

# Razvoj in situ gelirajuće suspenzije flutikazonpropionata za nazalnu primjenu

---

Ćurt, Emily

Master's thesis / Diplomski rad

2019

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:163:199502>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-27**



Repository / Repozitorij:

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



**Emily Čurt**

**Razvoj *in situ* gelirajuće suspenzije  
flutikazonpropionata za nazalnu primjenu**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2019.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Biofarmacija s farmakokinetikom Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za farmaceutsku tehnologiju pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc. Anite Hafner. Ovaj rad je sufinancirala Hrvatska zaklada za znanost projektom UIP-2017-05-4592.

*Prije svega zahvaljujem mentorici izv. prof. dr. sc. Aniti Hafner na savjetima, prenesenom znanju i pomoći prilikom izrade diplomskog rada.*

*Hvala Lauri Nižić, mag. pharm. i svim djelatnicima Zavoda za farmaceutsku tehnologiju na ugodnoj radnoj atmosferi u laboratoriju i pomoći pri odradi eksperimentalnog dijela rada.*

*Hvala Vesni Saršon, dipl. sanit. ing. (Jadran-galenski laboratorij d.d., Rijeka) na pomoći pri određivanju osmolalnosti i raspodjele veličina raspršenih kapljica.*

*Posebno zahvaljujem obitelji i prijateljima na strpljenju i podršci tijekom studija.*

# SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1 Glukokortikoidni lijekovi .....	1
1.1.1 Flutikazonpropionat .....	2
1.2 Nazalna primjena lijekova.....	2
1.2.1 Prednosti i nedostaci nazalne primjene .....	2
1.2.2 Mukoadhezivnost .....	3
1.3 <i>In situ</i> gelirajući sustavi za nazalnu primjenu .....	4
1.3.1 Polimeri izbora u izradi <i>in situ</i> gelirajućeg sustava.....	5
1.4 Osmolalnost <i>in situ</i> gelirajućih sustava.....	8
1.4.1 Manitol .....	8
1.5 Viskoznost <i>in situ</i> gelirajućih sustava .....	9
1.6 Raspodjela veličine raspršenih kapljica .....	9
2. OBRAZLOŽENJE TEME .....	11
3. MATERIJALI I METODE .....	13
3.1 Materijali .....	13
3.2 Metode.....	13
3.2.1 Priprema <i>in situ</i> gelirajućih suspenzija flutikazonpropionata .....	13
3.2.2 Ispitivanje osmolalnosti.....	14
3.2.3 Ispitivanje reoloških svojstava .....	14
3.2.4 Svojstva raspršenih <i>in situ</i> gelirajućih suspenzija flutikazonpropionata.....	15
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	16
4.1 Priprema <i>in situ</i> gelirajućih suspenzija flutikazonpropionata .....	16
4.2 Osmolalnost.....	17
4.3 Viskoznost pri mirovanju (engl. <i>Zero-shear viscosity</i> ).....	18
4.4 Svojstva raspršenih <i>in situ</i> gelirajućih suspenzija flutikazonpropionata.....	20
4.4.1 Raspodjela veličina raspršenih kapljica .....	20
4.4.2 Kut raspršenja.....	22
5. ZAKLJUČCI.....	25
6. LITERATURA .....	26
7. SAŽETAK/SUMMARY.....	31
8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/BASIC DOCUMENTATION CARD	

# 1. UVOD

## 1.1 Glukokortikoidni lijekovi

Glukokortikoidi su steroidni hormoni kore nadbubrežne žlijezde sa značajnim učincima na metaboličke i imunološke funkcije organizma. Glavni prirodni glukokortikoid u čovjeka je kortizol čiji put biosinteze kreće iz kolesterola, a njegova sekrecija i sinteza kontrolirane su radom središnjeg živčanog sustava i negativnom povratnom spregom cirkulirajućih hormona.

Mehanizam djelovanja glukokortikoida posredovan je glukokortikoidnim unutarstaničnim receptorima koji ulaze u interakcije s promotorskim regijama ciljnih gena i reguliraju njihovu transkripciju. Brojni transkripcijski faktori reguliraju ekspresiju čimbenika rasta, proupalnih citokina te posreduju antiproliferativne, imunosupresivne i protuupalne učinke glukokortikoida. Smanjenje znakova upale posljedica je učinaka na broj, rasprostranjenost i funkciju perifernih leukocita, supresivnih učinaka na upalne citokine, kemokine i ostale posrednike upale. Glukokortikoidi inhibiraju i funkciju tkivnih makrofaga i drugih antigenprezentirajućih stanica, stoga je i sposobnost odgovora tih stanica na antigene smanjena.

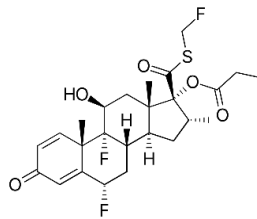
S obzirom na njihove raznolike učinke u organizmu, kao i nepoželjne sistemske nuspojave (Cushingov sindrom, razvoj peptičnog ulkusa, infekcija, depresije i ostalih), često se koriste različiti farmaceutski oblici i doze kortikosteroidnih lijekova.

Pripravci za lokalnu primjenu omogućuju dostavu glukokortikoida u ciljano tkivo i u dozama pri kojima su plazmatske vrijednosti hormona premale i ograničavaju njihove sistemske učinke. Topikalni farmaceutski oblici primjenjuju se u dermatologiji, liječenju astme kao stlačeni inhalati ili prašci inhalata, te u terapiji alergijskog rinitisa u obliku spreja i kapi za nos.

Razvoj sintetskih glukokortikoida i njihove modifikacije omogućili su im široku primjenu u farmakološkom i terapijskom smislu (Katzung i sur., 2011).

### 1.1.1 Flutikazonpropionat

Flutikazonpropionat (Slika 1.) je glukokortikoidni lijek s lokalnim djelovanjem, koristi se u terapiji rinitisa i ne pokazuje vidljive sistemske nuspojave kada je primijenjen oralnim ili nazalnim putem. Njegov glavni pronađeni metabolit, derivat 17-karboksilne kiseline, ima zanemarivu glukokortikoidnu aktivnost što je klinički značajno u usporedbi s ostalim primjenjivanim glukokortikoidima (Harding, 1990).



**Slika 1.** Kemijska struktura flutikazonpropionata (preuzeto prema [www.pubchem.com](http://www.pubchem.com))

Fizikalno-kemijska svojstva molekule lijeka bitan su čimbenik koji utječe na put primjene i način doziranja. Flutikazonpropionat strukturom je ester propanske kiseline i flutikazona. Pri sobnoj temperaturi nalazi se u krutom stanju u obliku praška, bijele je boje i nije topljiv u vodi ([www.pubchem.com](http://www.pubchem.com)). Zbog niske sistemske bioraspoloživosti, pogodan je lijek za nazalnu primjenu.

## 1.2 Nazalna primjena lijekova

Nazalna primjena sve je više istraživani put primjene lijekova, budući da prevladava većinu nedostataka konvencionalne oralne i invazivne intravenske primjene lijekova. Lijekovi primijenjeni oralno podliježu metabolizmu prvog prolaska kroz jetru, kemijskoj razgradnji u probavnom sustavu, a ovisno o strukturi i veličini, mogu imati nizak stupanj apsorpcije i malu bioraspoloživost (Varma i sur., 2010). Nazalna primjena lijeka može imati za cilj lokalni učinak, sistemska raspoloživost, kao i ciljanu dostavu u središnji živčani sustav zaobilaskom krvno-moždane barijere, osiguravajući suradljivost pacijenata i jednostavnost primjene.

### 1.2.1 Prednosti i nedostaci nazalne primjene

Nazalna sluznica nudi mnoge prednosti kao mjesto primjene lijekova. Relativno velika površina od 150 cm<sup>2</sup> nazalne sluznice s tankim, dobro prokrvljenim epitelom prekrivenim mikrovilima, dostupna je za apsorpciju lijeka. Nazalna primjena omogućava brz transport

lijeka u sistemsku cirkulaciju ili izravno u središnji živčani sustav, zaobilazeći krvno-moždanu barijeru (Ugwoke i sur., 2001).

Međutim, ovaj način primjene ima i nedostatke, poput ograničenog volumena nosne šupljine i posljedično ograničenog volumena doziranja lijeka, male permeabilnosti nazalne membrane za polarne hidrofilne molekule i mukocilijarnog klirensa (Illum, 2003).

Ograničeni volumen nosne šupljine određuje količinu lijeka koja se može primijeniti pri jednom doziranju. Volumen jedne primijenjene doze iznosi do 200  $\mu$ l (Bitter i sur., 2011).

Mnogi lijekovi, posebno velike hidrofilne molekule (veće od 1000 Da) poput peptida i proteina, slabo se apsorbiraju nakon nazalne primjene. Također, apsorpcija neioziniranih molekula veća je u odnosu na ionizirane na što utječe i pH vrijednost nazalnog fluida koja u fiziološkim uvjetima iznosi između 5,5 i 6,5 (Bitter i sur., 2011).

Mukocilijarni klirens glavni je ograničavajući faktor nazalne primjene. Mikrovili učinkovito „čiste“ sluz s udahnutim česticama usmjeravajući je treperenjem od oko 1000 zamaha u minuti prema nazofarinksu, odnosno probavnom sustavu s ciljem eliminacije infektivnih čestica i odumrlih stanica (Marttin i sur., 1998). Radi se o prirodnom obrambenom mehanizmu kojim organizam nastoji spriječiti prodiranje čestica u donje dijelove dišnog sustava. No, istim mehanizmom smanjuje se i vrijeme dostupno za apsorpciju lijeka, a time i bioraspoloživost lijeka.

Nazalna sluznica obiluje enzimima koji su odgovorni za razgradnju mnogih lijekova i mogu uzrokovati njihovu ubrzanu razgradnju.

Na nazalnu primjenu utječe i tip uređaja koji se koristi za doziranje te veličina raspršenih kapljica koji zajedno utječu na depoziciju lijeka u nosnoj šupljini (Ugwoke i sur., 2001).

### **1.2.2 Mukoadhezivnost**

Zbog navedenih nedostataka nazalne primjene, razvijaju se inovativni terapijski sustavi koji poboljšavaju farmakokinetička svojstva nazalno primijenjenog lijeka. Tako je primjenom bioadhezivnih sustava pripremljenih iz bioadhezivnih polimera moguće produljiti zadržavanje lijeka na mjestu primjene i poboljšati apsorpciju lijeka. Bioadhezivnost je sposobnost sintetičkog ili prirodnog materijala da prijanja uz biološko tkivo u produljenom vremenskom periodu (Longer i Robinson, 1986). U kontekstu primjene lijekova, odnosi se na produljeno zadržavanje primijenjenog farmaceutskog oblika na mjestu primjene.

