

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
MEDICINOS AKADEMIJA

Edita Kizevičienė

**ALKILAKRILO KROSPOLIMERŲ
IR LIPOFILINĖS FAZĖS ĮTAKOS
DVINARIŲ IR DAUGIANARIŲ
EMULSINIŲ SISTEMŲ KOKYBEI
TYRIMAS**

Daktaro disertacija
Biomedicinos mokslai,
Farmacija (08B)

Kaunas, 2017

Disertacija rengta 2012–2017 metais Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos akademijos Farmacijos fakulteto Vaistų technologijos ir socialinės farmacijos katedroje

Mokslinis vadovas

Prof. dr. Rimantas Pečiūra (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Medicinos akademija, biomedicinos mokslai, farmacija – 08B)

Disertacija ginama Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos akademijos Farmacijos mokslo krypties taryboje:

Pirmininkas

Prof. habil. dr. Arūnas Savickas (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Medicinos akademija, biomedicinos mokslai, farmacija – 08B)

Nariai:

Prof. dr. Kristina Ramanauskienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Medicinos akademija, biomedicinos mokslai, farmacija – 08B)

Doc. dr. Aušra Mongirdienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Medicinos akademija, biomedicinos mokslai, medicina – 06B)

Prof. dr. Daiva Leskauskaitė (Kauno technologijos universitetas, technologijos mokslai, chemijos inžinierija – 05T)

Prof. dr. Lilian Azzopardi (Maltos universitetas (Malta), biomedicinos mokslai, farmacija – 08B)

Disertacija bus ginama viešame Farmacijos mokslo srities tarybos posėdyje 2017 m. rugpjūčio 29 d. 10 val. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto „Santakos“ slėnio Naujausių farmacijos ir sveikatos technologijų centro 204 auditorijoje.

Adresas: Sukilėlių pr. 13, LT-50162 Kaunas, Lietuva.

LITHUANIAN UNIVERSITY OF HEALTH SCIENCES
MEDICAL ACADEMY

Edita Kizevičienė

**THE RESEARCH OF THE INFLUENCE
OF ALKYL ACRYLATE CROSSPOLYMERS
AND LIPOPHILIC PHASE ON THE
QUALITY OF BINARY AND
MULTIPLE EMULSIONS**

Doctoral dissertation
Biomedical Sciences,
Pharmacy (08B)

Kaunas, 2017

Dissertation has been prepared at the Department of Pharmaceutical Technology and Social Pharmacy of Medical Academy of Lithuanian University of Health Sciences during the period 2012–2017.

Scientific Supervisor:

Prof. dr. Rimantas Pečiūra (Lithuania University of Health Sciences, Biomedical Sciences, Pharmacy – 08B)

Dissertation is defended at the Pharmacy Research Council of Medical Academy of Lithuanian University of Health Sciences

Chairperson

Prof. dr. habil. Arūnas Savickas (Lithuanian University of Health Sciences, Medical Academy, Biomedical Sciences, Pharmacy – 08B)

Members

Prof. dr. Kristina Ramanauskienė (Lithuanian University of Health Sciences, Medical Academy, Biomedical Sciences, Pharmacy – 08B)

Assoc. Prof. dr. Aušra Mongirdienė (Lithuanian University of Health Sciences, Medical Academy, Biomedical Sciences, Medicine – 06B)

Prof. dr. Leskauskaitė Daiva (Kaunas University of Technology, Technological Sciences, Chemical Engineering – 05T)

Prof. dr. Lilian Azzopardi (University of Malta (Malta), Biomedical Sciences, Pharmacy – 08B)

Dissertation will be defended at the open session of the Pharmacy Research Council of Lithuanian University of Health Sciences at 10 a.m. on 29th of August, 2017 in 204 auditorium of “Santaka” Valley Center for the Advanced Pharmaceutical and Health Technologies.

Address: Sukilėlių 13, LT-50162 Kaunas, Lithuania.

TURINYS

SANTRUMPOS	7
ĮVADAS	8
1. MOKSLINĖS LITERATŪROS APŽVALGA	12
1.1. Pusiau kietos farmacinės formos nešiklio pasirinkimas.....	12
1.2. Emulsinių sistemų klasifikavimas, jų stabilumą sąlygojantys veiksniai	13
1.3. Lipofilinės fazės parinkimas dvinarių ir daugianarių emulsijų gamyboje	14
1.4. <i>PemulenTM</i> tipo polimerinių emulsiklių savybės, jų vertinimas bei panaudojimas kuriant naujas emulsines sistemas	16
1.4.1. <i>PemulenTM</i> tipo emulsiklių fizikinės ir cheminės savybės	16
1.4.2. <i>PemulenTM</i> polimerinių emulsiklių fizikinių ir cheminių savybių mokslinis vertinimas	18
2. MEDŽIAGOS IR TAIKYTI TYRIMO METODAI	22
2.1. Tyrimo objektai	22
2.2. Medžiagos, aparatūra ir įrengimai	22
2.3. Tyrimo loginis modelis.....	23
2.4. Pusiau kieto emulsinio nešiklio gamyba.....	24
2.5. Taikyti tyrimo metodai ir metodika	25
2.5.1. Terpės rūgštingumo rodiklių nustatymas.....	25
2.5.2. Tiriamų pavyzdžių klampos nustatymas.....	25
2.5.3. Emulsinių sistemų mikrostruktūros tyrimas	26
2.5.4. Centrifugavimo testas	26
2.5.5. Išsiskyrimo apimtys matavimas.....	26
2.5.6. Emulsijos tipo patvirtinimas	27
2.5.7. Tankio matavimas.....	27
2.5.8. Paviršiaus įtempimo matavimas	27
2.5.9. Tarpfazinio paviršiaus įtempimo matavimas	27
2.5.10. Tekstūros analizė	28
2.5.11. Pusiau kietos farmacinės formos emulsinių nešiklių (a/v, v/a/v) biomedicininis vertinimas.....	28
2.5.11.1. Odos riebumo, keratino kiekio nustatymas.....	30
2.5.11.2. Odos drėgmės kiekio matavimas ir vertinimas	31
2.5.11.3. Transepiderminio vandens netekties (TEVN) matavimas ir vertinimas	32
2.5.12. Reologinių savybių tyrimas	32
2.5.13. Puskiečių emulsinių sistemų stabilumo tyrimas.....	32
2.5.14. Eksperimento planavimas ir statistinė analizė	33
2.5.15. Mikrobiologinis tyrimas.....	34
2.5.16. Statistinis duomenų vertinimas	35

3. REZULTATAI IR DISKUSIJA.....	36
3.1. Alkilakrilo polimerinių emulsiklių PTR1, PTR2 ir PTR1/PTR2 mišinio įtaka a/v emulsinių sistemų stabilumui	36
3.1.1. Polimerinių emulsiklių <i>PemulenTM</i> TR1 NF, <i>PemulenTM</i> TR2 NF ir jų derinių efektyvi mažiausia koncentracija sudarant stabilias a/v sistemas, kai lipofilinė fazė sudaro 10 proc., 25 proc., 50 proc.	36
3.1.2. Emulsinių lašelių augimo dinamikos vertinimas	36
3.1.3. PTR1, PTR2 ir (PTR1+PTR2) v/v dispersijos paviršiaus įtempimo, tarpfazinio paviršiaus įtempimo – lipofilinė fazė/išgrynintas vanduo; lipofilinė fazė/PTR1, PTR2 ir/ar (PTR1+PTR2) v/v dispersijos riboje vertinimas.....	39
3.2. Lipofilinės fazės įtaka a/v emulsijų, gaminamų su <i>PemulenTM</i> tipo polimeriniais emulsikliais, stabilumui	43
3.3. V/A/V emulsijų su alkilakrilo krospolimerų PTR1/PTR2 mišiniu modeliavimas ir stabilumo vertinimas	47
3.3.1. Pirmos grupės emulsinių sistemų (v/a, v/a/v) sudėties parinkimas.....	47
3.3.2. Pirmos grupės tiriamų emulsinių sistemų v/a, v/a/v stabilumo vertinimas	48
3.4. Antros tiriamų emulsinių sistemų grupės stabilumo vertinimas	50
3.5. Antros tiriamų emulsinių sistemų grupės stabilumo tyrimas, panaudojus konservantus	55
3.6. Pusiau kietos farmacinės formos stabilių a/v, v/a/v emulsinių sistemų įtakos odos drėgmės pokyčiui vertinimas	57
3.6.1. Pusiau kietos farmacinės formos emulsinių nešiklių įtakos trumpalaikiui odos drėkinimui vertinimas	57
3.6.2. Pusiau kietos farmacinės formos emulsinių nešiklių poveikio ilgalaikiui odos drėkinimui nustatymas	63
IŠVADOS	68
BIBLIOGRAFIJOS SĄRAŠAS	69
DISERTACIJOS TEMA PASKELBTŲ PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS	80
SUMMARY.....	93
PRIEDAI	116
CURRICULUM VITAE.....	120
PADĖKA	121

SANTRUMPOS

IUPAC	–	Tarptautinė grynosios ir taikomosios chemijos sąjunga
PTRI, PTR2	–	akrilinės r. (akrilatai/ C ₁₀ –C ₃₀) alkil akrilatai)
		krospolimerai: <i>Pemulen</i> TM TR1 NF, <i>Pemulen</i> TM TR2 NF
a/v	–	Aliejus-vanduo
v/a	–	Vanduo-aliejus
v/a/v	–	Vanduo-aliejus-vanduo
pH	–	vandenilio jonų (H ⁺) koncentracijos tirpale matas
pK _a	–	Rūgšties disociacijos konstantos neigiamas logaritmas
PAM	–	paviršinio aktyvumo medžiagos
SC	–	lot. <i>Stratum corneum</i> – raginis sluoksnis
Log P	–	n-oktanolio/vandens pasiskirstymo koeficientas
HLB	–	Hidrofilinis-lipofilinis balansas
TEVN	–	Transepiderminio vandens netektis
CI	–	Emulsijos išsisluoksniavimo indeksas
VELD	–	Vidutinis emulsinių lašelių dydis (diametras, μm)
UV	–	Ultravioletiniai spinduliai

IVADAS

Polimeriniai emulsikliai dažnai naudojami pusiau kietuose vaistiniuose preparatuose, kosmetiniuose gaminiuose, dėl jiems būdingos galios keisti reologines savybes, mikrostruktūrą, tepumą, plevelės susidarymo savybes, aktyvių ingredientų bioprieinamumą ir tekstūrą [1–4]. Dėl molekulių dydžio polimeriniai emulsikliai nepraeina pro odos barjerą, sustiprina kitų nešiklyje esančių medžiagų skverbimą [5], o dėl emulsifikuojančių ir klampą didinančių savybių polimerinių emulsiklių taikymas sumažina naudojamų mažos molekulinės masės emulsiklių koncentraciją, išsaugant nešiklio stabilumą, reologines savybes [6]. Polimerų mokslo progresas leidžia kurti naujas vaistus pernešančias sistemas [3, 7]. Naujausios sudėties emulsinės sistemos, kurios vadinamos emulsijos be emulsiklio (angl. *emulsifier free*), yra sudaromos panaudojant polimerines medžiagas ir galėtų būtų taikomos ektemporalių vaistų gamyboje visuomenės gamybinėse vaistinėse. Tokios emulsijos savo sudėtyje neturi paviršiui aktyvių medžiagų arba emulsiklių kiekis jų sudėtyje yra labai mažas, todėl jos puikiai suderinamos su odos funkcijomis [3]. Modernias emulsijas įgalina sukurti *PemulenTM* tipo polimerinių emulsiklių naudojimas [8].

Tobulinant farmacinių paslaugų kokybę, tenkinant specifinius pacientų poreikius, visuomenės vaistinėse gyventojams gaminami vaistai pagal individualiai išrašytus gydytojo receptus [9]. Atlikto sociologinio tyrimo duomenimis, didelę dalį gaminamų ektemporalių vaistų sudaro pusiau kietos vaistų formos – tepalai, linimentai, kremai ir geliai. Tepalai gaminami visose visuomenės gamybinėse vaistinėse, kremai, geliai bei linimentai – daugumoje vaistinių. Iš visų minėtų pusiau kietų vaistų formų vyraujanti yra tepalų forma [10]. Pusiau kietų vaistų formų gamybos paplitimas paaiškinamas tuo, kad šios formos yra greitai pagaminamos, jų naudojimas yra paprastas, o sudėtinės medžiagos geba veikliuosius ingredientus paskirstyti į reikiamą odos sritį [10–13]. Pusiau kietose vaistų formose galima derinti skirtingos cheminės prigimties, agregatinės būsenos, įvairios paskirties ir biologinio aktyvumo komponentus, nes klampioje aplinkoje fizikiniai ir cheminiai procesai vyksta lėtai [10, 14, 15]. Lietuvos vaistinėse dažniau gaminami tepalai ir kremai yra vartojami odos problemoms spręsti (60 proc. vaistinių juos gamina kasdien, 28,6 proc. – kartą per savaitę), visiems kitiems sveikatos sutrikimams šalinti, tarp jų viršutinių kvėpavimo takų ligoms bei reumatiniams sutrikimams gydyti (20 proc. vaistinių juos gamina kasdien, 25,9 proc. – kartą per savaitę) [10]. Pastaruoju laikotarpiu vis didesnio susidomėjimo ir platesnio panaudojimo sulaukia naujos pusiau kietos vaistų formos, tokios kaip daugianarės emulsinės sistemos (v/a/v, a/v/a ir kt.), emulgeliai, hidrogeliai, oleogeliai ir kt., nes turi geresnes

tepamąsias savybes, greičiau atpalaiduoja vaistą ir efektyviau vyksta vaistų pasiskirstymas odos sluoksniuose nei iš tradicinių pusiau kietų vaistų formų (tepalų) [4, 10, 12, 14, 16–18]. Todėl tikslinga sukurti pusiau kietą emulsinį pagrindą – nešiklį, kuris būtų greitai ir lengvai pagaminamas vaistinės sąlygomis, lengvai užtepamas ir nuvalomas, netoksiškas, nedirgintų odos, būtų chemiškai stabilus, homogeniškas, bakteriostatiškas, kosmetiškai patrauklus, farmakologiškai inertiškas, greitai atpalaiduotų vaistinę medžiagą, efektyviai drėkintų odą, nepažeistų odos barjerinių funkcijų [17, 19–21].

Viena iš svarbiausių pusiau kieto preparato nešiklio funkcijų – apsauginė [22–28], o aktyvių ingredientų skvarbą į odą gali pagerinti odos hidratacija [15, 29], todėl naudojamos tokios pagalbinės medžiagos kaip etanolis, propilenglikolis, glicerolis ir kt., kurios keičia raginio sluoksnio struktūrą, didina medžiagų skvarbą [15, 30–32]. Be to, aliejai, įeinantys į pusiau kietų vaistų formų – kremų sudėtį, dažniausiai tarnauja, kaip nešikliai – veikliosios medžiagos skverbties per odą stiprikliai [10, 33, 34], kurie taip pat padidina vaistų pralaidumą odoje [10, 33]. Populiariausias iš augalinės kilmės aliejų, naudojamų pusiau kietų vaistų formų gamyboje Lietuvos vaistinėse, – alyvuogių aliejus, mokslinėje literatūroje laikomas veiksmingu skverbties per odą stiprikliu, apsaugančiu nuo UVB sukeltos karcinogenezės [10, 34, 35].

Modeliuojant pusiau kietus vaistų nešiklius, svarbu įvertinti struktūros stabilumą, vidinių ryšių patvarumą, kurie lemia sukurtos sistemos kokybę po pagaminimo ir laikymo metu. Struktūrų stabilumui vertinti pasirinkome centrifūgavimo, mikrostruktūros vaizdo analizės, emulsinių lašelių dydžio vertinimą taikant skirtingą temperatūros režimą, konduktometrinius matavimus, reologinį vertinimą, terpės rūgštingumo nustatymą, mikrobiologinius tyrimo metodus, parodančius sistemų vidinių ryšių patvarumą bei leidžiančius nustatyti pokyčius sistemoje nesant matomų nestabilumo požymių. Biomedicininiais tyrimais vertinome formuluočių poveikį odos barjerinėms funkcijoms, jų drėkinamąjį poveikį, kuris būtinas siekiant pagerinti odos būklę bei palaikyti absorbciją.

Disertacinio darbo tikslas:

Ištirti alkilakrilo krospolimerų, lipofilinės fazės bei pagalbinių medžiagų pritaikymo galimybes modeliuojant saugius, fiziologiškai efektyvius pusiau kietos vaistų formos emulsinius pagrindus.

Uždaviniai:

1. Įvertinti skirtingos aliejaus kilmės ir emulsijos fazių tūrio santykio, temperatūros, pH reikšmės ir emulsinių lašelių dydžio pokyčio įtaką sedimentaciniam ir agregaciniam emulsijų stabilumui.
2. Ištirti polimerinių emulsiklių *PemulenTM* TR1 NF, *PemulenTM* TR2 NF mišinių panaudojimo tikslingumą formuojant stabilias a/v ir v/a/v tipo emulsijas.
3. Ištirti konservantų, didinančių sistemų atsparumą gramteigiamoms ir gramneigiamoms bakterijoms, grybeliams ir pelėsiams, įtaką pagamintų naujų emulsinių sistemų stabilumui.
4. Įvertinti stabilų pusiau kietų emulsinių sistemų poveikį odos drėgmei ir transepiderminio vandens netekimui.

Siekiamos patvirtinti įžvalgos:

1. Polimerinių emulsiklių *PemulenTM* TR1 NF, *PemulenTM* TR2 NF mišiniai veikia sinergiškai stabilizuojant emulsines sistemas.
2. Panaudojant *PemulenTM* tipo polimerinius emulsiklius galima gaminti stabilias a/v, v/a/v emulsijas su skirtinga lipofiline faze, papildomai nenaudojant paviršiui aktyvių medžiagų.

Mokslinio darbo naujumas:

1. Ištirtos ir palygintos polimerinių emulsiklių mišinio emulguojančios savybės ir galimybės juos panaudoti gaminant naujas dvinares ir daugianares emulsines sistemas.
2. Pastebėta ir patvirtinta polimerinių emulsiklių mišinių sinergija gaminant naujo tipo emulsines sistemas.
3. Patvirtintas sukurtų emulsinių sistemų cheminis suderinamumas su saugiais, plataus veikimo spektro konservantais, kurie leidžia pailginti vartojimo laiką.
4. Ištirta ir įvertinta naujos sudėties a/v ir v/a/v emulsinių sistemų įtaka odos drėgmei, transepiderminio vandens netekimui.

Praktinė ir teorinė reikšmė

Pagamintos stabilios pusiau kietos emulsinės sistemos su alyvuogių, ricinų, saulėgrąžų aliejais ir skystuoju parafinu gali būti pritaikomos ektemporalių (kartinių ir aprašinių) bei pramoninių pusiau kietų vaistų formų, gydomosios kosmetikos gaminių gamyboje, papildomai nenaudojant paviršiui aktyvių medžiagų. Dėl pasirinktos sudėties sumodeliuoti pusiau kieti pagrindai pasižymi odos barjerines funkcijas gerinančiomis savybėmis, gali būti naudojami kasdienės odos priežiūrai, įvairių odos būklių profilaktikai ir korekcijai. Parinkti tinkami konservantai pailgina emulsinių

sistemų vartojimo laiką, išplečia naudojimo galimybes. Pusiaus kietas emulsinis nešiklis su alyvuogių aliejumi, pagamintas LSMU vaistinėje, siūlomas vaistinės klientams, turintiems odos funkcinių problemų (sausas oda ir su tuo susiję sudirginimo, skilinėjimo ar bėrimo simptomai) ir besikreipiantiems savigydos klausimais.

Darbo rezultatų aprobavimas

Darbo rezultatai pristatyti dviejose mokslinėse konferencijose: remiantis tyrimo tematika paskelbti du moksliniai straipsniai, iš kurių vienas išspausdintas leidiniuose, įtrauktuose į Mokslinės informacijos instituto duomenų bazę.

Darbo apimtis ir struktūra

Daktaro disertaciją sudaro įvadas, literatūros apžvalga, tyrimų objektas ir metodai, tyrimų rezultatai ir jų aptarimas, disertacijos tema paskelbti straipsniai, išvados, bibliografijos sąrašas (184 literatūros šaltiniai), 24 lentelės, 18 paveikslų, disertacijos tema paskelbtų straipsnių bei konferencijų, kuriose buvo paskelbti disertacijos tyrimų rezultatai, sąrašas. Gyvenimo, mokslinės ir kūrybinės veiklos aprašymas – curriculum vitae.

Tyrimų objektas

Dvinarės ir daugianarės vandens ir mineralinių bei augalinių aliejų emulsinės sistemos, alkilakrilato krospolimerai.

Tyrimo metodai

Ekstemporali puskiečių formų emulsinių preparatų gamyba emulgavimo būdu; viskozimetrija; mikroskopija; reologinių parametrų nustatymas, centrifugavimas; paviršiaus įtempimo, tarpfazinio paviršiaus įtempimo matavimai, mikrobiologiniai tyrimo metodai; odos analizė taikant odos analizės programinę įrangą; konduktometrija, terpės rūgštingumo rodiklių nustatymas, statistinė analizė.

1. MOKSLINĖS LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Pusiau kietos farmacinės formos nešiklio pasirinkimas

Mokslinėje literatūroje per odą vartojami preparatai pagal savo veikimo pobūdį skirstomi į dvi kategorijas: vietiskai veikiančius ir transdermalinius vaistinius preparatus ar kosmetikos gaminius. Vietiskai veikiančių preparatų veikliosios medžiagos išlieka odos paviršiuje arba prasiskverbia pro epidermio sluoksnius iki tikrosios odos (dermos), tačiau nevyksta jų absorbcija į kraujo apytaką [36–38]. Tokie preparatai jų nenuplaunant naudojami odai drėkinti (emolientai) arba kaip vaistų nešikliai [36, 39], kurie gali laikytis odos paviršiuje pakankamai ilgą laiką ir būti pailginto veikimo vaistai [12, 39]. Nauji vietiskai veikiantys vaistai kuriami siekiant pakeisti vartojimą per burną, sustiprinti vaisto pasiskirstymą, orientuoti poveikį į odą, mažinti toksinių medžiagų poveikį ir kt. [19, 40–43]. Mokslinėje literatūroje išskiriami tokie vietiskai veikiančių preparatų privalumai: nėra sisteminio šalutinio poveikio ar jis minimalus, vaistai aplenkia kepenų medžiagų apytaką, taip išvengiama veikliosios medžiagos apykaitos prieš pasiekiant tikslą, lengva vartoti, tinka savigydei, nereikalauja sudėtingų procedūrų, be to, odai užimant didelį žmogaus kūno paviršiaus plotą, tai suteikia galimybę vartoti vaistą dideliame plote ar konkrečioje vietoje [32, 44]. Tokie preparatai gali laikytis odos paviršiuje pakankamai ilgą laiką, o tai sumažina vaistų vartojimo dažnumą, tačiau nurodomi ir šie trūkumai: odos dirginimas dėl vaisto ar pagalbinių medžiagų, mažas kai kurių vaistų pereinamumas per odą (šis vaistų pasiskirstymo kelias nėra tinkamas vaistams, turintiems didelę molekulinę masę), galimos alerginės reakcijos [18]. Paskelbtų mokslinių tyrimų duomenimis, pusiau kieto preparato biofarmacinėms savybėms ir farmakoterapiniam veiksmingumui didelę įtaką turi pagrindas (nešiklis) [45–48], kuriame įvedama viena ar daugiau veikliųjų medžiagų. Nustatyta, kad veikliosios medžiagos koncentracija nešiklyje ir pasiskirstymo koeficientas tiesiogiai priklauso nuo nešiklio [10, 49, 50]. Atliktų tyrimų duomenys rodo, kad vaisto nešiklio sudėtis lemia absorbcijos proceso greitį ir apimtį [19, 24, 51, 52]. Kai kuriais atvejais pagrindas gali būti naudojamas atskirai dėl savo minkštinamųjų, drėkinamųjų, raminamųjų bei apsaugančių odą savybių [41]. Mokslinėje literatūroje išskiriami šie idealaus nešiklio kriterijai: nešiklis turi būti lengvai užtepamas ir nuvalomas, netoksiškas, turi nedirginti, turi būti nealergizuojantis, chemiškai stabilus, homogeniškas, bakteriostatiškas, kosmetiškai patrauklus, farmakologiškai inertiškas, turi greitai atpalaiduoti vaistinę medžiagą, kontroliuoti ar palaikyti absorbciją [17, 19–21].

Pastaruoju laikotarpiu vis didesnio mokslininkų susidomėjimo ir platesnio panaudojimo sulaukia tokios pusiau kietos vaistų formos, kaip dvinarės

ir daugianarės emulsinės sistemos (a/v, v/a, v/a/v, a/v/a), emulgeliai, hidrogeliai, oleogeliai ir kt., nes turi geresnes tepamąsias savybes, greičiau atpalaiduoja vaistą ir efektyviau vyksta vaistų įsiskverbimas į odą nei iš tradicinių pusiau kietų vaisių formų [4, 16, 19, 21, 37, 38, 42, 47, 53–58]. Publikuoti mokslinių tyrimų rezultatai rodo, kad emulsinė vaistų nešiklio forma yra patraukli dėl biosuderinamumo, lengvai pagaminama, emulsijos tinka tiek pasyviai, tiek aktyviai vaisto transportui, o emulsijų gamyboje panaudojant polimerinius emulsiklius ilgėja vaisto cirkuliacijos laikas [14, 16, 24, 41, 54, 59–61]. Emulsinė sistema leidžia įvesti tiek vandenyje, tiek riebaluose tirpius ingredientus, tokia farmacinė forma patraukli dėl savo minkštos, švelnios konsistencijos ir elegantiškos išvaizdos [60, 62]. Emulsijos gamyboje panaudojus gelifikuojančią medžiagą, tradicinė emulsija tampa geline emulsija. Vanduo-aliejus ar aliejus-vanduo emulsiją įvedus į gelio terpę, susidaro emulgelis, kuris turi emulsijos ir gelio savybių [63, 64].

