenzija	Deksametazon	Kapi za oko, suspenzija	Liječenje neinfektivnih upalnih i alergijskih stanja konjunktive, rožnice i prednjeg segmenta oka, koja reagiraju na steroide, uključujući postoperativne upale
Maxidex 1 mg/g mast za oko	Deksametazon	Mast za oko	
Maxitrol kapi za oko, suspenzija	Deksametazon Neomicinsulfat Polimiksin B sulfat	Kapi za oko, suspenzija	Upalna stanja oka koja reagiraju na steroide i kod kojih je indicirano liječenje kortikosteroidima, te

Maxitrol mast za oko	Deksametazon Neomicinsulfat Polimiksin B sulfat	Mast za oko	istodobno prisutna bakterijska infekcija ili postoji opasnost njezina razvoja (npr. upalna stanja očne jabučice i kapaka, rožnice i prednjeg segmenta očne jabučice, kronični prednji uveitis, te kemijske, radijacijske i opekline ozljede rožnice ili penetracije stranog tijela).
Dexagel 0,985 mg/g gel za oko	Natrijev deksametazonfosfat	Gel za oko	Upala rožnice i konjunktive. Intraokularna upala (iritis, iridociklitis, uveitis).
Duressa 1 mg/ml + 5 mg/ml kapi za oko, otopina	Natrijev deksametazonfosfat Levofloksacin hemihidrat	Kapi za oko, otopina	Sprječavanje i liječenje upala te za sprječavanje infekcije povezane s operacijom sive mrežnice u odraslih.
Tobradex 3 mg + 1 mg/ml kapi za oko, suspenzija	Tobramicin Deksametazon	Kapi za oko, suspenzija	Upalna stanja oka koja odgovaraju na liječenje kortikosteroidima i za koje je indicirana primjena kortikosteroida, te gdje postoji
Tobradex 3 mg + 1 mg/g mast za oko	Tobramicin Deksametazon	Mast za oko	površinska bakterijska infekcija oka ili rizik bakterijske infekcije oka mikroorganizmima koji odgovaraju na liječenje tobramicinom, a rezistentni su na većinu ostalih antibiotika, posebno <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
Ozidurex 700 mikrograma intravitrealni implantat u aplikatoru	Deksametazon	Intravitrealni implantat u aplikatoru	Oštećenje vida zbog dijabetičkog makularnog edema Makularni edem nakon okluzije grane mrežnične vene ili okluzije središnje mrežnične vene.

			Upala stražnjeg očnog segmenta (neinfektivni uveitis).
--	--	--	--

Deksametazon je lipofilan lijek ( $\text{Log}K_{o/w} = 2$ ) zbog čega je praktički netopljiv u vodi ( $s_0=0,1$  mg/mL) što predstavlja značajan izazov u formulaciji oftalmičkih pripravaka te se primjenjuje u obliku suspenzije u kapima i mastima za oči (Loftsson i Stefansson, 2017). Deksametazon natrijev fosfat je značajno topljiviji oblik lijeka ( $s_0=50$  mg/mL) te se u oftalmičkim pripravcima primjenjuje u obliku otopine, ali je u tom slučaju bioraspoloživost oftalmičkim primjenom niska (Saari i sur., 2006).

U istraživanju iz 1996. godine Kristinsson i sur. ispitali su potencijal ternarnih kompleksa za unapređenje okularne bioraspoloživosti deksametazona. U tu svrhu razvili su 3 različite formulacije koje su sadržavale različiti udio ciklodekstrina i hipromeloze. Njihov sastav prikazan u Tablici 3. primijenili su tehnologiju ternarnih kompleksa u razvoju

Tablica 3. Sastav otopina za oftalmičku primjenu deksametazona koje su u svom istraživanju razvili Kristinsson i suradnici (1996).

Formulacija	Sastav
F(I)	0.32% deksametazona; 0.1% HPMC; 5% HP $\beta$ CD; 0.05% natrijevog edeteata; 0.7% natrijevog klorida; 0.01% benzalkonijevog klorida
F(II)	0.67% deksametazona; 0.1% HPMC; 10% HP $\beta$ CD; 0.05% natrijevog edeteata, 0.55% natrijevog klorida; 0.01% benzalkonijevog klorida Termički tretman autoklaviranjem na 120°C tijekom 20 minuta
F(III)	0.67% deksametazona; 0.1% HPMC; 11.5% HP $\beta$ CD; 0.05% natrijevog edeteata, 0.55% natrijevog klorida; 0.01% benzalkonijevog klorida Bez termičkog tretmana
Kontrola	Maxidex®, kapi za oko, suspenzija s 0,1% deksametazona

Preliminarna istraživanja su pokazala kako termički tretman autoklaviranjem potiče solubilizaciju deksametazona uslijed nastanka ternarnog kompleksa lijek-HP $\beta$ CD-HPMC, pa je istu količinu lijeka moguće otopiti primjenom manjih koncentracija ciklodekstrina (10% i 11.5% za formulacije F(I) i F(II)). Utjecaj razvijenih formulacija na koncentraciju deksametazona u očnoj vodici ispitan je na 125 bolesnika kojima je lijek primijenjen 60 i 30 minuta prije operacije uklanjanja očne mrežice. Pri tome, 47 bolesnika je primilo F(I), 26 F(II),

18 F(III), a 34 je primilo komercijalno dostupi oftalmički oblik deksametazona (Maxidex®) koji je služio kao kontrola. Kod bolesnika koji su primili F(I) uočena je 2,6 puta veću bioraspoloživost deksametazona od onih koji su primili Maxidex kapi za oči. Primjenom formulacije koja je sadržavala dvostruko više lijeka (F(II)), bioraspoloživost se u odnosu na F(I) povećala za otprilike 1.3 puta te je uočeno i dulje trajanje učinka. Pri tome je formulacija F(II) koja je bila izložena termičkom tretmanu bila učinkovitija u odnosu na onu koja je pripravljena s većom koncentracijom CD, ali bez autoklaviranja (F(III)). Toksični učinci ispitivanih formulacija nisu uočeni (Kristinsson i sur., 1996).

U sljedećem istraživanju, Saari i sur., (2006) ispitali su učinkovitost formulacije F(II) s ternarnim kompleksom deksametazona s HP $\beta$ CD i HPMC u ublažavanju lokalne upale nakon operacije uklanjanja očne mrežnice, a učinkovitost je uspoređena s onom komercijalno dostupnih Maxitrol® kapi suspenzije. Rezultati istraživanja pokazuju da primjena 0.7% otopine deksametazona (F(II)) jednom dnevno rezultira značajno učinkovitijim protuupalnim učinkom nego primjena 0,1% suspenzije lijeka tri puta dnevno. Iz toga proizlazi da bi inovativna formulacija bazirana na ciklodekstrinima mogla biti naročito prikladna za primjenu u starijoj populaciji, koji ne mogu sami primijeniti lijek (Saari i sur., 2006).

Primjenom RM $\beta$ CD omogućena je priprema izotonične otopine za oftalmičku primjenu s još većom koncentracijom otopljenog deksametazona (15 mg/mL) koja je od ostalih tvari sadržavala još i benzalkonijev klorid (0,02%), EDTA (0,1%), natrijev klorid (0,72%) i HPMC (0,1%). I u ovom slučaju, nastajanje ternarnog kompleksa osigurano je autoklaviranjem na 120°C tijekom 20 minuta (Loftsson i sur., 2007). S obzirom da RM $\beta$ CD značajno povećava topljivost deksametazona te povećava permeabilnost lijekova kroz sluznice, autori su očekivali da bi takva formulacija mogla osigurati učinkovitu apsorpciju deksametazona kroz rožnicu i spojnicu, nadilazeći tako dvije od ukupno tri najznačajnije barijere lijekova ka intraokularnim tkivima. Ispitivanja oftalmičke distribucije na zečevima potvrdila su navedene pretpostavke. Dva sata nakon primjene ove formulacije zečevima, koncentracije deksametazona u staklastom tijelu i mrežnici iznosile su  $22.6 \pm 9$  i  $66 \pm 49$  ng/g, što odgovara koncentracijama koje se postižu 1 mjesec nakon intravitrealne primjene deksametazona.

Autoklaviranjem deksametazona u sustavima istog sastava koji umjesto RM $\beta$ CD sadrže  $\gamma$ CD u rasponu koncentracija do 10% nastaje hipotonična suspenzija u kojoj srednji promjer nastalih čestica iznosi oko 15  $\mu$ m, a najveće prisutne čestice su veličine oko 60  $\mu$ m, što ih čini prikladnim za primjenu u oko. Pri tome, količina otopljenog deksametazona u takvom sustavu iznosi samo oko 5% ukupne doze, dok je ostatak lijeka prisutan u neotopljenom obliku. Ovakav

rezultat pripisuje se velikom afinitetu  $\gamma$ CD da stvara agregate u vodenom mediju koji dalje spontano asociiraju u veće čestice, koje su dodatno stabilizirane prisustvom polimera. No, u takvom sustavu prisutna je stalna ravnoteža između procesa asocijacije i disocijacije molekula inkluzijskog kompleksa, osiguravajući stalnu koncentraciju lijeka dostupnog za apsorpciju putem sluznica tijela (Jansook i Loftsson, 2022). Topikalnom primjenom takvog sustava zečevima u istoj koncentraciji kao i u slučaju RM $\beta$ CD otopine (15 mg/mL) postižu se čak i nešto veće koncentracije lijeka u staklastom tijelu i mrežnici ( $29 \pm 16$  ng/g i  $57 \pm 22$  ng/g), dok je sistemska izloženost lijeku značajno manja (koncentracije deksametazona u sistemske cirkulaciji 2 h nakon primjene iznose  $8.8 \pm 2.4$  ng/g za formulaciju s  $\gamma$ CD i  $28 \pm 10$  ng/g za formulaciju s RM $\beta$ CD (Loftsson i sur., 2007). Smatra se da upravo visoka lokalna koncentracija deksametazona u suznom filmu kroz dulji vremenski period koja se postiže primjenom suspenzije deksametazona s  $\gamma$ CD pridonosi njegovoj permeaciji kroz tkiva rožnice čime se osigurava njegovu učinkovitu dostavu u unutarnje strukture oka. Time bi se moglo ostvariti učinkovito liječenje bolesti kao što su makularni edem kod dijabetičke retinopatije, okluzija grana retikalne vene i uveitis.

