

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **234646**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **422756**

(22) Data zgłoszenia: **06.09.2017**

(51) Int.Cl.

A61K 9/107 (2006.01)

A61K 31/41 (2006.01)

(54)

**Formulacje doustne przeznaczone do uwalniania w okrężnicy,
zawierające N-podstawiony benzizoselenazol-3(2H)-on**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

11.03.2019 BUP 06/19

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

31.03.2020 WUP 03/20

(73) Uprawniony z patentu:

UNIwersytet Wrocławski, Wrocław, PL
POLITECHNIKA WROCLAWSKA, Wrocław, PL

(72) Twórca(y) wynalazku:

ANNA JAROMIN, Wrocław, PL
MAGDALENA PIĘTKA-OTTLIK, Wrocław, PL

PL 234646 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku są formułacje doustne przeznaczone do uwalniania w okrężnicy, zawierające *N*-podstawiony benzisoselenazol-3(2*H*)-on, związek selenoorganiczny wykazujący różne właściwości biologiczne.

Jedną z najwygodniejszych i najskuteczniejszych metod podawania leku jest aplikacja doustna. Niestety, większość z dostępnych obecnie, jak również nowo syntetyzowanych związków o aktywnościach biologicznych odznacza się słabą lub bardzo słabą rozpuszczalnością w środowisku wodnym. Bezpośrednią konsekwencją tego faktu jest zatem ich niski poziom biodostępności. Dlatego też dąży się do poprawy skuteczności klinicznej poprzez opracowanie odpowiednich systemów nośnikowych. Jednym z najbardziej eksplorowanych obszarów badawczych są lipidowe nośniki leków. Emulsje, liposomy czy systemy samoemulsyfikujące się pozwalają na zamknięcie związków hydrofobowych z dużą wydajnością. Szczególne te ostatnie wzbudzają ogromne zainteresowanie i są przedmiotem wielu interdyscyplinarnych badań.

Związki selenoorganiczne typu benzisoselenazol-3(2*H*)-onu odznaczają się słabą rozpuszczalnością w roztworach wodnych, zatem wymagane jest opracowanie odpowiednich systemów dostarczania tego typu struktur. Po ich podaniu do organizmu, pożądane jest zminimalizowanie ogólnoustrojowej ekspozycji i celowane dostarczanie, a w przypadku doustnej aplikacji – do określonego odcinka przewodu pokarmowego.

Samoemulsyfikujące się systemy dostarczania leków (SEDDS, Self Emulsifying Drug Delivery Systems) definiowane są jako izotropowe mieszaniny olejów naturalnych lub syntetycznych, substancji powierzchniowo czynnych oraz rozpuszczalników hydrofilowych bądź kosurfaktantów. Wykorzystywane są do tworzenia formułacji lipofilowych leków w celu poprawy ich wchłaniania po podaniu doustnym. SEDDS mogą być aplikowane w postaci np. miękkich lub twardych kapsulek żelatynowych tworząc emulsje typu olej w wodzie na skutek rozcieńczenia np. płynem obecnym w przewodzie pokarmowym. Istnieje również wiele doniesień naukowych opisujących połączenia SEDDS z naturalnymi polimerami np. alginianem lub pektyną, uzyskując w ten sposób stałe formy. Stopień biodostępności leku zamkniętego w formułacji typu SEDDS zależy m.in. od parametrów formułacji, takich jak stężenie surfaktantu, stosunek oleju do surfaktantu, polarności emulsji, wielkości i potencjał Zeta emulsji, wpływając istotnie na zdolność systemu do samoemulsyfikacji (Saluja V, Arora S, Goyal S. *Self-emulsifying lipid formulation: an overview*. Curr Drug Deliv. 2015, 12, 166–176; Chouhan N, Mittal V, Kaushik D, Khatkar A, Raina M. *Self emulsifying drug delivery system (SEDDS) for phytoconstituents: a review*. Curr Drug Deliv. 2015, 12, 244–253; Gupta S, Kesarla R, Omri A. *Formulation strategies to improve the bioavailability of poorly absorbed drugs with special emphasis on self-emulsifying systems*. ISRN Pharm. 2013, doi: 10.1155/2013/848043; Patel D, Sawant KK. *Self micro-emulsifying drug delivery system: formulation development and biopharmaceutical evaluation of lipophilic drugs*. Curr Drug Deliv. 2009, 6, 419–424; Pouton CW. *Lipid formulations for oral administration of drugs: non-emulsifying, self-emulsifying and 'self-microemulsifying' drug delivery systems*. Eur J Pharm Sci. 2000, 11, 93–98).

Obecnie na rynku farmaceutycznym istnieje kilka leków, które zostały enkapsulowane w określonych systemach samoemulsyfikujących się. Należą do nich m.in.: Sandimmun Neoral (cyklosporyna A), Norvir (rytonawir), i Fortovase (sakwinawir). Przyjmuje się, iż ponad 40% substancji aktywnych, które mają wejść na rynek farmaceutyczny jest natury hydrofobowej, oznacza to, że badania nad SEDDS będą nadal trwały, a przemysł farmaceutyczny będzie stale szukał nowych rozwiązań w celu poprawy biodostępności zamkniętych substancji.

Liczne doniesienia naukowe dotyczą głównie zastosowań systemów samoemulsyfikujących się w celu poprawy rozpuszczalności trudno rozpuszczalnych leków. Jednym z ciekawych przykładów jest opracowanie systemu samonanoemulsyfikującego się (SNEDDS, Self Nanoemulsifying Drug Delivery Systems) dla nifedypiny (NPD). Badacze wykazali, że skład opracowanych SNEDDS ma ogromny wpływ na proces spontanicznej emulsyfikacji. Eksperymenty *in vitro* udowodniły znaczący wzrost rozpuszczalności leku z formułacji SNEDDS w porównaniu do formułacji stałej. Analiza farmakokinetyki potwierdza, iż opracowane formy SNEDDS zawierające testowany lek są w stanie polepszyć rozpuszczalność i biodostępność nifedypiny (Weerapol Y, Limmatvapirat S, Kumpugdee-Vollrath M, Srimrnsak P. *Spontaneous emulsification of nifedipine-loaded self-nanoemulsifying drug delivery system*. AAPS PharmSciTech. 2015, 16, 435–443).