Mukoadhezivnost se specifično odnosi na produljeno zadržavanje prijanjajućeg sustava u dodiru sa sluznicom koja prekriva određeno biološko tkivo i uključuje interakcije koje dovode do umrežavanja između adherirajućih polimera i mucina (Leung i Robinson, 1990).

Nazalni epitel i lamina propria zajedno se nazivaju respiratornom mukoznom membranom ili respiratornom sluznicom (Burkitt i sur., 1993). Respiratorna sluznica prekrivena je tankim slojem sluzi koju izlučuju seromukozne žlijezde i vrčaste stanice u količini od 1,5 do 2 litre dnevno (Ugwoke i sur., 2001). Mukozni sekret je složena mješavina i sastoji se od otprilike 95% vode, 2% mucina, 1% soli, 1% proteina poput albumina, imunoglobulina, lizozima i laktoferina te 1% lipida (Kaliner i sur., 1984).

Upotrebom mukoadhezivnih polimera mogu se nadići prethodno navedeni nedostaci nazalne primjene lijekova. Omogućava se lokalizacija lijeka na željenom mjestu u organizmu, čime se povećava njegova bioraspoloživost. Produljeno vrijeme zadržavanja na mjestu primjene i snažne interakcije između polimera i sluznice utječu na permeabilnost tkiva te mogu utjecati i na aktivnost tkivnih enzima. Inhibicijom enzimske aktivnosti može se povećati bioraspoloživost lijekova podložnih enzimskoj razgradnji.

Mnoge teorije pokušavaju objasniti prirodu interakcija između polimernih lanaca i sluznice, koje dovode do mukoadhezije. Ugwoke i suradnici su u svome preglednom radu zaključili da uzastopni događaji koji se odvijaju uključuju blizak kontakt između polimera i sluznice te močenje i bubrenje polimernih lanaca nakon kojega slijedi međusobno prodiranje između polimernih lanaca i mukoznog sekreta pri čemu se formiraju kemijske veze (Duchene i sur., 1988; Jimenez-Castellanos i sur., 1993).

Čimbenici koji utječu na mukoadhezivnost polimera uključuju: vrste funkcionalnih skupina prisutnih u polimernim lancima, molekulsku masu polimera, prostornu orijentaciju molekula, vrijeme kontakta sa sluznicom, koncentraciju polimera, pH vrijednost, kao i fiziološke ili patofiziološke uvjete okoline (Ugwoke i sur., 2001).

### **1.3 *In situ* gelirajući sustavi za nazalnu primjenu**

*In situ* gelirajući sustavi za nazalnu primjenu formulacije su koje karakterizira prijelaz iz tekućeg u polučvrsto stanje pod utjecajem fizioloških čimbenika, npr. promjene temperature u rasponu od 25 do 37°C, koncentracije iona, pH ili sadržaja vode. Takvi sustavi, primijenjeni u obliku otopine, u kontaktu s nosnom sluznicom formiraju gel i omogućavaju produljeno zadržavanje na mjestu primjene, a samim time povećavaju raspoloživost lijeka na mjestu



učinka. Upotrebom „pametnih“ polimera mogu se nadvladati nedostaci nazalne primjene lijekova, a moguće je i poboljšati transport djelatnih tvari kroz nazalnu sluznicu (Karavasili i Fatouros, 2004).

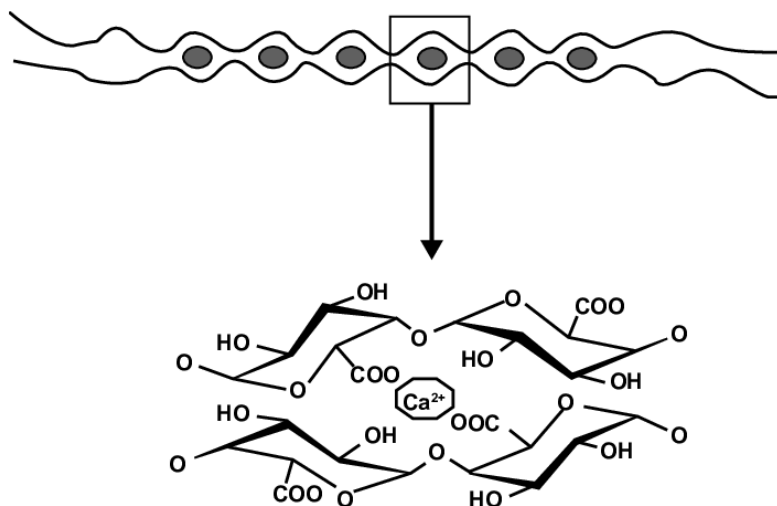
### **1.3.1 Polimeri izbora u izradi *in situ* gelirajućeg sustava**

Polimeri su makromolekule građene od ponavljajućih monomernih jedinica povezanih kovalentnim vezama. Polimerni lanci imaju veliku molekulsku masu i do  $10^9$  Da, a njihove otopine su kompleksni fluidi koji pokazuju svojstva i poput tekućina i poput krutina (Sunthar, 2010).

#### **1.3.1.1 Pektin**

Pektin je prirodni polisaharid topljiv u vodi i jedan od najzastupljenijih strukturnih biljnih polimera koji predstavlja sastavni dio stanične stijenke biljaka. Najčešće se dobiva ekstrakcijom iz kore citrusnog voća ili jabuka u blago kiselim uvjetima, premda postoje i alternativni izvori kao što su cikla, suncokret i mango.

Strukturom je pektin polimer D-galakturonske kiseline pri čemu su monomeri povezani  $\alpha(1\rightarrow4)$  glikozidnim vezama. Linearni je polimer, različitog stupnja esterifikacije karboksilnih skupina pa se tako razlikuju niskometoksilirani pektin (engl. *low-methoxyl pectin*, LM) s udjelom metilnih estera do 50% i visoko metoksilirani pektin (engl. *high-methoxyl pectin*, HM) s udjelom preko 50%. Dva tipa pektina geliraju na različite načine, pri čemu LM pektin uz dodatak dvovalentnih kationa poput kalcija, ionskim i elektrostatskim vezama formira takozvani *egg-box* model (Slika 2.), dok se polimerni lanci HM pektina uz dodatak kiselina ili šećera i pri određenom rasponu pH vrijednosti oko 3 povezuju hidrofobnim interakcijama i vodikovim vezama (Sriamornsak, 2003).



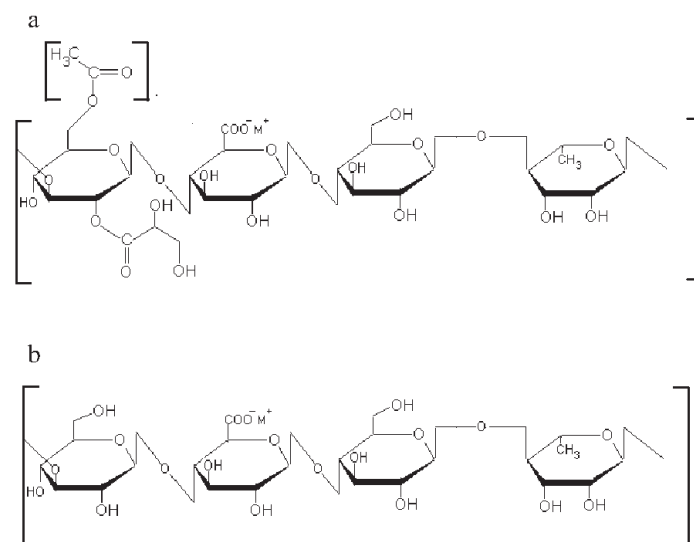
**Slika 2.** Shematski prikaz *egg-box* modela i interakcije iona kalcija i polimernih lanaca LM pektina (preuzeto iz Sriamornsak, 2003)

Pektin može sadržavati i druge šećerne komponente, poput ramnoze, arabinoze i ksiloze, kao i strukturno razgranate dijelove pa se prema tome u strukturi izmjenjuju u blokovima takozvane glatke i dlakave regije. Glatke regije građene su od linearnog homogalakturonana, a dlakave od razgranatih ramnogalakturonana 1 i 2 (Willats i sur., 2006).

Primjena pektina kao sirovine u farmaceutskoj industriji bitna je zbog njegove biokompatibilnosti i svojstva formiranja gelirajućih sustava. Do sada je korišten u formulacijama za ciljanu isporuku lijekova u probavni sustav, u dozirnim oblicima odgođenog oslobađanja lijekova, za snižavanje razine kolesterola u krvi (Sriamornsak, 2001), u kontroli lokalnih krvarenja (Joseph, 1956), a korišten je i u drugim granama industrije, prvenstveno prehrambenoj zbog svojstava zgušnjavanja i stabilizacije koloidnih sustava. U farmaceutskoj primjeni pektin se ubraja u GRAS (engl. *generally recognized as safe*) tvari ([www.fda.com](http://www.fda.com)).

### 1.3.1.2 Gelan guma

Gelan guma izvanstanični je polisaharid kojeg procesom fermentacije proizvode mikroorganizmi vrste *Pseudomonas elodea*. Strukturno je građena od ponavljajućeg tetrasaharida, 1 molekule L-ramnoze, 1 molekule D-glukuronske kiseline i 2 molekula D-glukoze, pri čemu šećerne jedinice mogu biti supstituirane, najčešće acetilirane (Slika 3.). S obzirom na stupanj acetilacije, razlikuju se dva tipa gelan gume, visokoacetilirani i niskoacetilirani. Ova dva tipa razlikuju se prvenstveno prema vrsti gela koji se dobiva iz otopine gelan gume, pri čemu visoko supstituirani oblik formira meke i elastične gelove, a nisko supstituirani čvrste i lomljive gelove (Sworn, 2009).