1.2. Emulsinių sistemų klasifikavimas, jų stabilumą sąlygojantys veiksniai

Mokslinėje literatūroje emulsijos apibūdinamos kaip laisvo dispersiškumo mikroheterogeninės sistemos, kuriose dispersinė fazė ir dispersinė terpė yra du vienas su kitu nesimaišantys skysčiai, o dispersinės fazės skystis yra disperguotas ir lašelių pavidalu paskirstytas dispersinės terpės skystyje. Emulsijos lašeliai yra didesni negu koloidinės dalelės ir jų dydis svyruoja nuo 0,1 iki 100 μm . Hidrofilinė fazė – dažniausiai vanduo arba su vandeniu susimaišantys skysčiai. Hidrofobinė fazė – mineraliniai, augaliniai aliejai, riebalai arba lipofiliniai tirpikliai. Nuo to, kuri fazė yra disperguota kitoje, priklauso emulsijos tipas [55]. Pastaruoju dešimtmečiu mokslinėje literatūroje ypatingas dėmesys skiriamas daugianarėms emulsijoms, pvz., a/v/a ir v/a/v, kurios vadinamos „emulsijų emulsijos“ [65]. Trinarės v/a/v tipo emulsijos kaip perspektyvios sistemos vaistinių medžiagų pernešimui vis plačiau taikomos kuriant naujus vaistus [20]. Trinarių emulsijų lašeliai gali būti ženkliai didesni (siekia dešimtis mikrometrų) ir gali turėti ne vieną dešimtį lašelių vidinėje fazėje: a/v/a primena v/a emulsijas, tačiau turi keletą a/v savybių, v/a/v yra panašios į a/v, tačiau turi keletą v/a efektų [55]. Trinarės emulsijos labiau nei dvinarės yra nestabilios, kadangi jų lašeliai didesni [66]. Be to, aktyvių medžiagų atsipalaidavimas iš vidinės fazės į išorinę fazę yra labiau nekontroliuojamas. Daugelis studijų atlikta siekiant spręsti šias dvi problemas [66–70]. Polimerinių emulsiklių panaudojimo plėtra įgalino modeliuoti stabilias daugianares emulsijas [1, 55, 65, 71]. Mokslinėje literatūroje skelbiama, kad daugianarės emulsijos (v/a/v; a/v/a) yra idealios sistemos kuriant naujus vaistus ar odos priežiūros priemones dėl

keleto priežaščių [1]: viename nešiklyje gali būti ištirpinti aktyvūs ingredientai trijose skirtingose talpyklose, pavyzdžiui, v/a/v emulsijose galima ištirpinti dvi skirtingas vandenyje tirpias medžiagas (proteinus, fermentus, vitaminus) ir tirpias aliejuje (daugelis vaistų yra mažai tirpūs vandenyje, dažnai jie yra lipofilinės prigimties). Trinarės emulsijos sėkmingai gali būti taikomos ilgalaikiam, nepertraukiamam, kontroliuojamam veikliųjų medžiagų atpalaidavimui [22, 60, 72]. Dominuojančių trinarės emulsijos lašelių tipus mokslininkai Florence ir Witehill suskirstė į tris tipus: A, B ir C. Florence su bendraautoriais gamybai naudojo izopropilmiristatą kaip aliejinę fazę, 5 proc. sorbitano monooleatą (Span 80) ir naudojant skirtingas paviršiui aktyvias medžiagas gavo tris skirtingus trinarių emulsijų tipus. „A“ tipo emulsijos, tai v/a/v emulsijos, kur aliejaus lašeliuose įsiterpęs didelis vienas vandens lašelis. Šį tipą panašiai aprašė mokslininkas Matsumoto [73], Yonezawa ir kt. [1]. „A“ tipo emulsijas pagamino, kai antras emulsiklis buvo naudojamas 2 proc. polioksietilen(4) laurilo eteris (*Brij30*) [1]. „B“ tipo emulsija – kai vidinės fazės lašeliuose integruota keletas dar mažesnių lašelių. Šis tipas buvo gautas naudojant 2 proc. polioksietilen(16,5)-nonifeno eterį (*Triton X-165*) [1]. „C“ tipo emulsijose į vidinės fazės lašelius integruota daug smulkių lašelių, tokios emulsijos buvo gautos gamybai naudojant 3:1 sorbitano monooleatą ir polioksietilen(20)-sorbitano monooleato mišinį [1, 74]. Mokslininkas T.F. Tadros išskyrė pagrindinius kriterijus stabiliai emulsijai pagaminti: du emulsikliai, iš kurių vienas turi didelį hidrofilinio-lipofilinio balanso skaičių (toliau HLB), o kitas – mažą HLB. Pirmasis emulsiklis – turi idealiai sudaryti elastingą plėvelę, kuri mažintų transportą saugant. Pirminė emulsija turi būti labai stabili – koalescencijos galimybė turi būti minimali. Optimalus osmosinis balansas – osmosinis elektrolitų slėgis – išorinėje fazėje turi būti šiek tiek mažesnis nei vidinėje fazėje. Antrasis emulsiklis turi sudaryti efektyvų barjerą, apsaugantį nuo daugianarės emulsijos lašelių flokuliacijos ir koalescencijos [1].

1.3. Lipofilinės fazės parinkimas dvinarių ir daugianarių emulsijų gamyboje

Aliejai, įeinantys į pusiau kietų farmacinių ar kosmetinių formų – kremų sudėtį, dažniausiai tarnauja, kaip nešikliai – veikliosios medžiagos skverbties per odą stiprikliai, užtikrinantys šios medžiagos prasiskverbimą per odą ar gleivinę [10, 33, 34], keičia odos sluoksnio barjero savybes ir tokiu būdu padidina vaistų pralaidumą odoje [10, 33]. Įvairūs natūralūs aliejai išlaiko saugaus vartojimo ant odos savybes, jie naudojami kaip skverbties per odą stiprikliai [10, 75, 76]. Manoma, kad natūralūs aliejai yra metabolizuojami odoje, išsiskiriant sočiosioms ir nesočiosioms riebalų rūgš-

tims, kurios didina medžiagų skverbimą per odą. Šios riebalų rūgštys padidina odos pralaidumą dėl lipidų plastų skystėjimo raginiame sluoksnyje (lot. *stratum corneum*), todėl gali veiksmingai pagerinti transdermalinį vaistų pernešimą [10, 34, 77]. Atliktų tyrimų su alyvuogių aliejumi rezultatai rodo, kad labiausiai skverbimą per odą didina oleino, omega-6 ir kitos nesočiosios riebalų rūgštys [10, 34]. Joe M. Viloen ir kt. tyrė įvairių augalinių aliejų skverbties savybes ir nustatė, kad emulgelis su alyvuogių aliejumi turi reikšmingai stipresnes skvarbą didinančias savybes lyginant su kitų aliejų (skystojo parafino, kokoso aliejaus, vynuogių kauliukų, avokado aliejaus ir kt.) emulgeliais. Alyvuogių aliejuje oleino rūgšties koncentracija gerokai didesnė, o sočiųjų riebalinių rūgščių ir polinesočiųjų riebalinių rūgščių koncentracija mažesnė nei vynuogių kauliukų, avokado aliejaus, kokoso aliejaus koncentracija [34, 78]. Joe M. Viloen ir kt. nustatė, kad emulgeliai, turintys didesnę oleino rūgšties koncentraciją, morfologiškai labiau keičia SC, todėl alyvuogių aliejus yra veiksmingas skverbties per odą stipriklis [34]. Rapsų, saulėgrąžų, žemės riešutų, pistacijų, migdolų ir kituose natūraliuose aliejuose taip pat yra oleino rūgšties, ir šie aliejai galėtų didinti medžiagų skverbimą per odą bei prisidėti prie natūralių augalinių aliejų asortimento plėtros. Taip būtų tobulinamas pusiau kietų vaistų formų kompozicijų panaudojimas, pernešant vaistus po oda. Aliejai kontroliuoja drėgmės iš odos garavimą, gerina pusiau kietos formos juslines savybes. Pasirenkant lipofilinę fazę, atlikta Lietuvoje gaminamų kartinių vaistinių preparatų receptūrų, į kurių sudėtį įeina gyvuliniai riebalai, augaliniai ir sintetiniai aliejai, atranka [10]. Nustatyta, kad Lietuvos vaistinėse pusiau kietoms vaistų formoms gaminti yra vartojamos įvairios lipofilinės medžiagos – augalinės ir gyvulinės kilmės aliejai, riebalai ir vašakai, mineraliniai ir sintetiniai aliejai [10]. Dažnai gamyboje yra vartojami augalinės kilmės aliejai, rečiau – mineralinės kilmės, o sintetiniai aliejai beveik nevartojami. Pusiau kietų vaistų formų gamyboje populiariausias iš augalinės kilmės aliejų yra alyvuogių aliejus, kurį vartoja 88,6 proc. apklaustų vaistinių. Saulėgrąžų aliejų vartoja 80,0 proc., ricinų aliejų – 65,7 proc., migdolų aliejų – 25,9 proc. apklaustų vaistinių [10]. Budiyanto ir kt. nustatė, kad alyvuogių aliejus apsaugo nuo UVB sukeltos karcinogenezės [35].

Apibendrinant publikuotų mokslinių tyrimų duomenis, galima teigti, kad aliejai, įeinantys į pusiau kietų vaistų formų sudėtį, kontroliuoja drėgmės garavimą iš odos, gerina pusiau kietos formos juslines savybes, užtikrina aktyvių ingredientų prasiskverbimą per odą ar gleivinę, keičia odos sluoksnio barjero savybes ir tokiu būdu padidina vaistų pralaidumą odoje [33, 34]. Alyvuogių aliejus mokslinėje literatūroje laikomas veiksmingu skverbties per odą stiprikliu, kuris apsaugo nuo UVB sukeltos karcinoge-

nezės ir yra populiariausias iš augalinės kilmės aliejų, naudojamų pusiau kietų vaistų formų gamyboje Lietuvos vaistinėse [10, 34, 35].

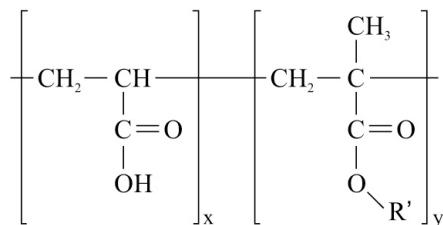
1.4. *Pemulen*TM tipo polimerinių emulsiklių savybės, jų vertinimas bei panaudojimas kuriant naujas emulsines sistemas

1.4.1. *Pemulen*TM tipo emulsiklių fizikinės ir cheminės savybės

Išskirtinę įtaką emulsijos stabilumui, veikliųjų medžiagų išsiskyrimui ir vaistinio preparato poveikiui, šalia kitų veiksnių turi emulsiklis [42, 79]. Nuo XX a. 8-o dešimtmečio pusiau kietuose vaistiniuose preparatuose bei kosmetiniuose gaminiuose vis svarbesniais tampa polimeriniai emulsikliai, kurie turi savybes keisti tokius pagrindinius parametrus kaip reologines savybes, mikrostruktūrą, tepumą, plevelės susidarymo savybes, aktyvių ingredientų bioprieinamumą ir tekstūrą [1, 2, 80]. Dėl didelio molekulių dydžio polimeriniai emulsikliai nepereina per odos barjerą bei sustiprina kitų nešiklyje esančių medžiagų skverbimą [5]. Dėl emulsifikuojančių ir klampą didinančių savybių polimerinių emulsiklių naudojimas mažina mažos molekulinės masės emulsiklių koncentraciją bei išsaugo nešiklio stabilumą ir reologines savybes [6]. Kai į klasikinės emulsijos terpę pridedama gelifikuojančios medžiagos, ji tampa geline emulsija (emulgeliu, geliu, oleogeliu, hidrogeliu) [14, 36, 81]. Tadros moksliniuose darbuose nustatyta, kad stabilias daugianares emulsijas galima kurti naudojant specializuotas paviršiui aktyvias medžiagas ir gelines struktūras emulsijos terpėje, kurios garantuos tinkamas reologines savybes [1]. Minėtu laikotarpiu mokslininkų Lohead ir kt., Hemker ir kt., Bremecker ir kt. [82-84], tyrimų objektu tapo polimeriniai emulsikliai ir jų veikimo mechanizmai. Moksliniuose darbuose plačiai tyrinėjami hidrofiliniai akrilinės r. (akrilatai/C₁₀–C₃₀) alkil akrilatai) krosopolimerai – *Pemulen*TM, kurie naudojami mažais kiekiais [85, 86], beveik nedirgina ir pasižymi paprastu emulsijų gamybos procesu [87, 88], be to, greitai atpalaiduoja aliejaus fazę bei gali kontroliuoti vaistų atpalaidavimą [86, 89]. *Pemulen*TM emulsikliai yra hidrofiliniai akrilinės r. (akrilatai/ C₁₀–C₃₀) alkilakrilatai) krosopolimerai, skersiniais ryšiais susijungę su (*pentaerythritol*) ilgagrاندžiais metilakrilatais, savo struktūroje turintys lipofilinę zoną – metilakrilatą ir hidrofilinę – akrilo rūgštį (1.4.1.1 pav.). Monomero formulė – C₃H₄O₂. Vadovaujantis IUPAC nomenklatūroje vadinama prop-2-enoinė rūgštis. Akrilo rūgštis, 2-propenoinė rūgštis, propenoinė rūgštis, vinilmetano rūgštis, propeno rūgštis, enoatas, poliakrilatas [2, 88]. Tai balti, higroskopiški, silno kvapo milteliai, brinksta vandenyje, sudarydami silpnai rūgštinę (pH 2,5–3,0) terpę (1.4.1.1 lentelė).

1.4.1.1 lentelė. PemulenTM tipo polimerinių emulsiklių (TR1 ir TR2) fizikinės savybės

Fizikinis dydis	Pemulen TM tipo polimerinių emulsiklių fizikinės savybės	
	Pemulen TM TR-1	Pemulen TM TR-2
Molekulinė masė, g/mol	72,06266	72,06266
Monomero formulė	C ₃ H ₄ O ₂	C ₃ H ₄ O ₂
Tūrinis tankis, g/ml	0,19–0,24	0,19–0,24



1.4.1.1 pav. Akrilinės r. (akrilatų/ C₁₀–C₃₀) alkil akrilatų kopolimerų formulė [2]

PemulenTM emulsikliai pasižymi universaliomis emulsinimo savybėmis, dera su daugeliu nejoninių ir silpnai joninių, vandenyje tirpių medžiagų, lengvai brinksta vandenyje, adsorbuojasi ant aliejinės fazės paviršiaus beveik nepriklausomai nuo aliejaus tipo, HLB ar temperatūros. Tai kartu emulsiklis ir tirštinantis agentas [83, 88, 90]. Neutralizavus vandeninę terpę, šie polimerai išbrinksta daugiau nei 1 000 kartų nei jų pradinis dydis ir dešimt kartų daugiau nei jų pradinis diametras. Šių polimerų pKa yra $6 \pm 0,50$. Tarp polimero pagrindinės grandinės jonizuotų, karboksilo grupių neigiamų dalelių veikia elektrostatinės stūmos jėgos, dėl kurių molekulė išsiplečia. Lipofilinė PemulenTM emulsiklių dalis adsorbuojasi aliejus-vanduo paviršiuje, o hidrofilinė dalis brinksta vandenyje ir sudaro gelį aplink aliejaus lašelius tuo sąlygodamas nepaprastą emulsijos stabilumą su daugeliu aliejų [88]. Emulsijos, pagamintos su šiais emulsikliais, išlieka stabilios ilgą laiko tarpą net veikiant 40 °C temperatūrai, taip pat išlieka stabilios užšaldžius ir vėl atšildžius [85, 91–93].

PemulenTM polimeriniai emulsikliai nepalaiko bakterijų ar grybelių dauginimosi, be to, suderinami su daugeliu konservantų. Bakterijos šių emulsiklių nesuardo, o polimeras jų neinhibuoja. *PemulenTM* tipo polimeriniai emulsikliai nesuyra vandens telkiniuose ir neužteršia jų, o iš vandens telkinių gali būti pašalinami su biomase vykstant jų sorbcijai biomasėje. *PemulenTM* polimeriniai *emulsikliai* neturi įtakos ozono sluoksnio plonėjimui ir savo sudėtyje neturi sunkiųjų metalų (arseno, bario, kadmio, chromo, švino, gyvsidabrio, nikelio, sidabro, cinko) [94–96]. Moksliniais eksperimentais pagrįstais duomenimis, šie emulsikliai nepavojingi sveikatai ir yra saugūs vartoti [97]. Polimero milteliams ar dulkėms patekus į akis, gali pasireikšti fizinis, o ne cheminis dirginimas. Akrilatų krosopolimerai gali silpnai dirginti, tačiau nėra jokių įrodymų, kad jie sensibilizuoja. Tyrimai su baltaisiais triušiais parodė, kad *PemulenTM* polimeriniai *emulsikliai* gali dirginti akies audinius, tačiau praplovus akis fiziologiniu tirpalu, pažeidimas sumažėja, o įkvėpus polimero miltelių gali atsirasti kosulys, padidėti gleivių sekrecija ir pasunkėti kvėpavimas. Silpnas odą dirginantis *PemulenTM* tipo polimerinių emulsiklių poveikis pastebėtas, kai emulsiklio mažiausia koncentracija – 0,42 proc.. Taikant specialias tyrimo sąlygas (aukšta temperatūra, pailgintas kontakto laikas ir kt.), nustatyta keletas kontaktinio dermatito atvejų. Dėl šio neigiamo poveikio sveikatai buvo atlikti tyrimai su žmonėmis savanoriais, kurių metu 9 iš 53 tiriamųjų pasireiškė neryškus odos paraudimas, todėl *PemulenTM* tipo polimeriniai emulsikliai buvo priskirti prie labai silpnai odą dirginančių medžiagų. Darbininkams, dirbantiems su *PemulenTM* tipo polimeriniais emulsikliais, nepastebėti jokie chroniški plaučių pakitimai. Šie emulsikliai nėra kancerogeniški [8, 98, 99].

1.4.2. *PemulenTM* polimerinių emulsiklių fizikinių ir cheminių savybių mokslinis vertinimas

Alkilakrilo polimerinių emulsiklių fizikinės ir cheminės savybės mokslininkų išsamiau tyrinėjamos nuo 1997 m. Myriam Brisaert ir kt. tyrė *PemulenTM* tipo emulsiklio PTR1 emulsavimo galią ir nustatė, kad su šiuo emulsikliu lengva stabilų emulsijų gamyba tiek rankiniu, tiek mažo greičio maišytuvu. Emulsijos gamybai buvo pasirinkta aliejinė fazė nuo 5 iki 30 proc. Nustatyta, kad naudojant tokius su vandeniu besimaišančius tirpiklius kaip alkoholis, propilenglikolis, PEG 400 ir dimetilizosorbidas ir padidinant *Pemulen* TR-1 koncentraciją iki 0,8 proc., galimos stabilios sistemos esant ir mažam terpės rūgštingumui, tačiau *Pemulen* TR-1 yra jautrus elektrolitų poveikiui ir yra nesuderinamas su medžiagomis, turinčiomis teigiamą elektrinį krūvį. Atliktais emulsijų pagreitinto senėjo tyrimais įrodyta, kad emulsijoms su *PemulenTM* tipo emulsikliu PTR1 būdingas ilgalaikis stabilumas. Marie-France Bobin ir kt. nustatė, kad (akrilatų/C₁₀–C₃₀) alkil

akrilatų krospolimerai PTR1, PTR2 sudaro išskirtinai stabilias a/v emulsijas naudojant juos mažais kiekiais (0,1–0,3 proc.) bei ištyrė, kad emulsikliai PTR1 ir PTR2 turi mažą paviršiaus įtempimą mažinančią galią, o atlikdami eksperimentus su skirtinga aliejine faze nustatė, kad šie emulsikliai negali emulsinti įvairių aliejų nenaudojant koemulsiklio. Spomenka Simovic, et al. tyrė galimas sąveikas tarp (alkil/C₁₀–C₃₀) alkil akrilato) krospolimero (Pemulen TR-2(R) polimerinio emulsiklio ir nejoninių paviršiui aktyvių medžiagų (Polioksietilen 20 sorbitano monooleatas (Polysorbate 80). Polimero ir surfaktanto sąveika analizuojama vertinant tarpfazinį paviršiaus įtempimą, o gelio tinklo struktūros pokyčiai buvo vertinami atliekant tekstūros analizę. Nustatyta, kad sąveika tarp Pemulen TR-2(R) polimerinio emulsiklio ir paviršiui aktyvių nejoninių medžiagų (Polioksietilen 20 sorbitano monooleato (Polysorbate 80) hidrofobinės prigimties priklauso nuo koncentracijos ir turi įtaką dispersijos reologinėms savybėms [91]. Maria Budai-Shzucs [92, 100, 101] nustatė, kad *Pemulen*TM tipo polimerinių emulsiklių drėgstamumas yra labai mažas su distiliuotu vandeniu ir geresnis su aliejumi. Šių polimerinių emulsiklių brinkimas trunka ilgai, sugeriamo vandens kiekis yra mažas. Šie emulsikliai turi mažą paviršiui aktyvumą, todėl Budai-Shzucs rekomenduoja naudoti koemulsiklį emulsinimo procesui palengvinti. Budai-Shzucs nustatė, kad didinant aliejinės fazės kiekį, emulsiniai lašeliai didėja iki maksimalaus dydžio, kai aliejaus koncentracija 30 proc. viršija šią ribą, dalelių dydis mažėja, kas paaiškinama geresniu emulsijos stabilumu esant beveik tai pačiai abiejų fazių koncentracijai. Budai-Shzucs nustatė, kad *Pemulen*TM tipo emulsiklių geliai, kurių polimerizacijos laipsnis mažesnis (PTR2), dėl polimero grandinės lankstumo paviršiui, suemulguoja daugiau aliejaus. Taip pat nustatyta, jog nėra reikšmingo klampos skirtumo tarp gelio ir emulsijos naudojant emulsiklį PTR1 (aliejaus 20 proc.), o naudojant emulsiklį PTR2, emulsijos klampa didesnė nei gelio, be to, vidinė fazė gerina gelio struktūros formavimąsi, elastingumą, esant žemai koncentracijai, bet santykinai mažina elastingumą koncentraciją didinant; tiriant gelio struktūrą, išgarinimo procentas ir surišto vandens kiekis buvo vertinamas trijų mėnesių saugojimo laikotarpiu, nustatyta, kad gelio struktūroje esant PTR1 atveju vandens kiekis sumažėjo, tačiau PTR2 atveju – padidėjo. Sukibimo energijos matavimais buvo vertinamas flokuliacijos dydis ir stiprumas. Yra žinoma, kad kuo didesnė sukibimo energija, tuo labiau flokulizuota sistema. Tokio tipo emulsijose flokuliacija tikėtina problema saugant. Nustatyta, jog biosukibimo elgesys skirtingas priklauso- mai nuo polimerų polimerizacijos laipsnio. Didėjant emulsiklio koncentracijai žemuose lygiuose, nebuvo pokyčių. Virš 0,2 proc. v/v tiek atskyrimo jėga, tiek sukibimo darbas mažėjo didėjant polimero (PTR1) kiekiui su didesniu polimerizacijos laipsniu ir mažėjo, kai polimeras (PTR2) buvo su

žemesniu polimerizacijos laipsniu. Didinant aliejaus koncentraciją, buvo stebimi nereikšmingi atskyrimo jėgos pokyčiai. Lengvai mažėjo ir atskyrimo jėga, ir sukibimo darbas lyginant gelio ir emulsijų pavyzdžius, kas rodė, jog pridėdamas aliejus mažina biosukibimą. Maria Budai-Shzucs nustatė, kad esant žemai polimerinių emulsiklių (PTR1 ar PTR2) koncentracijai dėl sąveikos tarp mucino ir poliakrilinės rūgšties, susidaro polimerų aglomeracija. Autorė darė prielaidą, kad mucinas suformuoja ne tinklą, o bioadhezinį ryšius su mikrogeliu aplink emulsinius lašelius. Taip pat nustatyta, kad polimerų kiekiui esant didesniai nei 0,2 proc. nestebima jokia aglomeracija, o sąveika padidėja visame polimerų tinkle, be to, termogravimetriniais matavimais ištirta, kad esant polimero koncentracijai didesnei kaip 0,4 proc. v/v, išnyksta du gravimetrinės kreivės pikai ir lieka vienas, o tai rodo, jog didėjant emulsiklio kiekiui, nebelieka laisvo vandens. Be to, Maria Budai-Shzucs nustatė, kad naudojant koemulsiklį, keičiasi sistemos mikrostruktūra: kadangi mažesnės koemulsiklio molekulės yra labiau orientuotos į paviršių ir didesnė koemulsiklio koncentracija gali nustumti polimerinį emulsiklį, dėl to mikrogelis apie emulsinius lašelius gali išnykti. Maria Budai-Shzucs lygindama termogravimetrinius ir biosukibimo matavimus nustatė, jog sukibimo jėga geresnė emulsijos, kurioje apie emulsinius lašelius yra mikrogelio, nei emulsijos, kur yra vientisas polimerų tinklas [92]. Mostafa Shahin ir kt. tyrė vaisto nešiklio sudėties įtaką stabilumui, reologinėms savybėms ir vaisto atpalaidavimui, kai emulsikliais buvo naudojami PTR1, PTR2 ir jų mišiniai ir buvo nustatyta, kad emulsinės sistemos, pagamintos su mažiau hidrofobišku *PemulenTM* tipo emulsikliu PTR1, turi didesnę takumo indeksą nei emulsinės sistemos, pagamintos su labiau hidrofobišku emulsikliu PTR2. Taip pat nustatyta, jog didinant polimero koncentraciją emulsijos takumo indeksas naudojant *PemulenTM* tipo emulsiklius didėja, o emulsijos klampa priklauso tiek nuo emulsiklio tipo (emulsijos su emulsikliu PTR1 pasižymėjo didesne klampa nei emulsijos su emulsikliu PTR2), tiek nuo aliejinės fazės. Mostafa Shahin ir kt. [86] nustatė, kad polimero tipas bei aliejinė fazė daro įtaką vaisto atpalaidavimo greičiui iš pagrindo: emulsinė sistema, kurioje emulsiklis PTR1 greičiau atpalaiduoja klotrimazolį nei emulsijos su polimeriniu emulsikliu PTR2.