Innym przykładem związku o niskiej biodostępności, będącej skutkiem słabej rozpuszczalności w wodzie i niskiej absorpcji jelitowej jest kwercytyna (Q). Zaproponowany optymalny skład systemu samonanoemulsyfikującego się (Q-SNEDDS), zawierający olej rycynowy, Tween® 80, Cremophor® RH 40 i PEG 400 (20:16:34:30, w/w) po zmieszaniu z wodą doprowadził do wytworzenia nanoemulsji o wymiarach $208,8 \pm 4,5$ nm i Zeta potencjale $-26,3 \pm 1,2$ mV. Co więcej, zaobserwowano dla tej formułacji znaczący wzrost transportu zamkniętego związku przez monowarstwę Caco-2. Parametry farmakokinetyczne wyznaczone po podaniu doustnym Q-SNEDDS szczurom (15 mg/kg), wskazują na znaczące zwiększenie biodostępności kwercytyny po podaniu w takiej formie (Tran TH, Guo Y, Song D, Bruno RS, Lu X. *Quercetin-containing self-nanoemulsifying drug delivery system for improving oral bioavailability*. J Pharm Sci. 2014, 103, 840–852).

Patel *et al.* z kolei opracowali i scharakteryzowali system samomikroemulsyfikujący (SMEDDS, Self Microemulsifying Drug Delivery Systems) dla takrolimusu, leku wykazującego słabą rozpuszczalność w środowisku wodnym. Opracowana formułacja SMEDDS zawierająca takrolimus, o składzie: 10% Lauroglycol FCC, 60% Cremophor RH i 30% PEG 400 odznaczała się lepszym zwalnianiem leku w porównaniu do dostępnej na rynku formy leku w postaci kapsułki i wolnego leku. Co więcej, analiza formy stałej SMEDDS technikami SEM, DSC, FTIR i XRD wykluczyła obecność krystalicznych form leku w opracowanych systemach samoorganizujących się (Patel PV, Patel HK, Panchal SS, Mehta TA. *Self micro-emulsifying drug delivery system of tacrolimus: Formulation, in vitro evaluation and stability studies*. Int J Pharm Investig. 2013, 3, 95–104).

Inna grupa badawcza również podjęła się zadania opracowania systemu samoemulsyfikującego się typu SEDDS dla tego samego leku. Opracowana płynna formułacja SEDDS, zawierająca Labrasol, Lauroglycol i Labrafac (70:15:15 v/v) z dodatkiem 5% takrolimusu została przekształcona w formę stałą. Jak wykazały badania *in vivo* na szczurach po podaniu doustnym tej formy zaobserwowano wyraźnie zwiększoną biodostępność takrolimusu, na skutek zwiększonej rozpuszczalności leku z stałej formy SEDDS (Seo YG, Kim DW, Cho KH, Yousaf AM, Kim DS, Kim JH, Kim JO, Yong CS, Choi HG. *Preparation and pharmaceutical evaluation of new tacrolimus-loaded solid self-emulsifying drug delivery system*. Arch Pharm Res. 2015; 38(2):223–228).

Użyteczność SEDDS wykazano także w przypadku enkapsulacji glipizydu, stosowanego w celu obniżenia poziomu cukru we krwi. Wytypowana formułacja, złożona z fosfatydylocholiny, Tweenu 80 i Transcutolu P, po przekształceniu w formę stałą była testowana w warunkach *in vivo*. Wykazano lepszą kontrolę poziomu glukozy we krwi przez lek obecny w formie SEDDS w porównaniu do wolnego leku (Agrawal AG, Kumar A, Gide PS. *Self emulsifying drug delivery system for enhanced solubility and dissolution of glipizide*.

Istotą rozwiązania są formułacje doustne przeznaczone do uwalniania w okrężnicy, zawierające *N*-podstawiony benzizoselenazol-3(2*H*)-on, znanymi tym, że samoemulsyfikujące się formułacje 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-onu zawierają w swoim składzie fazę olejową stanowiącą 5–35% w/w kompozycji, Tween 80 stanowiący 25–85% w/w kompozycji i Transcutol HP stanowiący 5–65% w/w kompozycji, faza olejową składa się ze 100% estrów etylowych kwasów tłuszczowych o wysokiej zawartości niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych Omega 3 i Omega 6, przy czym formułacje te, po spontanicznym rozcieńczeniu, poprzez dodanie 100 mg kompozycji do 20 ml wody destylowanej tworzą struktury o wielkości < 50 nm (Rys. 2 i 3), a po dodaniu do roztworu polimerów naturalnych (np. żelatyny, pektyny lub alginianu) otrzymujemy formę stałą.

Korzystnie formułacje doustne przeznaczone do uwalniania w okrężnicy, zawierające *N*-podstawiony benzizoselenazol-3(2*H*)-on charakteryzują się tym, że samoemulsyfikujące się formułacje 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-onu po zmieszaniu w stosunku 7:1 w/w z wodnym roztworem żelatyny o stężeniu 17% w/w, ogrzaniem do temp. 56–58°C, wkropleniu do oleju o temp. 4°C, pozostawieniu przez 2 godziny w temperaturze 4°C, przesączeniu, osuszeniu i wyschnięciu przez 48 godzin w temperaturze pokojowej, przekształcone zostaną w formy stałe.

Korzystnie formułacje doustne przeznaczone do uwalniania w okrężnicy, zawierające *N*-podstawiony benzizoselenazol-3(2*H*)-on charakteryzują się tym, że samoemulsyfikujące się formułacje 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-onu po zmieszaniu w stosunku 7:1 w/w z wodnym roztworem żelatyny o stężeniu 17% w/w, zawierającym 0,05–0,1% hydroksypropylometylocelulozy (HPMC), ogrzaniem do temp. 56–58°C, wkropleniu do oleju o temp. 4°C, pozostawieniu przez 2 godziny w temperaturze 4°C, przesączeniu, osuszeniu i wyschnięciu przez 48 godzin w temperaturze pokojowej, przekształcone zostaną w formy stałe ze zmodyfikowanym wnętrzem.

Korzystnie formułacje doustne przeznaczone do uwalniania w okrężnicy, zawierające *N*-podstawiony benzizoselenazol-3(2*H*)-on charakteryzują się tym, że samoemulsyfikujące się formułacje 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-onu po zmieszaniu z wodną zawiesiną alginianu w stosunku 1:3, 1:4 lub 1:5 w/w, otrzymując 2 lub 3% w/w alginian, wkroplone zostaną do 100 ml 3 lub 5% w/v CaCl_2 i delikatnie wymieszane w temperaturze pokojowej, pozostawione w roztworze CaCl_2 przez godzinę, oddzielone od roztworu na drodze filtracji, przemyte wodą destylowaną i pozostawione do wyschnięcia w temperaturze pokojowej przez okres 24 godzin przekształcone zostaną w formy stałe.