**Slika 3.** Primarna struktura (a) niskoacetilirane i (b) visokoacetilirane gelan gume (preuzeto iz Bajaj i sur., 2007)

Čimbenik koji uzrokuje formiranje gela može biti doticaj otopine s okolinom drugačije ionske koncentracije. Tako gelan guma kao anionski polisaharid formira gel već pri fiziološkim koncentracijama kationa. Budući da nazalna sluznica obiluje ionima, posebice kalcija, gelan guma je pogodan polimer za razvoj *in situ* gelirajućih sustava za nazalnu primjenu (Grasdalen i Smidsroed, 1987). Mehanizam geliranja uključuje formiranje dvostrukih uzvojnica koje kompleksacijom s ionima i uspostavljanjem vodikovih veza oblikuju trodimenzionalnu mrežu ovisno o prirodi kationa, pri čemu su dvovalentni kationi učinkovitiji od jednovalentnih u formiranju gela (Salunke i Patil, 2016).

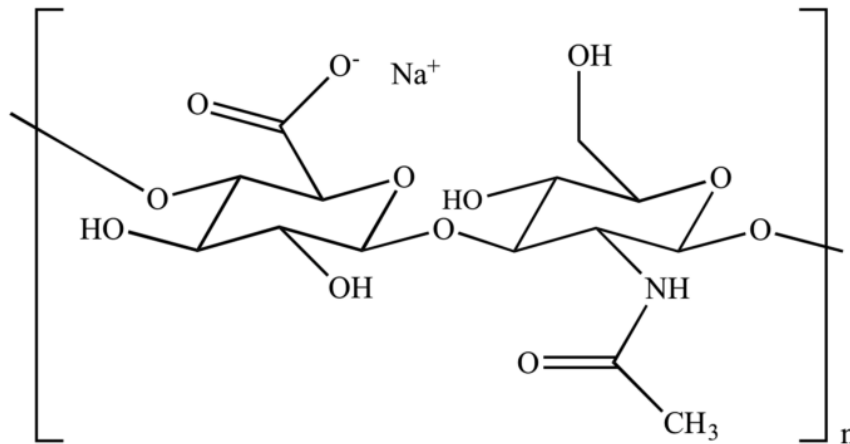
Primjena gelan gume kao sirovine značajna je zbog sposobnosti formiranja gelirajućih sustava pri niskim koncentracijama, kao i u prisutnosti kationa poput kalcija ili magnezija. Osim u farmaceutskoj, primjenu ima i u prehrambenoj industriji (Morrison i sur., 1999).

### 1.3.1.3 Hijaluronska kiselina

Hijaluronska kiselina ili hijaluronan je visokomolekularni (molekulske mase reda veličine do  $10^6$  Da) prirodni polisaharid životinjskog podrijetla, otkriven 1934. godine. Sastavni je dio izvanstaničnog matriksa, vezivnog tkiva, sinovijalne tekućine, očne vodice, pupčane vrpce itd. Sintetizira je skupina enzima zvanih hijaluronan sintaze, a razgrađuju hijaluronidaze.

Hijaluronska kiselina linearni je polianion, glikozaminoglikan, građen od ponavljajućeg slijeda disaharida N-acetilglukozamina i glukuronske kiseline međusobno povezanih  $\beta(1\rightarrow3)$

i  $\beta(1\rightarrow4)$  glikozidnim vezama (Slika 4.). Izrazito je hidrofilna molekula s mogućnošću vezanja velike količine molekula vode (Necas i sur., 2008).



**Slika 4.** Kemijska struktura natrijevog hijaluronata (preuzeto iz Fallacara i sur., 2017)

U obliku otopine hijaluronska kiselina poprima oblik statističkog klupka. Polimerni lanci se pritom međusobno isprepliću pri vrlo niskim koncentracijama što pridonosi neobičnim reološkim svojstvima. Pri višim koncentracijama, već oko 1%, dolazi do interakcija između hidroksilnih skupina i povezivanja vodikovim vezama. Stoga se otopine ponašaju poput pseudoplastičnih sustava i široko su primjenjive kao lubrikanti (Cowman i Matsuoka, 2005).

Biokompatibilnost, biorazgradljivost i neimunogenost omogućili su široku primjenu hijaluronske kiseline u biomedicinskom području. Danas je najčešće upotrebljavana u područjima ortopedije, liječenja osteoartritisa, oftalmologiji, dermatologiji i kozmetičkim pripravcima (Necas i sur., 2008).

## 1.4 Osmolalnost *in situ* gelirajućih sustava

Osmolalnost predstavlja broj molova otopljene tvari po kilogramu otapala.

Osmolalnost između 290 i 500 mOsm/kg preporučena je za otopine koje se primjenjuju nazalnim putem. Dok se izotonične otopine mogu kronično upotrebljavati, one hipertonične se mogu koristiti u nuždi ili jednokratno, a nazalnu primjenu hipotoničnih otopina treba izbjegavati (Bitter i sur., 2011). Prilagodbom osmolalnosti sustava za nazalnu primjenu nastoji se ne narušiti homeostaza nosne sluznice.

### 1.4.1 Manitol

Manitol se, zbog utjecaja na osmolalnost otopina može koristiti kao sredstvo za izotonizaciju formulacija za nazalnu primjenu lijekova. Fiziološka osmolalnost nazalnog fluida iznosi do

500 mOsm/kg pa je u skladu s time potrebno prilagoditi i osmolalnost farmaceutskih pripravaka za nazalnu upotrebu (Bitter i sur., 2011). Korištenjem manitola kao sredstva za izotonizaciju *in situ* gelirajućih sustava, smanjuje se potencijal sustava za iritaciju ili oštećenje nazalnog epitela.

## 1.5 Viskoznost *in situ* gelirajućih sustava

Viskoznost *in situ* gelirajućih sustava ispituje se reološkim metodama. Reologija je znanost o tečenju i deformaciji materijala pod djelovanjem vanjske sile. U većini znanstvenih slučajeva proučava realne sustave, odnosno one sustave koji se po svojim svojstvima nalaze između idealno viskoznih (Newtonovih) tekućina i idealno elastičnih tijela. Nazivamo ih viskoelastičnim sustavima, a primjer istih su, među ostalima, i otopine polimera. Ne-Newtonovo ponašanje fluida postaje izraženije povećanjem koncentracije polimera u otopini te ovisi o molarnoj masi polimera (Mezger, 2006).

Viskoznost je svojstvo tekućina koje se može definirati kao otpor prema tečenju i može se definirati kao omjer smičnog naprežanja ( $\tau$ , Pa) i brzine smicanja ( $\dot{\gamma}$ ,  $s^{-1}$ ) pri konstantnoj temperaturi. Jednostavni fluidi koji podliježu Newtonovom zakonu imaju linearan odnos brzine smicanja i smičnog naprežanja, dok je većina fluida ne-Newtonova, odnosno viskoznost takvih sustava mijenja se s promjenom brzine smicanja. Takve sustave dijelimo na plastične, pseudoplastične i dilatantne. Plastični sustavi teku tek nakon primjene određene vrijednosti smičnog naprežanja, pseudoplastični pokazuju smanjenje viskoznosti s povećanjem brzine smicanja (engl. *shear thinning*), dok se viskoznost dilatantnih sustava povećava s povećanjem brzine smicanja (engl. *shear thickening*). I jedni i drugi spadaju u skupinu vremenski neovisnih fluida, što znači da njihova viskoznost ne ovisi o vremenu djelovanja sile smicanja (Han, 2007).

Reološka mjerenja provode se reometrima ili viskozimetrima, a ovisnost smičnog naprežanja o brzini smicanja prikazuje se reogramom. Reološkom karakterizacijom možemo predvidjeti mehaničko ponašanje nekog materijala i izvesti zaključke za optimizaciju njegove primjene.

## 1.6 Raspodjela veličine raspršenih kapljica

Raspodjela veličine raspršenih kapljica (engl. *Droplet Size Distribution*) bitan je čimbenik u evaluaciji i predviđanju *in vivo* depozicije nazalnih sprejeva (Copley i Kippax, 2012). Kako bi se povećala nazalna depozicija i smanjila dostava lijeka u probavni sustav i donje dijelove dišnog sustava, većina raspršenih kapljica treba biti promjera većeg od 10 mikrometara. U

slučajevima kada su raspršene kapljice prevelike, odlažu se u prednjim dijelovima nosne šupljine. S druge strane, premale kapljice mogu biti udahnute i dosegnuti donji dio dišnog sustava, ne osiguravajući dostatnu depoziciju u ciljanoj nosnoj šupljini (Sangolkar i sur., 2012).

Laserska difrakcija je najčešće korištena metoda za određivanje raspodjele veličine raspršenih kapljica pri aktivaciji spreja (Dayal i sur., 2004). Princip na kojem se zasniva metoda laserske difrakcije svjetlosti je mjerenje kuta pod kojim se rasprši zraka svjetlosti prolaskom kroz analizirani uzorak. Kao izvor upadne zrake svjetlosti koristi se laserska zraka pri čemu čestice većih dimenzija raspršuju svjetlost pod manjim kutom, dok za manje čestice vrijedi obrnuto ([www.malvernpanalytical.com](http://www.malvernpanalytical.com)).

Raspodjela veličine čestica izražena je volumnim promjerima uz pretpostavku da su čestice sferičnog oblika. Za opis volumne raspodjele veličine čestica koriste se veličine  $Dv_{10}$ ,  $Dv_{50}$  i  $Dv_{90}$  koje označavaju volumne promjere čestica kumulativno obuhvaćenih u, redom 10%, 50% i 90% ukupnog volumena čestica u uzorku. Na primjer, za vrijednost  $Dv_{50}=100$  nm, vrijedi da sve čestice manjeg ili jednakog volumnog promjera od 100 nm, kumulativno čine 50% ukupnog volumena u uzorku (Dyankova i sur., 2016).

## 2. OBRAZLOŽENJE TEME

Glukokortikoidni lijekovi široko se primjenjuju zbog njihovih protuupalnih svojstava. Činjenica da sistemska primjena glukokortikoida rezultira brojnim nuspojavama, posebno kod kronične primjene, razlog je zbog kojeg su razvijeni farmaceutski oblici za lokalnu primjenu. U ovom radu flutikazonpropionat predstavlja lijek izbora u pripremi *in situ* gelirajućih sustava za nazalnu primjenu. Istraživanjem niza steroidnih lijekova i usporedbom njihovih učinaka, flutikazonpropionat istaknuo se u odnosu na druge steroidne lijekove pokazujući vrlo jak protuupalni učinak kada je primijenjen topikalno, kao i minimalan sistemski učinak nakon oralne primjene (Phillipps, 1990).