Jðhannesson i sur. (2013) pratili su koncentracije deksametazona u suznom filmu nakon primjene suspenzije agregiranih kompleksa  $\gamma$ CD (1,5%) i Maxidexa® (Novartis, kapi za oko suspenzija s 0,1% deksametazona) zdravim dobrovoljcima. Maksimalna koncentracija deksametazona u suznom filmu ostvarena primjenom suspenzije agregiranih kompleksa  $\gamma$ CD iznosila je  $636,3 \pm 399,1$   $\mu$ g/mL te je bila čak 19 puta veća od one ostvarene topikalnom primjenom standardne formulacije lijeka. Nakon 4 sata, koncentracija lijeka u suznom filmu kod bolesnika koji su primili formulaciju agregiranih kompleksa  $\gamma$ CD bila 10 puta viša nego kod bolesnika kojima je primijenjen Maxidex®. Nadalje, primjena formulacije bazirane na  $\gamma$ CD osigurala je oko 30 puta veću koncentraciju otopljenog lijeka u suznom filmu, koja je održana kroz dulji vremenski period, osiguravajući stalnu prisutnost visokih koncentracija lijeka koje su raspoložive za transkornealnu apsorpciju. Iako to nije eksperimentalno potvrđeno, autori smatraju da čestice agregiranih kompleksa deksametazona i  $\gamma$ CD mehanički prijanjaju za površinu sluznice oka, a zatim se postupno raspadaju na sve manje čestice i na kraju pojedinačne komplekse ciklodekstrina i lijeka. Time se osigurava visoka lokalna koncentracija lijeka raspoloživog za apsorpciju kroz dulji vremenski period (Jðhannesson i sur., 2014b).

Ohira i sur. (2015) proveli su randomizirano, dvostruko slijepo kliničko istraživanje u kojemu je ispitana učinkovitost topikalne primjene suspenzije agregiranih kompleksa  $\gamma$ CD i deksametazona (1,5%) u liječenju dijabetičkog makularnog edema (DME). Učinkovitost ove formulacije uspoređena je sa subtenonskom aplikacijom injekcije triamcinolon acetona (20



mg). Ispitanici su bili podvrgnuti lokalnoj primjeni suspenzije agregiranih kompleksa  $\gamma$ CD 3 puta na dan tijekom 4 tjedna, nakon toga 2 puta na dan tijekom sljedeća 4 tjedna te na kraju 1 puta tjedno tijekom zadnja 4 tjedna ispitivanja, dok je subtenonska injekcija primijenjena samo jednom. Lokalna primjena suspenzije agregiranih kompleksa  $\gamma$ CD značajno poboljšava vidnu oštrinu i smanjuje debljinu makule u bolesnika s DME, a učinak je sličan onom ostvarenom subtenonskom primjenom triamcinolon acetona. Pri tome, povoljan terapijski učinak je opažen kod topikalne primjene 3 puta na dan i 2 puta na dan, dok primjena u režimu doziranja jedan puta dnevno nije bila učinkovita, te je došlo do pogoršanja praćenih parametara. Kod skupine bolesnika tretiranih topikalnom primjenom deksametazona uočeno je umjereno povećanje intraokularnog tlaka, u rasponu od 5-7 mm Hg, no prekidom terapije intraokularni tlak se vratio na normalne vrijednosti (Ohira i sur., 2015). Potrebna su daljnja ispitivanja na većem broju bolesnika kako bi se sa sigurnošću mogao procijeniti terapijski potencijal i sigurnost primjene ove formulacije bazirane na  $\gamma$ CD.

Tanito i sur. (2011) razvili su sličan pripravak koji je pripremljen suspendiranjem 1,50 g deksametazona i 14 g  $\gamma$ CD u 100 mL vodene otopine koja sadrži benzalkonijev klorid (20 mg), EDTA (100 mg), poloksamer 407 (2,5 g) i natrijev klorid (570 mg). Nastala suspenzija je zagrijavana u zatvorenom spremniku pri 121°C tijekom 20 minuta u autoklavu i zatim ostavljena da se ohladi na sobnu temperaturu uz stalno miješanje. Količina otopljenog deksametazona, u obliku slobodnog deksametazona i/ili deksametazon/ $\gamma$ CD kompleksa iznosila je 2,3 mg/mL ili približno 15% ukupne doze deksametazona. Ostatak doze lijeka bio je u pripravku prisutan u obliku mikročestica agregiranih kompleksa deksametazona i  $\gamma$ CD, promjera između 1 i 3  $\mu$ m. Osmolarnost suspenzije iznosila je 274 mOsm/kg, a viskoznost oko 3,9 cP, što je čini prikladnom za oftalmičku primjenu. Ova formulacija kemijski je i fizički stabilna pri sobnoj temperaturi tijekom najmanje 2 godine. Učinkovitost ove formulacije ispitana je u kliničkom pokusu na 19 bolesnika koji boluju od dijabetičkog makularnog edema, kojima je pripravak primjenjivan topikalno 3 puta na dan tijekom 4 tjedna. Rezultati ove pilot studije pokazuju da se topikalna primjena suspenzije agregiranih kompleksa deksametazona i  $\gamma$ CD dobro podnosi te dovodi do smanjenja središnje debljine makule i poboljšanja vidne oštrine kod ispitanika. Samo u jednog od bolesnika uočeno je povećanje intraokularnog tlaka za 8 mm Hg, no prestankom tretmana stanje se stabiliziralo. Porast intraokularnog tlaka, uz povećanu sklonost nastajanja očne mrežnice i razvoj bakterijske infekcije poznate su nuspojave oftalmičke primjene deksametazona (Tanito i sur., 2011). I ovo istraživanje potvrđuje potencijal suspenzije agregiranih kompleksa  $\gamma$ CD i deksametazona za osigura dostavu klinički relevantne doze lijeka u stražnji segment oka, no njihov potencijal primjene treba dalje ispitati u kliničkim

istraživanjima na većem broju bolesnika te u duljem trajanju terapije. No bez obzira na to, čini se da bi kapi za oko koje sadrže suspenziju agregiranih kompleksa lijeka i ciklodekstrina mogle zamijeniti intravitrealne injekcije i implantate koji se trenutno koriste za liječenje bolesti stražnjeg segmenta oka, nudeći prednosti koje uključuju neinvazivan način primjene i smanjenu učestalost primjene što može poboljšati suradljivost bolesnika u provođenju terapije i rezultirati boljim ishodima liječenja (Loftsson i Stefansson 2017).

#### 4.5.4. Dorzolamid

Dorzolamidklorid je snažan inhibitor humane karboanhidraze II. Karboanhidraza (CA) je enzim koji se nalazi u mnogim tkivima uključujući i oko. U ljudi karboanhidraza postoji u više izoenzima, a najaktivnija je karboanhidraza II (CA II) koja se nalazi prvenstveno u eritrocitima, ali i u drugim tkivima. Inhibicija karboanhidraze u cilijarnim nastavcima u oku smanjuje sekreciju očne vodice, a rezultat toga je sniženje očnog tlaka, bez obzira da li je on povezan s glaukomom ili ne. Često se kombinira s beta-adrenergičkim blokatorima (timolol) koji također snižavaju očni tlak tako što smanjuju sekreciju očne vodice, ali imaju drugačiji mehanizam djelovanja (Trusopt SPC). Farmaceutski oblici dorzolamida registrirani u Republici Hrvatskoj prikazani su u Tablici 4 ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)).

Tablica 4. Farmaceutski oblici dorzolamida za topikalnu primjenu u oko registrirani u Republici Hrvatskoj ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)).