Korzystnie formułacje doustne przeznaczone do uwalniania w okrężnicy, zawierające *N*-podstawiony benzizoselenazol-3(2*H*)-on charakteryzują się tym, że samoemulsyfikujące się formułacje 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-onu po zmieszaniu z wodną zawiesiną alginianu w stosunku 1:3, 1:4 lub 1:5 w/w, otrzymując 2 lub 3% w/w alginian, wkroplone zostaną do 100 ml 3 lub 5% w/v CaCl_2 zawierającego 0,08 lub 0,1% w/v HPMC i delikatnie wymieszane w temperaturze pokojowej, pozostawione w roztworze CaCl_2 przez godzinę, oddzielone od roztworu na drodze filtracji, przemyte wodą destylowaną i pozostawione do wyschnięcia w temperaturze pokojowej przez okres 24 godzin przekształcone zostaną w formy stałe ze zmodyfikowaną powierzchnią.

Korzystnie formułacje doustne przeznaczone do uwalniania w okrężnicy, zawierające *N*-podstawiony benzizoselenazol-3(2*H*)-onu charakteryzują się tym, że samoemulsyfikujące się formułacje 2-dodecyl obenzizoselenazol-3(2*H*)-onu po zmieszaniu z wodną zawiesiną pektyny w stosunku 1:3, 1:4 lub 1:5 w/w, otrzymując 3 lub 4% w/w, wkroplone zostaną do 100 ml 3 lub 5% w/v CaCl_2 i delikatnie wymieszane w temperaturze pokojowej, pozostawione w roztworze CaCl_2 przez godzinę, oddzielone od roztworu na drodze filtracji, przemyte wodą destylowaną i pozostawione do wyschnięcia w temperaturze pokojowej przez okres 24 godzin przekształcone zostaną w formy stałe.

Korzystnie formułacje doustne przeznaczone do uwalniania w okrężnicy, zawierające *N*-podstawiony benzizoselenazol-3(2*H*)-on charakteryzują się tym, że samoemulsyfikujące się formułacje 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-onu po zmieszaniu z wodną zawiesiną pektyny w stosunku 1:3, 1:4 lub 1:5 w/w, otrzymując 3 lub 4% w/w, wkroplone zostaną do 100 ml 3 lub 5% w/v CaCl_2 zawierającego 0,08 lub 0,1% w/v HPMC i delikatnie wymieszane w temperaturze pokojowej, pozostawione w roztworze CaCl_2 przez godzinę, oddzielone od roztworu na drodze filtracji, przemyte wodą destylowaną i pozostawione do wyschnięcia w temperaturze pokojowej przez okres 24 godzin przekształcone zostaną w formy stałe ze zmodyfikowaną powierzchnią.

Zaletami rozwiązania jest umożliwienie podawania doustnego trudno rozpuszczalnego w wodzie *N*-podstawionego benzizoselenazol-3(2*H*)-onu, dodatkowo umożliwiające jest ukierunkowane dostarczanie substancji aktywnej do określonego odcinka przewodu pokarmowego (okrężnicy).

Nowatorskim podejściem jest inkorporowanie przedstawiciela *N*-podstawionych benzizoselenazol-3(2*H*)-onów – 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-onu (Rys. 1) w opracowany system samoemulsyfikujący się, a następnie przekształcenie zoptymalizowanej formułacji w formę stałą, poprzez zmieszanie w odpowiedniej proporcji z np. roztworem żelatyny.

Opracowany nośnik, którego wnętrze może być dodatkowo zagęszczone poprzez dodatek hydroksypropylometylocelulozy (HPMC), dedykowany jest do podania doustnego z uwalnianiem w okrężnicy. Żelatyna jest naturalną substancją białkową pozyskiwaną ze zwierząt. Wykorzystywana jest powszechnie w farmacji w procesie produkcji otoczek kapsułek żelatynowych.

Formułacje do dostarczania dookrężniczego przygotowywane są w taki sposób, aby pozostały nienaruszone zarówno w niskim, jak i w lekko zasadowym pH (około 7) przez kilka godzin. Przyjmuje się, że w tym czasie przejdą one przez żołądek, jelito cienkie i dotrą do jelita grubego, w którym otoczka ulegnie stopniowej dezintegracji i rozpocznie się proces zwalniania leku z postaci stałej. Dlatego też, by przewidzieć profil uwalniania leku i oszacować prawdopodobne zachowanie się emulsji w poszczególnych segmentach układu pokarmowego standardowo określa się profil uwalniania leku w pH = 1,2 i pH = 6,8, odwzorowując w ten sposób warunki panujące w żołądku i okrężnicy.

P r z y k ł a d 1. Przygotowanie SNEDDS zawierających 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-on.

1.1 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-on rozpuszczony został w Omega3₊₆ w stężeniu 30 mg/g. Następnie dodano Tween 80 i Transcutol HP (uzyskując stosunek Omega3₊₆:Tween 80:Transcutol HP 10:30:60 w/w) i dokładnie wymieszano. 100 mg kompozycji wkroplono do 20 ml wody destylowanej. Całość zmieszano delikatnie na mieszadle magnetycznym przez 30 minut. Wy-

znaczony czas emulsyfikacji to 5 s. Po rozcieńczeniu wodą destylowaną w stosunku 1:10, 1:100 i 1:1000 v/v uzyskano następujące wartości:

Parametr	1:10	1:100	1:1000
wielkość [nm]	18.33 ± 0.29	21.65 ± 5.45	26.19 ± 1.46
PdI	0.123 ± 0.005	0.171 ± 0.046	0.441 ± 0.021
potencjał Zeta [mV]	- 3.57 ± 1.18	- 13.93 ± 0.8	- 10.08 ± 2.87

Wielkość, PdI i potencjał Zeta L_F-SNEDDS zawierających 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-on po rozcieńczeniu 0,1 M HCl (pH 1,2) i buforem fosforanowym (pH 6,8) w stosunku 1:100 v/v wynosiła:

Parametr	0,1 M HCl pH 1,2	bufor fosforanowy pH 6,8
wielkość [nm]	19.42 ± 0.23	18.67 ± 0.6
PdI	0.177 ± 0.008	0.165 ± 0.015
potencjał Zeta [mV]	1.65 ± 3.46	- 3.68 ± 0.42

- 1.2 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-on rozpuszczony został w Omega3₊₆ w stężeniu 30 mg/g. Następnie dodano Tween 80 i Transcutol HP (uzyskując stosunek Omega3₊₆:Tween 80:Transcutol HP 10:40:50 w/w) i dokładnie wymieszano. 100 mg kompozycji wkroplono do 20 ml wody destylowanej. Całość zmieszano delikatnie na mieszadło magnetycznym przez 30 minut. Wyznaczony czas emulsyfikacji to 5 s. Po rozcieńczeniu wodą destylowaną w stosunku 1:10, 1:100 i 1:1000 v/v uzyskano następujące wartości:

Parametr	1:10	1:100	1:1000
wielkość [nm]	15.46 ± 0.03	16.35 ± 0.46	27.39 ± 0.69
PdI	0.061 ± 0.014	0.218 ± 0.009	0.568 ± 0.018
potencjał Zeta [mV]	- 3.92 ± 1.9	-17.6 ± 8.57	-18.4 ± 1.21

Wielkość, PdI i potencjał Zeta L_F-SNEDDS zawierających 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-on po rozcieńczeniu 0,1 M HCl (pH 1,2) i buforem fosforanowym (pH 6,8) w stosunku 1:100 v/v wynosiła:

Parametr	0,1 M HCl pH 1,2	bufor fosforanowy pH 6,8
wielkość [nm]	16.34 ± 0.34	18.26 ± 0.40
PdI	0.131 ± 0.028	0.212 ± 0.017
potencjał Zeta [mV]	0.49 ± 6.91	- 3.51 ± 0.15

- 1.3** 2-dodecylobenziselenazol-3(2*H*)-on rozpuszczony został w Omega3₊₆ w stężeniu 30 mg/g. Następnie dodano Tween 80 i Transcutol HP (uzyskując stosunek Omega3₊₆:Tween 80:Transcutol HP 10:50:40 w/w) i dokładnie wymieszano. 100 mg kompozycji wkroplono do 20 ml wody destylowanej. Całość zmieszano delikatnie na mieszadło magnetycznym przez 30 minut. Wyznaczony czas emulsyfikacji to 7 s. Po rozcieńczeniu wodą destylowaną w stosunku 1:10, 1:100 i 1:1000 v/v uzyskano następujące wartości:

Parametr	1:10	1:100	1:1000
wielkość [nm]	13.75 ± 0.18	13.82 ± 0.17	16.2 ± 0.29
PdI	0.079 ± 0.009	0.142 ± 0.037	0.26 ± 0.019
potencjał Zeta [mV]	- 3.39 ± 1.45	- 14.39 ± 8.35	- 11.05 ± 1.63

Wielkość, PdI i potencjał Zeta L_F-SNEDDS zawierających 2-dodecylobenziselenazol-3(2*H*)-on po rozcieńczeniu 0,1 M HCl (pH 1,2) i buforem fosforanowym (pH 6,8) w stosunku 1:100 v/v wynosiła:

Parametr	0,1 M HCl pH 1,2	bufor fosforanowy pH 6,8
wielkość [nm]	14.56 ± 0.25	16.35 ± 0.27
PdI	0.119 ± 0.02	0.202 ± 0.015
potencjał Zeta [mV]	0.86 ± 7.09	- 3.68 ± 0.14

- 1.4** 2-dodecylobenziselenazol-3(2*H*)-on rozpuszczony został w Omega3₊₆ w stężeniu 30 mg/g. Następnie dodano Tween 80 i Transcutol HP (uzyskując stosunek Omega3₊₆:Tween 80:Transcutol HP 10:60:30 w/w) i dokładnie wymieszano. 100 mg kompozycji wkroplono do 20 ml wody destylowanej. Całość zmieszano delikatnie na mieszadło magnetycznym przez 30 minut. Wyznaczony czas emulsyfikacji to 30 s. Po rozcieńczeniu wodą destylowaną w stosunku 1:10, 1:100 i 1:1000 v/v uzyskano następujące wartości:

Parametr	1:10	1:100	1:1000
wielkość [nm]	12.65 ± 0.05	14.13 ± 0.27	17.99 ± 1.49
PdI	0.079 ± 0.023	0.204 ± 0.036	0.383 ± 0.041
potencjał Zeta [mV]	- 2 ± 0.45	- 9.77 ± 6.43	- 12.76 ± 2.24

Wielkość, PdI i potencjał Zeta L_F-SNEDDS zawierających 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-on po rozcieńczeniu 0,1 M HCl (pH 1,2) i buforem fosforanowym (pH 6,8) w stosunku 1:100 v/v wynosiła:

Parametr	0,1 M HCl pH 1,2	bufor fosforanowy pH 6,8
wielkość [nm]	15.29 ± 0.13	14.8 ± 0.13
PdI	0.23 ± 0.028	0.113 ± 0.015
potencjał Zeta [mV]	-0.22 ± 3.18	- 3.65 ± 0.18

- 1.5 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-on rozpuszczony został w Omega3₊₆ w stężeniu 30 mg/g. Następnie dodano Tween 80 i Transcutol HP (uzyskując stosunek Omega3₊₆:Tween 80:Transcutol HP 10:70:20 w/w) i dokładnie wymieszano. 100 mg kompozycji wkropiono do 20 ml wody destylowanej. Całość zmieszano delikatnie na mieszadło magnetycznym przez 30 minut. Wyznaczony czas emulsyfikacji to 30 s. Po rozcieńczeniu wodą destylowaną w stosunku 1:10, 1:100 i 1:1000 v/v uzyskano następujące wartości:

Parametr	1:10	1:100	1:1000
wielkość [nm]	11.6 ± 0.15	12.3 ± 0.07	15.04 ± 0.46
PdI	0.1 ± 0.01	0.082 ± 0.022	0.238 ± 0.017
potencjał Zeta [mV]	- 4.84 ± 0.75	- 8.98 ± 2.83	- 5.97 ± 2.58

Wielkość, PdI i potencjał Zeta L_F-SNEDDS zawierających 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-on po rozcieńczeniu 0,1 M HCl (pH 1,2) i buforem fosforanowym (pH 6,8) w stosunku 1:100 v/v wynosiła:

Parametr	0,1 M HCl pH 1,2	bufor fosforanowy pH 6,8
wielkość [nm]	13.9 ± 0.04	15.04 ± 0.64
PdI	0.183 ± 0.005	0.241 ± 0.025
potencjał Zeta [mV]	-2.35 ± 3.68	- 5.05 ± 1.12

- 1.6 2-dodecylobenzisoselenazol-3(2H)-on rozpuszczony został w Omega3₊₆ w stężeniu 30 mg/g. Następnie dodano Tween 80 i Transcutol HP (uzyskując stosunek Omega3₊₆:Tween 80:Transcutol HP 10:80:10 w/w) i dokładnie wymieszano. 100 mg kompozycji wkroplono do 20 ml wody destylowanej. Całość zmieszano delikatnie na mieszadło magnetycznym przez 30 minut. Wyznaczony czas emulsyfikacji to 30 s. Po rozcieńczeniu wodą destylowaną w stosunku 1:10, 1:100 i 1:1000 v/v uzyskano następujące wartości:

Parametr	1:10	1:100	1:1000
wielkość [nm]	12.04 ± 0.24	13.81 ± 0.05	15.68 ± 0.08
PdI	0.233 ± 0.014	0.256 ± 0.007	0.327 ± 0.005
potencjał Zeta [mV]	- 3.68 ± 3.49	- 4.74 ± 0.5	- 7.85 ± 2.45