Nazalna primjena pruža mogućnost lokalnog djelovanja, sistemske apsorpcije ili dostave lijeka u središnji živčani sustav. Ograničavajući čimbenici poput anatomije i fiziologije nosne šupljine te mukocilijarnog klirensa predstavljaju izazov u pripremi nazalnih farmaceutskih oblika (Djupesland, 2013).

*In situ* gelirajući sustavi inovativni su farmaceutski oblici koji se primjenjuju kao otopine niske viskoznosti u područje nosne šupljine, a u kontaktu s nosnom sluznicom stvaraju gel. Na taj način produljuje se vrijeme kontakta lijeka sa sluznicom, a ujedno se može postići i produljeno oslobađanje lijeka na mjestu primjene (Cao i sur., 2009). Odabirom polimera za izradu takvih sustava, kao i korištenjem više polimera u različitim koncentracijama, može se utjecati na svojstva i način primjene farmaceutskog oblika.

Cilj ovoga rada bio je pripremiti *in situ* gelirajuće suspenzije flutikazonpropionata različitog polimernog sastava, različitog masenog omjera flutikazonpropionata i suspendirajuće tvari i prilagođene osmolalnosti s obzirom na nazalni put primjene, te ispitati utjecaj sastava *in situ* gelirajuće suspenzije na viskoznost u mirovanju, kut raspršenja i raspodjelu veličine raspršenih kapljica.

Specifični ciljevi:

- Pripremiti *in situ* gelirajuće suspenzije flutikazonpropionata s različitim koncentracijama polimera (pektina, gelan gume i natrijevog hijaluronata) i polisorbata 80
- Procijeniti kompatibilnost *in situ* gelirajućih suspenzija flutikazonpropionata s nazalnom sluznicom mjerenjem osmolalnosti
- Procijeniti utjecaj različitih koncentracija polimera i polisorbata 80 na viskoznost *in situ* gelirajuće suspenzije flutikazonpropionata pri mirovanju
- Ispitati svojstva raspršivanja pripremljenih suspenzija i opisati ih raspodjelom veličine raspršenih kapljica i kutom raspršenja



## 3. MATERIJALI I METODE

### 3.1 Materijali

Za pripravu *in situ* gelirajućih sustava tijekom eksperimentalnog rada korišteni su flutikazonpropionat (Carbosynth Ltd, UK), polisorbitat 80 (Sigma-Aldrich, SAD), niskometoksilirani amidirani pektin CF 025 stupnja esterifikacije 23-28% i stupnja amidacije 22-25% (doniran od strane Herbstreith & Fox, Njemačka), gelan guma (Phytigel, Sigma-Aldrich, SAD), natrijev hijaluronat molekulske mase 0,8 MDa (Contipro, Češka), D(-) manitol (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Njemačka), 0,1 M otopina NaOH, NaCl (Kemig, Hrvatska), KCl (Kemig, Hrvatska) i  $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$  (Sigma-Aldrich, Njemačka).

Simulirani nosni fluid (engl. *Simulated Nasal Fluid*, SNF) pripremljen je otapanjem NaCl u koncentraciji od 150 mM, KCl u koncentraciji od 40 mM i  $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$  u koncentraciji od 5,3 mM u pročišćenoj vodi.

### 3.2 Metode

#### 3.2.1 Priprema *in situ* gelirajućih suspenzija flutikazonpropionata

Otopine polimera za pripremu *in situ* gelirajućih suspenzija flutikazonpropionata izrađene su otapanjem izvaganih krutih tvari u pročišćenoj vodi uz miješanje na magnetskoj miješalici. Koncentracije otopina pektina, gelan gume i natrijevog hijaluronata redom su iznosile 1,4%, 0,6% i 0,5% (*m/m*). Pektin i natrijev hijaluronat otopljeni su pri sobnoj temperaturi, dok je gelan guma otapana pri 80-90°C. Otopina pektina je prije upotrebe profiltrirana.

Flutikazonpropionat je rastrljan s polisorbitatom 80 uz intenzivno miješanje staklenim štapićem. Zatim su smjesi postupno dodane vodene otopine polimera kako bi se dobili *in situ* gelirajući sustavi koncentracija prikazanih u Tablici 1. Uzorci su izotonizirani dodatkom manitola pri koncentraciji od 4% (*m/m*), a pH vrijednost je prilagođena vrijednostima  $6,0 \pm 0,1$  dodatkom 0,1 M NaOH. pH vrijednost izmjerena je korištenjem pH-metra (Mettler Toledo, SAD) uz miješanje sustava na magnetskoj miješalici.

**Tablica 1.** Sastav pripremljenih *in situ* gelirajućih suspenzija flutikazonpropionata

Uzorak	Flutikazonpropionat (%; m/m)	Polisorbat 80 (%; m/m)	Pektin (%; m/m)	Gelan guma (%; m/m)	Natrijev hijaluronat (%; m/m)
1	0,10	0,01	0,5	0,0	0,05
2	0,10	0,01	0,5	0,0	0,00
3	0,10	0,01	0,7	0,0	0,05
4	0,10	0,01	0,7	0,0	0,00
5	0,10	0,05	0,5	0,0	0,05
6	0,10	0,05	0,5	0,0	0,00
7	0,10	0,05	0,7	0,0	0,05
8	0,10	0,05	0,7	0,0	0,00
9	0,10	0,01	0,5	0,2	0,00
10	0,10	0,01	0,6	0,2	0,00
11	0,10	0,01	0,7	0,2	0,00
12	0,10	0,01	0,7	0,1	0,00

### 3.2.2 Ispitivanje osmolalnosti

Osmolalnost *in situ* gelirajućih suspenzija flutikazonpropionata mjerena je osmometrom Osmomat 030-D (Gonotec, Njemačka). Priprema uzoraka prije provedbe mjerenja obuhvaćala je miješanje *in situ* gelirajuće suspenzije flutikazonpropionata sa simuliranim nosnim fluidom u volumnom omjeru 1:1. Osmolalnost svakog uzorka mjerena je dva puta, a rezultat je izražen kao srednja vrijednost mjerenja.

### 3.2.3 Ispitivanje reoloških svojstava

Reološka mjerenja provedena su na Anton Paar MCR 102 reometru (Anton Paar GmbH, Austrija) spojenim s osobnim računalom na kojem su uz pomoć RheoCompass softvera prikupljeni podaci procesuirani i analizirani. Kao mjerno tijelo korišten je mjerni stožac CP50 (engl. *cone plate*), promjera 50 mm i nagibnog kuta 1°.

#### 3.2.3.1 Viskoznost pri mirovanju

Viskoznost pri mirovanju *in situ* gelirajućih sustava mjerena je testom puzanja (engl. *Creep test*), pri temperaturi od 25°C. Fiksna udaljenost od donjeg mjernog tijela (ploče) mjernog sustava CP50 podešena je na 0,102 mm. Uzorci su uravnoteženi pri temperaturi od 25°C u trajanju od 3 minute. Na uzorak je primijenjeno konstantno smično naprezanje od 0,1 Pa te je promatrana smična deformacija u vremenu od 5 minuta. Smično naprezanje primjenjivano je dovoljno dugo da deformacija poprimi konstantnu vrijednost. Viskoznost pri mirovanju izračunata je pomoću RheoCompass softvera. Svako mjerenje provedeno je tri puta.

### 3.2.4 Svojstva raspršenih *in situ* gelirajućih suspenzija flutikazonpropionata

#### 3.2.4.1 Raspodjela veličina raspršenih kapljica

Raspodjela veličine raspršenih kapljica mjerena je metodom laserske difrakcije pomoću Malvern Spraytec® uređaja (Malvern Instruments, UK). Uzorci su ručno raspršivani korištenjem nazalnog raspršivača Spray Pump 3K (Aeropump, Njemačka, volumena doziranja 140 µl) kako bi se što vjernije simulirala klinička situacija. Kako bi se postigla ujednačenost raspršene doze, prije mjerenja napravljeno je nekoliko potisaka nazalnim raspršivačem. Bočica s nazalnim raspršivačem bila je postavljena pod kutom od 90° u odnosu na podlogu. Vrh uređaja za raspršivanje postavljen je 3 cm ispod mjerne zone laserske difrakcije. Fokalna udaljenost od leće je iznosila 300 mm. Svako mjerenje provedeno je tri puta. Prikupljeni podaci analizirani su Malvern Spraytec 3.20 softverom. Volumna raspodjela veličine raspršenih kapljica izražena je veličinama Dv10, Dv50 i Dv90.

Indeks polidisperznosti (engl. *span*) volumne raspodjele veličine čestica definiran je formulom  $(Dv90 - Dv10)/Dv50$  (Dayal i sur., 2004) i pokazatelj je ujednačenosti veličine raspršenih kapljica.

#### 3.2.4.2 Kut raspršenja

Kut raspršenja mjenen je za svaki uzorak pomoću virtualnog kutomjera nakon raspršivanja ispred tamne pozadine. Za mjerenje je korišten isti nazalni raspršivač te je rađeno pri istim uvjetima kao i mjerenje raspodjele veličine raspršenih kapljica. Raspršenje uzoraka snimano je kamerom Panasonic Lumix DMCFZ1000 (Panasonic, Japan). Svako mjerenje provedeno je tri puta.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1 Priprema *in situ* gelirajućih suspenzija flutikazonpropionata

Flutikazonpropionat nije topljiv u vodi ([www.drugbank.ca](http://www.drugbank.ca)) zbog čega su pripremljene *in situ* gelirajuće suspenzije rastrljavanjem s polisorbatom 80.

Polisorbat 80, poznat i kao Tween 80, neionski je surfaktant koji se koristi kao emulgator i solubilizator u izradi farmaceutskih pripravaka. Viskozna je vodotopljiva tekućina, molekulske formule  $C_{32}H_{60}O_{10}$  ([www.pubchem.com](http://www.pubchem.com)).

Surfaktanti ili površinske aktivne tvari su molekule koje istovremeno posjeduju i polarni i nepolarni dio u svojoj strukturi i dualna priroda ovih molekula odgovorna je za njihova svojstva smanjenja površinske napetosti. Polarni dio molekule može biti pozitivno ili negativno nabijen pa govorimo o kationskim, odnosno anionskim surfaktantima.

Polisorbati su neionski surfaktanti, strukturno građeni od sorbitana, polioksietilena i masnih kiselina, a koriste se najčešće kao emulgatori za emulzije tipa ulje/voda zbog visokih HLB vrijednosti. HLB (engl. *hydrophil-lipophil balance*) je empirijski utvrđena brojčana skala u rasponu vrijednosti od 0 do 20 kojom se izražava lipofilnost, odnosno hidrofilnost površinski aktivnih tvari. Što je vrijednost manja, surfaktant je lipofilniji i obrnuto (Attwood i Florence, 1983).