Zaštićeni naziv	Djelatna tvar	Farmaceutski oblik	Indikacija
Cosopt 20 mg/ml + 5 mg/ml, kapi za oko, otopina	dorzolamidklorid, timololmaleat	Kapi za oko, otopina	Liječenje povišenog očnog tlaka u bolesnika s glaukomom otvorenoga kuta ili sa pseudoeksfolijacijskim glaukomom, kad lokalna primjena beta-blokatora u monoterapiji nije dovoljna
COSOPT iMulti 20 mg/ml + 5 mg/ml kapi za oko, otopina			
Cosopt PF 20 mg/ml + 5 mg/ml kapi za oko, otopina u jednodoznom spremniku		Kapi za oko, otopina u jednodoznom spremniku	

Dorvis plus 20 mg/ml + 5 mg/ml kapi za oko, otopina			
Glaumax 20 mg/ml + 5 mg/ml kapi za oko, otopina			
Oftidorix 20 mg/ml + 5 mg/ml, kapi za oko, otopina			
Oftidorix PF 20 mg/ml + 5 mg/ml, kapi za oko, otopina			
Dorvis 20 mg/ml kapi za oko, otopina	dorzolamidklorid	Kapi za oko, otopina	Liječenje povišenog očnog tlaka u bolesnika s: <ul style="list-style-type: none"> <li>• očnom hipertenzijom</li> <li>• glaukomom otvorenog kuta</li> <li>• pseudoeksfolijativnim glaukomom.</li> </ul> Primjenjuje se kao monoterapija u bolesnika u kojih liječenje beta blokatorima nije uspješno ili u kojih su beta blokatori kontraindicirani te kao dodatna terapija beta blokatorima.
Oftidor 20 mg/ml kapi za oko, otopina			
Trusopt 20 mg/ml kapi za oko, otopina			

Dorzolamid u vodenoj otopini mijenja svoj naboj i topljivost ovisno o pH – vrijednosti sustava. Pri pH-vrijednostima nižim od 6,4 prisutan je kao kation, u pH – području od 6,4 i 8,5 je neutralna molekula, a iznad pH 8,5 je anion. Neionizirani oblik dorzolamida pokazuje ograničenu topljivost u vodi koja pri pH – vrijednosti od 7,4 iznosi samo 6,7 mg/ml. Zbog toga se, radi povećanja topljivosti, registriranoj formulaciji dorzolamida, Trusopt® (Merck, SAD) koja sadrži 2% dorzolamida u obliku dorzolamidklorida dodaju puferi kao što su natrijev citrat dihidrat i natrij hidroksid kako bi se osigurao kiseli pH od 5,65 (Loftsson i Stefansson, 2017). U takvom sustavu ionizirana frakcija dorzolamida, koja se teško apsorbira kroz epitel rožnice, djeluje kao rezervoar djelatne tvari koja se kontinuirano, zbog postupne promjene pH – vrijednosti nakon primjene kapi u oko, deionizira te prelazi u oblik baze koja lakše penetrira kroz rožnicu. Postepena promjena pH vrijednosti na površini oka je uzrokovana miješanjem kiselog medija pripravka i neutralnog suznog filma (Johannesson i sur., 2014). Formulacija Trusopt® kapi za oko sadrži i polimer hidroksietilcelulozu, koja osigurava viskoznost sustava

od 100 cps, čime se postiže dulje vrijeme zadržavanja na mjestu primjene, a posljedično i bolja bioraspoloživost topikalnom primjenom u oko (Sigurdsson i sur., 2004). Niska pH – vrijednost otopine, visoki puferski kapacitet i visoka viskoznost pripravka dovode do iritacije i osjećaja peckanja oka, što smanjuje suradljivost bolesnika u provođenju terapije.

S ciljem razvoja fiziološki podnošljivije oftalmičke formulacije dorzolamida, Sigurdsson i suradnici (2005.) primijenili su RM $\beta$ CD kao solubilizator. Priredili su otopinu s 2 i 4 % dorzolamida, koje su od ostalih pomoćnih tvari sadržavale hipromelozu kao modifikator viskoznosti (100 mg), konzervanse EDTA (100 mg) i benzalkonijev klorid (20 mg) i 7,70 g RM $\beta$ CD otopljenog u 100 mL 0,05 M fosfatnog pufera s pH vrijednosti podešenom na 7,5 dodatkom natrijevog hidroksida. Formulacija je sadržavala 10% suvišak ciklodekstrina od količine potrebne za solubilizaciju doze dorzolamida, kako bi se izbjeglo njegovo taloženje tijekom skladištenja, a nastajanje ternarnog kompleksa lijek/CD/polimer potaknuto je autoklaviranjem na 121°C tijekom 20 min. Otopine s 2 i 4% dorzolamida pokazuju nisku viskoznost od 3 i 5 cps, a njihova osmolarnost iznosi 358 i 714 mOsm/kg. Za usporedbu, osmolarnost Trusopt® kapi za oko je 290 mOsm/kg. Nakon topikalne primjene 2 i 4% zečevima nisu uočeni znakovi iritacije. U usporedbi s Trusopt® kapima za oko, pokazalo se da oftalmička primjena RM $\beta$ CD formulacije rezultira i do 50% većim koncentracijama lijeka u stražnjem segmentu oka (retina i optički živac), dok je Trusopt® otopina učinkovitija u dostavi lijeka u prednji segment oka (rožnica, očna vodica, šarenica i zrakasto tijelo).

Daljnja istraživanja usmjerena su u razvoj oftalmičke suspenzije agregiranih kompleksa dorzolamida i  $\gamma$ CD, kako bi se dodatno unaprijedila oftalmička bioraspoloživost tog lijeka. Pri tome, Jansook i suradnici (2010.) ispitivali su prikladnost različitih polimera kao stabilizatora mikročestica. Ispitivanje je uključivalo hipromelozu (0,1%), kroskarmelozu natrij i polivinilpirolidon u koncentraciji od 0,25% te Pluronic 407 u koncentraciji od 1%. Od navedenih polimera, najučinkovitije povećanje solubilizacijskog učinka  $\gamma$ CD opaženo je u sustavu s hipromelozom, dok je Pluronic 407 nepovoljno djelovao na interakciju lijeka s  $\gamma$ CD u takvom sustavu. Povećanjem koncentracije hipromeloze na 0,5% rezultiralo je dvostruko većim zadržavanjem lijeka u suznom filmu u odnosu na ono postignuto primjenom Trusopt® kapi za oči. Osim 0,5% hipromeloze, optimalna formulacija je sadržavala 18%  $\gamma$ CD, 0,2 mg/mL benzalkonijevog klorida, 1 mg/mL EDTA, 0,25 mg/mL natrijevog hidrogenfosfata, 0,5 mg/mL natrijevog dihidrogenfosfata, a suspenzija je formirana autoklaviranjem pri 120°C tijekom 20 minuta, nakon čega je pH sustava podešen na 7,5. Na ovaj način je u formulaciju uklopljeno 0,33 g/mL dorzolahidrogenklorida, što odgovara 0,3 g/L ili 3% dorzolamida. Od toga je

samo 9,8% lijeka otopljeno u vodenom mediju pripravka. Formulacija pokazuje o temperaturi ovisnu promjenu viskoznosti te pri sobnoj temperaturi iznosi 38,6 cps, a pri temperaturi od 34°C, koja odgovara temperaturi površine oka, ona iznosi 27,5 cps. Pripravak je blago hipertoničan (371 mOsm/kg), karakterizira ga površinska napetost od 49 mN/m, što je u rangu fizioloških normalnih vrijednosti za suze. Srednji promjer agregiranih čestica kompleksa iznosi 2,2  $\mu\text{m}$ , a promjer najvećih čestica ne prelazi 5,4  $\mu\text{m}$ , što je u skladu sa farmakopejskih zahtjevima za kapi za oči, suspenzije. Pripravak je fizički stabilan, a eventualno nastali sediment se jednostavno resuspendira mućkanjem. Oftalmičkom primjenom zečevima utvrđeno je da se ova nova formulacija dorzolamida dobro podnosi, ne uzrokuje iritacije oka te osigurava značajno više koncentracije lijeka u oku nego što je to postignuto formulacijama baziranim na RM $\beta$ CD te Trusopt® kapima za oči. Pri tome je sistemska izloženost lijeku bila minimalna (0,3 – 0,4  $\mu\text{g/mL}$ ). S obzirom da osigurava terapijski relevantne koncentracije lijeka u oku tijekom 24 sata, ova formulacija ima potencijal za primjenu jednom dnevno, što može značajno unaprijediti suradljivost bolesnika u provođenju terapije (Jansook i sur., 2010). Daljnja ispitivanja na zečevima pokazala su da kapi za oči s agregiranim mikročesticima  $\gamma$ CD kompleksa ne uzrokuju značajnije lokalne toksične učinke niti iritaciju oka u odnosu na Trusopt® kapi za oči, koje su bile korištene kao kontrola (Jóhannesson i sur., 2014b).

U daljnjim istraživanjima, Jóhannesson i sur., (2014) pratili su kinetiku agregiranih čestica  $\gamma$ CD kompleksa dorzolamida u suznoj tekućini. Autori su pratili koncentracije dorzolamida u suznom filmu nakon primjene bolesnicima s glaukomom te uspoređivali vrijednosti s onim postignutim primjenom Trusopt kapi za oči. Koncentracija dorzolamida tijekom prvih 6 sati nakon oftalmičke primjene bila je u skupini koja je primila formlaciju baziranu na  $\gamma$ CD za otprilike 50% viša u odnosu na onu ostvarenu primjenom Truspot® kapi za oči (Jóhannesson i sur., 2014a).

Učinkovitost oftalmičke suspenzije agregiranih kompleksa  $\gamma$ CD dorzolamida ispitana je u pilot studiji, u kojoj je sudjelovalo 17 pacijenata s intraokularnom tlakom iznad 18 mmHg. Nasumično su podijeljeni u dvije grupe. Jedna je grupa prvo primala ispitivanu 3% suspenziju agregiranih kompleksa  $\gamma$ CD jednom dnevno, a 4 tjedana nakon toga, Trusopt kapi za oko tri puta dnevno, u razmaku od 8h. Druga je grupa primila iste formulacije, ali obrnutim redoslijedom. Vrijednosti intraokularnog tlaka izmjerene su neposredno jedan dan prije i nakon prve doze obiju formulacija. Rezultati su pokazali da obje formulacije jednako učinkovite, uzrokujući značajno sniženje intraokularnog tlaka. Pri tome oftalmička primjena suspenzije agregiranih kompleksa  $\gamma$ CD dorzolamida omogućuje postizanje ovog terapijskog učinka

primjenom jednom dnevno, dok je za Trusopt® kapi neophodna primjena tri puta na dan. Uz to, suspenzija agregiranih kompleksa  $\gamma$ CD dorzolamida uzrokuje manje iritacija od Trusopt® kapi za oko (Loftsson i Stefansson, 2021).