Apibendrinant, galima teigti, kad pastaruoju laikotarpiu polimerinių emulsiklių panaudojimui kuriant modernias vaistus pernešančias sistemas, jų savybių tyrimui, skiriamas didelis dėmesys, nes jie keičia sistemų pagrindinius parametrus: reologines savybes, mikrostruktūrą, tepumą, plevelės susidarymo savybes, aktyvių ingredientų bioprieinamumą ir tekstūrą, vartojami mažais kiekiais, saugūs vartoti [97], nepereina per odos barjerą bei sustiprina kitų nešiklyje esančių medžiagų skverbimą [5]. Mūsų pasirinkti *PemulenTM* emulsikliai pasižymi universaliomis emulsinimo savybėmis,

dera su daugeliu nejoninių ir silpnai joninių, vandenyje tirpių medžiagų, lengvai brinksta vandenyje, adsorbuojasi ant aliejinės fazės paviršiaus beveik nepriklausomai nuo aliejaus tipo, HLB ar temperatūros [83, 88, 90], vartojami mažais kiekiais, saugūs vartoti, leidžia kurti naujausios sudėties modernias emulsines sistemas (angl. *emulsifier free*) ir galėtų būtų taikomi ekstemporalų vaistų gamyboje visuomenės gamybinėse vaistinėse [3, 8].

2. MEDŽIAGOS IR TAIKYTI TYRIMO METODAI

2.1. Tyrimo objektai

1. A/v emulsijos, pagamintos su polimeriniais emulsikliais *PemulenTM* TR1 NF, *PemulenTM* TR2 NF ir jų mišiniais, kai lipofilinė fazė 10 proc., 25 proc., 50 proc., papildomai nenaudojant paviršiui aktyvių medžiagų
2. A/v emulsijos, pagamintos naudojant emulsiklių derinius, su skirtinga lipofiline faze (mineraliniu aliejumi, alyvuogių, ricinų, saulėgrąžų, migdolų aliejais).
3. V/a/v emulsinės sistemos, pagamintos naudojant *PemulenTM* tipo polimerinių emulsiklių PTR1, PTR2 mišinius su skirtinga lipofiline faze (mineraliniu aliejumi, alyvuogių, ricinų, saulėgrąžų, migdolų aliejais), humektantas glicerolis įterptas į vidinę vandens fazę bei tos pačios cheminės sudėties dvinarė a/v emulsija, humektantas vandens terpėje.

2.2. Medžiagos, aparatūra ir įrengimai

Išgrynintas vanduo (Ph.Eur.01/2009:0008, paruoštas naudojant Milipore (JAV) vandens išgryninimo Sistema); *PemulenTM* TR1 NF ir *PemulenTM* TR2 NF („Lubrizol“, JAV); Skystasis parafinas (Ph.Eur.01/2008:0239; Brentag, Lenkija); NaOH (*natrumhydroxid*) „E.Merck“, Darmstadt; Alyvuogių aliejus (Ph.Eur. 01/2010:0518; „Henry Lamoti oils“, Vokietija); Ricinų aliejus (Roth), Karlsruhe, Vokietija; Saulėgrąžų aliejus (Natura) AGD, Zarate (Argentina); Vilnų riebalai be vandens (Ph.Eur. 01/2008:0135; „Carl Roth GmbH&Co“, Vokietija); Glicerolis (Ph.Eur. 01/2008:0496; Tiekėjas UAB „NATURLIT“, Lietuva, kilmės šalis Prancūzija); Polioksietilen(20)-sorbitano monostearatas (Ph.Eur.01/2008:0427; „Sigma-Aldrich Chemie GmbH“, Vokietija); Polioksietilen(20)-sorbitano tristearatas („Vaseline Fbrik E. Waserfuhr GmbH“, Vokietija); Sorbitano monostearatas (Ph.Eur. 01/2008:1043 „Corda Europe LTD“, Anglija); Sorbitano monooleatas (Ph.Eur. 01/2008:1041; „Alfa Aesar DmbH&Co“, Vokietija); Skaitmeninė maišyklė IKA® Eurostar 200; Homogenizatorius IKA Ultra-Turrax® T 18 digital („Bandelin electronic GmbH&Co.KG“ Vokietija), potenciometras HJ2511 pH/ORP Meter HANNA instruments.; rotacinis viskozimetras Selekt P (Abrera, Spain); optinis mikroskopas Motic BA310, naudojant kompiuterinę programą Motic Image Plus 2.0 ML; centrifūga SIGMA 3-18KS, Osterode am Harz (Vokietija); Analitinės svarstyklės „Scaltec“ (Scaltec Instruments GmbH, Vokietija); Konduktometras Profiline Cond 3110 WTW (Vokietija);

tensiometras Attension Sigma 702 (Biolin Scientific, Suomija); tekstūros analizatorius TA XT plus (Stable Micro Systems, Vienna, Austria); reometras Antor Paar MCR102 (Antor Paar, Austrija). VapoMeter DalfinWin 4 (Suomija), korneometras Scalar MY-808S (Kinija); klimatinė spintoje Climacell (MMM, Medcenter Einrichtungen GmbH, Vokietija); odos riebumo, keratino kiekio kiekis buvo matuojami naudojant sertifikuotą dermatoskopinę kamerą COSCAM CCL-215USB (lęšio didinimas iki 100x), kuri sujungta su kompiuteriu ir programa „Skinsys Software“. Optinis preitaisas COSCAM CCL-215USB.

2.3. Tyrimo loginis modelis

2.3.1 lentelė. Tyrimo uždaviniai ir numatomos veiklos

Etapai	Uždaviniai	Numatomi darbai
I	Vaistinėje naudojamų aliejų asortimento tyrimas, lipofizinės fazės įtakos emulsijų stabilumui vertinimas.	Lietuvos gamybinių vaistinių apklausa, gautų duomenų statistinė analizė. Analizuoti lipofilinės fazės įtaką emulsijų stabilumui.
II	a/v ir v/a emulsijų gamyba.	Polimerinio emulsiklio pasirinkimo pagrindimas. Pemulen tipo emulsiklių PTR1 ir PTR2 sinerginis efektas, sudaryti stabilesnes sistemas. A/v emulsijos gamyba nenaudojant PAM. V/a tipo emulsijos technologijos pasirinkimas
III	v/a/v tipo emulsinių sistemų gamyba, stabilumo vertinimas.	v/a/v tipo emulsijų gamybai emulsiklių atranka, pagrindimas. V/a/v/ tipo emulsijų gamyba su pasirinktais emulsikliais, pasirinktos technologijos įvertinimas vadovaujantis gautų preparatų charakteristikomis.
IV	v/a/v, a/v tipo emulsinių sistemų fiziologinio poveikio lyginamasis vertinimas.	Atrinktų sistemų 6 mėnesių trukmės stabilumo tyrimas, reologinis vertinimas. Stabilių pusiau kietos farmacinės formos emulsinių nešiklių (a/v, v/a/v) biomedicininis vertinimas.

2.4. Pusiau kieto emulsinio nešiklio gamyba

Pirminių a/v emulsijų gamyba

Emulsijos buvo gaminamos tiesioginiu būdu [102], 20 ± 2 °C temperatūroje. Maišoma skaitmenine maišykle IKA® Eurostar 200, 250 ml talpos laboratorinėje stiklinėje. Emulsiklis buvo lėtai beriamas į vandenį, jį maišant 800 aps./min. greičiu, vandeninė dispersija gaminama 15 min., aliejus lėtai srovele pilamas į vandeninę dispersiją ir maišoma 15 min. 800 aps./min. greičiu, pH buvo reguliuojama 18 proc. NaOH tirpalu [103]. Kiekvienos sudėties emulsijos buvo gaminamos kartojant 3 kartus, o emulsinių lašelių dispersija skaičiuojama užtikrinus duomenų atsikartojamumą (2.4.1 lentelė).

2.4.1 lentelė. A/v emulsijų modelinė sudėtis

A emulsijos	B emulsijos	C emulsijos
Išgrynintas vanduo	Išgrynintas vanduo	Išgrynintas vanduo
Alyvuogių aliejus	Alyvuogių aliejus	Alyvuogių aliejus
PTR1	PTR2	Polimerinių emulsiklių PTR1 ir PTR2 mišinys 1:1
Natrio hidroksido tirp.	Natrio hidroksido tirp.	Natrio hidroksido tirp.

Pusiau kietų emulsinių sistemų v/a ir v/a/v sudėtys

V/a emulsinės sistemos gamyba. V/a emulsijos sudėtis sudaryta eksperimento keliu, kai aliejaus koncentracija 40–55 proc., emulsiklio vilnų riebalų kiekis buvo pasirinktas nuo 6 iki 25 proc., atrinkta stabili sudėtis dera su paskelbta mokslinėje literatūroje [104]. Į aliejinę terpę dedami atsverti vilnų riebalai, cetilo alkoholis ir kaitinama iki lydymosi temperatūros, elektrinėje vandens vonelėje iki 60–65 °C. Vanduo lėtai pilamas į aliejinę terpę maišant 500 aps./min., greitis didinamas iki 1000 aps./min. Maišoma 15 min.

V/a/v emulsinės sistemos gamyba. V/a/v emulsijos buvo gaminamos dviem etapais [105], 20 ± 2 °C temperatūroje. Maišoma skaitmenine maišykle IKA® Eurostar 200, 250 ml talpos laboratorinėje stiklinėje. Emulsiklis buvo lėtai beriamas į vandenį, jį mašant 800 aps./min. greičiu, 40 proc. v/a aliejus lėtai srovele pilamas į vandeninę dispersiją ir maišoma 15 min. 800 aps./min. greičiu, pH buvo reguliuojama 18 proc. NaOH tirpalu [103], maišymo greitis didinamas iki 1500 aps./min. Maišoma 20 minučių [106]. *E02N emulsijos gamyba:* į aliejinę fazę dedami emulsikliai, kaitinama iki lydymosi temperatūros, elektrinėje vandens vonelėje iki 60–65 °C, gautas tirpalas atvėsinaamas iki 40 °C, lėtai pilamas į vandeninę polimerinę dispersi-

nę terpę ir maišoma 15 min. 800 aps./min. greičiu, pH reguliuojama 18 proc. NaOH tirpalu.

2.4.2 lentelė. Tiriamų emulsinių sistemų sudėtys

Komponentai, proc.	Tiriamieji mėginiai							
	E(v/a)	E03N	S(v/a)	S03N	R(v/a)	R03N	V(v/a)	V03N
Alyvuogių aliejus	40–55	25	–	–	–	–	–	–
Saulėgrąžų aliejus	–	–	55	25	–	–	–	–
Ricinų aliejus	–	–	–	–	55	25	–	–
Mineralinis al.	–	–	–	–	–	–	55	25
Vilnų riebalai (be vandens)	6–25	9,2	25	9,2	25	9,2	25	9,2
Cetilo alkoholis	3	0,8	3	0,8	3	0,8	3	0,8
Glicerolis	5	2,0	5	2,0	5	2,0	5	2,0
Pemulen TM TR1NF	–	0,16	–	0,16	–	0,16	–	0,16
Pemulen TM TR2 NF	–	0,24	–	0,24	–	0,24	–	0,24
NaOH 18 proc.	–	0,1	–	0,1	–	0,1	–	0,1
Konservantas	–	0,5	–	0,5	–	0,5	–	0,5
Išgrynintas vanduo*	12–54	6	15	6	15	6	15	6
Išgrynintas vanduo	–	59,0	–	59,0	–	59,0	–	59,0

* vandens fazė v/a ir v/a/v sistemose.

2.5. Taikyti tyrimo metodai ir metodika

2.5.1. Terpės rūgštingumo rodiklių nustatymas

Pagamintų emulsijų pH rodikliai buvo matuojami pH-metru HJ2511 pH/ORP Meter HANNA instruments. Matuojant emulsijos rūgštingumą, kiekvieno mėginio buvo gaminama 5 proc. vandeninės ištraukos: 2,5 g mėginio maišoma su 47,5 g išgryninto vandens, po to 15 min filtruojama per 20–25 µm porų dydžio filtrą (DP 411, Albet-Hahnemuhle S.L., Barcelona, Spain) [107]. Tiriamų mėginių rūgštingumas įvertinamas atlikus penkis matavimus, skaičiuojamas vidurkis, standartinis nuokrypis.

2.5.2. Tiriamų pavyzdžių dinaminės klampos nustatymas

Pagamintų mėginių klampa buvo matuojama rotaciniu viskozimetru Selekt P (Abrera, Spain), 100 (aps./min.) greičiu. Vienodas tiriamų bandinių kiekis patalpinamas į vienodų parametru laboratorinius indelius. Emulsijos klamos matavimo zondo pasirinktas spindulys R7. Kiekvieno mėginio klampa matuojama 10 s, matavimai kartojami tris kartus.

2.5.3. Emulsinių sistemų mikrostruktūros tyrimas

Aliejinės fazės lašelių dydis buvo matuojamas optiniu mikroskopu *Motic BA310*, naudojant kompiuterinę programą *Motic Image Plus 2.0 ML*. Mėginiai buvo vaizdą mikroskopuojamai didinant 400 kartų, nuotraukos daromos iš keleto skirtingų mėginio vietų [108]. Emulsinių lašelių dydis buvo matuojamas atliekant vaizdo analizę, pasitelkiant automatinio skaičiavimo programą ir konvertuojant lašelių skaičių į užimamą tūrį [109, 110]. Kiekvieno pavyzdžio buvo gaminami 5 mėginiai ir $0,0045 \pm 0,0005$ g kiekvieno mėginio buvo imama mikroskopuoti forografuoti, skaičiuoti emulsinių lašelių dispersiją iš karto pagaminus, po 1 val., po 2 val., po 3 val., po 24 val.

2.5.4. Centrifūgavimo testas

Centrifūgavimo testas buvo atliekamas mėginių pagaminimo dieną, po 7 parų, 14, 28, 56 parų, 6 mėnesių, 12, 24 mėnesių. Naudojant SIGMA 3-18KS (Osterode am Harz, Vokietija) taikant 3 500, 10 000 ir 16 000 aps./min., 20 ± 2 °C, 5 min.). Į šešis 2 ml tūrio mėgintuvėlius buvo patalpinamas vienodas tiriamų pavyzdžių kiekis (g). Emulsijos stabilumas buvo vertinamas pagal atsiskyrusios vandeninės fazės masę (g). Stabilumas *CI* (išsisluoksniavimo indeksas) apskaičiuotas pagal formulę, kur *CI* – emulsijos stabilumas (proc.); *a* – vandeninės fazės kiekis (g); *m* – paimto tirti mėginio masė (proc.) [111]:

$$CI \text{ (proc.)} = \frac{a \times 100}{m} \quad (1)$$

2.5.5. Išsisluoksniavimo apimtys matavimas

Atsiskyrusios fazės apimtis (*Creaming volume*) buvo skaičiuojama kaip santykinis emulsijos ir atsiskyrusios fazės tūrių skirtumas ir išreiškiamas matematine formule [112]:

$$V_{\text{atsiskyrusios fazės}} = \frac{V_{\text{emulsijos}} - V_{\text{atsiskyrusios fazės}}}{V_{\text{emulsijos}}} \times 100 \text{ proc.} \quad (2)$$

2.5.6. Emulsijos tipo patvirtinimas

Emulsinė sistema „aliejus-vandenyje“ pasižymi būdingu konduktyvumu, kurio reikšmė yra mažesnė nei $1 \mu\text{S}/\text{cm}$, kai išorinė fazė yra aliejus, o emulsijų, kurių konduktyvumo reikšmė yra didesnė nei $50 \mu\text{S}/\text{cm}$, išorinė fazė yra vanduo („aliejus-vandenyje“ tipas) [113, 114]. Matavimai atlikti kambario temperatūroje $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Konduktometras *Profiline Cond 3110* (WTW, Vokietija).

2.5.7. Tankio matavimas

Polimerinės dispersijos v/v ir aliejaus tankis buvo matuojamas tensiometru *Attension Sigma 702* (*Biolin Scientific*, Suomija), naudojant stiklinio rutuliuko zondą $10^{-4} \text{ g}/\text{cm}^3$ tikslumu. Matavimai buvo atliekami stiklinio rutuliuko zondą panardinant į mėginį. Matavimai buvo atliekami aplinkoje, kur temperatūra buvo $(25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C})$, oro slėgis $101,325 \text{ kPa}$, santykinė oro drėgmė $(60 \pm 5 \text{ proc.})$.

2.5.8. Paviršiaus įtempimo matavimas

Analizuojamų skysčių paviršiaus įtempimas buvo matuojamas tensiometru *Attension Sigma 702* (*Biolin Scientific*, Suomija), kuris yra skirtas matuoti paviršiaus įtempimą ir sąlyčio paviršiaus įtempimą tarp dviejų skysčių dviem metodais: su *Du Noüy* žiedu ir platinos plokšte. *Du Noüy* iridžio žiedas, lėtai traukiamas per skystį, kol jis atsiskiria nuo paviršiaus. Prieš kiekvieną matavimą *Du Noüy* žiedas buvo plaunams panardinant jį į vandenį, po to į etanolį ir išdeginama dujų liepsnoje ($1000 \text{ }^\circ\text{C}$) 5 s. Platinos-iridžio žiedo (*Du Noüy*) matmenys: R (žiedas) = $9,545 \text{ mm}$ (vielos) = $0,185 \text{ mm}$. Matavimai buvo vykdomi aplinkoje, kur temperatūra buvo $(25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C})$, oro slėgis $101,325 \text{ kPa}$. Kiekvieno mėginio kartojimas buvo atliekamas 5 kartus. Siekiant išvengti netikslumų, buvo taikomas korekcijos koeficientas, C_f :

$$\sigma_{\text{teor.}} = \sigma_{\text{eksp.}} \times C_f \quad (3)$$

2.5.9. Tarpfazinio paviršiaus įtempimo matavimas

Analizuojamų skysčių tarpfazinis paviršiaus įtempimas buvo matuojamas tensiometru *Attension Sigma 702* (*Biolin Scientific*, Suomija). Aliejinė fazė atsargiai pilama ant vandeninės fazės (ir/ar PTR1, PTR2, PTR1/PTR2 vandeninių dispersijų) paviršiaus [115]. *Du Noüy* iridžio žiedas buvo traukiamas nuo polinio skysčio per nepolinio skysčio paviršių kol atitrūksta nuo dviejų skysčių sąlyčio paviršiaus. Šiuo momentu išmatuota jėga parodo sąlyčio paviršiaus įtempies vertę. Matuojamųjų skysčių tankių skirtumas

buvo skaičiuojamas pagal formulę: $Q_{\text{skirtumas}} = Q_{\text{sunkesnės fazės}} - Q_{\text{lengvesnės fazės}}$. Matavimai buvo atliekami kambario temperatūroje (25 ± 2 °C), oro slėgis 101,325 kPa. Kartojimas buvo atliekamas 5 kartus kiekvieno mėginio. Paviršiaus įtempimas, matuojamas tenziometru išreiškiamas:

$$\sigma = \frac{F}{4\pi R} \times C_f, \quad (4)$$

kur F = maksimali jėga (atitrūkimo nuo paviršiaus metu), R = žiedo spindulys, C_f yra korekcijos faktorius, kuris paprastai artimas 1,0.

2.5.10. Tekstūros analizė

Tekstūros analizė buvo atliekama tekstūros analizatoriumi *TA XT plus Texture Analyzer (Stable Micro Systems, Vienna, Austria)*. Mėginiai buvo talpinami į 20 ml talpos specialius stiklo indelius. Analitinis zondas buvo leidžiamas žemyn į kiekvieną mėginį tam tikra jėga į 18 mm gylį nustatytu 3 mm/s greičiu. Eksperimentas kartojamas 5 kartus. Aukščiausias prietaiso brėžiamos kreivės taškas yra mėginio kietumas tam tikrame gylyje. Testas parodo, kokia energija reikalinga mėginio deformavimui. Kietumas ir deformacijai reikalinga energija apibūdina mėginio tepamąsias savybes [108, 116, 117]. Kuo brėžiamo grafiko taškas aukštesnis, tuo mėginio kietumas didesnis, tai rodo, kad mažesnis mėginio pasklidimas (tepumas) [117, 118].

2.5.11. Pusiau kietos farmacinės formos emulsinių nešiklių (a/v, v/a/v) biomedicininis vertinimas

Biomedicininis tyrimas buvo vykdomas 2016 m. balandžio–rugpjūčio mėnesiais. Tyrimo metu buvo ištirta ir įvertinta pusiau kietos farmacinės formos emulsinių nešiklių įtaka žmogaus odos drėkinimui bei transepiderminio vandens netekimui. Tyrimas buvo atliekamas vadovaujantis Kauno regioninio biomedicininio tyrimų etikos komiteto išduotu leidimu (BE-2-26, 2014 06 19 „Puskiečių preparatų (kremų, gelių) įtaka žmogaus odos drėgmei, lipidų kiekiui, pigmentacijai ir odos porų dydžiui“), Europos standartais, moksline literatūra [39, 119–129] ir konsultuojantis su LSMU klinikinės ligoninės Odos ir venerinių ligų klinikos medicinos specialistais. Savanorių tyrimas vyko etapais. Tyrimas buvo atliekamas etapais (žr. 2.5.11.1 lentelėje).

2.5.11.1 lentelė. Biomedicininio tyrimo etapai

Etapai	Numatomi tyrimai
1	Pirminis odos būklės įvertinimas (odos drėgmės kiekis, keratino kiekis, išskiriamos sebumo kiekis, pigmentacija, transepiderminio vandens netektis) iki tiriamojo preparato panaudojimo.
2	Tiriamų preparatų E02N ir E03N įtakos odos parametrams nustatymas ir gautų rodiklių lyginamoji analizė. Tyrimo bandymų pakartojimo laikas po mėginio vienkartinio užtepimo ant odos buvo pasirinktas praėjus 15 min., 30 min., 60 min., 2 val., 3 val., 4 val., ir 5 val.
3	Tiriamų preparatų E02N ir ar E03N įtakos odos parametrams įvertinimas praėjus 7, 14, 21 ir 28 dienoms, tepant preparatą ant odos du kartus per dieną tiksliai nurodytu laiku.

Tyrime dalyvavo savanorės moterys, kurių amžius buvo nuo 21 iki 67 metų. Matavimai atliekami ant abiejų rankų vidinės dilbio srities odos, visada toje pačioje vietoje [125, 130], kartojama penkis kartus, skaičiuojami vidurkiai, standartiniai nuokrypiai, medianos. Tiriamosios suskirstytos į dvi grupes (A ir B). A grupės tiriamųjų dešinės rankos dilbio vidinė dalis buvo tepama trinare emulsine sistema (E03N), o kairės rankos oda netepama, B grupės tiriamosioms dvinare emulsine sistema (E02N) (2.5.11.2 lentelė) buvo tepama dešinės rankos dilbio vidinė dalis, kairės rankos oda netepama. Visų tiriamųjų oda buvo sveika. Testavimas buvo vykdomas laboratorijoje, kur temperatūra visą tyrimo laiką buvo 20 ± 2 °C, o santykinė drėgmė 65 ± 5 proc. [127].

2.5.11.2 lentelė. Formuluočių sudėtis (pH 5,5–5,7)

Medžiagos	Mėginiai	
	E02N	E03N
Alyvuogių aliejus	25	25
Avių vilnų riebalai	9,2	9,2
Cetilo alkoholis	0,8	0,8
Glicerolis	2	2
Išgrynintas vanduo (fazė)	–	6
Išgrynintas vanduo (terpė)	65,0	59,0
Fenoksietanolis	0,5	0,5
NaOH 18 proc.	0,1	0,1
PTR1	0,2	0,2
PTR2	0,2	0,2

Tyrimo dalyvės buvo informuotos, kad 24 val. prieš tyrimą bei tyrimo metu nenaudotų jokių kūno priežiūros priemonių, pasirašė informuoto asmens sutikimo formą. Buvo paaiškinta, kad siekiant gauti patikimus rezultatus, matavimai bus atliekami 20 min prieš tyrimą ramiai pasėdėjus kambaryje temperatūroje, kur atliekami matavimai. Tyrimo dalyvėms buvo nustatoma:

1. Drėgmės kiekis: korneometro lietiklį prilietus prie odos ir palaikius 2–3 s. Matuojama vidinėje dilbio pusėje, visada toje pačioje vietoje.
2. Keratino kiekis (COSCAM su X40 šoninės apšvietos galvute).
3. Sebumo kiekis baziniame odos sluoksnyje nustatomas naudojant sebumometrines juosteles. Sebumo juostelės priglaudžiamos prie dilbio odos, palaikomos 2 s. Kosmetine kamera, prijungus specialų antgalį (X50 vertikalios apšvietos galvutė), nustatomas išsiskyręs sebumo kiekis.
4. Transepiderminio vandens netekties kiekis: *VapoMeter DalfinWin 4* lietiklį prilietus prie odos ir palaikius 10 s. Transepiderminio vandens netekties kiekis matuojamas vidinėje dilbio pusėje.
5. Pirmojo vizito metu tyrimas buvo atliekamas praėjus 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300 minučių, po tiriamosios pusiau kieto preparato aplikacijos. Savanorių odos parametrų vertinimas (odos drėgmės kiekis, keratino kiekis, transepiderminio vandens netekties kiekis, išskiriamo sebumo kiekis) buvo kartojamas po 7, 14 ir 28 parų, mėginius tepant du kartus per dieną (ryte ir vakare).

2.5.11.1. Odos riebumo, keratino kiekio nustatymas

Odos riebumo, keratino kiekis buvo matuojami naudojant sertifikuotą dermatoskopinę kamerą COSCAM CCL-215USB (lęšio didinimas iki 100x), kuri sujungta su kompiuteriu ir programa „Skinsys Software“. Optinis preitaisas COSCAM CCL-215USB sujungus su skirtingos skiriamosios gebos antgaliu, dėl 1,3 milijono pikselių turinčios kameros raiškos fiksuoja skaitmeninį vaizdą. Unikali fokusavimo funkcija suteikia galimybę padidinti vaizdus nuo 12 iki 600 kartų (patento Nr:10-372744). Keratino kiekis buvo matuojamas (COSCAM su X40 šoninės apšvietos galvute), odos riebumas baziniame odos sluoksnyje nustatomas naudojant sebumometrines juosteles. Sebumo juostelės priglaudžiamos prie dilbio odos, palaikomos 2 s. Kosmetine kamera, prijungus specialų antgalį (X50 vertikalios apšvietos galvutė), nustatomas išsiskyręs sebumo kiekis. Gauti duomenys buvo vertinami pagal prietaiso kompiuterinės programos „Skinsys Software“ rodomą skalę (1 – labai mažas, 2 – mažas, 3 – normalus (neutralus), 4 – didelis, 5 – labai didelis.