Tween 80 ima HLB vrijednost 15, a u ovom radu korišten je kao suspendirajuća tvar u izradi *in situ* gelirajućih suspenzija flutikazonpropionata.

Vodne otopine polimera, pektina, gelan gume i natrijevog hijaluronata, u različitim su omjerima dodane smjesi flutikazonpropionata i polisorbata 80.

Niskometoksilirani pektin korišten u ovom radu gelira u prisutnosti kalcijevih iona prema „egg-box“ modelu, povezivanjem negativno nabijenih karboksilnih skupina galakturonske kiseline i kationa kalcija (Watts i Smith, 2009). Otopine gelan gume također formiraju gel u prisutnosti dvovalentnih kationa (Salunke i Patil, 2016). Stoga se može očekivati da u kontaktu sa sluznicom nosne šupljine pripremljena suspenzija tvori gel s obzirom na fiziološku prisutnost iona kalcija.

Natrijev hijaluronat ima ulogu humektansa prilikom primjene na sluznice. Prisutnost hidroksilnih skupina omogućava povezivanje s molekulama vode i pogoduje njihovom

zadržavanju te pruža mogućnost formiranja filma koji sprječava isparavanje vode s mjesta primjene (Svirkin i sur., 2006).

U sve pripravljene *in situ* gelirajuće suspenzije flutikazonpropionata dodan je manitol (4,0%, *m/m*), a s ciljem prilagođavanja osmolalnosti nazalnoj primjeni sustava.

Iz svojstava navedenih pomoćnih tvari u pripremi uzoraka, može se zaključiti da su isti prikladni za nazalnu primjenu *in situ* gelirajućih suspenzija flutikazonpropionata.

## 4.2 Osmolalnost

Izmjerene vrijednosti osmolalosti *in situ* gelirajućih suspenzija flutikazonpropionata nakon miješanja sa simuliranim nosnim fluidom prikazane su u Tablici 2. i bile su u rasponu između  $300 \pm 3$  i  $311 \pm 2$  mOsm/kg.

**Tablica 2.** Osmolalnost *in situ* gelirajućih suspenzija flutikazonpropionata

Uzorak	Polisorbat 80 (%; <i>m/m</i> )	Pektin (%; <i>m/m</i> )	Gelan guma (%; <i>m/m</i> )	Natrijev hijaluronat (%; <i>m/m</i> )	Osmolalnost (mOsm/kg)	SD (mOsm/kg)
1	0,01	0,5	0,0	0,05	300	3
2	0,01	0,5	0,0	0,00	300	0
3	0,01	0,7	0,0	0,05	305	1
4	0,01	0,7	0,0	0,00	304	4,5
5	0,05	0,5	0,0	0,05	304	1
6	0,05	0,5	0,0	0,00	303	2
7	0,05	0,7	0,0	0,05	311	2
8	0,05	0,7	0,0	0,00	300	2,5
9	0,01	0,5	0,2	0,00	306	2,5
10	0,01	0,6	0,2	0,00	300	0,5
11	0,01	0,7	0,2	0,00	301	1,5
12	0,01	0,7	0,1	0,00	301	0,5

Prikazane su srednje vrijednosti  $\pm$  SD (n=2).

Svi ispitani uzorci u skladu su s preporučenom osmolalnošću otopina za nazalnu primjenu između 290 i 500 mOsm/kg prema Bitter i sur., 2011.

Može se zaključiti da su pripravljene *in situ* gelirajuće suspenzije kompatibilne s nosnom sluznicom s obzirom na izmjerenu osmolalnost i s tog aspekta pogodne za nazalnu primjenu.

### 4.3 Viskoznost pri mirovanju (engl. *Zero-shear viscosity*)

Ponašanje *in situ* gelirajuće suspenzije flutikazonpropionata ispitano je testom puzanja u uvjetima kada se gradijent brzine smicanja ( $\dot{\gamma}$ ,  $s^{-1}$ ) približava nuli, a rezultat mjerenja pri konstantnoj temperaturi izražen je u mPa s. Viskoznost pri mirovanju *in situ* gelirajućih sustava mjerena je rotacijskim reometrom, a dobivenim rezultatima mogu se donijeti zaključci o mikrostrukturi analiziranog sustava.

U otopini polimera u stanju mirovanja svaka pojedina makromolekula zauzima stanje minimalne energije pa se nalazi u konformaciji statističkog klupka približno sferičnog oblika. Pritom su molekule polimera djelomično isprepletene jedna s drugom. Primjenom sile smicanja, molekule se orijentiraju u smjeru primijenjene sile, polimerni lanci se raspliću i smanjuju se fizikalne interakcije među molekulama, a neke se gibaju gotovo neovisno što smanjuje ukupni otpor otopine prema tečenju. Sumacijom pretpostavki da se primjenom sile istovremeno dio polimernih lanaca isprepliće, a dio ekstendira, u sustavu se ukupni otpor tečenju ne mijenja. To je posljedica viskoelastičnog ponašanja polimernih molekula koje se opaža primjenom niske brzine smicanja. Naposljetku, izmjerena vrijednost viskoznosti sustava u slučajevima kada se brzina smicanja ( $\dot{\gamma}$ ,  $s^{-1}$ ) približava nuli naziva se viskoznost pri mirovanju  $\eta_0$  (engl. *zero-shear viscosity*). Viskoznost pri mirovanju je konstantna za otopine neumreženih polimera, pri čemu vrijedi da polimeri veće molekulske mase daju veće vrijednosti *zero-shear* viskoznosti (Mezger, 2006).

Vrijednosti viskoznosti u mirovanju *in situ* gelirajućih sustava prikazane su u Tablici 3. i bile su u rasponu od  $3,84 \pm 0,01$  do  $87,76 \pm 0,42$  mPa s. Vrijednosti su rasle s porastom sadržaja polimera u sustavu i s korištenjem većeg broja raznovrsnih polimera. Najveći porast viskoznosti u mirovanju pokazali su sustavi koji sadrže veći udio gelan gume, a porast viskoznosti pokazali su i sustavi koji sadrže natrijev hijaluronat.

**Tablica 3.** Viskoznost pri mirovanju *in situ* gelirajućih suspenzija flutikazonpropionata

Uzorak	Polisorbat 80 (%; m/m)	Pektin (%; m/m)	Gelan guma (%; m/m)	Natrijev hijaluronat (%; m/m)	$\eta_0^a$ (mPa s)	$\eta_0$ SD (mPa s)
1	0,01	0,5	0,0	0,05	8,67	0,24
2	0,01	0,5	0,0	0,00	3,84	0,01
3	0,01	0,7	0,0	0,05	11,18	0,10
4	0,01	0,7	0,0	0,00	5,70	0,03
5	0,05	0,5	0,0	0,05	8,43	0,05
6	0,05	0,5	0,0	0,00	6,17	1,00
7	0,05	0,7	0,0	0,05	10,54	0,02
8	0,05	0,7	0,0	0,00	5,65	0,02
9	0,01	0,5	0,2	0,00	55,10	0,13
10	0,01	0,6	0,2	0,00	69,30	1,14
11	0,01	0,7	0,2	0,00	87,76	0,42
12	0,01	0,7	0,1	0,00	25,10	1,66

<sup>a</sup>viskoznost u mirovanju

Prikazane su srednje vrijednosti  $\pm$  SD (n=3).

Viskoznost u mirovanju osjetljiv je pokazatelj promjena stabilnosti proizvoda ili promjena u formulaciji tijekom procesa proizvodnje i skladištenja (Kulkarni i Shaw, 2016). Primjenom Stokesova zakona može se predvidjeti brzina taloženja čestica suspenzije u mirovanju. Prema istom, brzina sedimentacije proporcionalna je veličini čestica suspenzije, a obrnuto proporcionalna viskoznosti. Iz toga slijedi da se povećanjem viskoznosti sustava u mirovanju ili smanjenjem veličine čestica suspenzije, može povećati stabilnost suspenzije. Jedan od načina je upotreba zgušnjivača, poput gelan gume, a odabir istog ovisi o kompatibilnosti s ostalim sastavnicama i željenim svojstvima formulacije (Larson i sur., 2012).

Nižić i suradnici (2019) pokazali su da *in situ* gelirajuće suspenzije flutikazonpropionata koje pokazuju veće vrijednosti viskoznosti pri mirovanju osiguravaju veću stabilnost suspenzija jer viskozni medij ometa taloženje čestica pod utjecajem gravitacijske sile. Također, sve su ispitivane formulacije pokazale prikladnu uspješnost resuspendiranja, a tijekom šestomjesečnog skladištenja pri 4°C veličina čestica u suspenziji ostala je nepromijenjena u odnosu na svježe pripremljene suspenzije. Uzrok tome su prisutnost polimera koji povećavaju viskoznost sustava i usporavaju taloženje te sredstva za suspendiranje koje sprječava agregaciju čestica (Aulton and Taylor, 2013).

## **4.4 Svojstva raspršenih *in situ* gelirajućih suspenzija flutikazonpropionata**

### **4.4.1 Raspodjela veličina raspršenih kapljica**

Veličine raspršenih kapljica mjerene su pomoću Malvern Spraytec® uređaja metodom laserske difrakcije svjetlosti. To je široko primjenjivana tehnika u mjerenju veličine čestica u rasponu veličina od nekoliko nanometara do milimetarskih dimenzija. Ova metoda značajna je zbog mogućnosti izvođenja brzih, ponovljivih mjerenja i ne zahtjeva kalibraciju mjernog uređaja ([www.malvernpanalytical.com](http://www.malvernpanalytical.com)).

Vrijednosti volumnih promjera  $Dv_{10}$ ,  $Dv_{50}$  i  $Dv_{90}$  bile su u rasponu redom od  $15,02 \pm 0,63 \mu\text{m}$  do  $26,11 \pm 1,24$ , od  $32,68 \pm 0,98$  do  $78,48 \pm 5,29 \mu\text{m}$  te od  $89,25 \pm 4,15$  do  $192,40 \pm 6,49 \mu\text{m}$  (Tablica 4.). Veličina raspršenih kapljica uzorka ima izravan utjecaj na učinkovitost dostave lijeka na mjesto primjene. Dobiveni rezultati upućuju na činjenicu da će se većina primijenjene doze odložiti u nosnoj šupljini, s obzirom da raspršene kapljice spreja odgovaraju zahtjevima smjernica za nazalnu primjenu lijekova prelazeći veličinu od  $10 \mu\text{m}$  ([www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu)).