#### 4.5.5. Diklofenaknatrij

Diklofenaknatrij je derivat feniloctene kiseline (MW 318,1 Da) i pripada skupini nesteroidnih protuupalnih analgetika (Bodaghi, 2008). Inhibira sintezu prostaglandina djelujući na enzim ciklooksigenazu te smanjuje zalihe arahidonske kiseline iz koje djelovanjem lipooksigenaze nastaju drugi medijatori boli i upale. Zahvaljujući svom dvostrukom djelovanju, protuupalni i analgetski potencijal koji pokazuje ekvivalentan je onom postignutom primjenom kortikosteroida, a istovremeno izaziva manje nuspojave. Oftalmički se, kao 0,1% otopina, koristi u širokom spektru indikacija: kao midrijatik, analgetik i antiinflamatorik kod niza operativnih zahvata, kod traumom uzrokovane abrazije rožnice te kod kroničnog, sezonskog alergijskog konjunktivitisa i keratokonjunktivitisa (Mester i sur., 2002). Zahvaljujući naglašenom analgetskom učinku, primjenjuje se u kratkotrajnom liječenju bolnih stanja nakon zahvata fotoretrakcijske keratomije, tj. laserskog skidanja dioptrije ili kod erozije rožnice.

Do danas su provedene brojne studije koje dokazuju da je topikalnom primjenom u oko diklofenaknatrij jednako učinkovit protuupalni lijek kao kortikosteroidi i drugi potentni NSAID. Kraff i suradnici (1990.) su pokazali da je učinkovitiji u zaustavljanje intraokularnog krvarenja od prednizolonacetata. Druga je studija (Snir i sur., 2000.) pokazala da diklofenaknatrij uzrokuje značajno manje povišenje intraokularnog tlaka te dovodi do manjeg edema, upale i oštećenja intraokularnog tkiva od topikalno primijenjenog deksametazona. Diestelhorst i suradnici (1996.) usporedili su učinak diklofenaknatrija s flurbiprofenom i indometacinom dokazavši da je klinički jednako učinkovit te primjenom uzrokuje manje nelagode i iritacije u oku. Usto, kao analgetik smanjuje potrebu za narkoticima, sigurna je za primjenu kod djece i djelotvoran je kod alergijskih reakcija (Bodaghi, 2008).

U svijetu je dostupno 15 različitih registriranih farmaceutskih oblika za oftalmičku primjenu diklofenaknatrija. Riječ je o otopinama koje se međusobno razlikuju s obzirom na korišteni konzervans te tehnologiju za osiguravanje topljivosti lijeka u pripravku (Bodaghi, 2008). U Republici Hrvatskoj nema registriranih oftalmičkih preparata s diklofenaknatrijem ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)).

Diklofenaknatrij je lijek ograničene topljivosti u vodi (14.2 mg/mL, pKa 3.8), pa je u razvoju farmaceutskog oblika za oftalmičku primjenu neophodno poduzeti odgovarajuće mjere s ciljem osiguravanja njegove topljivosti. To u prvom redu uključuje primjenu tenzida kao što su makrogolglicerol ricinoleat i polioksil 35 ricinusovo ulje, a te formulacije su obično konzervirane s 0,004% tiomersala (npr. Voltaren Ophtha, Voltarene ili Naclof) ili ne sadrže konzervans te su konfekcionirane u jednodozne spremnike ili višedozne spremnike sa specifičnim zatvaračem (npr. ABAK®, Théa Group) s ugrađenim filterom koji onemogućuje mikrobiološku kontaminaciju pripravka tijekom uporabe. Također, u Sjedinjenim Američkim Državama dostupan je i oblik konzerviran kombinacijom sorbinske kiseline i dinatrijevog edetata (Voltaren Ophtalmic, Alcon Laboratories). Naime, diklofenaknatrij, kao slaba kiselina, kemijski je inkompatibilan s benzalkonijevim kloridom, najzastupljenijim konzervansom u oftalmičkim pripravcima, koji je po kemizmu slaba baza. No, primjenom HP $\gamma$ CD moguće je osigurati odgovarajuću topljivost diklofenaknatrija bez uporabe potencijalno iritirajućih tenzida te izbjeci njegovu kemijsku inkompatibilnost s benzalkonijevim kloridom. Time se omogućuje i zamjena tiomersala kao potencijalno iritirajućeg konzervansa fiziološki podnošljivijim benzalkonijevim kloridom. Na ovaj način razvijene su kapi za oko Voltaren Ophtha CD (Novartis) i Voltarol Ophtha (Thea Pharmaceuticals). U kliničkom istraživanju je pokazano da je Voltaren Ophtha CD jednako učinkovit u liječenju upale nakon operacije očne mrežne kao i Voltaren Ophtha, uz dodatnu prednost bolje podnošljivosti i manje učestale iritacije oka (Mester i sur., 2002). Ovaj učinak autori s jedne strane objašnjavaju zamjenom potencijalno iritirajućih ekscipijensa, tenzida i tiomersala, s fiziološki podnošljivijim HP $\gamma$ CD i benzalkonijevim kloridom. S druge strane, ispitivanja na zečevima su pokazala da stvaranje inkluzijskih kompleksa s ciklodekstrinima smanjuje lokalni toksični diklofenaknatrij na rožnicu oka 3 do 16 puta, bez negativnog učinka ciklodekstrina na transkornealnu apsorpciju lijeka (Abdelkader i sur., 2018).

#### **4.5.6. Latanoprost**

Latanoprost je analog prostaglandina PGF<sub>2</sub> - a i koristi se u prvoj liniji liječenja glaukoma. Građen je kao prolijek, ester izopropanola i terapijski aktivne kiseline latanoprost. Pri kornealnoj apsorpciji dolazi do enzimske aktivacije i oslobođenja kiseline latanoprost koja djeluje na prostanoične receptore F tipa prisutne u zrakastom tijelu i šarenici, povećavajući izljev tekućine iz oka. Esterska veza između izopropanola i latanoprost kiseline relativno je nestabilna pa se lijekovi s latanoprostom moraju čuvati u hladnjaku. Istovremeno, izrazito niske

koncentracije latanoprosta u formulaciji (0,005%), niska topljivost u vodi (50 mg/L) i lipofilni karakter molekule (LogD 4.28 pri pH 7) dovode do adhezije na stijenke spremnika i laboratorijskog posuđa, otežane penetracije u oko i, posljedično, niske oftalmičke bioraspodivnosti. Nadalje, svi analozi prostaglandina PGF<sub>2</sub> - a uzrokuju iritacije i nelagodu u oku pa su pacijenti često neadherentni. Iritacije i crvenilo oka kod uporabe analoga prostaglandina uzrokovane su stimulacijom prostaničnih receptora tipa E u rožnici i spojnici što dovodi do vazodilatacije, nocicepcije, crvenila i povećane propusnosti kapilara (Rodriguez-Aller i sur., 2015). Prema studiji koju su proveli Zimmerman i sur., (2009) crvenilo oka javlja se kod 45% pacijenata koji topikalno koriste analoge prostagladina. To u 37% slučajeva dovodi do neadherencije i izostanka terapijskog učinka. Stoga postoji potreba za razvojem novog farmaceutskog oblika za oftalmičku primjenu latanoprosta s boljom podnošljivošću, manje nuspojava i boljom kemijskom stabilnosti pri sobnoj temperaturi. To zahtijeva primjenu suvremenih tehnologija, pri čemu korišteni nosači ne smiju interferirati s metaboličkom aktivacijom lijeka u oku.

U Republici Hrvatskoj registrirano je nekoliko oftalmičkih farmaceutskih oblika latanoprosta u kojima je lijek sam ili u kombinaciji beta – blokatorom timololom ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)).

Tablica 5. Registrirani farmaceutski oblici za topikalnu oftalmičku primjenu latanoprosta u Republici Hrvatskoj ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)).

Zaštićeno ime	Djelatna tvar	Farmaceutski oblik	Indikacija
Latanox® 50 mcg/ml	Latanoprost	Kapi za oko, otopina	Sniženje povišenog intraokularnog tlaka u bolesnika s glaukomom otvorenog kuta i očnom hipertenzijom te u pedijatrijskih bolesnika s povišenim intraokularnim tlakom i pedijatrijskim glaukomom.
Unilat® 50 mcg/ml			
Xalatan® 50 mcg/ml			
Lapovis® 50 mcg/ml			



Vizilatan® 50 mcg/ml			
Lapovis Plus® 50 mcg/ml + 5mg/ml	Latanoprost timolol	Kapi za oko, otopina	Smanjenje povišenog intraokularnog tlaka u bolesnika s glaukomom otvorenog kuta i bolesnika s očnom hipertenzijom koji ne reagiraju zadovoljavajuće na lokalno primijenjene beta-blokatore ili analoge prostaglandina
Timlatan® 50 mcg/ml + 5mg/ml			
Xalacom® 50 mcg/ml + 5mg/ml			
Fixalpost® 50 mcg/ml + 5mg/ml			

Na tržištu Sjedinjenih Američkih Država, Meksika i nekih zemalja južne Amerike dostupna je formulacija latanoprost razvijena primjenom ciklodekstrina (GAAP Ofteno®, Laboratorios Sophia, Guadalajara, Jalisco, Mexico). Riječ je o kapima za oko, otopini sa 0,005% latanoprost, no podaci o tome koji je točno ciklodekstrin korišten u razvoju ove otopine nisu dostupni ([www.sophialab.com](http://www.sophialab.com)). Istraživanja koja su proveli Gonzalez i suradnici (2007.) ukazuju na superiornu kemijsku stabilnost ove formulacije bazirane na ciklodekstrinima u odnosu na Xalatan kapi. Koncentracija latanoprost u Xalatan® kapima je stabilna ukoliko se pripravak čuva pri temperaturi od 4 °C tijekom 3 mjeseca. No ukoliko se pripravak čuva pri temperaturi od 40 °C, koncentracija lijeka pada za približno 30% tijekom 3 mjeseca skladištenja. Kod formulacije s ciklodekstrinima (GAAP Ofteno®), koncentracija lijeka je stabilna tijekom 3 mjeseca neovisno o uvjetima skladištenja, što je značajno jer se taj pripravak koristi u zemljama s toplom klimom te se prema podacima dostupnim na uputi o lijeku može čuvati pri temperaturama do 30 °C.