2.5.11.2. Odos drėgmės kiekio matavimas ir vertinimas.

Drėgmės kiekis buvo matuojamas korneometru (Scalar MY-808S). Korneometro veikimo principas pagrįstas dielektrinės terpės varžos matavimu. Bet koks dielektrinės konstantos pokytis, atsiradęs dėl drėgmės kiekio odoje svyravimo, keičia varžą. Matavimo gylis 10–20 μm raginio sluoksnio (lot. *stratum corneum*). Rezultatai išreikšti sutartiniais vienetais (AU) [28, 125, 131]. Testuojamos zonos vidinėje dilbio dalyje matavimai buvo kartojami 5 kartus. Odos drėgmės proc. pokytis penkių valandų, 7, 14, 21, 28 parų laikotarpiu buvo skaičiuojamas pagal formulę:

$$H_{\text{proc. pokytis}} = \frac{H_i - H_0}{H_0} \times 100, \quad (5)$$

kur H – odos drėgmė; H_0 – odos drėgmės kiekis pradiniu momentu, H_i – po 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300 min. ir po 7, 14, 21, 28 parų.

Tiriamų nešiklių įtaka odos drėgmės kiekiui, lyginant su netepta oda buvo apskaičiuota pagal formulę [22]:

$$H = \left(\frac{\frac{T_i}{U_i}}{\frac{T_0}{U_0}} - 1 \right), \quad (6)$$

kur T_i ir U_i – tai yra teplos ir neteptos odos vidutiniai dydžiai po tam tikro laiko tarpo, atitinkamai T_0 ir U_0 yra neteptos ir tepamos rankos vidutiniai dydžiai eksperimento pradžioje.

2.5.11.3. Transepiderminio vandens netekties (TEVN) matavimas ir vertinimas

Odos barjerinės funkcijos buvo vertinamos matuojant transepiderminio vandens netekties kiekį, naudojant uždaro kameros prietaisą *VapoMeter (DelfWin4)* sertifikuotas medicinos prietaisas (Directive 93/42/EC). Transepiderminio vandens netektis išreiškiama gramais kvadratiniam metre per vieną valandą ($\text{g}/\text{cm}^2/\text{val.}$) [126, 132]. Tiriamų nešiklių įtaka transepiderminio vandens netekčiai lyginant su netepto odos TEVN, buvo apskaičiuojama pagal formulę:

$$\text{TEVN} = \left(\frac{\frac{T_i}{U_i}}{\frac{T_0}{U_0}} - 1 \right), \quad (7)$$

kur TEVN – transepiderminio vandens netektis, i – (matavimo laikas po 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300 min. ir/ar po 7, 14, 21, 28 parų), T_i ir U_i – tai yra teptos ir neteptos odos vidutiniai dydžiai po tam tikro laiko tarpo, atitinkamai T_0 ir U_0 yra neteptos ir tepamos rankos vidutiniai dydžiai eksperimento pradžioje.

Procentinis pokytis rodo, kaip kito transepiderminio vandens netektis skirtingais laiko tarpais lyginant su pradiniu matavimu:

$$\text{TEVN}_{\text{proc. pokytis}} = \frac{\text{TEVN}_i - \text{TEVN}_0}{\text{TEVN}_0} \times 100, \quad (8)$$

kur TEVN_i – transepiderminio vandens netektis, i – (matavimo laikas po 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300 min. ir/ar po 7, 14, 21, 28 parų), TEVN_0 – pradinis transepiderminio vandens netekties kiekis.

2.5.12. Reologinių savybių tyrimas

Reologinės savybės buvo nustatytos reometru Antor Paar MCR102 (Antor Paar, Austrija) taikant plokštės-kūgio geometrinę sistemą (kūgio kampas – 2°) [133]. Osciliacijos testas atliktas intervale 1–40 rad/s. Tekėjimo testas atliktas deformacijos greičių keičiant intervale 1–100–1 1/s, 22–32 °C [134].

2.5.13. Puskiečių emulsinių sistemų stabilumo tyrimas

Puskiečių formų stabilumas tirtas, laikant kambario temperatūroje (25 ± 2 °C), klimatinėje spintoje Climacell (MMM, Medcenter Einrichtungen GmbH, Germany), kai 38 ± 2 °C, santykinė drėgmė 75 ± 5 proc. ir šaldytuve 8 °C temperatūroje. Terpės rūgštingumas, klampa, konduktyvumas,

emulsinių lašelių dydis, išsisluoksniavimo indeksas, reologinės savybės buvo matuojama aukščiau aprašytais metodikomis.

2.5.14. Eksperimento planavimas ir statistinė analizė

Eksperimentų modelinė sudėtis buvo tokia: alyvuogių aliejus (20–50 proc.), PTR1 (0,05–0,2 proc.), PTR2 (0,05–0,2 proc.), distiliuotas vanduo (49,6–79,9 proc.). Buvo matuojama emulsinių sistemų dinaminė klampa, emulsinių lašelių dydis, nustatytas emulsinių sistemų išsisluoksniavimo indeksas (žr. 2.5.14.1 lentelėje). Buvo pagaminta 20 emulsinių sistemų, kurių sudėtys parinktos pagal D-optimalų mišinių planą. Eksperimentų planas, duomenų analizė buvo atliekami naudojant *Design Expert (trial versions 6.0.8; 9.0.3.1.Stat Easy Inc. Minneapolis, USA)* statistinį paketą. Visi paruošti mėginiai buvo homogeniški kremai. Vertinant kiekvieno kintamojo įtaką (alyvuogių aliejaus, emulsiklių mišinio PTR1/PTR2) emulsijų savybėms, gautieji rezultatai buvo įvertinti statistinės analizės metodais (ANOVA dispersinė analizė), gautų duomenų (dinaminė klampa, *Creaming* indeksas) rezultatams aiškinti, buvo pasirinktas specialus kūbinis (*Special cubic*) modelis, o emulsinių lašelių dydžio gautiems rezultatams vertinti – linijinis modelis ($p < 0,05$). Statistinė duomenų analizė (ANOVA) buvo atlikta siekiant ištirti siūlomų modelių tinkamumą ir nustatyti reikšmingas faktorių sąveikas emulsijos su alyvuogių aliejumi stabilumui. Prognozuojamų ir faktinių verčių palyginimas, nereikšmingas trūkumas (*Lack-of-Fit*) visų tirtų kintamųjų rodė, kad pasirinktas daugialypės regresijos modelis buvo tinkamas prognozuoti. Modelio F-vertė 79,90, didelė r^2 (determinacijos koeficiento) reikšmė patvirtino, kad modelis tinkamas išaiškinti kintamųjų sąveikas. r^2 vertės buvo 0,994, 0,9541 ir 0,9995 (dinaminės klamos, emulsinių lašelių dydžio, *Creaming* indekso). Maža c.v. (*dispersijos koeficiento*) vertė 5,93 (dinaminės klampumos matavimų), 2,46 (*Creaming* indekso matavimų), 11,94 (emulsinių lašelių dydžio matavimų) rodė eksperimentų atlikimo aukštą tikslumą ir patikimumą. Buvo nustatyta, kad polimerinių emulsiklių mišinio (PTR1/PTR2) sąveika su alyvuogių aliejumi reikšminga emulsijų stabilumui ir savybėms ($p < 0,05$).

2.5.14.1 lentelė. Eksperimento modelinė sudėtis pagal D-optimalų mišinių planą, matavimo duomenys

Mėginio Nr.	Alyvuogių aliejus	PTR1	PTR2	Išgrynintas vanduo
1	27,50	0,09	0,09	72,33
2	50,00	0,05	0,05	49,90
3	20,00	0,05	0,12	79,75
4	35,00	0,20	0,05	64,75
5	42,50	0,12	0,09	57,29
6	50,00	0,13	0,12	49,75
7	50,00	0,05	0,20	49,75
8	50,00	0,05	0,20	49,75
9	35,00	0,05	0,12	64,83
10	20,00	0,05	0,20	79,75
11	20,00	0,12	0,05	79,66
12	27,50	0,16	0,12	72,21
13	50,00	0,20	0,20	49,60
14	50,00	0,20	0,05	49,75
15	35,00	0,20	0,12	64,35
16	20,00	0,12	0,05	79,83
17	20,00	0,20	0,20	79,60
18	50,00	0,20	0,05	49,75
19	50,00	0,20	0,20	49,60
20	35,00	0,12	0,20	64,67

2.5.15. Mikrobiologinis tyrimas

Mėginių tyrimai buvo atlikti Nacionalinėje visuomenės sveikatos priežiūros laboratorijoje (Mikrobiologinio tyrimo protokolo Nr. MA-K492 (MA 1337)). Tyrimas buvo atliktas vadovaujantis mikrobiologinių tyrimų standartais (LST EN ISO 21149:2009; LST EN ISO 25717:2016(N); LST EN ISO 25718:2016(N), LST EN ISO 18416:2016 (N), LST EN ISO 16212:2011 (N), LST EN ISO 16212:2011 (N)), mėginiai gaminami laboratorijoje kambario temperatūroje 25 ± 2 °C, po to laikomi termostate 38 ± 2 °C, santykinė oro drėgmė 70 proc.

2.5.16. Statistinis duomenų vertinimas

Gauti tyrimo rezultatai statistiškai apdoroti naudojant statistinius duomenų analizės paketus SPSS 21.0, Microsoft Office Excel 2010, programinės įrangos paketą „Prizma v.5.04“ (*GraphPad Software Inc, La Jolla, Kalifornija*). Visiems kriterijams nustatytas reikšmingumo lygmuo buv $\alpha = 0,05$. Tyrimo duomenys buvo analizuoti naudojant dvifaktoriinės dispersinės analizės ANOVA (*Two-Way ANOVA*) modelį, pritaikant integruotus į programinės įrangos paketą Dunnett's, Sidak's, Mann-Whitney, Tukey's lyginamuosius testus. Naudoti neparametriniai testai: vieno pavyzdžio Kolmogorovo-Smirnovo testas (angl. *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test*), dviejų susijusių pavyzdžių – Wilkoxon'o testas (angl. *2 Related Samples Wilkoxon test*), kelių susijusių pavyzdžių analizei – Freidman'o testas (*K Related Samples – Friedman Test*). Skaičiuoti imčių vidurkiai, moda, santykiniai standartiniai nuokrypiai, standartinės paklaidos, Spearman'o ranginės koreliacijos koeficientai.

3. REZULTATAI IR DISKUSIJA

3.1. Alkilakrilo polimerinių emulsiklių PTR1, PTR2 ir PTR1/PTR2 mišinio įtaka a/v emulsinių sistemų stabilumui.

3.1.1. Polimerinių emulsiklių *Pemulen*TM TR1 NF, *Pemulen*TM TR2 NF ir jų derinių efektyvi mažiausia koncentracija sudarant stabilias a/v sistemas, kai lipofilinė fazė sudaro 10 proc., 25 proc., 50 proc.

Mokslininkai Brisaert ir Plaizier-Vercammen (1997), Malpede ir Fumagali (1998) nustatė, kad nejoninės paviršiui aktyvios medžiagos mažomis koncentracijomis (didesnėmis nei 0,5 proc. v/v) gali reikšmingai padidinti *Pemulen*TM tipo polimerinių emulsiklių emulsuojamąją galią [136, 137]. Nustatyta, kad panaudojant biosurfaktantų, įvairių krosopolimerinių emulsiklių mišinius, galimi paviršiaus ir tarpfazinio įtempimo pokyčiai [138–141], gerėja emulsijų savybės [142], ištirta galima sąveika tarp alkil/C₁₀–C₃₀ alkil akrilatų polimerinio emulsiklio PTR-2 ir nejoninių paviršiui aktyvių medžiagų (polioksietileno 20 sorbitano monooleato (Polysorbate 80) ir nustatyta, kad sąveika tarp PTR-2 ir nejoninių paviršiui aktyvių medžiagų (polioksietileno 20 sorbitano monooleato (Polysorbate 80) hidrofobinės prigimties priklauso nuo koncentracijos ir turi įtaką dispersijos reologinėms savybėms [91]. Tačiau nėra tirta, kokią įtaką emulsijos stabilumui daro *Pemulen*TM tipo emulsiklių PTR1 ir PTR2 mišiniai. Siekiant įvertinti *Pemulen*TM tipo polimerinių emulsiklių TR1 ir PTR2 derinių įtaką emulsijų stabilumui, efektyvumo indikatoriumi buvo pasirinktas emulsijos neišsi sluoksniavimas per 24 valandas, kai emulsijos gaminamos esant skirtingam fazių tūrių santykiui bei naudojant emulsiklius PTR1, PTR2 ir jų derinius (1:1). Emulsijų stabilumas buvo vertinamas pagal emulsinių lašelių dydį ir jų dydžio pasiskirstymą pagal užimamą tūrį [143–147]. Polimerinių emulsiklių PTR1, PTR2 sinerginės sąveikos, sudarant stabilesnes emulsines sistemas patvirtinimui, buvo atlikti vandeninių polimerinių dispersijų (PTR1 (0,1–0,6 proc.), PTR2 (0,1–0,6 proc.) ir emulsiklių PTR1/PTR2 derinių paviršiaus įtempimo bei tarpfazinio paviršiaus įtempimo matavimai sąlyčio riboje su skirtingais aliejais (alyvuogių, ricinų, saulėgrąžų, mineralinio) pagal publikuotą metodiką [108, 115].

3.1.2. Emulsinių lašelių augimo dinamikos vertinimas

Eksperimentų serijos metu emulsinių lašelių dydis buvo matuojamas iš karto pagaminus emulsiją, po 1, 2, 3 ir 24 valandų, gauti duomenys perskaiciuojami į emulsinių lašelių užimamą tūrį [147]. Emulsijos lašelių koales-

cencijos dinamika, kai emulsinės sistemos aliejinė fazė sudaro 50 proc., publikuota straipsnyje „Evaluation of acrylates/C₁₀–C₃₀ alkyl acrylate cross-polymer mixture effectiveness on o/w type emulsion formulation“ [148], kur matyti, kaip kito bendras užimamas emulsinių lašelių tūris, kurių dydis < 3 µm, 3,0–10,0 µm bei kurių dydis 10,0 µm ir didesnių skirtingais laiko tarpais. Nustatyta, kad veiksminga emulsiklių mišinio PTR1+PTR2 koncentracija yra reikšmingai mažesnė nei naudojamų emulsiklių PTR1 ir PTR2 atskirai (0,04 proc. naudojant mišinį, PTR1+PTR2, o PTR2 – 0,1 proc., o PTR1 – 0,15 proc.) (3.1.2.1 lentelė).

3.1.2.1 lentelė. Emulsiklių PTR1, PTR2 ir jų mišinio ribinė koncentracija, kai vertinimo indikatorius emulsijos neišsisluoksniavimas per 24 valandas, pH 6–6,5

Lipofilinės fazės koncentracija, proc.	Emulsiklių ribinė koncentracija, proc.		
	PTR1	PTR2	PTR1/PTR2
10	0,05	0,02	0,015/0,015
25	0,10	0,10	0,018/0,018
50	0,15	0,10	0,02/0,02

Emulsijose, kai lipofilinė fazė buvo 50 proc., naudojant 0,04 proc. emulsiklių mišinio, emulsiniai lašeliai, kurių dydis 3–10 µm, užėmė reikšmingai didesnę tūrį nei emulsijose, pagamintose su 0,15 proc. PTR1 ar su 0,10 proc. PTR2 (žr. 3.1.2.2–3.1.2.4 lentelėse).

3.1.2.2 lentelė. Emulsinių lašelių dydžio ir tūrio pasiskirstymas, kai emulsijos lipofilinė fazė 50 proc., emulsiklio PTR1 – 0,15 proc., pH 6–6,5

Laikas po pagaminimo, valandos	Emulsinių lašelių dydis, µm	Emulsinių lašelių vidutinis skaičius	Emulsinių lašelių dydžio vidurkis µm	Turio, proc.
Pagaminus	< 3,0	422	1,41	0,08
	3,0–10,0	255	5,28	2,180
	> 10,0	99	21,94	97,730
1	< 3,0	835	1,35	0,030
	3,0–10,0	692	5,81	1,760
	> 10,0	418	20,62	98,200
2	< 3,0	340	1,29	0,030
	3,0–10,0	122	5,83	0,800
	> 10,0	233	20,95	99,170

3.1.2.2 lentelės tęsinys

Laikas po pagaminimo, valandos	Emulsinių lašelių dydis, μm	Emulsinių lašelių vidutinis skaičius	Emulsinių lašelių dydžio vidurkis μm	Turio, proc.
3	< 3,0	262	1,34	0,023
	3,0–10,0	146	5,88	0,690
	> 10,0	112	23,45	99,290
24	< 3,0	72	1,18	0,020
	3,0–10,0	22	5,20	0,480
	> 10,0	15	32,93	99,500

3.1.2.3 lentelė. Emulsinių lašelių dydžio ir tūrio pasiskirstymas, kai emulsijos lipofilinė fazė 50 proc., emulsiklio PTR2 – 0,10 proc., pH 6–6,5

Laikas po pagaminimo, valandos	Emulsinių lašelių dydis, μm	Emulsinių lašelių vidutinis skaičius	Emulsinių lašelių dydžio vidurkis μm	Turio proc.
Pagaminus	< 3,0	459	1,16	0,17
	3,0–10,0	85	5,91	3,77
	> 10,0	29	20,82	96,06
1	< 3,0	229	1,28	0,10
	3,0–10,0	108	5,49	3,10
	> 10,0	77	18,37	96,80
2	< 3,0	229	1,28	0,10
	3,0–10,0	106	5,40	2,86
	> 10,0	78	18,15	97,05
3	< 3,0	157	1,51	0,05
	3,0–10,0	139	5,55	2,17
	> 10,0	80	21,31	97,78
24	< 3,0	35	1,58	0,05
	3,0–10,0	160	5,76	0,94
	> 10,0	18	15,77	99,01

3.1.2.4 lentelė. Emulsinių lašelių dydžio ir tūrio pasiskirstymas, kai emulsijos lipofilinė fazė – 50 proc., emulsiklio PTR1/PTR2 – 0,02/0,02 proc., pH 6–6,5

Laikas po pagaminimo, valandos	Emulsinių lašelių dydis, μm	Emulsinių lašelių vidutinis skaičius	Emulsinių lašelių dydžio vidurkis μm	Turio proc.
Pagaminus	< 3,0	114	1,29	0,15
	3,0–10,0	99	6,09	10,45
	> 10,0	52	15,13	89,4
1	< 3,0	160	2,50	0,14
	3,0–10,0	200	6,34	6,41
	> 10,0	38	19,74	93,45
2	< 3,0	229	1,28	0,09
	3,0–10,0	165	5,40	4,37
	> 10,0	78	18,15	95,53
3	< 3,0	240	1,16	0,05
	3,0–10,0	140	5,72	3,08
	> 10,0	30	27,13	96,87
24	< 3,0	450	1,13	0,02
	3,0–10,0	280	5,02	0,85
	> 10,0	40	46,54	99,13

3.1.3. PTR1, PTR2 ir (PTR1+PTR2) v/v dispersijos paviršiaus įtempimo, tarpfazinio paviršiaus įtempimo – lipofilinė fazė/ išgrynintas vanduo; lipofilinė fazė/PTR1, PTR2 ir/ar (PTR1+PTR2) v/v dispersijos riboje vertinimas

Poliakrilo rūgšties krosopolimerinių emulsiklių PTR1, PTR2 sinerginės sąveikos, sudarant stabilesnes emulsines sistemas, patvirtinimui, buvo atlikti vandeninių polimerinių dispersijų PTR1 (0,1–0,6 proc.), PTR2 (0,1–0,6 proc.) ir emulsiklių PTR1/PTR2 derinių paviršiaus įtempimo bei tarpfazinio paviršiaus įtempimo sąlyčio riboje su skirtingais aliejais (alyvuogių, ricinų, saulėgrąžų, mineralinio), matavimai [148]. Publikuotų mokslinių tyrimų duomenimis, šie emulsikliai, kaip ir kiti polimeriniai emulsikliai, migruoja link skysčių paviršiaus, mažindami paviršiaus įtempimą [85, 91]. Marie-France Bobin ir kt. nustatė, kad akrilinės r. (akrilatai/C₁₀–C₃₀) alkil akrilatai) krosopolimeriniai emulsikliai PTR1 ir PTR2 turi mažą paviršiaus įtempimą mažinančią galią, Marija Budai-Shzucs [92, 100, 101] nustatė, kad šių emulsiklių aktyvumas paviršiui yra mažas. Mūsų atlikti matavimai dar kartą patvirtino šį faktą, tačiau France Bobin ir kt. atlikti tyrimai rodė, kad

PTR1 ir PTR2 emulsiklių vandeninės dispersijos paviršiaus įtempimas vienodas, o mūsų gauti duomenys tam prieštaravo: emulsiklių PTR1 0,4 proc.; PTR2 0,4 proc. ir PTR1/PTR2 (0,2/0,2 proc.) vandeninių dispersijų paviršiaus įtempimas skyrėsi reikšmingai, $p \leq 0,05$, o emulsiklių mišinio PTR1/PTR2 (0,2/0,2 proc.) vandeninės dispersijos paviršiaus įtempimas buvo 9,92 proc. mažesnis nei tokios pačios koncentracijos emulsiklio PTR1 0,4 proc. vandeninės dispersijos ir 5,81 proc. mažesnis nei emulsiklių PTR2 0,4 proc. vandeninės dispersijos, $p \leq 0,05$ [148]. Nustatyta, kad didinant PTR1, PTR2 koncentraciją (0,1–0,4 proc.), vandeninės polimerinės dispersijos paviršiaus įtempimas reikšmingai mažėjo ($p \leq 0,05$), o PTR1+PTR2 mišinio vandeninės dispersijos paviršiaus įtempimas buvo reikšmingai mažesnis nei PTR1, PTR2 vandeninės dispersijų atskirai ($p \leq 0,05$), o išmatavus tarpfazinį paviršiaus įtempimą PTR1, PTR2, PTR1/PTR2 vandeninės dispersijos bei aliejaus (alyvuogių, saulėgrąžų, ricinų, mineralinio) riboje nustatyta, kad emulsiklių PTR1/PTR2 mišinio vandeninė dispersija pasižymi didesniu aktyvumu paviršiui nei vandeninės dispersijos emulsiklių PTR1 (0,4 proc.) ar PTR2 (0,4 proc.) atskirai [148].

Buvo patvirtintas polimerinių emulsiklių PTR1 ir PTR2 sinerginis efektas sudarant stabilesnes emulsines sistemas: efektyvi koncentracija *Pemulen*TM tipo polimerinių emulsiklių PTR1 ir PTR2 derinių reikšmingai mažesnė nei emulsijas gaminant su emulsikliais PTR1 ir PTR2 atskirai. Šis efektas svarbus siekiant naudoti kuo mažiau priedų emulsinei sistemai stabilizuoti.

Siekiant pagaminti stabilią emulsinę dvinarę sistemą be papildomai naudojamų paviršiui aktyvių medžiagų, tolimesni eksperimentai buvo vykdomi pagal D optimalų matematinį planą. Eksperimentų modelinė sudėtis buvo tokia: alyvuogių aliejus (20–50 proc.), PTR1 (0,05–0,2 proc.), PTR2 (0,05–0,2 proc.), išgrynintas vanduo (49,6–79,9 proc.). Buvo matuojama emulsinių sistemų dinaminė klampa, emulsinių lašelių dydis, nustatytas emulsinių sistemų išsisluoksniavimo indeksas (3.1.3.1 lentelė).

Visi mėginiai dvejų metų stebėjimo laikotarpiu kambario temperatūroje neišsisluoksniavo. Dvejus metus išsisluoksniavimo indeksas išliko nepakitęs ir lygus 0 mėginių Nr. 13 ir Nr. 19, kurių sudėtyje fazių tūrių santykis 1:1 bei emulsiklių PTR1 ir PTR2 santykis 1:1, o bendras jų kiekis sistemoje 0,4 proc. (žr. 3.1.3.1, 3.1.3.2 lentelėse).