Veličina raspršenih kapljica rasla je s porastom sadržaja polimera u sustavu što se može objasniti interakcijama između polimernih lanaca i utjecajem viskoznosti na veličinu raspršenih kapljica. Najmanje veličine čestica primjećuju se stoga kod suspenzija koje sadrže manji udio pektina bez dodatka gelan gume i natrijeva hijaluronata.

Dayal i suradnici (2004) pokazali su da dodatak tvari za prilagođavanje viskoznosti, u opisanom primjeru karboksimetilceluloze, u višim koncentracijama rezultira povećanom veličinom raspršenih kapljica te je zamijećen linearan odnos između promjene veličine  $Dv_{50}$  i povećanja viskoznosti sustava.



**Tablica 4.** Raspodjela veličina raspršenih kapljica i indeks polidisperznosti *in situ* gelirajućih suspenzija flutikazonpropionata

Uzorak	Polisorbat 80 (%; <i>m/m</i> )	Pektin (%; <i>m/m</i> )	Gelan guma (%; <i>m/m</i> )	Natrijev hijaluronat (%; <i>m/m</i> )	Dv10( $\mu$ m)	Dv50( $\mu$ m)	Dv90( $\mu$ m)	Indeks polidisperznosti
1	0,01	0,5	0,0	0,05	26,11 $\pm$ 1,24	78,48 $\pm$ 5,29	192,40 $\pm$ 6,49	2,124 $\pm$ 0,089
2	0,01	0,5	0,0	0,00	16,38 $\pm$ 0,56	35,86 $\pm$ 1,23	90,26 $\pm$ 3,02	2,061 $\pm$ 0,054
3	0,01	0,7	0,0	0,05	22,48 $\pm$ 0,34	62,63 $\pm$ 2,01	148,63 $\pm$ 5,26	2,014 $\pm$ 0,016
4	0,01	0,7	0,0	0,00	17,83 $\pm$ 0,46	43,34 $\pm$ 0,38	110,53 $\pm$ 1,30	2,140 $\pm$ 0,055
5	0,05	0,5	0,0	0,05	24,07 $\pm$ 0,38	70,56 $\pm$ 2,87	162,20 $\pm$ 5,59	1,958 $\pm$ 0,011
6	0,05	0,5	0,0	0,00	15,02 $\pm$ 0,63	32,68 $\pm$ 0,98	89,25 $\pm$ 4,15	2,037 $\pm$ 0,078
7	0,05	0,7	0,0	0,05	24,42 $\pm$ 1,05	73,47 $\pm$ 4,78	166,40 $\pm$ 4,83	1,938 $\pm$ 0,079
8	0,05	0,7	0,0	0,00	17,43 $\pm$ 0,25	40,11 $\pm$ 0,97	106,06 $\pm$ 7,37	2,208 $\pm$ 0,146
9	0,01	0,5	0,2	0,00	21,33 $\pm$ 1,90	54,43 $\pm$ 7,86	161,00 $\pm$ 5,93	2,610 $\pm$ 0,317
10	0,01	0,6	0,2	0,00	18,26 $\pm$ 0,41	42,48 $\pm$ 0,99	106,57 $\pm$ 1,89	2,078 $\pm$ 0,015
11	0,01	0,7	0,2	0,00	19,86 $\pm$ 0,62	51,90 $\pm$ 2,77	128,97 $\pm$ 5,11	2,104 $\pm$ 0,036
12	0,01	0,7	0,1	0,00	19,74 $\pm$ 1,97	47,63 $\pm$ 6,42	110,29 $\pm$ 13,14	1,904 $\pm$ 0,023

Prikazane su srednje vrijednosti  $\pm$  SD (n=3).

Vd10, Vd50 i Vd90 predstavljaju volumne promjere raspršenih kapljica.

Indeks polidisperznosti je veličina koja opisuje ujednačenost veličina raspršenih kapljica u odnosu na srednji volumni promjer kapljica  $Dv50$ . Što je indeks polidisperznosti manje vrijednosti, to su raspršene kapljice sličnije po veličini.

Vrijednosti indeksa, izračunate prema formuli  $(Dv90 - Dv10)/Dv50$ , u rasponu su od  $1,904 \pm 0,023$  do  $2,610 \pm 0,317$ . Dobivene vrijednosti nešto su veće od vrijednosti pri istraživanju polimernih sustava uz automatsko raspršivanje uzoraka (Dayal i sur., 2004). Kippax i suradnici (2004) su usporedbom automatskog i manualnog načina raspršivanja pokazali da je varijabilnost u rezultatima znatno manja upotrebom automatskog načina raspršivanja. Stoga se razlika u rezultatima može objasniti činjenicom da su u ovom radu uzorci raspršivani manualno. Takav način raspršivanja odabran je kako bi se što vjernije simulirala klinička primjena spreja.

Veličina i polidisperznost raspršenih kapljica utječu na nazalnu depoziciju nakon primjene raspršivanjem. U *in vitro* ispitivanjima, indeks polidisperznosti koristi se kao pokazatelj kvalitete sprejeva za nazalnu primjenu. Veće vrijednosti ukazuju na veliku površinsku napetost, kohezivnost i/ili nisku disperzijsku učinkovitost uređaja za nazalnu primjenu. Stoga, za nazalne sprejeve, prikladnija je što manja vrijednost indeksa polidisperznosti (Dayal i sur., 2004).

#### **4.4.2 Kut raspršenja**

Kut raspršenja izmjeren je pomoću virtualnog kutomjera nakon raspršivanja ispred tamne pozadine uz snimanje kamerom.

Kut raspršenja *in situ* gelirajućih suspenzija flutikazonpropionata prikazan je Tablicom 5. i kretao se u rasponu od  $30,0^\circ \pm 1,1^\circ$  do  $56,8^\circ \pm 1,0^\circ$ .

Porast koncentracije polimera rezultirao je smanjenjem vrijednosti kuta raspršenja. Pod najnižim kutom raspršivale su se suspenzije koje sadrže natrijev hijaluronat. Uzorci koji sadrže kombinacije više različitih polimera također su bili karakterizirani manjim vrijednostima kuta raspršenja. Smanjenje kuta raspršenja može se objasniti povećanom viskoznošću suspenzije flutikazonpropionata uz više koncentracije polimera i njihove međusobne interakcije (Harrison i sur., 1999).

**Tablica 5.** Kut raspršenja (engl. *cone angle*, CA) *in situ* gelirajućih suspenzija flutikazonpropionata

Uzorak	Polisorbat 80 (%; m/m)	Pektin (%; m/m)	Gelan guma (%; m/m)	Natrijev hijaluronat (%; m/m)	CA (°) <sup>a</sup>
1	0,01	0,5	0,0	0,05	34,6±0,6
2	0,01	0,5	0,0	0,00	55,9±0,7
3	0,01	0,7	0,0	0,05	30,0±1,1
4	0,01	0,7	0,0	0,00	39,9±0,4
5	0,05	0,5	0,0	0,05	31,6±0,7
6	0,05	0,5	0,0	0,00	56,8±1,0
7	0,05	0,7	0,0	0,05	30,3±0,5
8	0,05	0,7	0,0	0,00	55,3±0,8
9	0,01	0,5	0,2	0,00	41,9±0,5
10	0,01	0,6	0,2	0,00	44,9±2,9
11	0,01	0,7	0,2	0,00	34,4±1,5
12	0,01	0,7	0,1	0,00	41,0±0,7

<sup>a</sup> Kut raspršenja

Prikazane su srednje vrijednosti ± SD (n=3).

Foo i suradnici (2007) ustanovili su da nazalni sprejevi s manjim kutom raspršivanja rezultiraju odlaganjem kapljica u turbinatnoj regiji nosne šupljine s učinkovitošću od gotovo 90%, dok se pri većim vrijednostima kuta raspršenja postiže odlaganje kapljica većinom u prednjem dijelu nosne šupljine.

Newman i suradnici (1998) ustanovili su da povećanje kuta raspršenja sa 35° na 60° rezultira smanjenom depozicijom formulacije u nosnoj šupljini jer je manja količina čestica spreja uspjela proći kroz uzak nosni kanal, odnosno nosnu valvulu. Sličan zaključak donijeli su i Cheng i suradnici (2001), potvrđujući činjenicu da se povećanjem kuta raspršivanja povećava i nazalna depozicija u prednjem dijelu nosne šupljine te Bond i sur., 1985. uz objašnjenje da smanjenje kuta raspršivanja rezultira povećanim odlaganjem prema stražnjim dijelovima, ali i bržim klirensom primijenjene doze zbog mukocilijarnog klirensa.

Većina lijekova primijenjenih nazalnim putom postiže maksimalni terapijski učinak u slučajevima kada se čestice lijeka odlažu u području između nosnih valvula i zadnjih dviju trećina nosne šupljine (Kulkarni i Shaw, 2016).

Literaturni podaci potvrđuju da na nazalnu depoziciju, osim kuta raspršenja, utječe više parametara, kao što su svojstva farmaceutskog oblika i svojstva raspršivača, ali i protok zraka kroz nosnu šupljinu prilikom doziranja lijeka (Moraga-Espinoza i sur., 2018). Stoga se može zaključiti da je, ovisno o terapijskom cilju i željenom mjestu odlaganja čestica lijeka, uz formulacijske parametre potrebno prilagoditi i parametre primjene.