U kliničkom ispitivanju učinkovitosti i sigurnosti primjene kod oboljelih od glaukoma otvorenog kuta i povišenog intraokularnog tlaka tijekom 6 mjeseci, oba farmaceutska oblika latanoprost (GAAP Ofteno® i Xalatan®) pokazuju istovjetan učinak u sniženju intraokularnog tlaka (IOP); drugi dan primjene dolazi do sniženja IOP za 6 mm Hg, sljedećih 15 dana za još

2-3 mm Hg, a nakon to vrijednosti ostaju konstantno snižene, bez velikih varijacija. Iritacija oka javila se kod 11.9% bolesnika koji su primali Xalatan i 11.3% onih koji su primali GAAP Ofteno® (Gonzalez i sur., 2007).

U novijem istraživanju ispitan je potencijal primjene niza ciklodekstrina širokog spektra liofilnost/polarnosti, dimenzija centralne šupljine i prisutnih supstituenata u oblikovanju oftalmičke otopine latanoprost. Korišteni su  $\alpha$ CD,  $\beta$ CD,  $\gamma$ CD, HP $\beta$ CD (hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin), PA $\beta$ CD (propilamino- $\beta$ -ciklodekstrin), DM $\beta$ CD (dimetil- $\beta$ -ciklodekstrin), HS $\beta$ CD (visoko sulfatirani- $\beta$ -ciklodekstrin) i HP $\gamma$ CD (hidroksipropil- $\gamma$ -ciklodekstrin). Otopine za ispitivanje *in vitro* stabilnosti pripremljene su miješanjem 50  $\mu$ l 0,005% vodene otopine latanoprost i puferiranih vodenih otopina različitih ciklodekstrina u koncentracijama 10-50 puta većima od latanoprost. Osmolalnost otopina regulirana je dodatkom natrijeva klorida, na kraju su sve otopine filtrirane membranom veličine pora 0,2  $\mu$ m. U svim su provedenim ispitivanjima Xalatan® (Upjohn, EESV) kapi za oko, otopina korištene kao kontrola (Rodriguez-Aller i sur., 2015).

*In vitro* stabilnost pripremljenih otopina ispitana je pri 25°C tijekom 6 ili 12 mjeseci, sa ili bez izlaganja svjetlu. Fotostabilnost latanoprost u otopinama s  $\alpha$ CD i  $\gamma$ CD tijekom izlaganja IR, vidljivom i UV dijelu spektra je manja u odnosu na Xalatan®, a nakon samo dva tjedna na dnu bočica bio je vidljiv talog. Međutim,  $\beta$ CD otopina se pokazala stabilnijom od kontrole. Nadalje, otopine sa supstituiranim derivatima CD i one u kojima je omjer lijek – CD bio 1:50 pokazuju značajno bolju stabilnost u odnosu na Xalatan® kapi. Tijekom skladištenja pri 25°C uz zaštitu od svjetla sve su formulacije, osim otopine latanoprost - HS $\beta$ CD 1:50, pokazale jednaku stabilnost kao Xalatan® (Rodriguez-Aller i sur., 2015).

*Ex vivo* ispitivanjem permeabilnosti na rožnicama goveda ispitan je utjecaj ciklodekstrina na transkornealnu apsorpciju latanoprost. Otopine s HP $\beta$ CD i PA $\beta$ CD u omjerima 1:10 i 1:50 te otopina DM $\beta$ CD u omjeru 1:10 pokazuju istovjetan profil permeacije kao i Xalatan®, dok otopine s DM $\beta$ CD u omjeru 1:50 i HS $\beta$ CD u omjeru 1:50 pokazuju značajno sniženu transkornealnu permeabilnost. (Rodriguez-Aller i sur., 2015). Za daljnja je ispitivanja izabrana formulacija s PA $\beta$ CD jer je u obje koncentracije, 1:10 i 1:50 latanoprost ostvaruje visoku stabilnost i bioraspodivost usporedivu s komercijalnim preparatom (Rodriguez-Aller i sur., 2015). Latanoprost s PA $\beta$ CD stvara stabilne komplekse ( $K_s=3129 \text{ M}^{-1}$ ), a kompleks nastaje uklapanjem esterske skupine latanoprost u središnju šupljinu ciklodekstrina. Otopina latanoprost. Optimalna formulacija latanoprost s PA $\beta$ CD sadržavala je 0.005% lijeka, 0.02% benzalkonijevog klorida i 0.142% PA $\beta$ CD u izotoničnom fosfatnom

puferu pH vrijednosti 6.8. Za usporedbu, Xalatan kapi za oko sadrže 0.005% lijeka i 0.02% benzalkonijevog klorida u izotoničnom fosfatnom puferu pH vrijednosti 6.8. Ispitivanja na zečevima pokazuju da se oftalmičkom primjenom 30  $\mu$ L otopine 6 puta na dan tijekom 2 tjedna iritacija oka javlja 15,5% životinja koje su primale Xalatan® kapi te samo 9,5% životinja tretiranih otopinom s PA $\beta$ CD. Iritacija oka kod skupine životinja koje su primale samo tekući medij (0.02% benzalkonijevog klorida u izotoničnom fosfatnom puferu pH vrijednosti 6.8) javila se u 7,1% slučajeva, a povezuje se s utjecajem konzervansa koji kao površinski aktivna tvar remeti strukturu suznog filma. Također, mikroskopskom analizom otkriveno je da komercijalni preparat dovodi do intenzivnije upalne reakcije u intraokularnim tkivima (Rodriguez-Aller i sur., 2015).

S ciljem daljnjeg poboljšanja stabilnosti i oftalmičke bioraspodivnosti latanoprost, Zhou i sur., (2021) razvili su kapi za oko, suspenziju s agregiranim kompleksima  $\gamma$ CD i latanoprost u kojoj su agregati kompleksa stabilizirani dodatkom hipromeloze. Optimalna formualcija sadržavala je 16 mg/mL  $\gamma$ CD, 1 mg/mL EDTA, 0,2 mg/mL benzalkonijevog klorida, 2,5 mg/mL hipromeloze i 5 mg/mL natrijevog klorida te 0,05 mg/mL latanoprost, a pH-vrijednost je podešena na 6,7 dodatkom natrijevog hidroksida. Soniciranjem tijekom 2 sata pri temperaturi od 50°C pripremljena je suspenzija agregiranih kompleksa sa srednjim promjerom čestica ( $D_{50}$ ) od  $7.67 \pm 0.57 \mu\text{m}$ , a 90% čestica ( $D_{90}$ ) ima promjer manji od  $17.00 \pm 0.27 \mu\text{m}$ . Pripravak je izotoničan (osmolarnost iznosi  $290.24 \pm 1.38 \text{ mOsmol/kg}$ ) i niske viskoznosti ( $\eta = 0.93 \pm 0.82 \text{ mPas}$ ). Suspenzija agregiranih kompleksa pokazuje bolju stabilnost u odnosu na Xalatan® kapi za oči, otopinu. Eventualno formirani sediment se jednostavno redispersira mućkanjem, osiguravajući ujednačenost doziranja lijeka. Latanoprost se iz suspenzije produženo oslobađa te u *in vitro* ispitivanju na HCEpiC staničnom monosloju pokazuje za otprilike 41% veću permeabilnost odnosu na Xalatan® kapi za oči, bez citotoksičnih učinaka. Ispitivanja oftalmičke farmakokinetice na zečevima pokazuju da suspenzija agregiranih kompleksa latanoprost i  $\gamma$ CD pokazuje 3,98 puta povećanu površinu ispod krivulje ( $AUC_{0-6\text{h}}$ ), 2,12 puta povećanu maksimalnu koncentraciju lijeka u suznom filmu ( $c_{\text{max}}$ ) i 2,07 puta dulje srednje vrijeme zadržavanja na površini oka ( $MRT$ ) u odnosu na ono ostvareno primjenom Xalatan® kapi za oko. Oftalmička primjena suspenzije latanoprost osigurava i učinkovitiju dostavu lijeka u oko, pa je tako rezultirala 2,6 puta većom  $AUC_{0-6\text{h}}$  te 1,36 puta višim  $c_{\text{max}}$  u očnoj vodici, dok je  $MRT$  latanoprost u očnoj vodici bilo 1,99 puta povećano u odnosu na ono ostvareno primjenom Xalatan® kapi za oko. Ovaj učinak autori pripisuju produženom zadržavanju suspenzije agregiranih kompleksa latanoprost i  $\gamma$ CD u

suznom filmu iz kojih se lijek postupno oslobađa, pokazujući veliki potencijal unapređenja oftalmičke primjene latanoprost, koje je potrebno potvrditi u daljnjim kliničkim ispitivanjima.