3.1.3.1 lentelė. Eksperimento modelinė sudėtis pagal D-optimalų mišinių planą, matavimo duomenys

Mėginio eilės Nr.	Dispersinė fazė	PTR1	PTR2	Išgrynintas vanduo	Klampa, mPa×s	CI, proc.	Emulsinių lašelių dydis d, μm
1	27,50	0,09	0,09	72,33	2981,0	43,8	8,70
2	50,00	0,05	0,05	49,90	4075,1	24,0	14,90
3	20,00	0,05	0,12	79,75	2001,9	48,8	8,60
4	35,00	0,20	0,05	64,75	5385,4	24,9	8,80
5	42,50	0,12	0,09	57,29	4954,0	17,2	16,10
6	50,00	0,13	0,12	49,75	6707,8	0,58	11,60
7	50,00	0,05	0,20	49,75	5628,9	3,62	13,30
8	50,00	0,05	0,20	49,75	5879,8	1,55	12,90
9	35,00	0,05	0,12	64,83	2054,1	27,3	16,50
10	20,00	0,05	0,20	79,75	1955,0	48,8	8,60
11	20,00	0,12	0,05	79,66	2956,9	47,5	8,76
12	27,50	0,16	0,12	72,21	4340,2	35,9	6,80
13	50,00	0,20	0,20	49,60	8945,3	0	11,80
14	50,00	0,20	0,05	49,75	7620,9	0,59	10,15
15	35,00	0,20	0,12	64,35	5595,4	16,26	12,30
16	20,00	0,12	0,05	79,83	2994,8	48,5	7,60
17	20,00	0,20	0,20	79,60	4430,6	43,6	6,50
18	50,00	0,20	0,05	49,75	8368,9	0,86	10,15
19	50,00	0,20	0,20	49,60	9848,2	0	8,40
20	35,00	0,12	0,20	64,67	4452,9	25,8	11,50

3.1.3.2 lentelė. Centrifūgavimo testas 2 metų laikotarpiu, kai eksperimento modelinė sudėtis pagal D-optimalų mišinių planą. (Centrifūguota 3500 ir 10 000 aps./min. bei 16 400 aps./min. greičiu)

Mėginio eilės Nr.	Centrifūgavimo testas								
	Pagaminus, aps./min.		Po 6 mėn. aps./min.		Po 1 metų aps./min.		Po 2 metų, aps./min.		
	3 500	10 000	3 500	10 000	3 500	10 000	3 500	10 000	16 400
1	0,89	43,8	+	n	n	n	n	n	n
2	0	24,0	0	+	0	n	0	n	n
3	0	48,8	0	+	±	n	+	n	n
4	0	24,9	0	+	±	n	±	n	n
5	0	17,2	0	+	+	n	n	n	n
6	0	0,58	0	+	±	n	0	n	n
7	0	3,62	0	+	0	n	0	n	n
8	0	1,55	0	+	0	+	0	+	n
9	1,02	27,3	+	n	n	n	n	n	n
10	0,35	48,8	+	n	n	n	n	n	n
11	0,47	47,5	+	n	n	n	n	n	n
12	0	35,9	0	+	0	n	0	n	n
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0,59	0	0	0	0	0	±	+
15	0	16,26	0	+	+	+	n	n	n
16	0,51	48,5	0	+	0	+	0	+	n
17	0	43,6	0	0	0	0	0	0	n
18	0	0,86	0	±	0	±	0	±	+
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	±	25,8	+	+	n	n	n	n	n

n – nevykdyta ; + išsisluoksniavo; – neišsisluoksniavo centrifūguojant; ± stebimi sistemos pakitimai.

Budai-Szucs termogravimetriniais matavimais nustatė, kad esant polimero koncentracijai virš 0,4 proc. v/v nebelieka laisvo vandens [101]. Be to, atliktų tyrimų duomenimis, emulsiklių PTR1 ir/ar PTR2 0,4 proc. koncentracija nepavojinga sveikatai ir yra saugi vartoti [96, 97, 99].

3.2. Lipofilinės fazės įtaka a/v emulsijų, gaminamų su *Pemulen*TM tipo polimeriniais emulsikliais, stabilumui

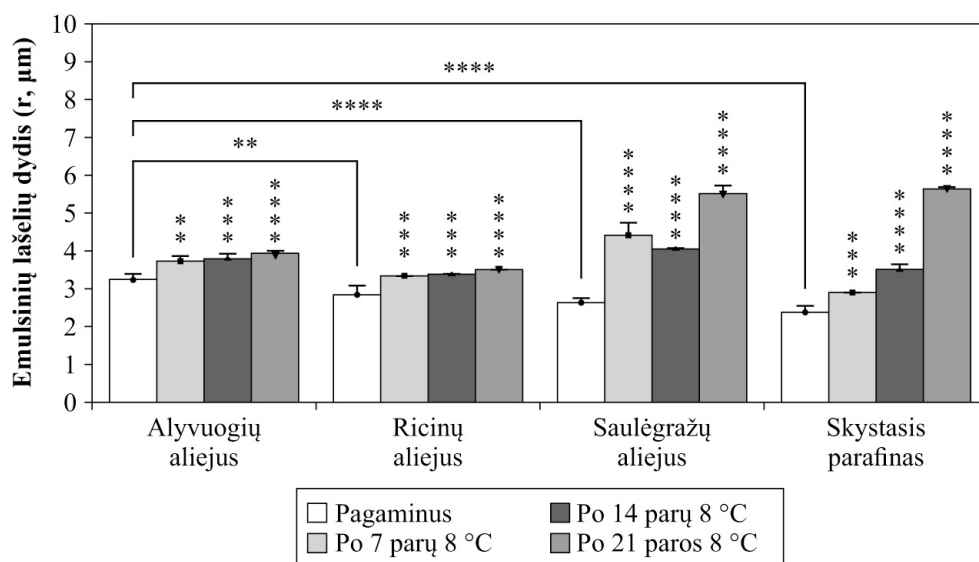
Augalinių ir mineralinių aliejų įtaka emulsijų, pagamintų su alkilakrilo rūgšties polimeriniais emulsikliais (atskiris ar jų mišiniais), sedimentaciniam ir agregatiniui stabilumui (emulsijos pH reikšmei, lašelių dydžiui, klampai, išsisluoksniavimo indeksui (*creaming index*), nėra plačiai ištirta. Publikuotų mokslinių tyrimų duomenimis, emulsinių lašelių dydis mažėja didinant emulsiklių (PTR1 ar PTR2) kiekį, o didinant aliejaus dalį emulsinėje sistemoje, lašelių dydis didėja [8, 86, 137]. Nustatyta aliejaus koncentracija, kai pasiekiamas didžiausias lašelių dydis [92]. Abu emulsikliai (PTR1 ir PTR2) padeda suformuoti didžiausius emulsinius lašelius, kai aliejaus koncentracija pasiekia 30 proc., tai patvirtino ir mūsų atlikti eksperimentai su skirtingais aliejais (alyvuogių, ricinų, saulėgrąžų, mineraliniu). Virš šios ribos emulsinių lašelių dydis mažėja. Ši savybė aiškinama didesniu emulsijos stabilumu esant beveik vienodai abiejų fazių koncentracijai [92]. Žinoma, kad augalinių aliejų klampos dydį, takumą nulemia aliejaus cheminė sudėtis – riebiųjų rūgščių grandinių ilgis bei jų sotumo laipsnis [149–151]. Vertinant skirtingos lipofilinės fazės įtaką emulsijų, gaminamų su *Pemulen*TM tipo polimerinių emulsiklių PTR1 ir PTR2 deriniais, buvo nustatyta, kad lipofilinės fazės koncentracija, kai emulsijos gaminamos su poliakrilo rūgšties polimeriniais emulsikliais (PTR1, PTR2 ir jų mišiniais), sistemos rūgštingumui reikšmingos įtakos neturi ($p \geq 0,05$), o didinant aliejaus kiekį emulsinėje sistemoje nuo 5 proc. iki 50 proc., emulsijos klampa didėjo visų tirtų aliejų atvejais ($p \leq 0,05$) [152].

Eksperimentų serija buvo skirta nustatyti temperatūros įtaką emulsinių lašelių dydžio pokyčiui, išsisluoksniavimo indeksui, mėginius laikant 8 °C ir 38 °C temperatūroje (drėgmė 75 ± 5 proc.) 21 parą. Tiriamų formuluočių lipofilinė fazė sudarė 50 proc., mėginiai skyrėsi tik aliejinės fazės kilme (alyvuogių, saulėgrąžų, ricinų, mineralinis), o emulsiklių PTR1:PTR2 mišinio santykis buvo 1:4, bendras emulsiklių kiekis sudarė 0,4 proc., pH $6,3 \pm 2$ [152]. Pradiniai matavimai buvo atliekami praėjus 24 valandoms po pagaminimo. Formuluočių su skirtinga lipofiline faze pradinis emulsinių lašelių dydis skyrėsi reikšmingai: alyvuogių aliejaus ir saulėgrąžų aliejaus ($p \leq 0,05$), alyvuogių ir skystojo parafino ($p \leq 0,05$), o alyvuogių ir ricinų aliejaus turinčių

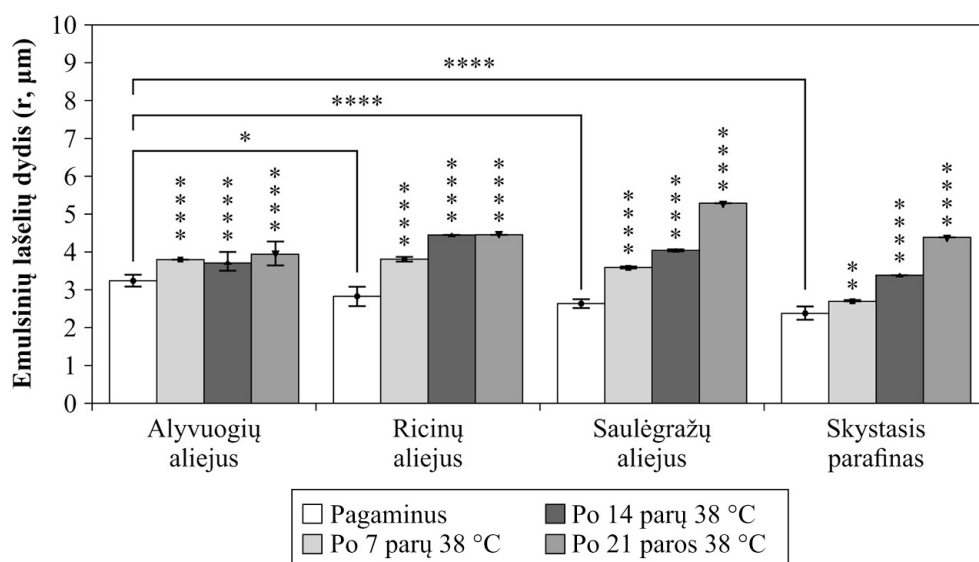
emulsijų lašelių dydžio skirtumas buvo nereikšmingas ($p \geq 0,05$). Pagal emulsinių lašelių dydį mažėjimo seka emulsijos pasiskirstė taip: emulsijos su alyvuogių aliejumi > ricinų aliejumi > saulėgrąžų aliejumi > emulsijos su skystuoju parafinu.

Mėginius laikant 8 °C ir 38 °C temperatūroje (drėgmė 75 ± 5 proc.) 21 parą, emulsiniai lašeliai reikšmingai didėjo visų tirtų emulsijų jau po 7 parų, tačiau emulsijos išliko homogeniškos, neįsisluoksniavo, *CI* (3 500 aps./min.) buvo lygus 0 visą 21 paros tyrimo laiką. Nustatyta, kad emulsijose, kur lipofilinė fazė – skystasis parafinas ar alyvuogių aliejus – emulsinių lašelių vidutinis dydis po 7 parų 8 °C ir 38 °C temperatūroje skyrėsi nereikšmingai ($p \leq 0,05$), o emulsijų, kuriose lipofilinė fazė buvo ricinų ar saulėgrąžų aliejai, vidutinis lašelių dydis skyrėsi reikšmingai: emulsijų su ricinų aliejumi 8 °C temperatūroje emulsiniai lašeliai buvo 13,3 proc. mažesni nei 38 °C, tuo tarpu emulsijų su saulėgrąžų aliejumi 8 °C temperatūroje buvo 18,8 proc. didesni nei 38 °C. Mėginius laikant 14 parų 8 °C ir 38 °C temperatūroje emulsinių lašelių dydis reikšmingai skyrėsi emulsijose su ricinų aliejumi ir buvo 29,9 proc. mažesni 8 °C temperatūroje nei 38 °C temperatūroje, o emulsijų su saulėgrąžų, alyvuogių, mineraliniu aliejumi (skystuoju parafinu) emulsinių lašelių dydžio skirtumas esant 8 °C ir 38 °C temperatūrai buvo nereikšmingas. Po 21 paros emulsijų su alyvuogių ir saulėgrąžų aliejais emulsinių lašelių dydis 8 °C ir 38 °C temperatūroje skyrėsi nereikšmingai, o emulsijų su ricinų aliejumi emulsiniai lašeliai 8 °C temperatūroje buvo 25,7 proc. mažesni nei 38 °C temperatūroje, tuo tarpu emulsijų su skystuoju parafinu emulsiniai lašeliai 8 °C temperatūroje buvo 21,9 proc. didesni nei 38 °C temperatūroje (žr. 3.2.1, 3.2.2 pav.). Nustatyta, kad emulsijų su alyvuogių aliejumi mikrostruktūrai laikymo temperatūra 8–38 °C neturi reikšmingos įtakos, tuo tarpu emulsijas su ricinų aliejumi laikant 38 °C temperatūroje emulsiniai lašeliai buvo didesni, o emulsijų su saulėgrąžų aliejumi, skystuoju parafinu, emulsiniai lašeliai buvo mažesni lyginant su emulsinių lašelių vidutiniu dydžiu mėginius laikant 8 °C temperatūroje.

Vertinant emulsinių sistemų mikrostruktūros vaizdą (didinimas 400 kartų), matyti, kad 38 °C temperatūroje emulsiniai lašeliai labiausiai pakito tų emulsijų, kur lipofilinė fazė – saulėgrąžų aliejus ir mineralinis aliejus (3.2.1 lentelės). Šie rezultatai koreliavo su emulsinių lašelių dydžio pokyčiu, laikant skirtingoje temperatūroje (8 °C ir 38 °C) matavimo duomenimis (3.2.1, 3.2.2 pav.).

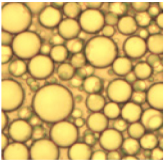
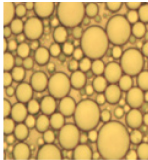
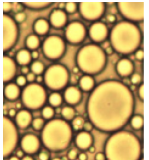
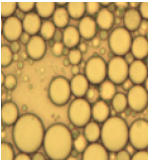
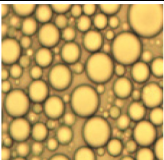
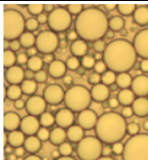
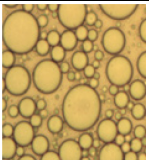
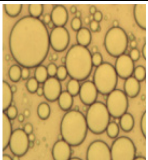
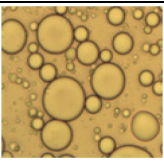
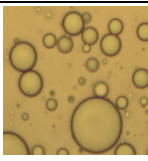
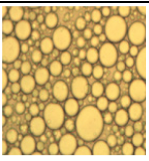
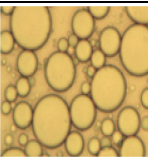
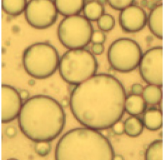
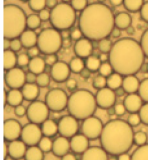
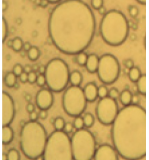
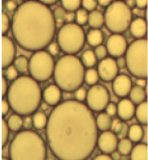
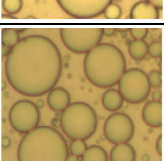
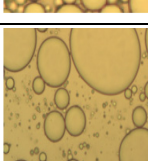
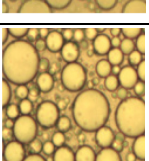
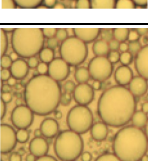
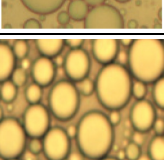
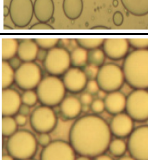
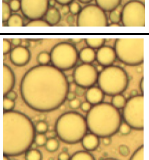
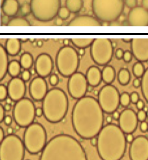
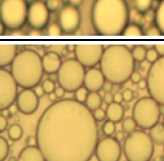
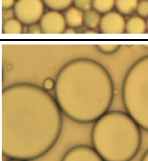
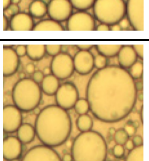
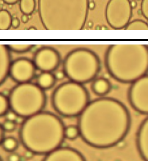


3.2.1 pav. Aliejus-vanduo emulsijų su skirtinga lipofiline faze emulsinių lašelių dydžio (r , μm) pokytis, laikant 8 °C temperatūroje



3.2.2 pav. Aliejus-vanduo emulsijų su skirtinga lipofiline faze emulsinių lašelių dydžio (r , μm) pokytis, laikant 38 °C temperatūroje

3.2.1 lentelė. Mikrostruktūros nuotraukos, emulsijas saugant 21 dieną 8 °C ir 38 °C temperatūroje, esant skirtingai lipofilinei fazei. Mikroskopinis emulsinių lašelių vaizdas didintas 400 kartų

Laikymo sąlygos		Lipofilinė fazė			
Tyrimo laikas	Temperatūra, °C	Alyvuogių aliejus	Skystasis parafinas	Ricinų aliejus	Saulėgrąžų aliejus
Pagaminus	22				
Po 7 parų	8				
	38				
Po 14 parų	8				
	38				
Po 21 paros	8				
	38				

Eksperimentais su skirtinga lipofiline faze nustatyta, kad emulsijos, pagamintos su ricinų aliejumi ar alyvuogių aliejumi, pasižymėjo didesne klampa nei emulsijos su saulėgrąžų aliejumi ar skystuoju parafinu. Be to, gaminant emulsijas iš alyvuogių, ricinų aliejų ir naudojant poliakrilo rūgšties polimerinius emulsiklius (PTR1, PTR2) ar jų mišinius, gaunamos didesnių matmenų emulsinių lašelių sistemos, nei tomis pačiomis sąlygomis pagamintose emulsijose iš saulėgrąžų ar mineralinio aliejų. Stebint emulsinių lašelių dydžio pokyčius, emulsijas laikant skirtingoje temperatūroje nustatyta, kad emulsijose su alyvuogių aliejumi emulsiniai lašeliai 8–38 °C temperatūroje išliko stabilesni nei lašeliai emulsijų su saulėgrąžų, ricinų ar mineraliniu (skystojo parafino) aliejais (žr. 3.2.1, 3.2.2 pav.) [152].

3.3. V/A/V emulsijų su alkilakrilo krospolimerų PTR1/PTR2 mišiniu modeliavimas ir stabilumo vertinimas

3.3.1. Pirmos grupės emulsinių sistemų (v/a, v/a/v) sudėties parinkimas

Pirmos grupės modeliuojamų emulsijų lipofilinė fazė, pagalbinės medžiagos pasirinktos vadovaujantis mūsų atliktais ir paskelbtais mokslinių tyrimų rezultatais [10], kurie parodė, kad visuomenės gamybinėse vaistinėse pusiau kietų vaistų formoms gaminti yra naudojami alyvuogių, saulėgrąžų, ricinų ir migdolų aliejai. Dažniausiai vaistinėse vartojamas alyvuogių aliejus – 88,6 proc., 80,0 proc. vaistinių naudoja saulėgrąžų aliejų, 65,7 proc. – ricinų aliejų ir 25,9 proc. – migdolų aliejų [10]. Be to emulsijų, pagamintų panaudojant polimerinius emulsiklius, emulsijos dalelių dydis, nėra reikšmingas, literatūros duomenimis, dalelių skvarbumo per odą aspektu, gaminant v/a/v tipo emulsijas yra prasminga rinktis augalinės kilmės aliejus dėl jų sudėtyje esančių naudingų žmogaus organizmui cheminių junginių. Vilnų riebalus pasirinkome v/a emulsijos modeliavimui, kadangi jie plačiai naudojami Lietuvos visuomenės gamybinėse vaistinėse gaminant vaistus pagal gydytojų išrašytus receptus (30,6 proc.) tarp jų (21,1 proc.) pusiau kietų vaistų formas [10]. Paskelbti mokslinių tyrimų rezultatai rodo, kad vilnų riebalai dėl cheminės sudėties panašumo pasižymi dideliu biosuderinamumu su žmogaus odos riebalais [153], didina biologiškai aktyvių medžiagų skvarbą per odos barjerą [153, 154], į savo struktūrą geba inkorporuoti didelį kiekį vandens, naudojamas kaip emulsiklis, kaip plastifikuojanti, surišanti, chemiškai inertiška bei antimikrobinių savybių turinti medžiaga [153, 155–157]. Vilnų riebalai lengvai lydosi su hidrofobinėmis medžiagomis, sudaro atvirkščio tipo emulsijas, puikiai susigeria į odą, jų neveikia rūgštys, drėgmė, šviesa. Moksliniais tyrimais įrodyta, kad vilnų riebalai pasižymi minkštinamosiomis, emulsuoja-

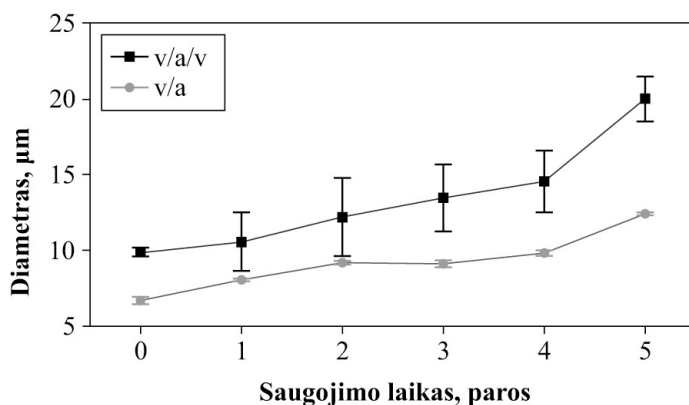
mosiomis bei drėkinamosiomis savybėmis, absorbuoja dvigubai daugiau vandens nei sveria patys [155, 156, 158], turi priešuždegiminį, antimikrobinį, odos barjerines funkcijas atstatantį poveikį sukurdami laikinai orui nepralaidų barjerą, kas sulaiko drėgmę pažeistos odos vietoje, skatina žaizdų gyjimą [155, 159, 160]. Paskelbti mokslinių tyrimų rezultatai rodo, kad tai netoksiška, nedirginanti medžiaga: alergija vilnų riebalams yra retas reiškinys [159, 161–163], o siekiant sumažinti alerginių reakcijų pasireiškimo galimybę, vilnų riebalai gryninami pašalinant laisvuosius alkoholius, detergentų likučius [156, 159].

Publikuotų mokslinių tyrimų duomenimis, skvarbą į odą gali pagerinti odos hidratacija, dėl ko palengvėja vaistinių medžiagų absorbcija pro raginį sluoksnį [15, 48, 117], todėl pagalbine medžiaga pasirinkome glicerolį, kuris difunduoja į SC, palaiko drėgmės kiekį odoje, keičia raginio sluoksnio struktūrą ir taip didina medžiagų skvarbą [15, 30–32].

3.3.2. Pirmos grupės tiriamų emulsinių sistemų v/a, v/a/v stabilumo vertinimas

Pirmos grupės tiriamos v/a/v emulsinės sistemos formuluotė buvo gaminama dviem etapais, naudojant vilnų riebalus (be vandens), išgrynintą vandenį ir poliakrilo rūgšties polimerinių emulsiklių PTR1 ir PTR2 mišinį (0,4 proc.). Emulsijos vanduo-aliejus gamybai buvo naudojamas alyvuogių aliejus (40 proc.), vilnų riebalai (be vandens) – (6 proc.), išgrynintas vanduo (54 proc.) (žr. 2.4.2 lentelėje). Pradinės v/a ir v/a/v emulsinės sistemos buvo saugomos 9 paras 25 ± 2 °C temperatūroje, drėgmė buvo 65 ± 5 proc., matuojama klampa ($\text{mPa} \times \text{s}$), pH, emulsinių lašelių dydis ($d_{\text{vid.}}$, μm). Matavimai buvo atliekami emulsijos pagaminimo dieną, po 1 paros, po 2 parų, po 3 parų, po 6 parų, po 9 parų ($n = 5$). V/A emulsinės sistemos klampa pagaminimo dieną lyginant su emulsinės sistemos klampa po 9 parų buvo 4,72 proc. mažesnė ir mažėjo nuo $2534,2 \pm 37,302$ $\text{mPa} \times \text{s}$ iki $2185,1 \pm 205,786$ $\text{mPa} \times \text{s}$, o pH didėjo (nuo $6,12 \pm 0,1$ iki $6,21 \pm 0,1$). Nustatyta, kad v/a emulsinės sistemos klampa ir terpės rūgštingumas kito statistiškai nereikšmingai visą tyrimo laiką ($p > 0,05$). Trinarės v/a/v emulsijos klampa, emulsiją laikant (25 ± 2 °C) temperatūroje skyrėsi statistiškai nereikšmingai ($p > 0,05$) visą tyrimo laiką: praėjus 24 valandoms po emulsinės sistemos pagaminimo, klampa mažėjo 0,97 proc. ($p > 0,05$) ir kito nuo $3265,5 \pm 42,959$ $\text{mPa} \times \text{s}$ iki $3216,9 \pm 14,99$ $\text{mPa} \times \text{s}$, ($n=3$). V/A/V emulsijos pH didėjo (nuo $5,5 \pm 0,1$ iki $5,8 \pm 0,1$) nereikšmingai ($p > 0,05$). Nustatyta, kad v/a/v emulsinės sistemos klampa ir terpės rūgštingumas kito nereikšmingai visą tyrimo laiką ($p > 0,05$). Atlikus centrifugavimo testą nustatyta, kad pagamintos trinarės emulsijos išsisluoksniavimo indeksas CI pagaminimo dieną

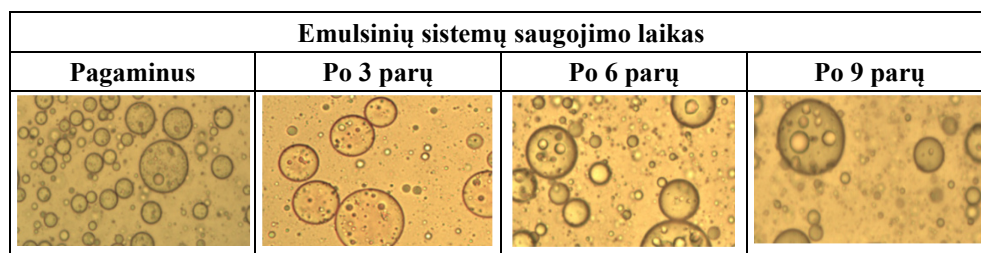
buvo $11,42 \pm 0,23$, o po 9 parų stebėjimo laiko buvo $12,26 \pm 0,16$, $p \leq 0,05$. Didėjant emulsiniams lašeliams, reikšmingai didėjo išsisluoksniavimo indeksas. V/a emulsiniai lašeliai, mėginius laikant 25 ± 2 °C temperatūroje statistiškai reikšmingai skyrėsi po 5 parų ($p < 0,05$), po trijų parų emulsinių lašelių diametras didėjo nuo $6,68 \pm 0,239$ μm iki $9,18 \pm 0,15$ μm, o po 9 parų buvo $12,40 \pm 0,08$ μm. V/a/v emulsiniai lašeliai reikšmingai padidėjo praėjus penkioms paroms po pagaminimo. Praėjus trims paroms po emulsijų pagaminimo, emulsiniai lašeliai didėjo nuo $9,88 \pm 0,287$ μm iki $13,44 \pm 2,178$ μm, o po 9 parų buvo $19,96 \pm 0,484$ μm (3.3.2.1 pav.) Nustatyta, kad v/a/v emulsinių lašelių didėjimas reikšmingai koreliavo su v/a emulsinių lašelių didėjimu ($R^2 = 0,94$). Gauti tyrimo rezultatai rodo, kad *PemulenTM* tipo polimerinių emulsiklių PTR1+PTR1 mišinys (0,4 proc.), vilnų riebalai (6 proc.), išgrynintas vanduo, sudaro trinarę emulsinę sistemą papildomai nenaudojant mažos molekulinės masės paviršiui aktyvių medžiagų.