Wielkość, PdI i potencjał Zeta L_F-SNEDDS zawierających 2-dodecylobenzisoselenazol-3(2H)-on po rozcieńczeniu 0,1 M HCl (pH 1,2) i buforem fosforanowym (pH 6,8) w stosunku 1:100 v/v wynosiła:

Parametr	0,1 M HCl pH 1,2	bufor fosforanowy pH 6,8
wielkość [nm]	28.32 ± 0.46	15.71 ± 0.12
PdI	0.523 ± 0.003	0.288 ± 0.005
potencjał Zeta [mV]	1.55 ± 2.48	- 2.87 ± 0.18

- 1.7 2-dodecylobenzisoselenazol-3(2H)-on rozpuszczony został w Omega3₊₆ w stężeniu 30 mg/g. Następnie dodano Tween 80 i Transcutol HP (uzyskując stosunek Omega3₊₆:Tween 80:Transcutol HP 20:40:40 w/w) i dokładnie wymieszano. 100 mg kompozycji wkroplono do 20 ml wody destylowanej. Całość zmieszano delikatnie na mieszadło magnetycznym przez 30 minut. Wyznaczony czas emulsyfikacji to 7 s. Po rozcieńczeniu wodą destylowaną w stosunku 1:10, 1:100 i 1:1000 v/v uzyskano następujące wartości:

Parametr	1:10	1:100	1:1000
wielkość [nm]	23.49 ± 0.29	21.14 ± 0.3	25.81 ± 0.13
PdI	0.169 ± 0.005	0.107 ± 0.006	0.25 ± 0.018
potencjał Zeta [mV]	- 2.07 ± 0.43	- 8.98 ± 1.5	- 11.6 ± 0.45

Wielkość, PdI i potencjał Zeta L_F-SNEDDS zawierających 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-on po rozcieńczeniu 0,1 M HCl (pH 1,2) i buforem fosforanowym (pH 6,8) w stosunku 1:100 v/v wynosiła:

Parametr	0,1 M HCl pH 1,2	bufor fosforanowy pH 6,8
wielkość [nm]	24.1 ± 0.49	22.33 ± 0.72
PdI	0.14 ± 0.009	0.088 ± 0.009
potencjał Zeta [mV]	2.65 ± 1.72	- 2.41 ± 0.24

- 1.8 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-on rozpuszczony został w Omega3₊₆ w stężeniu 30 mg/g. Następnie dodano Tween 80 i Transcutol HP (uzyskując stosunek Omega3₊₆:Tween 80:Transcutol HP 20:50:30 w/w) i dokładnie wymieszano. 100 mg kompozycji wkropiono do 20 ml wody destylowanej. Całość zmieszano delikatnie na mieszadło magnetycznym przez 30 minut. Wyznaczony czas emulsyfikacji to 10 s. Po rozcieńczeniu wodą destylowaną w stosunku 1:10, 1:100 i 1:1000 v/v uzyskano następujące wartości:

Parametr	1:10	1:100	1:1000
wielkość [nm]	17.21 ± 0.11	17.41 ± 0.05	24.42 ± 0.64
PdI	0.072 ± 0.017	0.096 ± 0.018	0.329 ± 0.032
potencjał Zeta [mV]	- 1.89 ± 1.5	- 4.02 ± 1.38	- 18.66 ± 0.55

Wielkość, PdI i potencjał Zeta L_F-SNEDDS zawierających 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-on po rozcieńczeniu 0,1 M HCl (pH 1,2) i buforem fosforanowym (pH 6,8) w stosunku 1:100 v/v wynosiła:

Parametr	0,1 M HCl pH 1,2	bufor fosforanowy pH 6,8
wielkość [nm]	31.86 ± 4.14	20.3 ± 0.19
PdI	0.392 ± 0.035	0.09 ± 0.007
potencjał Zeta [mV]	6.84 ± 1.58	- 2.9 ± 0.54

- 1.9 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-on rozpuszczony został w Omega3₊₆ w stężeniu 30 mg/g. Następnie dodano Tween 80 i Transcutol HP (uzyskując stosunek Omega3₊₆:Tween 80:Transcutol HP 20:60:20 w/w) i dokładnie wymieszano. 100 mg kompozycji wkroplono do 20 ml wody destylowanej (Rys. 4). Całość zmieszano delikatnie na mieszadło magnetycznym przez 30 minut. Wyznaczony czas emulsyfikacji to 30 s. Po rozcieńczeniu wodą destylowaną w stosunku 1:10, 1:100 i 1:1000 v/v uzyskano następujące wartości:

Parametr	1:10	1:100	1:1000
wielkość [nm]	15.28 ± 0.05	15.49 ± 0.06	28.36 ± 0.93
PdI	0.068 ± 0.008	0.069 ± 0.006	0.56 ± 0.037
potencjał Zeta [mV]	- 0.67 ± 0.66	- 9.2 ± 3.26	- 16.13 ± 2.98

Wielkość, PdI i potencjał Zeta L_F-SNEDDS zawierających 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-on po rozcieńczeniu 0,1 M HCl (pH 1,2) i buforem fosforanowym (pH 6,8) w stosunku 1:100 v/v wynosiła:

Parametr	0,1 M HCl pH 1,2	bufor fosforanowy pH 6,8
wielkość [nm]	17.34 ± 0.12	16.28 ± 0.18
PdI	0.085 ± 0.01	0.08 ± 0.003
potencjał Zeta [mV]	-2.48 ± 5.42	-3.27 ± 0.33

- 1.10 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-on rozpuszczony został w Omega3₊₆ w stężeniu 30 mg/g. Następnie dodano Tween 80 i Transcutol HP (uzyskując stosunek Omega3₊₆:Tween 80:Transcutol HP 30:50:20 w/w) i dokładnie wymieszano. 100 mg kompozycji wkroplono do 20 ml wody destylowanej. Całość zmieszano delikatnie na mieszadło magnetycznym przez 30 minut. Wyznaczony czas emulsyfikacji to 30 s. Po rozcieńczeniu wodą destylowaną w stosunku 1:10, 1:100 i 1:1000 v/v uzyskano następujące wartości:

Parametr	1:10	1:100	1:1000
wielkość [nm]	22.11 ± 0.213	21.44 ± 0.28	24.42 ± 0.17
PdI	0.175 ± 0.031	0.12 ± 0.013	0.124 ± 0.004
potencjał Zeta [mV]	- 5.32 ± 0.93	- 15.9 ± 9.05	- 10.73 ± 4.6

Wielkość, PdI i potencjał Zeta L_F-SNEDDS zawierających 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2H)-on po rozcieńczeniu 0,1 M HCl (pH 1,2) i buforem fosforanowym (pH 6,8) w stosunku 1:100 v/v wynosiła:

Parametr	0,1 M HCl pH 1,2	bufor fosforanowy pH 6,8
wielkość [nm]	24.89 ± 0.41	23.84 ± 0.91
PdI	0.09 ± 0.005	0.117 ± 0.002
potencjał Zeta [mV]	0.98 ± 3.95	- 5.07 ± 1.23

Przykład 2. Przygotowanie stałych form SNEDDS zawierających 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2H)-on.