#### 4.5.7. Vorinostat

Vorinostat (suberoilanilid hidroksamska kiselina) je inhibitor histon-deacetilaze koji je indiciran za liječenje kutanog T- staničnog limfoma. Pokazuje i naglašeni antiangiogeni i protuupalni učinak te kao takav ima potencijal primjene u liječenju proliferativnih retinopatija. No, oftalmička primjena lijeka ograničena je njegovom niskom topljivosti u vodi od 0,2 mg/mL (Cai i sur., 2009.) i lošom transkornealnom permeabilnosti. U otopini vorinostat stvara stabilne komplekse s HP $\beta$ CD ( $K_s = 297.35 \text{ M}^{-1}$ ), a liofilizacijom prelazi u amorfni produkt naglašene topljivosti. Kapi za oko, otopina pripremljena je otapanjem liofiliziranog kompleksa u vodi za injekcije uz regulaciju osmolarnosti dodatkom natrijevog klorida, a doza lijeka iznosila je 2 mg/mL. *Ex vivo* ispitivanja na modelu rožnice oka kunića pokazala su 1.36 puta veću permeabilnost lijeka iz otopine kompleksa u odnosu na suspenziju vorinostata u istoj dozi, što se povezuje s povećanom topljivosti lijeka uslijed nastajanja inkluzijskog kompleksa s HP $\beta$ CD. Farmakokinetičkim ispitivanjem za zečevima ustanovljeno je da se topikalnom primjenom otopine kompleksa više od 3 puta povećana transkornealna apsorpcija iz suzne tekućine u prednju očnu sobicu, a 2 puta nekornealna apsorpcija kroz spojnicu i bjeloočnicu u odnosu na onu ostvarenu primjenom suspenzije lijeka. Tijekom ispitivanja nisu uočeni znakovi iritacije oka (Yang i sur., 2022). Terapijski potencijal ove formulacije potrebno je potvrditi kroz daljnja ispitivanja.

## 5. Zaključci

Podaci prikazani u ovom diplomskom radu nedvojbeno potvrđuju prednosti primjene ciklodekstrina u razvoju farmaceutskih oblika za topikalnu primjenu lijeka u oko. Njihovom primjenom omogućuje se otapanje doze lijeka u volumenu koji je prikladan za oftalmičku primjenu, čime se izbjegava potreba za uporabom potencijalno iritirajućih tenzida. Solubilizacijski učinak ciklodekstrina može se dodatno unaprijediti stvaranjem ternarnih kompleksa, a u tome se naročito učinkovito pokazala hipromeloza. Moguća je i primjena kvarternih komponenata koje dodatno pridonose otapanju lijeka, kao što je pokazano na primjeru kompleksa aksitinima s HP $\beta$ CD, hipromelozom i kofeinom. Nadalje, ciklodekstrini sprečavaju inkompatibilnosti djelatnih tvari s drugim pomoćnim tvarima u formulaciji, kao što je to slučaj kod kapi za oči s diklofenaknatrijem. Također, pridonose stabilnosti lijekova, što rezultira duljim rokom trajanja pripravka, kao što je to pokazano u slučaju kapi za oko s latanoprostom te onih s azitromicinom. Možda najznačajnija prednost ostvarena primjenom ciklodekstrina je učinkovitija dostava lijekova u stražnji segment oka topikalnom primjenom. Ovdje su se najučinkovitijim pokazale suspenzije agregiranih kompleksa lijeka i  $\gamma$ CD koje su dodatno stabilizirane hipromelozom. One pokazuju produženo zadržavanje lijeka u suznom filmu gdje osiguravaju visoki koncentracijski gradijent lijeka koji pridonosi transkornealnoj apsorpciji topikalno primijenjenog lijeka te njegovoj učinkovitoj dostavi u stražnji segment oka. Ovaj koncept potvrđen je na primjeru formulacija deksametazona, dorzolamida i latanoprost. Pri tome, ciklodekstrini su sigurni za primjenu na oko, ne uzrokuju iritacije te čak umanjuju iritirajući potencijal nekih lijekova. Sve ovo, bez sumnje, upućuje na veliki potencijal primjene ciklodekstrina u razvoju sigurnijih i učinkovitijih farmaceutskih oblika za topikalnu oftalmičku primjenu, što je potrebno potvrditi kroz daljnja klinička istraživanja.

## 6. Popis kratica i simbola

AUC<sub>0-6h</sub> - površina ispod krivulje

CA – karboanhidraza (eng. *carbonic anhydrase*)

$c_{max}$  - maksimalna koncentracija lijeka

CM $\beta$ CD – karboksimetil- $\beta$ -ciklodekstrin

$D_{50}$  – promjer koji ima 50% čestica

$D_{90}$  – promjer koji ima 90% čestica

DIMEB - dimetil- $\beta$ -ciklodekstrin

DME – dijabetički makularni edem (eng. *diabetic macular edema*)

EDTA – etilendiamintetraoctena kiselina

FDA – Američka Agencija za hranu i lijekove (eng. *Food and Drug Administration*)

GRAS – *Generally recognised as safe*

HA - hijaluronska kiselina (eng. *hyaluronic acid*)

HbA1c – glikozilirani hemoglobin

HDL – lipoprotein visoke gustoće (eng. *high density lipoprotein*)

HLB – hidrofilno – lipofilni balans

HPMC - hidroksipropilmetil celuloza ili hipromeloza

HP $\alpha$ CD - hidroksipropil- $\alpha$ -ciklodekstrin

HP $\beta$ CD - hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin

HP $\gamma$ CD - hidroksipropil- $\gamma$ -ciklodekstrin

IC<sub>50</sub> – polovica maksimalne inhibitorne koncentracije

IOP – intraokularni tlak (eng. *intraocular pressure*)

IR – infracrveni dio spektra (eng. *infrared*)

JPC - Japanska farmakopeja

K<sub>s</sub> – konstanta disocijacije

Log Ko/w – koeficijent raspodjele n-oktanol/voda

M $\beta$ CD – metilirani- $\beta$ -ciklodekstrin

MRT – srednje vrijeme zadržavanja na površini oka

MW – relativna molekulska masa (eng. *molecular mass*)

NADPH – nikotinamid adenin dinukleotid - fosfat

NSAID - nesteroidni protuupalni analgetik

PA $\beta$ CD - propilamino- $\beta$ -ciklodekstrin

PDFGR - receptor za faktor sazrijevanja trombocita (eng. *platelet maturation factor receptor*)

PEG - polietilenglikol

PGF<sub>2</sub> – prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$

Ph. Eur. - Europska farmakopeja

PVA – polivinilalkohol

PVP - polivinilpirolidon

RAMEB – nasumično metilirani- $\beta$ -ciklodekstrin

SBE $\beta$ CD - visoko sulfatirani- $\beta$ -ciklodekstrin

S<sub>0</sub> – intrizična topljivost; topljivost u čistom otapalu

USP/NF – Kombinacija Američke farmakopeje i Nacionalnog formulara (eng. United States Pharmacopeia - National Formulary)

UV – ultraljubičasto zračenje (eng. *ultraviolet*)

VEGF - vaskularni endotelni faktor rasta (eng. *vascular endothelial growth factor*)

VEGFR - receptor za vaskularni endotelni faktor rasta (eng. *vascular endothelial growth factor receptor*)

$\alpha$ CD -  $\alpha$ -ciklodekstrin

$\beta$ CD -  $\beta$ -ciklodekstrin

$\gamma$ CD -  $\gamma$ -ciklodekstrin

## 7. Literatura

Agrahari V, Mandal A, Agrahari V, Trinh HM, Joseph M, Ray A, Hadji H, Mitra R, Pal D, Mitra AK. A comprehensive insight on ocular pharmacokinetics. *Drug Deliv and Transl Res*, 2016, 6, 735–754.

Antonetti DA, Silva PS, Stitt, AW. Current understanding of the molecular and cellular pathology of diabetic retinopathy. *Nat Rev Endocrinol*, 2021, 17, 195–206.

Abdelkader H, Fathalla, Z, Moharram, H, Ali TFS, Pierscionek B. Cyclodextrin Enhances Corneal Tolerability and Reduces Ocular Toxicity Caused by Diclofenac, *Oxid Med Cell Longevity*, 2018, 2018, 1-13.

Bodaghi, B. Diclofenac sodium 0,1% ophtalmic solution: update on pharmacodynamics, clinical interest and safety profile. *Expert Rev Ophthalmol*, 2008, 3, 139-148.

Brewster ME i Loftsson T. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. *Adv Drug Delivery Rev*, 2017, 59, 645–666.

Cai YY, Yap CW, Wang Z, Ho PC, Chan SY, Ng KY, Ge ZG i Lin HS. Solubilization of vorinostat by cyclodextrins. *J Clin Pharm. Ther*, 2010, 35, 521–526.

Chaudhari P, Ghate VM, Lewis SA. Supramolecular cyclodextrin complex: Diversity, safety, and applications in ocular therapeutics. *Exp Eye Res*, 2019, 189, 107829.

DelMonte DW i Kim T. Anatomy and physiology of the cornea. *J Cataract Refract Surg*, 2011, 37, 588–598.

Deng Y, Qiao L, Du M, Qu C, Wan L, Li J i Huang L. Age-related macular degeneration: Epidemiology, genetics, pathophysiology, diagnosis, and targeted therapy. *Genes & Diseases*, 2021, 9, 62-79.

Diestelhorst M, Schmidl B, Konen W i sur. Efficacy and tolerance of diclofenac sodium 0.1%, flurbiprofen 0.03%, and indomethacin 1.0% in controlling postoperative inflammation. *J Cataract Refract Surg*, 1996, 22, 788-793.