## 5. ZAKLJUČCI

- Pripremljene su *in situ* gelirajuće suspenzije flutikazonpropionata rastrljavanjem s polisorbatom 80 kao suspendirajućom tvari i dodatkom različitih udjela vodenih otopina polimera, pektina, gelan gume i natrijevog hijaluronata, te manitola kao sredstva za izotonizaciju.
- Nakon miješanja pripremljenih *in situ* gelirajućih suspenzija flutikazonpropionata sa simuliranim nosnim fluidom, osmolalost uzoraka kretala se u rasponu od  $300 \pm 3$  do  $311 \pm 2$  mOsm/kg što ih čini kompatibilnima s nosnom sluznicom s obzirom na njihovu toničnost.
- Viskoznost pri mirovanju *in situ* gelirajućih suspenzija kretala se između  $3,83 \pm 0,01$  i  $87,76 \pm 0,42$  mPa s. Suspenzije s većom ukupnom koncentracijom polimera pokazale su veće vrijednosti viskoznosti pri mirovanju.
- Raspodjela veličine raspršenih kapljica opisana je volumnim promjerima Dv10, Dv50 i Dv90 koji su bili u rasponu redom od  $15,02 \pm 0,63$  do  $26,11 \pm 1,24$   $\mu\text{m}$ , od  $32,68 \pm 0,98$  do  $78,48 \pm 5,29$   $\mu\text{m}$  te od  $89,25 \pm 4,15$  do  $192,40 \pm 6,49$   $\mu\text{m}$ . Veličina raspršenih kapljica veća od 10 mikrometara upućuje na činjenicu da će se većina primijenjene doze raspršivanjem iz spreja odložiti u nosnoj šupljini.
- Vrijednosti kuta raspršenja *in situ* gelirajućih suspenzija flutikazonpropionata kretale su se u rasponu od  $30,0^\circ \pm 1,1^\circ$  do  $56,8^\circ \pm 1,0^\circ$ . Povećanje koncentracije polimera i korištenje više različitih polimera u pripravi suspenzija rezultiralo je smanjenjem kuta raspršenja, što je posljedica istodobnog povećanja viskoznosti sustava.

## 6. LITERATURA

Attwood D, Florence AT. Surfactant systems: Their chemistry, Pharmacy and Biology. London, Chapman and Hall Ltd, 1983.

Aulton ME, Taylor KMG. Aulton's Pharmaceutics: The Design and Manufacture of Medicines, fourth ed. International edition, Elsevier Ltd, 2013.

Bajaj IB, Survase SA, Saudagar PS, Singhal RS. Gellan Gum: Fermentative Production, Downstream Processing and Applications. *Food Technol Biotechnol*, 2007, 45, 341–354.

Bitter C, Suter-Zimmermann K, Surbera C. Nasal Drug Delivery in Humans. *Curr Probl in Dermato*, 2011, 40, 20–35.

Bond SW, Hardy JG, Wilson CG. Deposition and clearance of nasal sprays. U: Proceedings of 2nd European congress of biopharmaceutics and pharmacokinetics, Aiache JM, Hirtz J, urednici, Pariz, Lavoisier, 1985, str. 93–98.

Burkitt HG, Young B, Heath JW. Wheater's Functional Histology. A Text and Colour Atlas. London, Longman, 1993.

Cao S, Ren X, Zhang O, Chen E, Xu F, Chen J, Liu L, Jiang X. *In situ* gel based on gellan gum as new carrier for nasal administration of mometasone furoate. *Int J Pharm*, 2009, 365, 109–115.

Cheng YS, Holmes TD, Gao J, Guilmette RA, Li S, Surakitbanharn Y, Rowlings C. Characterization of Nasal Spray Pumps and Deposition Pattern in a Replica of the Human Nasal Airway. *J Aerosol Med*, 2001, 14/2, 267–280.

Cowman MK., Matsuoka S. Experimental approaches to hyaluronan structure. *Carbohydr Res*, 2005, 340, 791–809.

Dayal P, Shaik MS, Singh M. Evaluation of different parameters that affect droplet-size distribution from nasal sprays using the Malvern Spraytec®. *J Pharm Sci*, 2004, 93, 1725–1742.

Direct Food Substances Affirmed As Generally Recognized As Safe, Sec. 184.1588 Pectins, 2018, <https://www.accessdata.fda.gov>, pristupljeno 10.8.2019.

Djupesland PG. Nasal drug delivery devices: characteristics and performance in a clinical perspective - a review. *Drug Deliv and Transl Res*, 2013, 3, 42–62.

Duchene D, Touchard F, Peppas NA. Pharmaceutical and medical aspects of bioadhesive systems for drug administration. *Drug Dev Ind Pharm*, 1988, 14, 283–318.

Dyankova S, Doneva M, Todorov Y, Terziyska M. Determination of particle size distribution and analysis of a natural food supplement on pectin base. *IOSR J Pharm*, 2016, 6, 1-8.

Fallacara A, Manfredini S, Durini E, Vertuani S. Hyaluronic Acid Fillers in Soft Tissue Regeneration. *Facial Plast Surg*, 2017, 33, 87–96.

Fluticasone propionate, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>, pristupljeno 6.8.2019.

Fluticasone propionate, <https://www.drugbank.ca>, pristupljeno 14.9.2019.

Foo MY, Cheng Y, Su W, Donovan MD. The Influence of Spray Properties on Intranasal Deposition. *J Aerosol Med*, 2007, 20, 495–508.

Gonda I. A semi-empirical model of aerosol deposition in the human respiratory tract for mouth inhalation. *J Pharm Pharmacol*, 1981, 33, 692–696.

Grasdalen H, Smidsroed O. Gelation of gellan gum. *Carbohydr Polym*, 1987, 7, 371–393.

Guideline on the pharmaceutical quality of inhalation and nasal products, 2006, <https://www.ema.europa.eu>, pristupljeno 23.9.2019.

Han CD. Rheology and Processing of Polymeric Materials. New York, Oxford University press, 2007.

Harding SM. The human pharmacology of fluticasone propionate. *Respir Med*, 1990, 84, 25-29.

Harrison GM, Mun R, Cooper G, Boger DV. A note on the effect of polymer rigidity and concentration on spray atomisation. *J Non-Newton Fluid*, 1999, 85, 93-104.

Illum L. Nasal drug delivery-possibilities, problems and solutions. *J Contro Release*, 2003, 87, 187–198.

Jimenez-Castellanos MR, Zia H, Rhodes CT. Mucoadhesive drug delivery systems. *Drug Dev Ind Pharm*, 1993, 19, 143–194.

Joseph GH. Pectin: Bibliography of pharmaceutical literature. Ontario, Sunkist Growers, 1956.

Kaliner M, Marom Z, Patow C, Shelhamer J. Human respiratory mucus. *J Allergy Clin Immunol*, 1984, 73, 318 – 323.

Karavasili C, Fatouros DG. Smart materials: *in situ* gel-forming systems for nasal delivery. *Drug Discov Today*, 2016, 21(1), 157-166.

Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. Temeljna i klinička farmakologija. Zagreb, Medicinska naklada, 2011, str 681-695.

Kippax PG, Krarup H, Suman JD. Applications for Droplet Sizing: Manual versus Automated Actuation of Nasal Sprays. *Pharm Technol*, 2004, 30-39.

Kulkarni VS, Shaw C. Rheological Studies, U: Essential Chemistry for Formulators of Semisolid and Liquid Dosages, Elsevier Inc, 2016, str. 146-182.

Larson M, Hill A, Duffy J. Additives for Increasing low shear Viscosity. *Annual Transaction of The Nordic Rheology Society*, 2012, 2, 209-214.

Leung SHS, Robinson JR. Polymer structure features contributing to bioadhesion. II. *J Control Release*, 1990, 12, 187–194.

Longer MA, Robinson JR. Fundamental aspects of bioadhesion. *Pharm Int*, 1986, 5, 114–117.

Martonen TB, Katz IM. Deposition patterns of aerosolized drugs within human lungs: Effects of ventilatory parameters. *Pharm Res*, 1993, 10, 871–878.

Martin E, Verhoef JC, Schipper NG, Merkus FW. Nasal mucociliary clearance as a factor in nasal drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev*, 1998, 29, 13– 38.

Mezger TG. The Rheology Handbook For users of rotational and oscillatory rheometers, Hanover, Vincentz Network, 2006.

Moraga-Espinoza D, Warnken Z, Moore A, Williams RO, Smyth HDC. A modified USP induction port to characterize nasal spray plume geometry and predict turbinate deposition under flow. *Int J Pharm*, 2018, 548, 305–313.

Morrison NA, Sworn G, Clark RC, Chen YL, Talashek T. Gelatin alternatives for the food industry. *Progr Colloid Polym Sci*, 1999, 114, 127-131.



- Necas J, Bartosikova L, Brauner P, Kolar J. Hyaluronic acid (hyaluronan): a review. *Vet Med-Czech*, 2008, 53, 397–411.
- Newman SP, Moren F, Clarke SW. Deposition Pattern of Nasal Sprays in Man. *Rhinology*, 1998, 26, 111–120.
- Phillipps GH. Structure-activity relationships of topically active steroids: the selection of fluticasone propionate. *Respir Med*, 1990, 84, 19-23.
- Salunke SR, Patil SB. Ion activated *in situ* gel of gellan gum containing salbutamol sulphate for nasal administration. *Int J Biol Macromol*, 2016, 87, 41–47.
- Sangolkar SS, Adhao VS, Mundhe DG, Sawarkar HS. Particle size determination of nasal drug delivery system: a review. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 2012, 17, 66–73.
- Spray particle and spray droplet size measurement, <https://www.malvernpanalytical.com>, pristupljeno 28.8.2019.
- Sriamornsak P. Chemistry of Pectin and Its Pharmaceutical Uses : A Review. *J. sci. technol. Silpakorn Univ*, 2003, 3, 206-228.
- Sriamornsak P. Pectin: The role in health. *J. sci. technol. Silpakorn Univ*, 2001, 21, 60-77.
- Sunthar P. Polymer Rheology. U: Rheology of complex fluids, New York, Springer, 2010, str. 171-191.
- Svirkin Y, Parsa R, Zingerman D. 2006. U.S. Patent 60/393.954.
- Sworn G. Handbook of Hydrocolloids. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Cambridge, Woodhead Publishing Limited, 2009, str. 204-227.
- Tadros TF. Reology of Dispersions; Principles and Applications. Weinheim, Wiley VCH Verlag GmbH & Co KGaA, 2010.
- Türker S, Onur E, Özer Y. Nasal route and drug delivery systems. *Pharm World Sci*, 2004, 26, 137–142.
- Ugwoke MI, Verbeke N, Kinget R. The biopharmaceutical aspects of nasal mucoadhesive drug delivery. *J Pharm Pharmacol*, 2001, 53, 3–22.

Varma MV, Obach RS, Rotter C, Miller HR, Chang G, Steyn SJ, El-Kattan A, Troutman MD. Physicochemical space for optimum oral bioavailability: contribution of human intestinal absorption and first-pass elimination. *J Med Chem*, 2010, 53, 1098–1108.

Watts P, Smith A. PecSys: *in situ* gelling system for optimised nasal drug delivery. *Expert Opin Drug Del*, 2009, 6, 543-552.