- 2.1** Wodny roztwór żelatyny (17% w/w, 56–58°C) mieszano z SNEDDS zawierającym kompozycję ujawnioną w przykładzie 1.9 w stosunku 7:1 w/w. Całość mieszano przez około 20 minut w temperaturze pokojowej. Następnie wkraplano do zimnego Mioglyol 812 N i delikatnie mieszano. Utworzone stałe SNEDDS pozostawiono następnie na 2 godziny w temperaturze 4°C, po czym przesączono, osuszono i pozostawiono do wyschnięcia przez 48 godzin w temperaturze pokojowej (Rys. 5 i 6).
- 2.2** Wodny roztwór żelatyny (17% w/w, 56–58°C), zawierający rozpuszczony uprzednio w nim 0,1% w/v HPMC mieszano z SNEDDS zawierającym kompozycję ujawnioną w przykładzie 1.9 w stosunku 7:1 w/w. Całość mieszano przez około 20 minut w temperaturze pokojowej. Następnie wkraplano do zimnego Mioglyol 812 N i delikatnie mieszano. Utworzone S-SNEDDS pozostawiono następnie na 2 godziny w temperaturze 4°C, po czym przesączono, osuszono i pozostawiono do wyschnięcia przez 48 godzin w temperaturze pokojowej.

Przykład 3. Wydajność zamykania 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2H)-onu w stałych formach SNEDDS.

Odpowiednią ilość mg stałej formy SNEDDS zawierającym kompozycję ujawnioną w przykładzie 1.9 zalano 5 ml buforu fosforanowego o pH 6,8 i mieszano do całkowitego rozpuszczenia. Całość następnie zwirowano. Zawartość 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2H)-onu oznaczono przy użyciu HPLC z zastosowaniem fazy ruchomej metanol:*n*-propanol (80:20 v/v) i prędkości przepływu 1 ml/min. Wydajność zamykania obliczono według wzoru:

$$\text{Wydajność zamykania [\%]} = (\text{Oznaczona zawartość} / \text{Teoretyczna zawartość}) \times 100$$

i podano w przeliczeniu na suchą masę.

Forma stała, uzyskana według sposobu ujawnionego w Przykładzie 2.1 odznacza się 73,57% wydajnością zamykania, natomiast według Przykładu 2.2 – 77,28%.

P r z y k ł a d 4. Badanie uwalniania 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2H)-onu ze stałych form SNEDDS.

Odpowiednią ilość stałej formy SNEDDS zawierającą kompozycję ujawnioną w przykładzie 1.9 umieszczono w 40 ml 0,1 M HCl (pH 1,2) lub w buforze fosforanowym (pH 6,8) i delikatnie mieszano w 37°C. W określonych odstępach czasowych pobierano odpowiednią ilość roztworu i dokonywano w nim oznaczenia ilości uwolnionego 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2H)-onu (uzupełniano taką samą objętością).

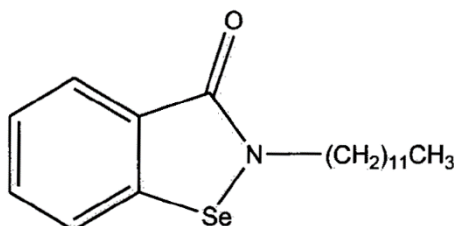
Wykazano, że warunkach testu do medium inkubacyjnego o pH 1,2 przedostaje się niewielka frakcja związku. W pH 6,8 natomiast następuje stopniowe, zależne od czasu zwalnianie 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2H)-onu (Rys. 7). Procesowi temu towarzyszy dezintegracja nośnika.