Gonzalez JR, Baiza-Duran L, Quintana-Hau J, Tornero-Montaño R, Castaneda-Hernandez G, Ortiz M, Alarcon-Oceguera F, Beltran-Loustaunau M, Cortez-Gastelum M, Garcidueñas-Mejia J, Gomez-Bastar P, Jimenez-Roman J, Korder-Ortega V, Paczka-Zapata J, Torres-Segura M i Velasco-Gallegos G. Comparison of the Stability, Efficacy, and Adverse Effect Profile of the



Innovator 0.005% Latanoprost Ophthalmic Solution and a Novel Cyclodextrin-containing Formulation. *J Clin Pharmacol*, 2007, 47, 121-126.

Haimhoffer A, Rusznyák A, Réti-Nagy K, Vasvári G, Váradi J, Vecsernyés M, Bácskay I, Fehér P, Ujhelyi Z i Fenyvesi F. Cyclodextrins in Drug Delivery Systems and Their Effects on Biological Barriers. *Sci Pharm*, 2019, 87, 33.

HALMED, 2022. Dostupno na: <https://www.halmed.hr/> Pristupljeno: 19. rujna 2022.

Heng LZ, Comyn O, Peto T, Tadros CNE, Sivaprasad S. i Hykin PG. Diabetic retinopathy: pathogenesis, clinical grading, management and future developments. *Diabet Med*, 2013, 30, 640–650.

Huang WC, Cheng F, Chen CC, Kuo PH, Wang YJ, Yin SC, Tu CM, Wu MH, Wang WY, Chen SE. A novel eye drop formulation for potential treatment of neovascular age-related macular degeneration. *Transl Vis Sci Technol*, 2021, 10, 23.

Jansook P, Ogawa N, Loftsson T. Cyclodextrins: structure, physicochemical properties and pharmaceutical applications. *Int J Pharm: X*, 2018, 535, 272-284.

Jansook P i Loftsson T. Self-assembled  $\gamma$ -cyclodextrin as nanocarriers for enhanced ocular drug bioavailability. *Int J Pharm: X*, 2022, 618.

Jansook P, Stefánsson E, Thorsteinsdóttir M, Sigurdsson BB, Kristjánssdóttir SS, Bas JF, Sigurdsson HH, Loftsson T. Cyclodextrin solubilization of carbonic anhydrase inhibitor drugs: Formulation of dorzolamide eye drop microparticle suspension. *Eur J Pharm Biopharm*, 2010, 76, 208–214.

Jo'hannesson G, Moya-Ortega MD, Marta A sgrí' msdo'ttir, G, Agnarsson BA, Lund SH, Loftsson T. i Stefa'nsson E. Dorzolamide Cyclodextrin Nanoparticle Suspension Eye Drops and Trusopt in Rabbit. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2014a, 30, 464-467.

Johannesson G, Moya-Ortega, MD, Marta Asgrimsdottir G, Lund SH, Thorsteinsdottir M, Loftsson T i Stefansson E. Kinetics of c-cyclodextrin nanoparticle suspension eye drops in tear fluid. *Acta Ophthalmol Scand*, 2014b, 92, 550–556.

Kraff M, Sanders D, McGuigan L i sur. Inhibition of blood-aqueous humor barrier breakdown with diclofenac. *Arch Ophthalmol*, 1990, 108, 380-383.

Kristinsson JK, Fridriksddttir H, Thórisdóttir S, Sigurdardottir AM, Stefansson E, Lofisson, T. Dexamethasone - Cyclodextrin- Polymer Co-complexes in Aqueous Eye Drops Aqueous

Humor. Pharmacokinetics in Humans Investigative Ophthalmology & Visual Science. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1996, 37, 1199-1203.

Lee J i Rhee YS. Ophthalmic dosage forms for drug delivery to posterior segment. *J Pharm Invest*, 2022, 52, 161–173.

Laboratorios Sophia, 2022. Dostupno na: <https://www.sophialab.com/>, pristupljeno 30. rujna 2022.

Loftsson T. i Stefánsson E. Cyclodextrins and topical drug delivery to the anterior and posterior segments of the eye. *Int J Pharm*, 2017, 531, 413–423.

Loftsson T i Stefansson E. Aqueous eye drops containing drug/cyclodextrin nanoparticles deliver therapeutic drug concentrations to both anterior and posterior segment. *Acta Ophthalmol Scand*, 2021, 1, 7-25.

Löscher M, Seiz C, Hurst J i Schnichels S. Topical Drug Delivery to the Posterior Segment of the Eye, *Pharmaceutics*, 2022, 14, 134.

Loftsson T, Hreinsdóttir D, i Stefánsson E. Cyclodextrin microparticles for drug delivery to the posterior segment of the eye: aqueous dexamethasone eye drops. *J Pharm Pharmacol*, 2007, 59, 629–635.

Lorenzo – Veiga B, Alvarez – Lorenzo C, Loftsson T, Hrafn Sigurdsson H. Age-related ocular conditions: current treatments and role of cyclodextrin-based nanotherapies. *Int J Pharm: X*, 2021, 603.

Mester U, Lohmann, C, Pleyer U, Steinkamp G, Völcker E, Kruger H. i Sunder Raj P. A Comparison of Two Different Formulations of Diclofenac Sodium 0.1% in the Treatment of Inflammation following Cataract-Intraocular Lens Surgery. *Drugs R&D*, 2002, 3, 143-151.

Mitchell P, Liew G, Gopinath B i Wong TY. Age-related macular degeneration. *Lancet*, 2018, 392, 1147–1159.

Ohira A, Hara K, Johannesson G, Tanito M, Ásgrímsdóttir GM, Lund HS, Loftsson T. i Stefánsson E. Topical dexamethasone c-cyclodextrin nanoparticle eye drops increase visual acuity and decrease macular thickness in diabetic macular oedema. *Acta Ophthalmol*, 2015, 93, 610–615.

Pflugfelder SC, Stern ME. Biological functions of tear film; *Exp Eye Res*, 2020.

Raghava S, Hammond M, Kompella UB. Periocular routes for retinal drug delivery. *Expert Opin Drug Del*, 2004, 1, 99–114.

Rodriguez-Aller M, Guinchard S, Guillarme D, Pupier M, Jeannerat D, Rivara-Minten E, Veuthey JL i Gurny R. New prostaglandin analog formulation for glaucoma treatment containing cyclodextrins for improved stability, solubility and ocular tolerance. *Eur J Pharm Biopharm*, 2015, 95, 203–214.

Saokham P, Muankaew C, Jansook P i Loftsson T. Solubility of Cyclodextrins and Drug/Cyclodextrin Complexes. *Molecules* 2018, 23, 1161.

Snir M, Axel-Siegel R, Friling R i sur. Efficacy of diclofenac versus dexamethasone for treatment after strabismus surgery. *Ophthalmology*, 2000, 107, 1884-1888.

Striglia E, Caccioppo A, Castellino N, Reibaldi M i Porta M. Emerging drugs for the treatment of diabetic retinopathy. *Expert Opin Emerging Drugs*, 2020.

Saari KM, Nelimarkka L, Ahola V, Loftsson T, Stefánsson E. Comparison of topical 0.7% dexamethasone – cyclodextrin with 0.1% dexamethasone sodium phosphate for postcataract inflammation. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2006, 244, 620–626.

Sigurdsson HH, Stefa´nsson E, Gudmundsdo´ttir E, Eysteinnsson T, Thorsteinsdo´ttird M, Loftsson T. Cyclodextrin formulation of dorzolamide and its distribution in the eye after topical administration. *J Controlled Release*, 2005, 102, 255 – 262.

Tanito, M., Hara, K., Takai, Y., Matsuoka, Y., Nishimura, N., Jansook, P., Loftsson, T., Stefa´nsson, E., Ohira, A. Topical Dexamethasone-Cyclodextrin Microparticle Eye Drops for Diabetic Macular Edema. *Invest Ophthalmol Visual Sci*, 2011, 52, 7944 -7948.

Thakur A, Jain S, Pant A, Sharma A, Kumar R, Singla N, Suttee A, Kumar S, Barnwal RP, Katare OP. Singh G. Cyclodextrin Derivative Enhances the Ophthalmic Delivery of Poorly Soluble Azithromycin. *ACS Omega*, 2022, 7, 23050–23060.

Thomas CJ, Mirza RG, Gill MK. Age-Related Macular Degeneration. *Med Clin N Am*, 2021, 105, 473–491.

Wang L, Zhou MB, Zhang H. The Emerging Role of Topical Ocular Drugs to Target the Posterior Eye. *Ophthalmol Ther*, 2021, 10, 465–494.

Weinreb RN, Aung T, Medeiros FA. The Pathophysiology and Treatment of Glaucoma. *JAMA*, 2014, 311, 1901-1911.

Wroblewska KB, Jadach B, Muszalska-Kolos I. Progress in drug formulation design and delivery of medicinal substances used in ophthalmology. *Int J Pharm: X*, 2021, 607.

Yang J, Ma Y, Luo Q, Liang Z, Lu P, Song F, Zhang Z, Zhou T, Zhang J. Improving the solubility of vorinostat using cyclodextrin inclusion complexes: The physicochemical characteristics, corneal permeability and ocular pharmacokinetics of the drug after topical application. *Eur J Pharm Sci*, 2022, 168.

Yang Y, Lockwood A. Topical ocular drug delivery systems: Innovations for an unmet need, *Exp Eye Res*, 2022, 218.