3.3.2.1 pav. Pirmos tiriamų v/a, v/a/v mėginių grupės emulsinių lašelių diametro didėjimo dinamika saugant 25 ± 2 °C temperatūroje, drėgmė 75 ± 5 proc., 9 paras

Pradinių eksperimentinių v/a, v/a/v mėginių emulsinių lašelių mikrostruktūros vaizdas pagaminus, po 3 ir 9 parų, saugant 25 ± 2 °C temperatūroje (žr. 3.3.2.1 lentelėje) patvirtina, kad sudaryta sistema – trinarė emulsija, kurią saugant nurodytomis sąlygomis, vyksta tiek vidinių tiek išorinių lašelių koalescencija. Emulsinių lašelių dydžio pokytis visą tyrimo laiką nedarė reikšmingos įtakos gelio emulsijos klampai, tačiau išsisluoksniavimo indeksas didėjo reikšmingai, o v/a/v emulsiniai lašelių didėjimas koreliavo su v/a emulsijos emulsinių lašelių didėjimu, todėl, siekiant sukurti stabilią sistemą, kurios išsisluoksniavimo indeksas būtų lygus 0, kita eksperimentų serija buvo skirta stabilizuoti v/a emulsiją.

3.3.2.1 lentelė. Pirmos tiriamų v/a/v mėginių grupės emulsinių lašelių mikrostruktūros nuotraukos po 3 ir 9 parų saugojimo 25 ± 2 °C temperatūroje, (dididinama 400 kartų), drėgmė 75 ± 5 proc.



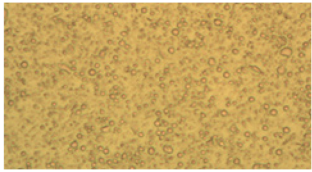
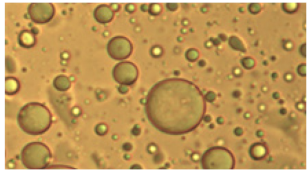
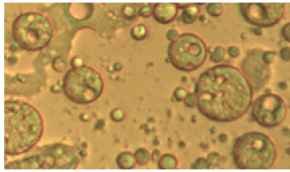
3.4. Antros tiriamų emulsinių sistemų grupės stabilumo vertinimas

Siekiant stabilizuoti v/a emulsiją, atlikta eksperimentinių emulsijų atranka (žr. 2.4.2 lentelė). Atrinkta stabili v/a emulsijos sudėtis (3.4.1 lentelėje). V/A emulsinės sistemos, kuriose emulsiklis – avių vilnų riebalai, tyrinėjo eilė mokslininkų [104, 157, 164–166]. Sheraz ir kt. sukūrė v/a stabilų pagrindą su askorbo rūgštimi, kurio lipofilinė fazė sudarė 32 proc., avių vilnų riebalai 21 proc., cetilo alkoholis 4 proc. ir nustatė terpės rūgštingumo, lipofilinės fazės, humektanto įtaką naujai sukurtos emulsijos su askorbo rūgštimi stabilumui [104]. Mūsų atrinktos stabilios v/a emulsijos, gamamos su skirtingais aliejais (alyvuogių, mineraliniu, ricinų, saulėgrąžų), buvo geltonos spalvos dėl jose esančio lanolino [157, 167]. Visos pagamintos emulsijos buvo homogeniškos, neišsisluoksniavo, nepakito jų spalva, saugant 3 mėnesių tyrimo laikotarpį.

3.4.1 lentelė. Stabilių eksperimentinių emulsijų puskiečių formų sudėtis

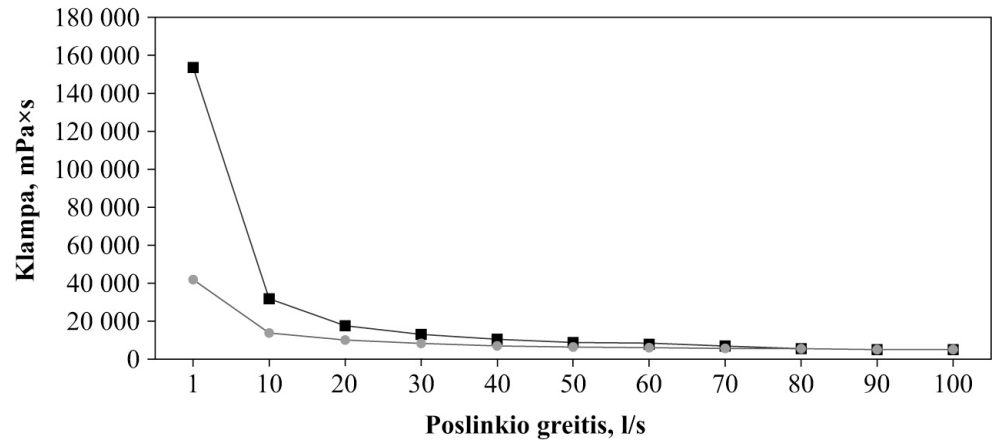
v/a emulsija	v/a/v emulsija	a/v emulsija
- Alyvuogių aliejus – 55 proc. - Avių vilnų riebalai – 23 proc. - Cetilo alkoholis – 2 proc. - Glicerolis – 5 proc. - Išgrynintas vanduo – 15 proc.	- Alyvuogių aliejus – 25 proc. - Avių vilnų riebalai – 9,2 proc. - Cetilo alkoholis – 0,8 proc. - Glicerolis – 2 proc. - Išgrynintas vanduo* – 6 proc. - Išgrynintas vanduo – 59,0 proc. - Fenoksietanolis – 0,5 proc. - NaOH 18 proc. – 0,1 proc. - PTR1 0,2 proc. - PTR2 0,2 proc.	- Alyvuogių aliejus – 25 proc. - Avių vilnų riebalai – 9,2 proc. - Cetilo alkoholis – 0,8 proc. - Glicerolis – 2 proc. - Išgrynintas vanduo – 65,0 proc. - Fenoksietanolis – 0,5 proc. - NaOH 18 proc. – 0,1 proc. - PTR1 0,2 proc. - PTR2 0,2 proc.

3.4.2 lentelė. *Pusiaus kietų emulsinių sistemų mikrostruktūros nuotraukos, didinta 400 kartų*

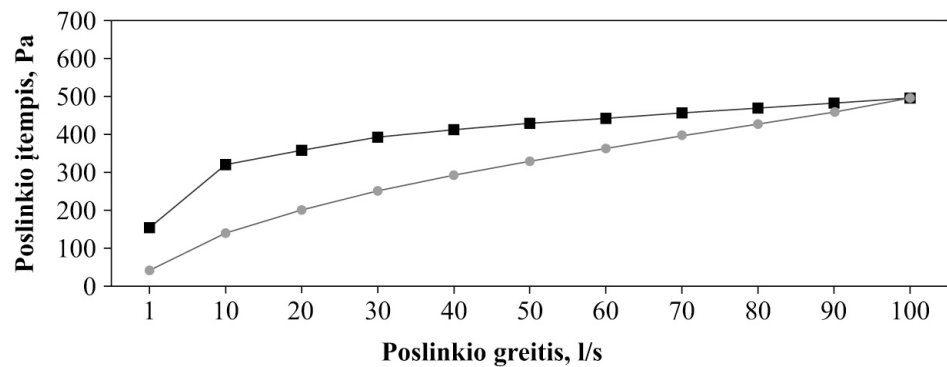
Emulsinės sistemos		
v/a	a/v	v/a/v
		

Darėme prielaidą, kad v/a emulsija, kurios sudėtis pateikta 3.4.1 lentelėje, o mikrostruktūra žr. 3.4.2 lentelėje yra stabili (žr. 3.4.4 lentelėje). Kita eksperimentų serija buvo atliekama siekiant modeliuoti stabilią trinarę emulsiją, vertinti gautos trinarės emulsijos reologines savybes. Reologines emulsijų, pagamintų su *Pemulen*TM tipo emulsikliais PTR1, PTR2 ir jų mišiniais savybes, tyrė daugelis mokslininkų: Mostafa Shahin ir kt. tyrė vaisto nešiklio sudėties įtaką stabilumui, reologinėms savybėms ir vaisto atpalaidavimui, kai emulsikliais buvo naudojami PTR1, PTR2 bei jų mišiniai ir buvo nustatyta, kad a/v emulsinės sistemos, pagamintos su mažiau hidrofobišku *Pemulen*TM tipo emulsikliu PTR1, turi didesnę takumo indeksą nei emulsinės sistemos, pagamintos su labiau hidrofobišku emulsikliu PTR2. Emulsijos takumo indeksas naudojant *Pemulen*TM tipo emulsiklius didėjo, didinant polimero koncentraciją, o emulsijos klampa priklausė tiek nuo emulsiklio tipo (emulsijos su emulsikliu PTR1 pasižymėjo didesne klampa nei emulsijos su emulsikliu PTR2), tiek nuo aliejinės fazės [86, 117]. Marie-France Bobin ir kt., vertindama tiriamų mėginių reologines savybes, nustatė, kad emulsijos su polimeriniu emulsikliu PTR1 be gelifikuojančio agento yra nestabilios [85]. Reologinių savybių vertinimas plačiai naudojamas charakterizuojant v/a/v emulsijas, vertinant jų stabilumą [53, 55, 112, 168, 169]. Tiriamų mėginių (a/v, v/a/v) reologines savybes vertinome praėjus 24 val. po pagaminimo (emulsijų sudėtis, mikrostruktūra žr. 3.4.1, 3.4.2 lentelėse). Osciliacijos testas atliktas intervale 1–40 rad/s. Tekėjimo testas atliktas deformacijos greitį keičiant intervale 1–100–1 l/s, 22–32 °C [112, 134]. Pasirinkta temperatūra artima odos paviršiaus temperatūrai, tokiomis sąlygomis nustatytos reologinės savybės buvo artimos mėginio vartojimo sąlygoms. Tiriamų emulsijų tekėjimo kreivių aprašymui pasirinkome Oswald lygtį, kuri aprašo neniutoninių skysčių elgesį veikiant tam tikroms deformacijoms, kadangi visos tiriamų mėginių reogramos atitinka (*Power Law*) matematinį modelį ($R^2 = 0,929–0,996$). Didėjant poslinkio gradientui didėjo poslinkio įtempimas ir mažėjo klampa, kas rodė, jog gautos emulsijos pasižymi

pseudoplastinėmis savybėmis (3.4.1, 3.4.2 pav.) [170]. Publikuotais mokslinių tyrimų duomenimis, konsistencijos koeficiento didėjimas, tekėjimo indekso mažėjimas parodo pirminės struktūros suirimą [133]. Stabilių a/v, v/a/v emulsinių sistemų konsistencijos koeficientas bei takumas temperatūrai kintant nuo 22 °C iki 32 °C kito nereikšmingai ($p \leq 0,05$), kas rodė, jog temperatūros pokytis nuo 22 °C iki 32 °C nesuardė sistemų struktūros.



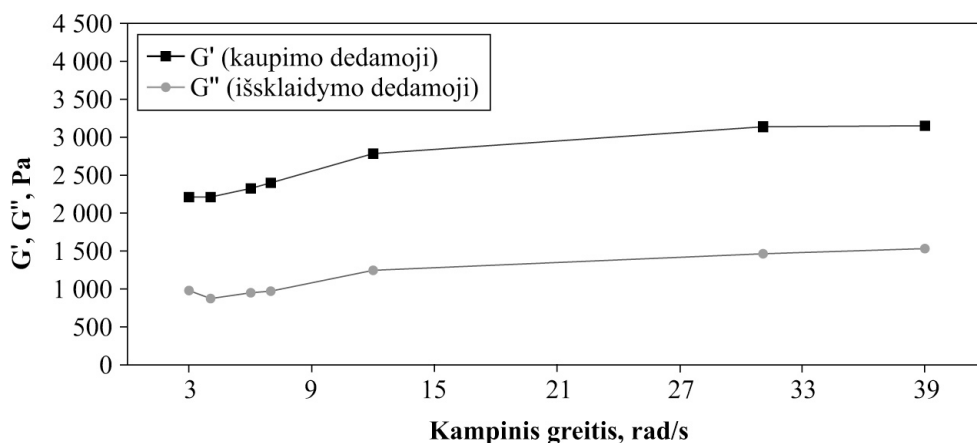
3.4.1 pav. Eksperimentinės v/a/v emulsijos su alyvuogių aliejumi tekėjimo kreivės 22–32 °C temperatūroje



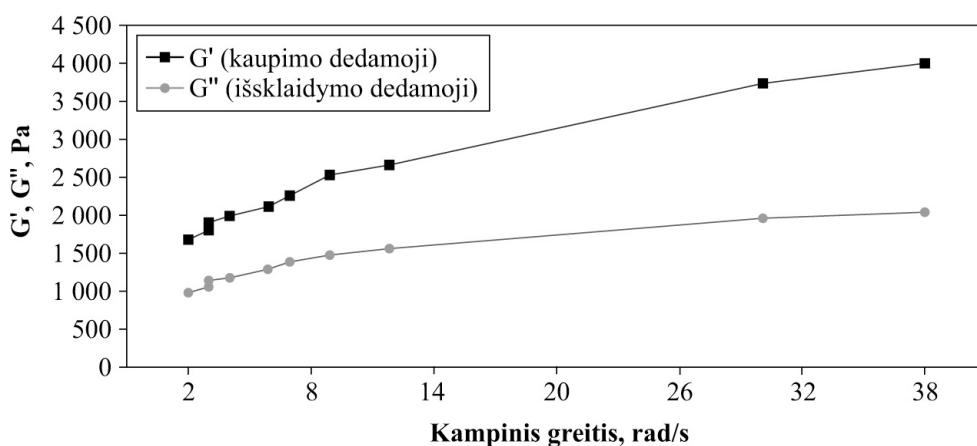
3.4.2 pav. Eksperimentinės v/a/v emulsijos su alyvuogių aliejumi tekėjimo kreivės 22–32 °C temperatūroje

Pagal elastingumo modulį (G') buvo vertinamos tiriamų emulsijų elastingos savybės, o pagal klampios modulį (G'') – klampiosios savybės. Fazių kampas $\tan \delta = (G''/G')$ apibūdina santykį tarp matuojamos emulsijos klampios ir elastingumo. Kai fazių kampas 90°, medžiaga – idealus skystis, o kai 0° – medžiaga idealiai elastinga. Šiuos du modulius sieja kompleksinis modulis ($G^* = G' + iG''$), kur $i = -1$. Iš reogramų matyti, kad tiriamų mėginių

klampos modulis G' yra didesnis už G'' , tai leidžia teigti, kad tiriamų mėginių struktūra yra gelinė, stabili [7, 53, 112, 134] (žr. 3.4.3, 3.4.4 pav.). Gauti rezultatai patvirtino mūsų hipotezę, kad naudojant emulsiklių PTR1 ir PTR2 mišinį galimos stabilios a/v ir v/a/v gelio emulsijos papildomai nenaudojant paviršiui aktyvių ir / ar gelifikuojančių medžiagų, literatūroje yra duomenų, kad naudojant PTR1 ar PTR2 atskirai gaminamos emulsijos yra nestabilios [85, 86, 92, 137, 171].



3.4.3 pav. Eksperimentinės v/a/v emulsijos su alyvuogių aliejumi elastingumo modulio (G') ir klampos modulio (G'') reograma 22 °C temperatūroje



3.4.4 pav. Eksperimentinės v/a/v emulsijos su alyvuogių aliejumi elastingumo modulio (G') ir klampos modulio (G'') reograma 32 °C temperatūroje

Tolesnė eksperimentų serija buvo atliekama siekiant įvertinti lipofilinės fazės įtaką v/a/v emulsijos fizikinėms savybėms, stabilumui vertinti. Nustatyta, kad mažiausias vidutinis lašelių dydis buvo emulsijų su ricinų ir saulėgrąžų aliejais lyginant su vidutiniu lašelių dydžiu emulsijų, kurių lipofilinė fazė buvo alyvuogių aliejus ar skystasis parafinas ($p \leq 0,05$) (žr. 3.4.3 lentelėje).

3.4.3 lentelė. Eksperimentinių v/a/v emulsijų fizikinės savybės

Mėginiai	CI	VELD, μm	pH	Elektrinis laidumas, $\mu\text{S/cm}$	Klampa, $\text{mPa}\cdot\text{s}$
E03N	0	$8,6 \pm 0,64$	$6,30 \pm 0,05$	$232,0 \pm 2,1$	12912 ± 262
V03N	0	$9,8 \pm 0,93$	$6,20 \pm 0,02$	$183,0 \pm 1,7$	15540 ± 342
S03N	0	$6,4 \pm 0,41$	$5,64 \pm 0,06$	$273,0 \pm 1,8$	11896 ± 256
R03N	0	$6,9 \pm 0,36$	$5,68 \pm 0,02$	$368,0 \pm 1,3$	16750 ± 368

* Pasikliautinio reikšmingumo lygmuo $p \leq 0,05$.

3.4.4 lentelė. Eksperimentinių v/a/v emulsijų centrifūgavimo testas 6 mėnesių saugojimo laikotarpiu

Mėginiai	t, °C	Tyrimo trukmė, paromis								
		1	7	14	30	60	90	120	150	180
E03N	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	25	0	0	0	0	0	0	x	x	x
	38	0	0	0	0	0	0	x	x	x
V03N	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	38	0	0	0	0	0	0	0	0	0
R03N	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	38	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S03N	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	38	0	0	0	0	0	0	0	0	0

x – stebimas neišmatuojamas lipofilinės fazės lašelių atsiskyrimas.

Emulsinių lašelių dydis, jų koncentracija – tai parametrai, darantys įtaką emulsijos išvaizdai, tekstūrai ir stabilumui [172]. Eksperimentinių v/a/v emulsijų su skirtinga lipofiline faze (alyvuogių aliejumi, ricinų aliejumi, saulėgrąžų aliejumi, skystuoju parafinu) emulsinių lašelių dydžio (d , μm) vidurkis 6 mėnesių saugojimo laikotarpiu, emulsijas laikant 25 ± 5 °C (drėgmė 65 ± 5 proc.), išliko nepakitęs. Stabilių v/a/v emulsijų emulsinių lašelių

dispersijos skaičiavimai pagal skirtingo dydžio lašelių užimamą tūrį parodė, kad emulsijose su skystuoju parafinu ir alyvuogių aliejumi dominavo emulsiniai lašeliai, kurių diametras buvo nuo 5 iki 10 μm , o emulsijose su ricinų ir saulėgrąžų aliejais dominavo emulsiniai lašeliai, kurių diametras buvo nuo 0,5 iki 5 μm . Centrifuguojant 10 000 aps./min. greičiu, emulsijų su saulėgrąžų, ricinų, skystuoju parafinu išsisluoksniavimo indeksas buvo lygus 0, o emulsijos su alyvuogių aliejumi po 4 mėnesių sugojimo buvo stebimi neišmatuojami atsiskyrusios aliejinės fazės lašeliai, nors emulsijos klampa, terpės rūgštingumas, konduktyvumas reikšmingai nepakito. Elektrinis laidumas (konduktyvumas) reikšmingai mažėjo emulsijų su skystuoju parafinu, kas rodė pokyčius emulsinės sistemos viduje, tačiau sistemos klampa, emulsinių lašelių dydis reikšmingai nepakito, emulsija neisisluoksniavo visą tyrimo laiką.

3.5. Antros tiriamų emulsinių sistemų grupės stabilumo tyrimas, panaudojus konservantus

Siekiant išvengti mikrobinio užterštumo į kosmetinius gaminius, į pusiau kietas vaistų formas yra dedami konservantai, kurie sunaikina mikroorganizmų ląstelių membranas ar keičia fermentų aktyvumą ir baltymų sintezę [173, 174]. Konservantai, naudojami mažais kiekiais, pasižymi baktericidinėmis, bakteriostatinėmis ir fungicidinėmis savybėmis, jie gali būti natūralūs ir sintetiniai. Publikuotų mokslinių tyrimų duomenimis, aktyvesni yra sintetiniai konservantai bei jų mišiniai [174]. Konservantams priskiriami ir antioksidantai, oksidacijos inhibitoriai. Literatūroje išskiriami tokie pagrindiniai konservantams keliami reikalavimai: platus antimikrobio aktyvumo spektras, jie turi būti tirpūs vandenyje bei saugūs vartoti. Be to, konservantai ar jų mišinys turi būti suderinami su visomis kitomis sistemos sudedamosiomis dalimis, neturi prarasti aktyvumo dėl sąveikos su sistemoje esančiais komponentais, o konservanto pridėjimas neturi turėti įtakos produkto vartojimo savybėms: negali suteikti sistemai kvapo ar reaguoti su sistemos komponentais, keisdamas sistemos kvapą, spalvą [174]. Mokslinėse publikacijose aptikta, kad *PemulenTM* polimeriniai emulsikliai nepalaiko bakterijų ar grybelių dauginimosi ir yra suderinami su daugeliu konservantų [96], tačiau publikuotų emulsinių sistemų stabilumo tyrimų su skirtingais konservantais, neaptikta.

Eksperimentų serija buvo atlikta siekiant ištirti plataus spektro veikimo konservantų (fenoksietanolio, benzilo alkoholio su dehidroacto rūgštimi), didinančių atsparumą gramteigiamoms ir gramneigiamoms bakterijoms, grybeliams ir pelėsiams, įtaką pusiau kietos formos emulsinio v/a/v nešiklio,

kurio sudėtis pateikta 3.4.1 lentelėje, stabilumui. Sintetiniai konservantai fenoksietanolis ir benzilo alkoholis su dehidroacto rūgštimi bei antioksidantas tokoferolio acetatas pastaruoju metu plačiai naudojami gaminant kosmetines priemones. Siekdami įvertinti šių konservantų bei antioksidanto įtaką emulsijų sedimentaciniam ir agregatiniam stabilumui, gaminome emulsijas su maksimaliu kosmetikos produktuose leidžiamu (Europos Parlamento ir Tarybos reglamentas Nr. 1223/2009, V priedas), konservanto bei antioksidanto kiekiu. Atlikome emulsijų stabilumo testus: centrifūgavimą, emulsinių lašelių dydžio, dinaminės klampos matavimus (3.5.1 lentelė).

3.5.1 lentelė. *Konservantų ir antioksidanto (tokoferolio) didžiausios naudojamos koncentracijos įtaka emulsinių sistemų E03N stabilumui*

Konservantas	Saugojimo laikas, paromis	pH	VELD, μm	Dinaminė klampa, $\text{mPa}\cdot\text{s}$	$\text{CI}_{10\ 000}$
Be konservanto	0	$5,67 \pm 0,01$	$7,82 \pm 0,68$	12912 ± 225	0
	30	$5,95 \pm 0,02$	$8,24 \pm 0,49$	13012 ± 128	0
	60	$5,81 \pm 0,02$	$8,29 \pm 0,63$	13191 ± 98	0
	90	$5,85 \pm 0,03$	$8,68 \pm 0,36$	12938 ± 186	0
Fenoksietanolis (1 proc.)	0	$5,56 \pm 0,01$	$7,87 \pm 0,49$	12960 ± 117	0
	30	$5,76 \pm 0,01$	$8,18 \pm 0,49$	13086 ± 166	0
	60	$5,66 \pm 0,02$	$8,26 \pm 0,52$	13189 ± 203	0
	90	$5,58 \pm 0,01$	$8,36 \pm 0,23$	13176 ± 263	0
Benzilo alkoholis, dehidroacto rūgštis (0,8 proc.)	0	$5,71 \pm 0,01$	$7,72 \pm 0,72$	12896 ± 189	0
	30	$5,78 \pm 0,03$	$7,98 \pm 0,38$	12952 ± 116	0
	60	$5,85 \pm 0,02$	$7,86 \pm 0,68$	12989 ± 156	0
	90	$5,75 \pm 0,02$	$8,25 \pm 0,32$	12936 ± 124	0
Tokoferolio acetatas (2 proc.)	0	$5,57 \pm 0,01$	$7,83 \pm 0,66$	12989 ± 213	0
	30	$5,68 \pm 0,02$	$7,98 \pm 0,98$	12979 ± 223	0
	60	$5,60 \pm 0,03$	$8,23 \pm 0,48$	12989 ± 216	0
	90	$5,71 \pm 0,01$	$8,64 \pm 0,22$	12992 ± 137	0

Nustatyta, kad pasirinkti konservantai ir antioksidantas (tokoferolio acetatas) yra tinkami dėl šių priežasčių: nekeitė dalelių dydžio bei terpės rūgštingumo, nekito emulsijų kvapas, spalva, jos neišsiluksniavo laikant trijų mėnesių laikotarpiu bei centrifūguojant (10 000 aps./min. greičiu 5 min.) (žr. 3.5.1, 3.5.2 lentelėse).