Zastrzeżenia patentowe

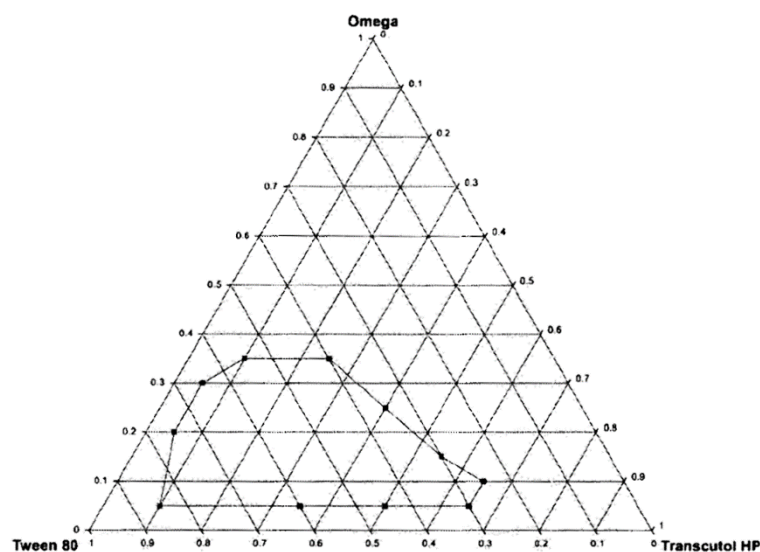
1. Formułacje doustne przeznaczone do uwalniania w okrężnicy, zawierające 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2H)-on, **znamiennie tym**, że samoemulsyfikujące się formułacje 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2H)-onu zawierają w swoim składzie fazę olejową stanowiącą 5–35% w/w kompozycji, Tween 80 stanowiący 25–85% w/w kompozycji i Transcutol HP stanowiący 5–65% w/w kompozycji, faza olejowa składa się ze 100% estrów etylowych kwasów tłuszczowych o wysokiej zawartości niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych Omega 3 i Omega 6, przy czym formułacje te, po spontanicznym rozcieńczeniu, poprzez dodanie 100 mg kompozycji do 20 ml wody destylowanej tworzą struktury o wielkości < 50 nm, a po dodaniu do roztworu polimerów naturalnych (np. żelatyny, pektyny lub alginianu) otrzymujemy formę stałą.
2. Formułacje doustne przeznaczone do uwalniania w okrężnicy, zawierające 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2H)-on według zastrzeżenia 1, **znamiennie tym**, że samoemulsyfikujące się formułacje 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2H)-onu po zmieszaniu w stosunku 7:1 w/w z wodnym roztworem żelatyny o stężeniu 17% w/w, ogrzanym do temp. 56–58°C, wkropleniu do oleju o temp. 4°C, pozostawieniu przez 2 godziny w temperaturze 4°C, przesączeniu, osuszeniu i wyschnięciu przez 48 godzin w temperaturze pokojowej, przekształcone zostaną w formy stałe.
3. Formułacje doustne przeznaczone do uwalniania w okrężnicy, zawierające 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2H)-on według zastrzeżenia 1, **znamiennie tym**, że samoemulsyfikujące się formułacje 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2/7)-onu po zmieszaniu w stosunku 7:1 w/w z wodnym roztworem żelatyny o stężeniu 17% w/w, zawierającym 0,05–0,1% hydroksypropylometylocelulozy (HPMC), ogrzanym do temp. 56–58°C, wkropleniu do oleju o temp. 4°C, pozostawieniu przez 2 godziny w temperaturze 4°C, przesączeniu, osuszeniu i wyschnięciu przez 48 godzin w temperaturze pokojowej, przekształcone zostaną w formy stałe ze zmodyfikowanym wnętrzem.
4. Formułacje doustne przeznaczone do uwalniania w okrężnicy, zawierające 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2H)-on według zastrzeżenia 1, **znamiennie tym**, że samoemulsyfikujące się formułacje 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2H)-onu po zmieszaniu z wodną zawiesiną alginianu w stosunku 1:3, 1:4 lub 1:5 w/w, otrzymując 2 lub 3% w/w alginian, wkroplone zostaną do 100 ml 3 lub 5% w/v CaCl₂ i delikatnie wymieszane w temperaturze pokojowej, pozostawione w roztworze CaCl₂ przez godzinę, oddzielone od roztworu na drodze filtracji, przemyte wodą destylowaną i pozostawione do wyschnięcia w temperaturze pokojowej przez okres 24 godzin przekształcone zostaną w formy stałe.
5. Formułacje doustne przeznaczone do uwalniania w okrężnicy, zawierające 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2H)-on według zastrzeżenia 1, **znamiennie tym**, że samoemulsyfikujące się formułacje 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2H)-onu po zmieszaniu z wodną zawiesiną alginianu w stosunku 1:3, 1:4 lub 1:5 w/w, otrzymując 2 lub 3% w/w alginian, wkroplone zostaną do 100 ml 3 lub 5% w/v CaCl₂ zawierającego 0,08 lub 0,1% w/v HPMC i delikatnie wymieszane w temperaturze pokojowej, pozostawione w roztworze CaCl₂ przez godzinę, oddzielone od roztworu na drodze filtracji, przemyte wodą destylowaną i pozostawione do wyschnięcia w temperaturze pokojowej przez okres 24 godzin przekształcone zostaną w formy stałe ze zmodyfikowaną powierzchnią.

6. Formulacje doustne przeznaczone do uwalniania w okrężnicy, zawierające 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-on według zastrzeżenia 1, **znamiennie tym**, że samoemulsyfikujące się formulacje 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-onu po zmieszaniu z wodną zawiesiną pektyny w stosunku 1:3, 1:4 lub 1:5 w/w, otrzymując 3 lub 4% w/w, wkroplone zostaną do 100 ml 3 lub 5% w/v CaCl₂ i delikatnie wymieszane w temperaturze pokojowej, pozostawione w roztworze CaCl₂ przez godzinę, oddzielone od roztworu na drodze filtracji, przemyte wodą destylowaną i pozostawione do wyschnięcia w temperaturze pokojowej przez okres 24 godzin przekształcone zostaną w formy stałe.
7. Formulacje doustne przeznaczone do uwalniania w okrężnicy, zawierające 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-on według zastrzeżenia 1, **znamiennie tym**, że samoemulsyfikujące się formulacje 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-onu po zmieszaniu z wodną zawiesiną pektyny w stosunku 1:3, 1:4 lub 1:5 w/w, otrzymując 3 lub 4% w/w, wkroplone zostaną do 100 ml 3 lub 5% w/v CaCl₂ zawierającego 0,08 lub 0,1% w/v HPMC i delikatnie wymieszane w temperaturze pokojowej, pozostawione w roztworze CaCl₂ przez godzinę, oddzielone od roztworu na drodze filtracji, przemyte wodą destylowaną i pozostawione do wyschnięcia w temperaturze pokojowej przez okres 24 godzin przekształcone zostaną w formy stałe ze zmodyfikowaną powierzchnią.

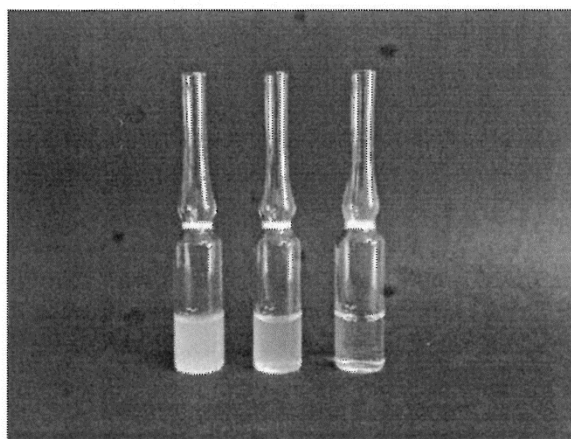
Rysunki



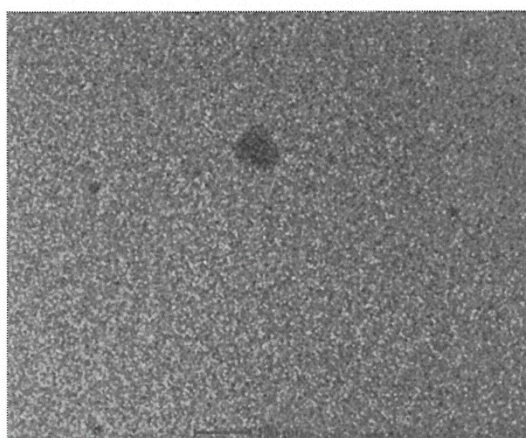
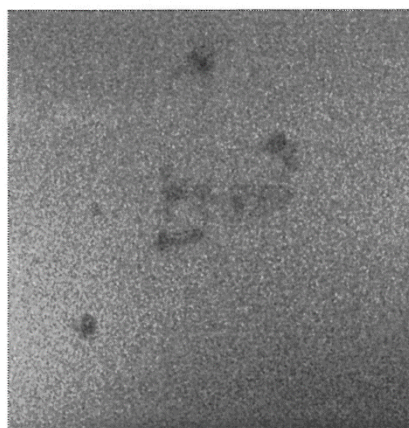
Rys. 1. Wzór chemiczny 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-onu.