Zhou X, Li X, Xu J, Cheng Y, Cao F. Latanoprost-loaded cyclodextrin microaggregate suspension eye drops for enhanced bioavailability and stability. *Eur J Pharm Sci*, 2021, 160.

Zimmerman TJ, Hahn SR, Gelb L, Tan H, Kim EE. The impact of ocular adverse effects in patients treated with topical prostaglandin analogs: changes in prescription patterns and patient persistence. *J. Ocular Pharmacol. Therapeutics*, 2009, 25, 145–152.

## 8. Sažetak

Bolesti oka, posebice bolesti stražnjeg segmenta oka kao što su dijabetička retinopatija, senilna makularna degeneracija, katarakt i glaukom pogađaju velik broj ljudi. Kao vodeći uzrok sljepoće u razvijenim zemljama nepovoljno utječu na kvalitetu života bolesnika. Obzirom da je oko organ kompleksne i robusne građe, a indicirani lijekovi nepovoljne okularne farmakokinetike, konvencionalna se terapija svodi na topikalne oblike niske bioraspoloživosti i invazivne intravitalne injekcije. Ciklodekstrini su derivati oligosaharida građeni od nekoliko  $\alpha$ ,D- glukopiranoznih jedinica koje su međusobno povezane  $\alpha$ -1,4-glikozidnim vezama. U prostoru formiraju strukturu nalik krnjem stošcu s hidrofilnom vanjštinom i lipofilnom šupljinom, a njihovo se djelovanje temelji na stvaranju inkluzijskih kompleksa. U ovom radu razmatran je potencijal primjene ciklodekstrina u topikalnim oblicima lijekova koji se koriste u liječenju bolesti oka s visokim rizikom od gubitka vida. Utvrđeno je da primjena ciklodekstrina u formulacijama dorzolamida, deksametazona i latanoprostta osiguravaju uklapanje terapijski relevantne doze u volumenu prikladnom za oftalmičku primjenu, a njihova primjena rezultira povećanom koncentracijom lijekova u suznom filmu i stražnjem segmentu oka. Kod formulacije s diklofenaknatrijem primjena ciklodekstrina omogućuje otapanje terapijske doze lijeka izbjegavajući potrebu za tenzidima te omogućuje konzerviranje primjenom fiziološki podnošljivijeg konzervansa. Također, zahvaljujući mukoadhezivnim svojstvima agregata ciklodekstrina omogućeno je kontrolirano oslobađanje i produljeno zadržavanje lijeka u suznom filmu uz manje iritacija, nelagode i peckanja pri topikalnoj primjeni. Solubilizacijska i stabilizacijska svojstva ciklodekstrina mogu se dodatno unaprijediti formiranjem ternarnih i kvarternih kompleksa pri čemu najveći potencijal pokazuje hipromeloza.

## *Summary*

Eye diseases, especially those affecting the posterior segment of the eye, such as diabetic retinopathy, senile macular degeneration, cataract and glaucoma, are recognized as the leading cause of blindness in developed countries, adversely affecting the patient's quality of life. Complex and robust eye anatomy and unfavorable ocular pharmacokinetics of the indicated drugs reduce conventional therapy to topical dosage forms of low bioavailability and invasive intravitreal injections. Cyclodextrins are cyclic oligosaccharides consisting of several  $\alpha$ , D-glucopyranose units interconnected by  $\alpha$ -1,4-glycosidic bonds. They appear as a truncated cone with a hydrophilic exterior and a lipophilic central cavity, enabling the formation of inclusion complexes. In this thesis, the potential of cyclodextrins in the development of topical dosage forms of drugs used in the therapy of ophthalmic diseases with a high risk of vision loss was discussed. It was found that the use of cyclodextrin in the formulations of dorzolamide, dexamethasone and latanoprost ensures the entrapment of a therapeutically relevant dose in a volume suitable for ophthalmic use, and their use results in an increased concentration of drugs in the tear film and the posterior segment of the eye. In the eye drop formulation with diclofenac sodium, the use of cyclodextrin enables the dissolution of the therapeutic dose of the drug, avoiding the need for surfactants, and enabling preservation by using a more physiologically tolerable preservative. Also, owing to the mucoadhesive properties of cyclodextrin aggregates, controlled release and prolonged retention of the drug in the tear film is obtained with less irritation, discomfort and burning sensation after topical administration. The solubilizing and stabilizing properties of cyclodextrin can be further improved by forming ternary and quaternary complexes, where hypromellose showed the highest potential.

# Temeljna dokumentacijska kartica

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

Diplomski rad

## PRIMJENA CIKLODEKSTRINA U RAZVOJU OFTALMIKA ZA TOPIKALNU PRIMJENU

Lana Hasnaš

### SAŽETAK

Bolesti oka, posebice bolesti stražnjeg segmenta oka kao što su dijabetička retinopatija, senilna makularna degeneracija, katarakt i glaukom pogađaju velik broj ljudi. Kao vodeći uzrok sljepoće u razvijenim zemljama nepovoljno utječu na kvalitetu života bolesnika. Obzirom da je oko organ kompleksne i robusne građe, a indicirani lijekovi nepovoljne okularne farmakokinetike, konvencionalna se terapija svodi na topikalne oblike niske bioraspoloživosti i invazivne intravitealne injekcije. Ciklodekstrini su derivati oligosaharida građeni od nekoliko  $\alpha$ ,D-glukopiranoznih jedinica koje su međusobno povezane  $\alpha$ -1,4-glikozidnim vezama. U prostoru formiraju strukturu nalik krnjem stošcu s hidrofilnom vanjštinom i lipofilnom šupljinom, a njihovo se djelovanje temelji na stvaranju inkluzijskih kompleksa. U ovom radu razmatran je potencijal primjene ciklodekstrina u topikalnim oblicima lijekova koji se koriste u liječenju bolesti oka s visokim rizikom od gubitka vida. Utvrđeno je da primjena ciklodekstrina u formulacijama dorzolamida, deksametazona i latanoprostta osiguravaju uklapanje terapijski relevantne doze u volumenu prikladnom za oftalmičku primjenu, a njihova primjena rezultira povećanom koncentracijom lijekova u suznom filmu i stražnjem segmentu oka. Kod formulacije s diklofenaknatrijem primjena ciklodekstrina omogućuje otapanje terapijske doze lijeka izbjegavajući potrebu za tenzidima te omogućuje konzerviranje primjenom fiziološki podnošljivijeg konzervansa. Također, zahvaljujući mukoadhezivnim svojstvima agregata ciklodekstrina omogućeno je kontrolirano oslobađanje i produljeno zadržavanje lijeka u suznom filmu uz manje iritacija, nelagode i peckanja pri topikalnoj primjeni. Solubilizacijska i stabilizacijska svojstva ciklodekstrina mogu se dodatno unaprijediti formiranjem ternarnih i kvarternih kompleksa pri čemu najveći potencijal pokazuje hipromeloza.

4 grafičkih

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

Rad sadrži: 49 stranica, 4 grafička prikaza, 5 tablica i 50 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: *ciklodekstrini, farmaceutski oblici za topikalnu primjenu lijeka u oko, okularna bioraspoloživost lijeka, dostava lijeka u stražnji segment oka*

Mentor: **Dr. sc. Mario Jug**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Mario Jug**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.  
**Dr. sc. Anita Hafner**, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.  
**Dr. sc. Karmela Barišić**, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: listopad, 2022.

## Basic documentation card

Diploma thesis

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

### USE OF CYCLODEXTRINS IN THE DEVELOPMENT OF OPHTHALMICS FOR TOPICAL ADMINISTRATION

**Lana Hasnaš**

#### SUMMARY

Eye diseases, especially those affecting the posterior segment of the eye, such as diabetic retinopathy, senile macular degeneration, cataract and glaucoma, are recognized as the leading cause of blindness in developed countries, adversely affecting the patient's quality of life. Complex and robust eye anatomy and unfavorable ocular pharmacokinetics of the indicated drugs reduce conventional therapy to topical dosage forms of low bioavailability and invasive intravitreal injections. Cyclodextrins are cyclic oligosaccharides consisting of several  $\alpha$ , D-glucopyranose units interconnected by  $\alpha$ -1,4-glycosidic bonds. They appear as a truncated cone with a hydrophilic exterior and a lipophilic central cavity, enabling the formation of inclusion complexes. In this thesis, the potential of cyclodextrins in the development of topical dosage forms of drugs used in the therapy of ophthalmic diseases with a high risk of vision loss was discussed. It was found that the use of cyclodextrin in the formulations of dorzolamide, dexamethasone and latanoprost ensures the entrapment of a therapeutically relevant dose in a volume suitable for ophthalmic use, and their use results in an increased concentration of drugs in the tear film and the posterior segment of the eye. In the eye drop formulation with diclofenac sodium, the use of cyclodextrin enables the dissolution of the therapeutic dose of the drug, avoiding the need for surfactants, and enabling preservation by using a more physiologically tolerable preservative. Also, owing to the mucoadhesive properties of cyclodextrin aggregates, controlled release and prolonged retention of the drug in the tear film is obtained with less irritation, discomfort and burning sensation after topical administration. The solubilizing and stabilizing properties of cyclodextrin can be further improved by forming ternary and quaternary complexes, where hypromellose showed the highest potential.

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

Thesis includes: 49 pages, 4 figures, 5 tables and 50 references. Original is in Croatian language.

Keywords: cyclodextrins, topical ophthalmic drug dosage forms, ophthalmic drug bioavailability, drug delivery to posterior segment of the eye

Mentor: **Mario Jug, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Mario Jug, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

**Anita Hafner, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

**Karmela Barišić, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: October 2022.