3.6. Pusiau kietos farmacinės formos stabilų a/v, v/a/v emulsinių sistemų įtakos odos drėgmės pokyčiui vertinimas

Viena iš svarbiausių pusiau kieto preparato nešiklio funkcijų – apsauginė [22–28]. Daugeliu tyrimų patvirtinta, kokia svarbi nešiklio sąveika su oda [4, 24, 28, 72, 175]. Tiriamų pusiau kietos farmacinės formos nešiklių poveikis odos SC drėgmės pokyčiui taikomas kaip indikatorius vertinant teigiamą ar neigiamą nešiklio poveikį odos barjerinėms funkcijoms [119]. Matuojama TEVN parodo kondensuoto vandens difuziją pro SC [176], o padidėjusi TEVN parodo odos barjerinių funkcijų pažeidimą, dėl ko mažėja drėgmės kiekis ir oda išsausėja [72, 131]. Publikuotų tyrimų rezultatų duomenimis, aktyvių ingredientų skvarbą į odą gali pagerinti odos hidratacija [15, 29]. Tokios pagalbinės medžiagos, kaip etanolis, propilenglikolis, glicerolis, keičia raginio sluoksnio struktūrą, didina medžiagų skvarbą [15, 30–32]. Tiriamų pusiau kietų nešiklių sudėtyje ištirpintas glicerolis, kuris, kaip ir kiti gerai žinomi polioliai (polierilenglikolis, etandiolis), puikiai tirpus vandenyje, higroskopiškas [30, 177], difunduoja į SC, palaiko drėgmės kiekį odoje, gerina veikliųjų medžiagų skvarbą per odą [30, 178]. Drėkinamasis glicerolio poveikis priklauso nuo jo absorbuoto kiekio į SC [179], o koncentracija ir nešiklio sudėtis yra pagrindiniai faktoriai siekiant maksimalaus glicerolio poveikio [180–182]. Tiriamų a/v ir v/a/v pusiau kietų emulsinių sistemų cheminė sudėtis vienoda, o glicerolis, a/v sistemoje ištirpintas vandens terpėje, o trinarės emulsinės sistemos aliejaus lešelių vandens fazėje. Biomedicininis tyrimas buvo atliktas etapais. Pirmasis etapas buvo skirtas standartizuoti tiriamųjų savanorių grupę pagal odos fiziologinius parametrus, antrasis etapas – nustatyti ir įvertinti tiriamų preparatų trumpalaikį poveikį odos drėkinimui 5 valandų laikotarpiu, trečiasis etapas buvo skirtas įvertinti tiriamų formuluočių poveikį odos drėkinimui atliekant ilgalaikį 28 parų tyrimą.

3.6.1. Pusiau kietos farmacinės formos emulsinių nešiklių įtakos trumpalaikiui odos drėkinimui vertinimas

Tyrimo tikslas buvo nustatyti trumpalaikį pusiau kietos farmacinės formos a/v ir v/a/v emulsinių nešiklių drėkinamąjį poveikį odai po vienkartinio formuluotės užtepimo ant odos. Tyrime dalyvavusios savanorės suskirstytos į dvi grupes A ir B, abi grupės pagal amžių buvo homogeniškos ($N = 40$, $n = 20$), palyginamos (*Mann-Whitney*, *Wilcoxon* testas, $p = 0,46$) (3.6.1.1 lentelėje). A grupės savanorėms dešinės rankos dilbio vidinė dalis buvo tepama trinare emulsine sistema (E03N), o kairės rankos dilbio vidinės dalies oda netepama, B grupės savanorėms dvinarė emulsinė sistema

(E02N) buvo tepama dešinės rankos dilbio vidinė dalis, kairės rankos oda netepama.

3.6.1.1 lentelė. Trumpalaikio odos drėkinimo tyrime dalyvavusių savanorių sudėtis grupėje A ir grupėje B pagal amžių, N=40

	Tiriamųjų grupės	
	*Grupė A	**Grupė B
Tiriamųjų skaičius	20	20
Amžiaus vidurkis	42,65	42,95
Amžiaus mediana	44,5	45
Standartinis nuokrypis	16,33	13,155
Min	21	21
Max	66	66
Mann-Whithney testas	p = 0,46	

*tepama mėginiu E03A; **tepama mėginiu E02N.

3.6.1.2 lentelė. Trumpalaikio odos drėkinimo tyrime dalyvavusių savanorių odos drėgmės kiekis pradinio momentu (prieš tepant mėginius E02N (grupė B), E03N (grupė A))

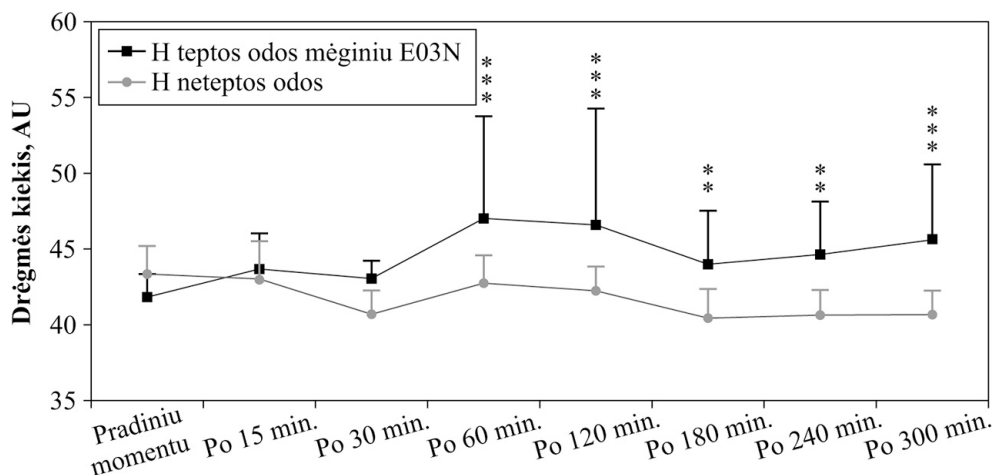
Tiriamųjų grupės	Odos drėgmės kiekis (AU)		
	Netepamos odos	Tepamos odos	p reikšmė
A	43,373 ± 1,831	41,864 ± 1,489	0,162
B	44,150 ± 4,343	42,600 ± 4,156	0,281

Visų tiriamųjų oda buvo sveika. Tiriamųjų A grupėje pradinis odos drėgmės kiekio skirtumas kairės ir dešinės rankų dilbio odos matuojamose zonose buvo nereikšmingas ($p \leq 0,05$): tepamos odos $41,864 \pm 1,489$, netepamos odos $43,373 \pm 1,831$, $p \geq 0,05$ (3.6.1.2 lentelė).

A ir B grupių tiriamųjų odos būklės pirminio vertinimo metu nustatyta, kad nebuvo reikšmingo skirtumo tarp tepamos ir netepamos rankų drėgmės kiekio, transepiderminio vandens netekties, pigmentacijos, odos riebumo, keratino kiekio, lygumo.

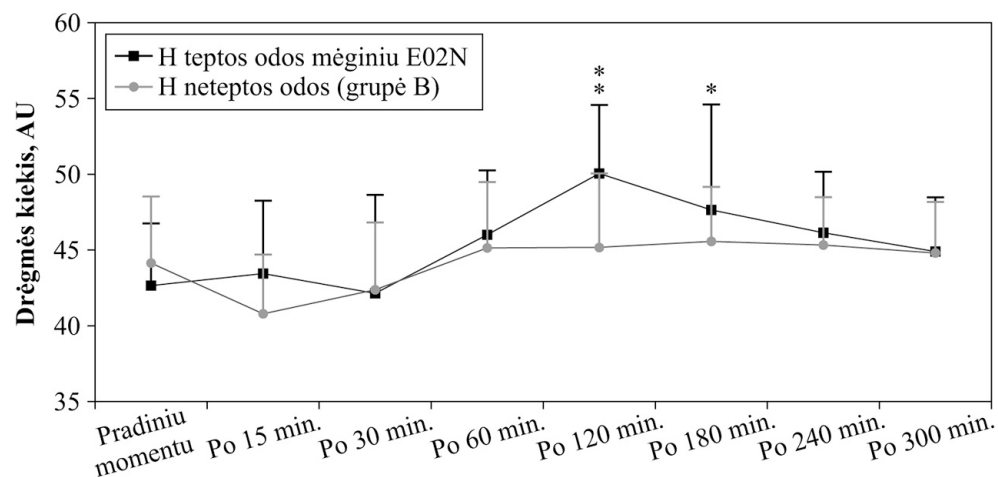
Tepamos rankos odos drėgmė reikšmingai padidėjo praėjus 60 min. po vienkartinio odos tepimo mėginiu E03N. Teptos odos drėgmė didėjo ir po 60 min. buvo (12,471 proc.) didesnė nei prieš tepant mėginiu ir išliko reikšmingai didesnė visą penkių valandų matavimo laiką ($p \leq 0,05$). Po 5 valandų buvo 9,11 proc. didesnė nei tyrimo pradžioje (3.6.1.1 pav.). Publikuotais mokslinių tyrimų duomenimis, odos drėkinimo dydį iš dalies gali sąlygoti lipofilinė medžiaga, kuri padengia odą ir daugiau ar mažiau sudaro okliuzinį

sluoksnį, kuris apsaugo nuo transepiderminio vandens netekties bei nuo vandens, esančio emulsijos išoriniame sluoksnyje [183], be to, *PemulenTM* tipo polimeriniai emulsikliai greitai atpalaiduoja aliejinę fazę kontakte su odos paviršiaus elektriniu krūviu bei esančiomis druskomis [89].



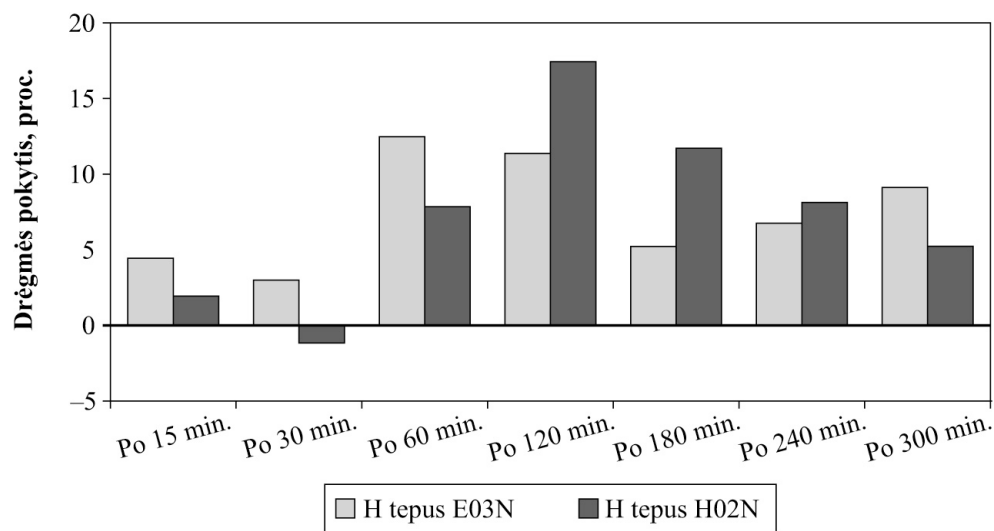
3.6.1.1 pav. Emulsinės sistemos E03N poveikis odos drėkinimui 5 valandų laikotarpiu po vienkartinio užtepimo, lyginama su tyrime dalyvavusių savanorių odos drėgmės kiekiu pradiniu momentu.

Tiriamųjų B grupėje, pradinis matuojamos odos drėgmės kiekio skirtumas tepamos ir netepamos rankų buvo nereikšmingas ($p \geq 0,05$) (žr. 3.6.1.2 lentelėje). Netepamos rankos dilbio vidinės dalies odos drėgmė penkių valandų laikotarpiu išliko nepakitusi, o dešinės rankos dilbio vidinės dalies oda, po vienkartinio E02N mėginio užtepimo reikšmingai pakito praėjus 120 min. (17,42 proc.), po 180 min. buvo (11,7 proc.), o po 240 min. matuojamos odos drėgmės kiekis reikšmingai nesiskyrė nuo drėgmės kiekio prieš tepant mėginį E02N (3.6.1.2 pav.).



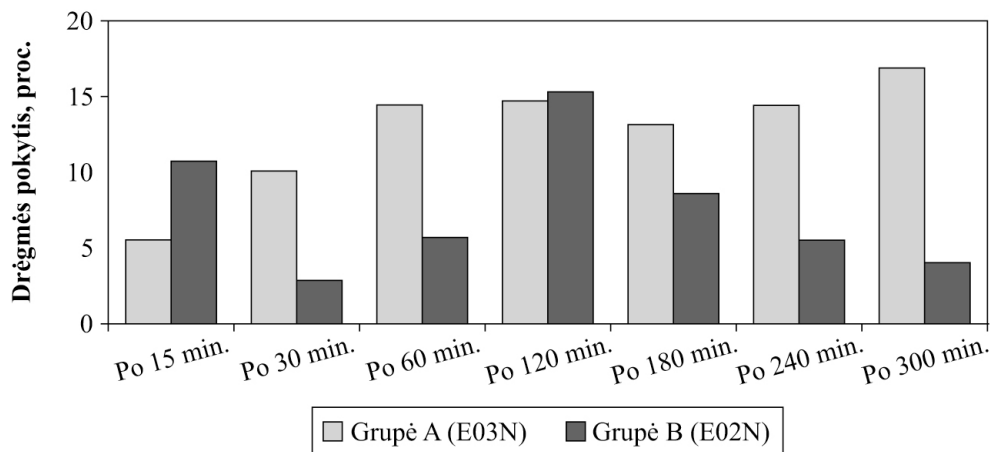
3.6.1.2 pav. Emulsinės sistemos E02N poveikis odos drėkinimui 5 valandų laikotarpiu po vienkartinio užtepimo, lyginama su tyrime dalyvavusių savanorių odos drėgmės kiekiu pradiniu momentu

Odos drėgmės (proc.) pokytis, lyginant su pradiniu odos drėgmės kiekiu (proc.) penkių valandų laikotarpiu buvo skaičiuojamas pagal 5 formulę, pa-vaizduota 3.6.1.3 paveiksle.



3.6.1.3 pav. Odos drėgmės proc. pokytis penkių valandų laikotarpiu tepus E02N ar E03N, lyginama su pradiniu odos drėgmės kiekiu

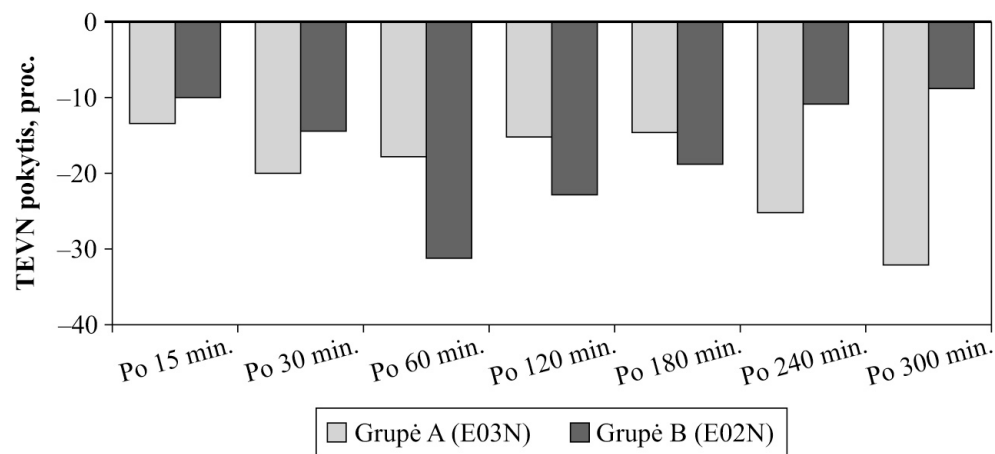
Tiriamų nešiklių įtaka odos drėgmės kiekiui, lyginant su netepamos odos drėgme, buvo skaičiuojama taikant 6 formulę (žr. 2.5. „Taikyti tyrimo metodai ir metodika“), pavaizduota 3.6.1.4 paveiksle. Drėgmės (proc.) pokytis tepus a/v emulsine sistema praėjus 120 minučių po mėginio užtepimo buvo didesnis nei tepus mėginiu E03N, tačiau drėkinamasis poveikis praėjus penkioms valandoms nuo mėginių užtepimo, buvo didesnis tepus mėginiu E03N. Penkių valandų odos drėgmės matavimo rezultatai rodo, kad v/a/v emulsinė formuluotė E03N pasižymi ilgalaikiu, nepertraukiamu odos drėkinimu, o tai dera su publikuotų tyrimų gautomis išvadomis, kad trinarės emulsijos sėkmingai gali būti taikomos ilgalaikiam, nepertraukiamam, kontroliuojamam veikliųjų medžiagų atpalaidavimui [22, 60, 72].



3.6.1.4 pav. *Tiriamų mėginių (E02N, E03N) poveikis odos drėkinimui 5 val. laikotarpiu po vienkartinio tepimo mėginiu, lyginant su netepamos odos drėgmės kiekiu*

A grupės tiriamųjų odos TEVN po vienkartinio tepimo trinare emulsija, nuolat mažėjo ir statistiškai reikšmingai buvo mažesnė lyginant su pradine TEVN po 5 val. ($p \leq 0,001$). B grupės tiriamųjų matuojamos odos TEVN mažėjo ir buvo reikšmingai mažesnė lyginant su neteptos odos TEVN po 60 min. ($p \leq 0,001$) ir išliko reikšmingai mažesnė dar dvi valandas (praėjus 2 val. po vienkartinio tepimo buvo mažesnė nei prieš tepant mėginiu (E02N), ($p \leq 0,001$). Po keturių valandų, lyginant su pradine TEVN, reikšmingo skirtumo nebuvo ($p > 0,05$).

TEVN pokytis (proc.) penkių valandų laikotarpiu tepus a/v (B grupė) ar v/a/v (A grupė), lyginama su pradiniu neteptos odos TEVN buvo skaičiuojamas pagal 7 formulę (žr. 2.5. „Taikyti tyrimo metodai ir metodika“) ir pavaizduota 3.6.1.5 paveiksle.



3.6.1.5 pav. Odos transepiderminio vandens netekties (proc.) pokytis 5 val. laikotarpiu tepus v/a/v (A grupė) ar a/v (B grupė), lyginama su pradiniu netepto TEVN kiekiu

Nustatyta, kad grupėje, kurioje buvo tepta trinarė v/a/v emulsija, odos transepiderminio vandens netektis, lyginant su pradiniu matavimo duomenimis, buvo reikšmingai mažesnė ($p \leq 0,001$) po 5 valandų, o grupėje, kurioje buvo tepta a/v emulsija TEVN, buvo reikšmingai mažesnė po valandos laiko ir išliko reikšmingai mažesnė dar dvi valandas, tačiau po keturių, penkių valandų TEVN nesiskyrė nuo pradinio matavimo metu ($p > 0,05$) (3.6.1.3 lentelė).

3.6.1.3 lentelė. Teptos ir neteptos tiriamųjų odos drėgmės kiekio ir transepiderminio vandens netekties palyginimas A ir B grupėse, kai naudojama dvinarė (a/v) ar trinarė v/a/v emulsijos penkių valandų laikotarpiu po vienkartinio kremo užtepimo

Matuojami dydžiai	Tiriamųjų grupės	Laikas paromis	U (neteptama oda)	T (teptama oda)
Transepiderminio vandens netektis ($\text{g/m}^2/\text{h}$)	Grupė A	D0	$9,23 \pm 2,59$	$9,20 \pm 2,826$
		D5	$9,44 \pm 3,70$	$6,24 \pm 1,44^{**}$
	Grupė B	D0	$7,96 \pm 0,70$	$7,69 \pm 0,75$
		D5	$7,54 \pm 0,75$	$7,02 \pm 0,96$
Drėgmės kiekis (AU)	Grupė A	D0	$43,37 \pm 1,83$	$41,86 \pm 1,49$
		D5	$40,68 \pm 1,56$	$45,70 \pm 4,88^{**}$
	Grupė B	D0	$44,15 \pm 4,34$	$42,60 \pm 4,16$
		D5	$44,70 \pm 3,43$	$44,82 \pm 3,67$

D0 – pradinis matavimas; D5 – praėjus 5 valandoms po vienkartinio mėginio užtepimo; * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,001$.

Nustatyta, kad pusiau kietos farmacinės formos emulsiniai nešikliai E02N ir E03N pasižymi skirtingu momentiniu odos drėkinamuoju, barjerinės funkcijas apsaugančiu efektu. Formuluoatė E03N reikšmingai drėkino odą po 1 valandos ir odos drėkinamasis poveikis tęsėsi visą penkių valandų tyrimo laiką, o E02N reikšmingai drėkino po 2 valandų ir drėkinamasis efektas truko dvi valandas.

3.6.2. Pusiau kietos farmacinės formos emulsinių nešiklių poveikio ilgalaikiui odos drėkinimui nustatymas

Tyrimo tikslas buvo nustatyti ilgalaikį pusiau kietos farmacinės formos a/v ir v/a/v emulsinių nešiklių drėkinamąjį poveikį odai. Tyrime dalyvavusios savanorės suskirstytos į dvi grupes A ir B, abi grupės pagal amžių buvo homogeniškos ($N = 60$, $n = 30$), palygintinos (*Mann-Whitney*, *Wilcoxon* testas, $p = 0,80$) (3.6.2.1 lentelė).

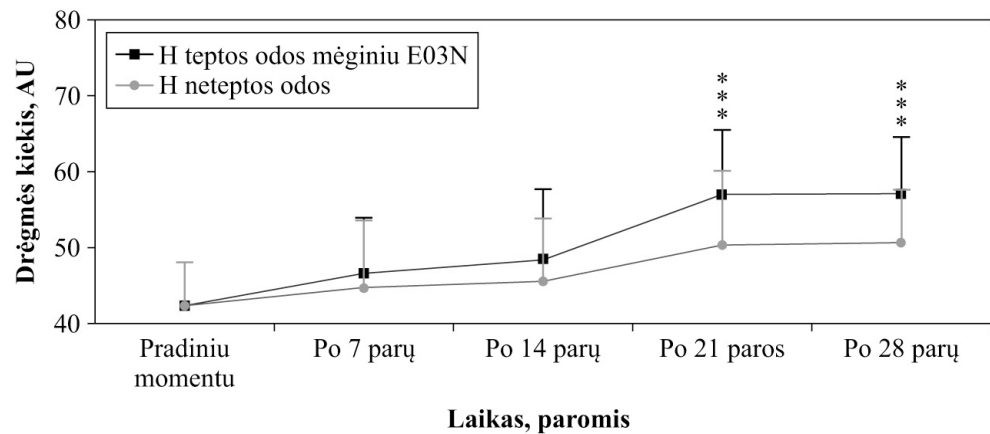
3.6.2.1 lentelė. Ilgalaikio tyrimo savanorių sudėtis grupėje A ir grupėje B pagal amžių, $N=60$

	Grupė A	Grupė B
Tiriamųjų skaičius	30	30
Amžiaus vidurkis	53,90	53,47
Mediana	57,00	53,00
Standartinis nuokrypis	11,25	9,691
Min	24,00	31,00
Max	67,00	67,00
<i>Mann-Whitney</i> testas	$p = 0,80$	

A grupės tiriamųjų odos drėgmė, du kartus per dieną (ryte ir vakare) buvo tepama mėginiu E03N, kito nuo $42,147 \pm 5,772$ iki $57,167 \pm 7,360$ ir buvo reikšmingai didesnė, lyginant su odos drėgme prieš tepant mėginiu po 21, 28 parų. Lyginant su netepama oda, pradiniu momentu tarp jų (tepamos ir netepamos odos), reikšmingo skirtumo nebuvo ($p > 0,05$), tačiau po 21 dienos ($p \leq 0,05$) ir po 28 parų mėginio naudojimo, tepamos odos drėgmė buvo reikšmingai didesnė ($p \leq 0,05$).

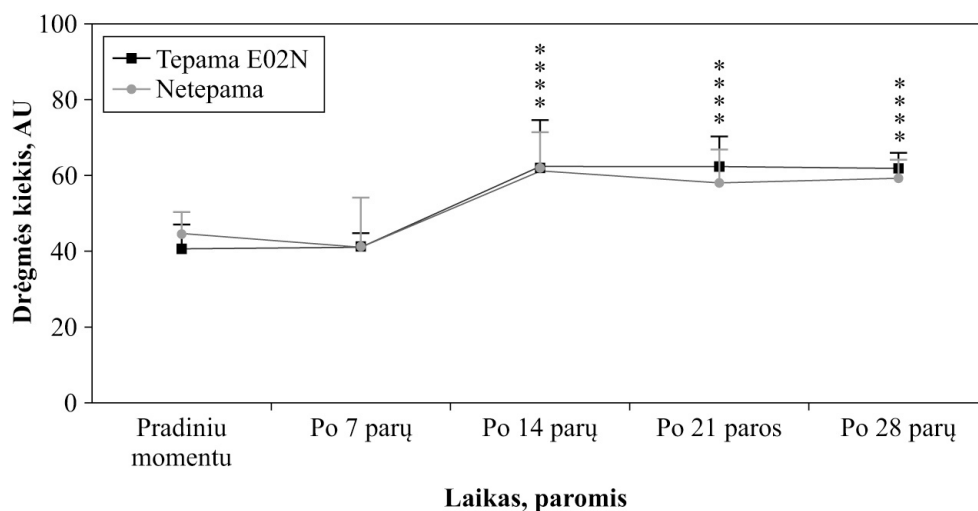
Rankos dilbio vidinės dalies odos drėgmės kiekis po 7 parų E03N naudojimo didėjo 10,57 proc., po 14 parų didėjo 14,84 proc., o po 21 ir po 28 buvo 35,2 proc. ir 35,63 proc. didesnė nei odos drėgmė prieš tepant mėginį E03N. Lyginant su netepamos odos drėgme, tepamos mėginiu E03N odos drėgmė buvo 4,77 proc. didesnė po 7 parų, po 14 parų 6,54 proc., po 21 dienos 9,2 proc. ir po 28 parų 13,08 proc. (3.6.2.1 pav.). Mėginio odos

drėgmės pokytis (proc.), lyginant su odos drėgme prieš tyrimą, buvo apskaičiuotas pagal 5 formulę (žr. 2.5. „Taikyti tyrimo metodai ir metodika“).