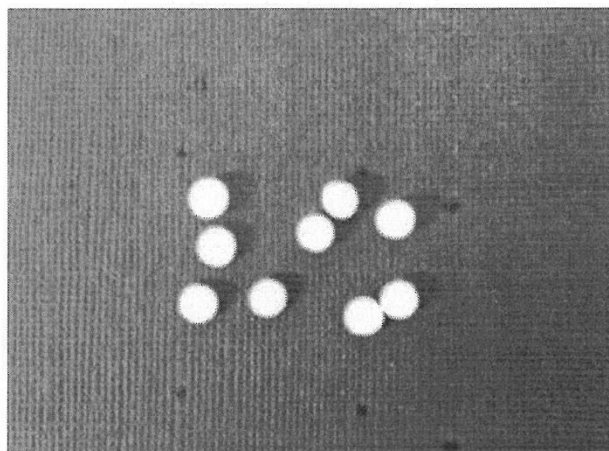
Rys. 2. Diagram fazowy Gibbsa (Omega3+6, Tween 80, Transcutol HP). W zaznaczonym na niebiesko obszarze kompozycje, po spontanicznym rozcieńczeniu (dodanie 100 mg kompozycji do 20 ml wody destylowanej) tworzą struktury o wielkości < 50 nm.



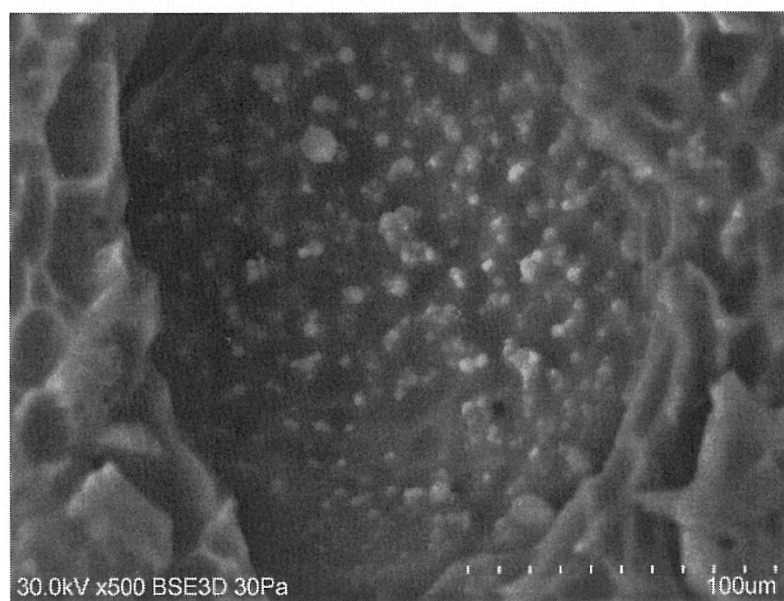
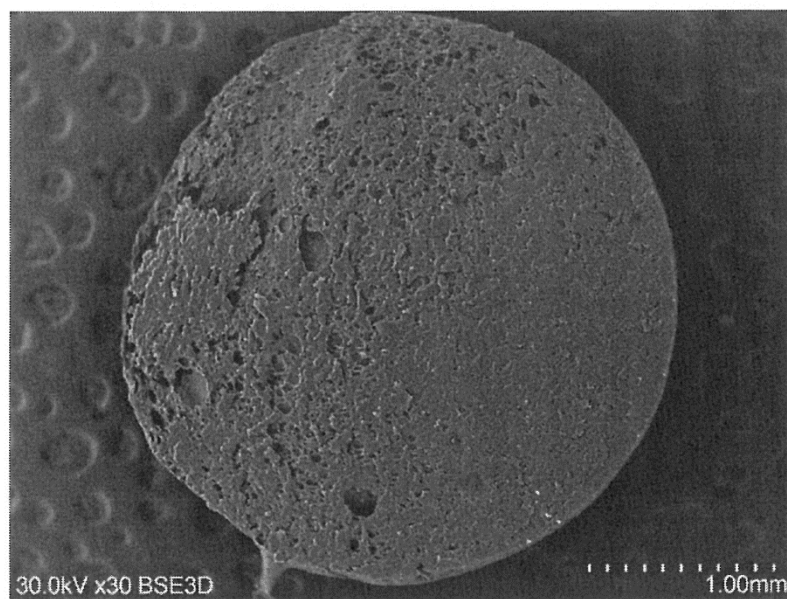
Rys. 3. Emulsje zawierające Omega3+6, Tween 80 i Transcutol HP o wielkości 18,5 nm (pierwsza z prawej), 325,9 nm (środkowa) i 1000,9 nm (pierwsza z lewej).



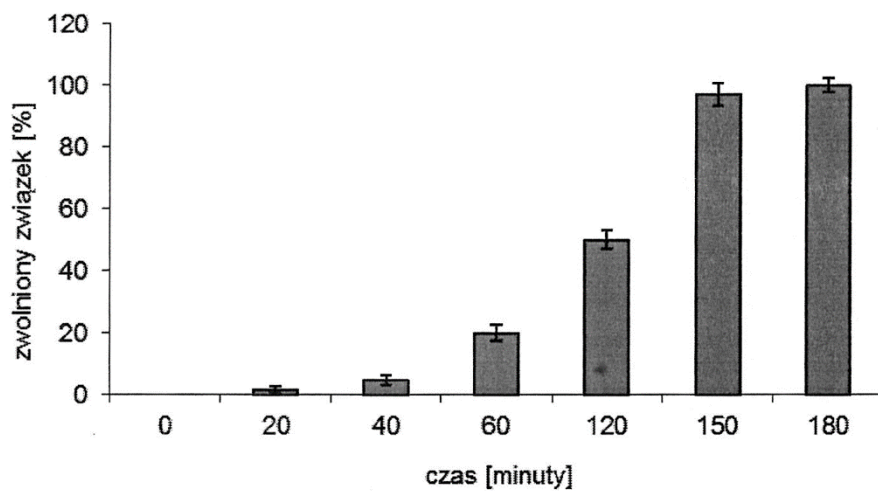
Rys. 4. SNEDDS zawierająca 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2*H*)-on według kompozycji ujawnionej w przykładzie 1.9 po rozcieńczeniu wodą (obrazowanie przy użyciu techniki TEM).



Rys. 5. Stała, żelatynowa forma SNEDDS zawierająca kompozycję ujawnioną w przykładzie 1.9.



Rys. 6. Stała, żelatynowa forma forma SNEDDS zawierająca kompozycję ujawnioną w przykładzie 1.9 (obrazowanie przy użyciu techniki SEM).



Rys. 7. Zwalnianie 2-dodecylobenzizoselenazol-3(2H)-onu z żelatynowej formy w funkcji czasu podczas inkubacji w buforze fosforanowym o pH 6,8.