Willats WGT, Knox JP, Mikkelsen JD. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. *Trends Food Sci Tech*, 2006, 17, 97-104.

## 7. SAŽETAK/SUMMARY

Nazalna primjena ističe se kao jednostavan i učinkovit način primjene lijekova u liječenju oboljenja nosne sluznice, a predstavlja i zanimljiv alternativni put sistemske dostave lijeka. U skladu s time, razvijaju se inovativni terapijski sustavi koji poboljšavaju farmakokinetička svojstva nazalno primijenjenog lijeka. Tako je primjenom *in situ* gelirajućih sustava moguće produžiti zadržavanje lijeka na mjestu primjene i povećati mu bioraspoloživost. Radi se o sustavima koji se primjenjuju u tekućem obliku, a u dodiru sa nosnom sluznicom geliraju pod utjecajem fizioloških čimbenika.

Cilj ovoga rada bio je pripremiti *in situ* gelirajuće suspenzije flutikazonpropionata različitog polimernog sastava, različitog masenog omjera flutikazonpropionata i suspendirajuće tvari i prilagođene osmolalnosti s obzirom na nazalni put primjene, te ispitati utjecaj sastava *in situ* gelirajuće suspenzije na viskoznost u mirovanju, kut raspršenja i raspodjelu veličine raspršenih kapljica. Pripremljene su *in situ* gelirajuće suspenzije flutikazonpropionata (0,1%, *m/m*) uz neionski surfaktant polisorbit 80 (0,01% ili 0,05%, *m/m*) i s različitim koncentracijama polimera: pektina (0,5-0,7%, *m/m*), gelan gume (0,1-0,2%, *m/m*) i natrijevog hijaluronata (0,05%, *m/m*), te uz dodatak manitola (4%, *m/m*) kao sredstva za izotonizaciju. Nakon miješanja sa simuliranim nosnim fluidom i mjerenja osmolalosti pripremljenih suspenzija, zaključeno je da su svi ispitani uzorci kompatibilni s nosnom sluznicom s obzirom na njihovu toničnost. *In situ* gelirajuće suspenzije flutikazonpropionata pripravljene iz više polimera, odnosno s većom ukupnom koncentracijom polimera, bile su karakterizirane većom viskoznošću pri mirovanju, kao i manjim kutom raspršenja. Raspodjela veličine raspršenih kapljica odgovara nazalnoj primjeni. Naime, izmjereni volumni promjeri upućuju na zaključak da će se većina primijenjene doze raspršivanjem odložiti u nosnoj šupljini s obzirom da veličina raspršenih kapljica prelazi 10  $\mu\text{m}$ . Rezultati ovoga rada mogu se primijeniti na daljnja istraživanja u području nazalne primjene *in situ* gelirajućih sustava.

Nasal delivery stands out as a simple and effective route of drug administration for the treatment of nasal mucosa diseases; however it also represents an interesting alternative for systemic drug delivery. Accordingly, innovative drug delivery systems are being developed that improve the pharmacokinetic properties of the nasally administered drugs. By using *in situ* gelling systems it is possible to prolong the drug retention at the application site and increase its bioavailability. These systems are applied in liquid form and gel in contact with the nasal mucosa under the influence of physiological factors.

The aim of this thesis was to prepare *in situ* gelling fluticasone propionate suspensions of appropriate osmolality in relation to nasal route of administration, differing in polymeric composition and fluticasone propionate to suspending agent weight ratio, and to evaluate the influence of the composition of *in situ* gelling suspension on zero-shear viscosity as well as droplet size distribution and cone angle upon spraying. *In situ* gelling suspensions of fluticasone propionate (0.1%, w/w) were prepared with non-ionic surfactant polysorbate 80 (0.01% or 0.05%, w/w) and with different polymer concentrations (pectin (0.5-0.7%, w/w), gellan gum (0.1-0.2%, w/w) and sodium hyaluronate (0.05%, w/w)), with the addition of mannitol (4%, w/w) as isotonicizing agent. After mixing with the simulated nasal fluid and measuring the osmolality of prepared suspensions, it was concluded that all the samples were compatible with the nasal mucosa with respect to their tonicity. The *in situ* gelling suspensions of fluticasone propionate prepared from multiple polymers and with a higher total polymer concentration were characterized by higher zero-shear viscosity, as well as smaller cone angle. The droplet size distribution corresponds to nasal administration since the measured volume diameters indicate that most of the applied dose by spray will be deposited in the nasal cavity as the size of the spray droplets exceeds 10  $\mu\text{m}$ . The results of this thesis can be applied to further studies in the field of nasal application of *in situ* gelling systems.

# Temeljna dokumentacijska kartica

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

Diplomski rad

## RAZVOJ *IN SITU* GELIRAJUĆE SUSPENZIJE FLUTIKAZONPROPIONATA ZA NAZALNU PRIMJENU

Emily Čurt

### SAŽETAK

Nazalna primjena ističe se kao jednostavan i učinkovit način primjene lijekova u liječenju oboljenja nosne sluznice, a predstavlja i zanimljiv alternativni put sistemske dostave lijeka. U skladu s time, razvijaju se inovativni terapijski sustavi koji poboljšavaju farmakokinetička svojstva nazalno primijenjenog lijeka. Tako je primjenom *in situ* gelirajućih sustava moguće produžiti zadržavanje lijeka na mjestu primjene i povećati mu bioraspoloživost. Radi se o sustavima koji se primjenjuju u tekućem obliku, a u dodiru sa nosnom sluznicom geliraju pod utjecajem fizioloških čimbenika.

Cilj ovoga rada bio je pripremiti *in situ* gelirajuće suspenzije flutikazonpropionata različitog polimernog sastava, različitog masenog omjera flutikazonpropionata i suspendirajuće tvari i prilagođene osmolalnosti s obzirom na nazalni put primjene, te ispitati utjecaj sastava *in situ* gelirajuće suspenzije na viskoznost u mirovanju, kut raspršenja i raspodjelu veličine raspršenih kapljica. Pripremljene su *in situ* gelirajuće suspenzije flutikazonpropionata (0,1%, *m/m*) uz neionski surfaktant polisorb 80 (0,01% ili 0,05%, *m/m*) i s različitim koncentracijama polimera: pektina (0,5-0,7%, *m/m*), gelan gume (0,1-0,2%, *m/m*) i natrijevog hijaluronata (0,05%, *m/m*), te uz dodatak manitola (4%, *m/m*) kao sredstva za izotonizaciju. Nakon miješanja sa simuliranim nosnim fluidom i mjerenja osmolalosti pripremljenih suspenzija, zaključeno je da su svi ispitani uzorci kompatibilni sa nosnom sluznicom s obzirom na njihovu toničnost. *In situ* gelirajuće suspenzije flutikazonpropionata pripravljene iz više polimera, odnosno s većom ukupnom koncentracijom polimera, bile su karakterizirane većom viskoznošću pri mirovanju, kao i manjim kutom raspršenja. Raspodjela veličine raspršenih kapljica odgovara nazalnoj primjeni. Naime, izmjereni volumni promjeri upućuju na zaključak da će se većina primijenjene doze raspršivanjem odložiti u nosnoj šupljini s obzirom da veličina raspršenih kapljica prelazi 10  $\mu\text{m}$ . Rezultati ovoga rada mogu se primijeniti na daljnja istraživanja u području nazalne primjene *in situ* gelirajućih sustava.

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

Rad sadrži: 32 stranice, 4 grafička prikaza, 5 tablica i 57 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: flutikazonpropionat, *in situ* gelirajući sustav, nazalna primjena, pektin, gelan guma, natrijev hijaluronat

Mentor: **Dr. sc. Anita Hafner**, izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Anita Hafner**, izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

**Dr. sc. Mario Jug**, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

**Dr. sc. Dubravka Vitali Čepo**, izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: rujan 2019.

## Basic documentation card

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

Diploma thesis

### DEVELOPMENT OF *IN SITU* GELLING FLUTICASONE PROPIONATE SUSPENSION FOR NASAL ADMINISTRATION

Emily Ćurt

#### SUMMARY

Nasal delivery stands out as a simple and effective route of drug administration for the treatment of nasal mucosa diseases; however it also represents an interesting alternative for systemic drug delivery. Accordingly, innovative drug delivery systems are being developed that improve the pharmacokinetic properties of the nasally administered drugs. By using *in situ* gelling systems it is possible to prolong the drug retention at the application site and increase its bioavailability. These systems are applied in liquid form and gel in contact with the nasal mucosa under the influence of physiological factors.

The aim of this thesis was to prepare *in situ* gelling fluticasone propionate suspensions of appropriate osmolality in relation to nasal route of administration, differing in polymeric composition and fluticasone propionate to suspending agent weight ratio, and to evaluate the influence of the composition of *in situ* gelling suspension on zero-shear viscosity as well as droplet size distribution and cone angle upon spraying. *In situ* gelling suspensions of fluticasone propionate (0.1%, w/w) were prepared with non-ionic surfactant polysorbate 80 (0.01% or 0.05%, w/w) and with different polymer concentrations (pectin (0.5-0.7%, w/w), gellan gum (0.1-0.2%, w/w) and sodium hyaluronate (0.05%, w/w)), with the addition of mannitol (4%, w/w) as isotonicizing agent. After mixing with the simulated nasal fluid and measuring the osmolality of prepared suspensions, it was concluded that all the samples were compatible with the nasal mucosa with respect to their tonicity. The *in situ* gelling suspensions of fluticasone propionate prepared from multiple polymers and with a higher total polymer concentration were characterized by higher zero-shear viscosity, as well as smaller cone angle. The droplet size distribution corresponds to nasal administration since the measured volume diameters indicate that most of the applied dose by spraying will be deposited in the nasal cavity as the size of the spray droplets exceeds 10  $\mu\text{m}$ . The results of this thesis can be applied to further studies in the field of nasal application of *in situ* gelling systems.

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

Thesis includes: 32 pages, 4 figures, 5 tables and 57 references. Original is in Croatian language.

includes:

Keywords: fluticasone propionate, *in situ* gelling system, nasal delivery, pectin, gellan gum, sodium hyaluronate

Mentor: **Anita Hafner, Ph.D.** Associate Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Anita Hafner, Ph.D.** Associate Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

**Mario Jug, Ph.D.** Associate Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

**Dubravka Vitali Čepo, Ph.D.** Associate Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: September 2019