3.6.2.1 pav. Emulsijos v/a/v (E03N) įtaka odos drėgmės kiekiui 28 paras emulsiją tepant du kartus per dieną (ryte ir vakare), lyginama su odos drėgmės kiekiu pradiniu momentu, $n = 30$;
 $*p \leq 0,05$, $**p \leq 0,001$, $***p \leq 0,0001$

B grupės tiriamųjų odos drėgmė tepant E02N mėginiu, kito nuo $40,9 \pm 6,2$ iki $61,7 \pm 4,3$. Statistiškai reikšmingai odos drėgmė padidėjo po 14 dienos tepus odą mėginiu E02N ($p \leq 0,05$). Lyginant odos drėgmės kiekį pradiniu momentu ir po 7, 14, 21, 28 parų tepimo du kartus per dieną mėginiu E02N, nustatyta, kad matuojamos odos drėgmė po 14 parų didėjo 52 proc., po 21 dienos didėjo 52,2 proc., o po 28 parų buvo 57 proc. didesnė nei pradiniu momentu, tačiau lyginant su neteptos dilbio vidinės dalies odos drėgmės kiekiu, statistiškai reikšmingo skirtumo nebuvo: po 7 parų ($p > 0,05$), po 14 parų ($p > 0,05$), po 21 dienos ($p > 0,05$), po 28 parų ($p > 0,05$), o tepant trinare emulsine sistema, po 21, 28 parų sirtumas tarp tepamos ir netepamos rankų odos drėgmės buvo statistiškai reikšmingas ($p \leq 0,05$) (3.6.2.2 pav., 3.6.2.2 lentelė).



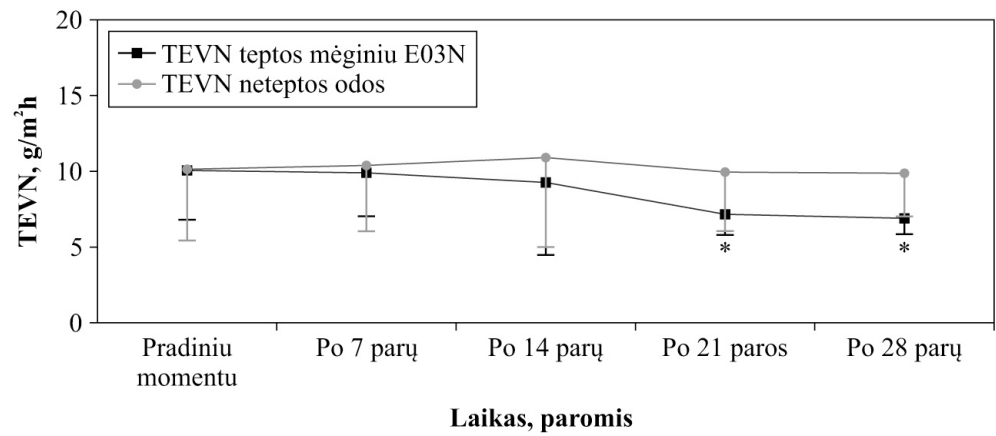
3.6.2.2 pav. Emulsinės sistemos a/v (E02N) įtaka odos drėkinimui, 28 paras emulsiją tepant du kartus per dieną (ryte ir vakare), lyginama su odos drėgmės kiekiu pradiniu momentu, $n = 30$; $*p \leq 0,05$, $**p \leq 0,001$, $***p \leq 0,0001$

3.6.2.2 lentelė. Teptos ir neteptos tiriamųjų odos drėgmės kiekio ir transepiderminio vandens netekties palyginimas A ir B grupėse, kai naudojama dvinarė (a/v) ir trinarė v/a/v emulsijos 28 paras tepant mėginius du kartus per dieną

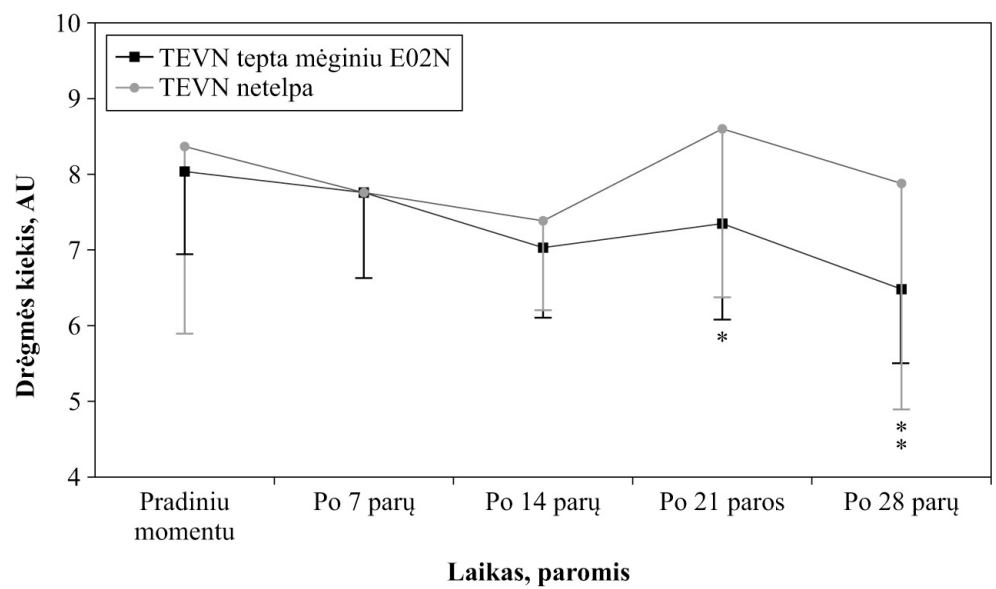
Matuojami dydžiai	Tiriamųjų grupės	Laikas paromis	U (netepama oda)	T (tepama oda)
Transepiderminio vandens netektis ($\text{g/m}^2/\text{h}$)	Grupė A	D0	$10,14 \pm 4,71$	$10,05 \pm 5,25$
		D28	$9,85 \pm 2,85$	$6,87 \pm 1,05^*$
	Grupė B	D0	$8,39 \pm 2,49$	$8,05 \pm 1,11$
		D28	$7,88 \pm 2,98$	$6,50 \pm 0,99^*$
Drėgmės kiekis (AU)	Grupė A	D0	$42,29 \pm 5,73$	$42,15 \pm 5,77$
		D28	$50,72 \pm 6,89$	$57,17 \pm 7,36^*$
	Grupė B	D0	$44,36 \pm 5,94$	$40,87 \pm 6,16$
		D28	$59,07 \pm 5,10$	$61,71 \pm 4,27$

Matavimo dydžiai pateikiami vidurkis $\pm$ standartinis nuokrypis (SD); D0 – pradinis matavimas, D28 – 28 paras tepus mėginiu; $*p < 0,05$; $**p \leq 0,001$.

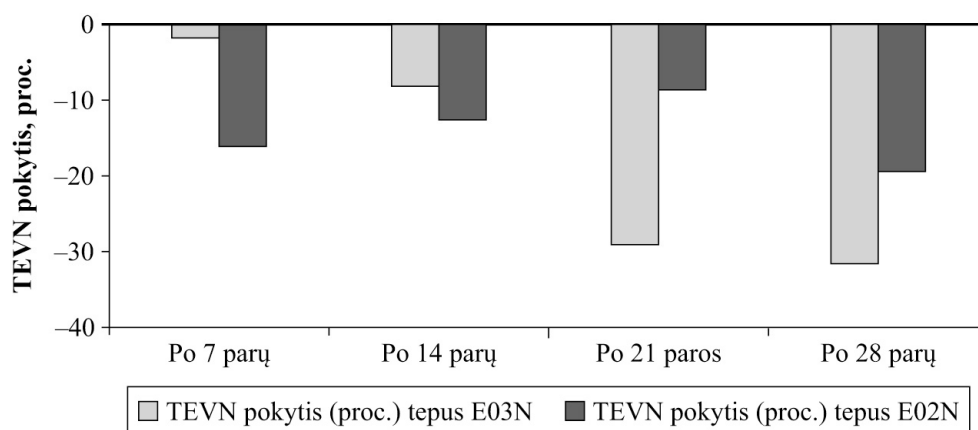
Nustatyta, kad naudojant naujai sukurtos sudėties (trinarę (v/a/v) ar dvinarę (a/v) emulsinę sistemą (3.4.1 lentelėje), transepiderminio vandens netektis reikšmingai sumažėjo, lyginant su pradiniu odos TEVN po 21 ir 28 parų (3.6.2.3, 3.6.2.4 pav.).



3.6.2.3 pav. Emulsijos v/a/v (E03N) poveikis odos TEVN ($\text{g/m}^2/\text{h}$), 28 paras emulsiją tepant du kartus per dieną (ryte ir vakare), lyginant su TEVN pradiniu momentu, $n = 30$; $*p \leq 0,05$



3.6.2.4 pav. Emulsijos a/v (E02N) poveikis odos TEVN ($\text{g/m}^2/\text{h}$), 28 paras emulsiją tepant du kartus per dieną (ryte ir vakare) lyginant su TEVN pradiniu momentu, $n = 30$; $*p \leq 0,05$



3.6.2.5 pav. *Odos transepiderminio vandens netekties pokytis (proc.), 28 paras tepant mėginius E02N ar E03N du kartus per dieną (ryte ir vakare), lyginama su TEVN ($\text{g/m}^2/\text{val.}$) pradiniu momentu*

Atliktų eksperimentų serija parodė, kad kasdienis a/v, v/a/v emulsinių sistemų naudojimas 28 paras, padarė teigiamą poveikį odos drėkinimui išsaugant apsauginę funkciją bei išlaikant drėgmę odoje nepažeidžiant specialios dvisluoksnės lipidų struktūros SC bei nepadidinant TEVN. Odos drėkinamasis efektas koreliavo su TEVN $R^2 = -0,9811$, $p \leq 0,05$. TEVN buvo matuojamas norint įvertinti dviejų priemonių (t. y. E02N ir E03N) įtaką apsauginei odos funkcijai. Odos drėgmės parametrai buvo naudojami TEVN rezultatams patvirtinti, kadangi sumažėjus TEVN padidėja odos drėgmės kiekis, tokiu būdu skatinamas vandens išlaikymas [119, 127, 184].

Nustatyta, kad v/a/v emulsija užtikrina patikimą ir ilgalaikį drėkinamąjį poveikį, sulėtina vandens netekimą garuojant bei labiau patenkina idealaus pusiau kietos formos vaistų nešiklio reikalavimus nei tokios pačios cheminės sudėties a/v emulsinė sistema. Gauti duomenys dera su kitų mokslininkų, tyrusių trinarų emulsinių sistemų įtaką odos barjerinėms funkcijoms, gautais rezultatais [184]. Manome, kad drėkinamąjį efektą lėmė tiek trinarės emulsijos struktūros savybės, tiek aliejinės fazės, kaip sudėtinės dalies, savybė suformuoti apsauginę plėvelę ant odos paviršiaus, tuo būdu sumažinant kondensuoto vandens netekimą iš odos, tiek mikrogelio struktūros įtaka, kuri turi stiprią vandens rišlumo gebą ir gali tiekti skirtingai surištą vandenį etapais, tiek humektanto glicerolio savybių efektyvesnis poveikis įterpus jį į trinarę emulsinę sistemą.

IŠVADOS

1. Ištyrus aliejaus kilmės įtaką emulsijų stabilumui nustatyta, kad, gaminant a/v tipo emulsijas, kurių lipofilinė fazė yra mineralinis aliejus (skystasis parafinas), susidarančių emulsinių lašelių vidutinis dydis yra mažesnis palyginti su augalinės kilmės aliejų pagrindu pagamintų emulsijų, tačiau emulsinių lašelių vidutinio dydžio skirtumas, eksperimento duomenimis, nebuvo reikšmingas skirtingos prigimties emulsinių sistemų stabilumui. Emulsijų su alyvuogių aliejumi laikymo temperatūra (tarp 8 °C ir 38 °C) nedarė reikšmingos įtakos emulsinių lašelių dydžio pokyčiui, kai, tuo tarpu, emulsijų su saulėgrąžų, ricinų ir mineraliniu (skystojo parafino) aliejais emulsinių lašelių vidutinis dydžio pokytis keičiant laikymo temperatūrinį režimą nuo 8 iki 38 °C skyrėsi reikšmingai. Nepaisant šio skirtumo, emulsijų, pagamintų naudojant alkilakrilo krosopolimerinius emulsiklius, stabilumą didžiausia dalimi nulėmė emulsijos fazių tūrio santykis ir gaminamų emulsijų vandeninės fazės rūgštingumas.
2. Eksperimentiniais tyrimais įrodyta, kad pasirinkti alkilakrilo krosopolimerinių emulsiklių PTR1 ir PTR2 mišiniai leidžia modeliuoti stabilias emulsines sistemas. Tyrimų metu pastebėtas polimerinių emulsiklių sinergijos efektas suteikia galimybę mažinti a/v, v/a/v emulsinių sistemų gamyboje naudojamų pagalbinių medžiagų dalį receptūroje.
3. Emulsijos, pagamintos panaudojus alkilakrilo krosopolimerinių emulsiklių PTR1, PTR2 mišinius sistemų stabilumo aspektu yra suderinamos su pasirinktais sintetiniais konservantais (fenoksietanolis, benzilo alkoholis, dehidroacto rūgštis) ir antioksidantu tokoferolio acetatu.
4. Stabilus pusiau kietos farmacinės formos emulsinis nešiklis, kurio sudėtis: alyvuogių aliejus 25 proc., cetilo alkoholis 0,8 proc., glicerinas 2 proc., išgrynintas vanduo 65 proc., fenoksietanolis 0,5 proc., natrio šarmas 0,1 proc., PTR1 0,2 proc., PTR2 0,2 proc., reikšmingai drėkina odą, mažindamas transepiderminio vandens netekimą. Trumpalaikio penkių valandų tyrimo metu odos drėgmės kiekio matavimai po vienkartinio v/a/v mėginio užtepimo parodė, kad tiriamojo emulsinio nešiklio trumpalaikis drėkinamasis efektas reikšmingai didėjo praėjus vienai valandai po užtepimo ir tęsėsi visą penkių valandų tyrimo laiką, o užtepus a/v emulsinį nešiklį, odos drėkinamasis efektas reikšmingas buvo po dviejų valandų ir truko dvi valandas. Ilgalaikio tyrimo metu emulsinį pagrindą tepant ant odos du kartus per dieną nustatytas drėkinamasis efektas statistiškai reikšmingai pasireiškė po 21, 28 parų.

BIBLIOGRAFIJOS SĄRAŠAS

1. Tadros TF. Future developmens in cosmetic formulations. *International Journal of Cosmetic Science*. 1992 ;14(3):93-111.
2. Goddard ED, Gruber JV, editors. *Principles of polymer science and technology in cosmetics and personal care*: CRC Press; 1999 .
3. Valenta C, Auner BG. The use of polymers for dermal and transdermal delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2004;58(2):279-89.
4. Alexander A, Khichariya A, Gupta S, Patel RJ, Giri TK, et al. Recent expansions in an emergent novel drug delivery technology: Emulgel. *Journal of Controlled Release*. 2013;171(2):122-32.
5. Junginger HE, Verhoef JC. Macromolecules as safe penetration enhancers for hydrophilic drugs—a fiction? *Pharmaceutical Science & Technology Today*. 1998;1(9):370-6.
6. Lueder M, Mongiat S, Deshayes C. A flexible formulation concept for skin care applications. *SÖFW-journal*. 2002;128(3):26-30.
7. Kaur LP. Topical gel: a recent approach for novel drug delivery. *Asian journal of biomedical and pharmaceutical sciences*. 2013;3(17):1.
8. Savic S, Milic J, Vuleta G, Primorac M. Physical characteristics of o/w emulsions based on acrylate polymeric emulsifiers or combination polymeric emulsifier/non-ionic emulsifier. *STP pharma sciences*. 2002;12(5):321-7.
9. Grinceviciene S, Kubiliene L, Ivanauskas K, Drasutiene GS, Ramasauskaite D, Grincevicius J, et al. Experiences of community pharmacists advising pregnant women. *Int J Clin Pharm*. 2015;37(4):636-44.
10. Kizevičienė E, Jonaitienė L, Daukšienė J, Dieninytė E., Pečiūra R. Augalinės kilmės aliejų, naudojamų pusiau kietų vaistų formų gamyboje Lietuvos vaistinėse, asortimento tyrimas. *Sveikatos mokslai/Health Sciences*. 2016;26(6):42-6.
11. Olejnik A, Goscianska J, Nowak I. Active compounds release from semisolid dosage forms. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012;101(11):4032-45.
12. Gupta P, Garg S. Semisolid dosage forms for dermatological application. *Pharmaceutical technology*. 2002:144-62.
13. Nagelreiter C, Kratochvilova E, Valenta C. Dilution of semi-solid creams: Influence of various production parameters on rheological properties and skin penetration. *International Journal of Pharmaceutics*. 2015;478(2):429-38.
14. Singh Malik D, Mital N, Kaur G. Topical drug delivery systems: a patent review. *Expert opinion on therapeutic patents*. 2016;26(2):213-28.
15. Chang R-K, Raw A, Lionberger R, Yu L. Generic development of topical dermatologic products: formulation development, process development, and testing of topical dermatologic products. *The AAPS journal*. 2013;15(1):41-52.
16. Maitri S, Modi D, Shah D. A new future approach in novel drug delivery system through micro-emulgel: review *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2016;5(5):243-59.
17. Garg T, Rath G, Goyal AK. Comprehensive review on additives of topical dosage forms for drug delivery. *Drug Delivery*. 2015;22(8):969-87.
18. Joshi B, Singh G, Rana AC, Saini S, Singla V. Emulgel: a comprehensive rewiew on the recent and advances in topical drug delivery. *Int Res J Pharm*. 2011;2(11):66-70.

19. Surber C, Smith EW. The mystical effects of dermatological vehicles. *Dermatology*. 2005;210(2):157-68.
20. Shah VP, Yacobi A, Rădulescu FȘ, Miron DS, Lane ME. A science based approach to topical drug classification system (TCS). *International journal of pharmaceutics*. 2015;491(1–2):21-5.
21. Ueda CT, Shah VP, Derdzinski K, Ewing G, Flynn G, Maibach H, et al., editors. Topical and transdermal drug products. In *Pharmacopeial Forum*; 2009 (Vol.35.No.3,pp 750-764)
22. Mahrhauser D, Nagelreiter C, Baierl A, Skipiol J, Valenta C. Influence of a multiple emulsion, liposomes and a microemulsion gel on sebum, skin hydration and TEWL. *International Journal of Cosmetic Science* 2015;37(2):181-6.
23. Verdier-Sévrain S, Bonté F. Skin hydration: a review on its molecular mechanisms. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2007;6(2):75-82.
24. Rehman K, Zulfakar MH. Recent advances in gel technologies for topical and transdermal drug delivery. *Drug development and industrial pharmacy*. 2014;40(4): 433-40.
25. Lodén M. Effect of moisturizers on epidermal barrier function. *Clinics in Dermatology*. 2012;30(3):286-96
26. Lee Chun-Man. Fifty years of research and development of cosmeceuticals: a contemporary review. *Journal Of Cosmetic Dermatology*. 2016;(0):1-13.
27. Jiang ZX, DeLaCruz J. Appearance benefits of skin moisturization. *Skin research and technology*. 2011;17(1):51-5.
28. Sharif A, Akhtar N, Khan M, Menaa A, Menaa B, Khan B, et al. Formulation and evaluation on human skin of a water-in-oil emulsion containing Muscat hamburg black grape seed extract. *International journal of cosmetic science*. 2015;37(2):253-8.
29. Björklund S, Engblom J, Thuresson K, Sparr E. A water gradient can be used to regulate drug transport across skin. *Journal of Controlled Release*. 2010;143(2):191-200.
30. Fluhr JW, Darlenski R, Surber C. Glycerol and the skin: holistic approach to its origin and functions. *The British journal of dermatology*. 2008;159(1):23-34.
31. Rawlings A, Harding C. Moisturization and skin barrier function. *Dermatologic therapy*. 2004;17(s1):43-8.
32. Srivastava P. Excipients for semisolid formulations. *Excipient Development for Pharmaceutical, Biotechnology, and Drug Delivery Systems*. 2006:197. Available at: <https://doi.org/10.1201/9781420004137.ch13>
33. Williams AC, Barry BW. Penetration enhancers. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2012;64:128-37.
34. Viljoen JM, Cowley A, Du Preez J, Gerber M, Du Plessis J. Penetration enhancing effects of selected natural oils utilized in topical dosage forms. *Drug development and industrial pharmacy*. 2015;41(12):2045-54.
35. Budiyanto A, Ahmed NU, Wu A, Bito T, Nikaido O, Osawa T, et al. Protective effect of topically applied olive oil against photocarcinogenesis following UVB exposure of mice. *Carcinogenesis*. 2000;21(11):2085-90.
36. Buhse L, Kolinski R, Westenberger B, Wokovich A, Spencer J, Chen CW, et al. Topical drug classification. *International journal of pharmaceutics*. 2005;295(1):101-12.

37. Narasimha Murthy S, Shivakumar HN. CHAPTER 1 - Topical and Transdermal Drug Delivery A2 - Kulkarni, Vitthal S. Handbook of Non-Invasive Drug Delivery Systems. Boston: William Andrew Publishing; 2010. p. 1-36.
38. Osborne DW. Review of changes in topical drug product classification. *Pharmaceutical Technology*. 2008;32(10):66-74.
39. Jeong C, Han J, Cho J, Suh K, Nam G. Analysis of electrical property changes of skin by oil-in-water emulsion components. *International journal of cosmetic science*. 2013;35(4):402-10.
40. Csizmazia, Eszter. Drug permeation study through biological membrane barriers. PhD Thesis. Szte. 2011.
41. Bhowmik Debjit, et al. Recent advances in novel topical drug delivery system. *The Pharma Innovation*. 2012;1(9).
42. Walters KA, Brain KR. 14 Topical and Transdermal Delivery. *Pharmaceutical preformulation and formulation: a practical guide from candidate drug selection to commercial dosage form*. 2016:475.
43. Kikwai L, Babu RJ, Prado R, Kolot A, Armstrong CA, Ansel JC, et al. In vitro and in vivo evaluation of topical formulations of spantide II. *Aaps Pharmscitech*. 2005;6(4):E565-E72.
44. Torin Huzil J, Sivaloganathan S, Kohandel M, Foldvari M. Drug delivery through the skin: molecular simulations of barrier lipids to design more effective noninvasive dermal and transdermal delivery systems for small molecules, biologics, and cosmetics. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*. 2011;3(5):449-62.
45. Žilnius M. Dermatologinių puskiečių formų su propolio produktais modeliavimas, optimizavimas ir biofarmacinis vertinimas. Doctoral dissertation, Lithuanian University of Health Sciences. 2014.
46. Eros I, Abu-Eida EY, Csoka I, Sánta Z, Cserne A, Kövér T. Optimization of drug release from dermatological semisolid preparations. *Drug development research*. 2003;59(3):316-25.
47. Majhi PR. Topical Drug Delivery: Needs and Strategies. *Journal of Surface Science and Technology*. 2015;31(1-2):107-16.
48. Eccleston GM. Functions of mixed emulsifiers and emulsifying waxes in dermatological lotions and creams. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 1997;123–124:169-82.
49. Karadzovska D, Brooks JD, Monteiro-Riviere NA, Riviere JE. Predicting skin permeability from complex vehicles. *Advanced drug delivery reviews*. 2013;65(2):265-77.
50. Bernardo FP, Saraiva PM. A theoretical model for transdermal drug delivery from emulsions and its dependence upon formulation. *Journal of pharmaceutical sciences*. 2008;97(9):3781-809.
51. Otto A, Du Plessis J, Wiechers J. Formulation effects of topical emulsions on transdermal and dermal delivery. *International journal of cosmetic science*. 2009;31(1):1-19.
52. Foldvari M. Non-invasive administration of drugs through the skin: challenges in delivery system design. *Pharmaceutical science & technology today*. 2000;3(12):417-25.
53. Vasiljevic D, Vuleta G, Primorac M. The characterization of the semi-solid W/O/W emulsions with low concentrations of the primary polymeric emulsifier. *International Journal of Cosmetic Science*. 2005;27(2):81-7.

54. Patravale VB, Mandawgade SD. Novel cosmetic delivery systems: an application update. *International journal of cosmetic science* 30. 2008;30(1):19-33.
55. De Chily, Pierre Charlier, and Mikaele Raynard. Lanolin substitute, production method thereof and applications of same. U.S. Patent No. 8,420,842. 16 Apr. 2013.
56. Purushottam SS, Bhaskarrao GS, Ravindra S. Gellified Emulsion: A New Born Formulation For Topical Delivery Of Hydrophobic Drugs. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2013;3:233-51.
57. Herbert AL MM, Gilbert SB. Pharmaceutical emulsions, pharmaceutical dosage forms: disperse system. *Disperse system*. 1988;1:199-240; 85-88.
58. Smaoui S. Cosmetic emulsion from virgin olive oil: Formulation - physical evaluation *African Journal of Biotechnology*. 2012;11(40):9664-71.
59. Angare D, Giri T, Tripathi DK, Ajazuddin A. Unexplored areas and new findings in lipid emulsion serving as a potential drug carrier for lipophilic drugs: a review. *Trends Med Res*. 2012;7(1):1-24.
60. Yaqoob Khan A, Talegaonkar S, Iqbal Z, Jalees Ahmed F, Krishan Khar R. Multiple emulsions: an overview. *Current drug delivery*. 2006;3(4):429-43.
61. McClements DJ, Decker EA, Weiss J. Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *J Food Sci*. 2007;72(8)
62. Traynor MP, Burke, R., Frias, J.,M., Gaston, E., Barry-Ryan, C. Formation and stability of an oil in water emulsion containing lecithin, xantan gum an sunflower oil. *International Food Research Journal* 2013;20(5):2173-81.
63. Kumar P, Patel M, Patel K, Patel N. Emulgels: a novel approach to topical drug delivery. *Int J Univ Pharm Bio Sci*. 2013;2(1):134-48.
64. Parente ME, Ochoa Andrade A, Ares G, Russo F, Jimenez-Kairuz A. Bioadhesive hydrogels for cosmetic applications. *Int J Cosmet Sci*. 2015;37(5):511-8.
65. Garti N. Double emulsions – scope, limitations and new achievements. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 1997;123:233-46.
66. Jiao J, Rhodes DG, Burgess DJ. Multiple emulsion stability: pressure balance and interfacial film strength. *Journal of colloid and interface science*. 2002;250(2):444-50.
67. Garti N, editor. *Influence of the Formulation on the characteristics and stability of multiple Emulsions*. Paris: Editors de Sante; 1988.
68. Garti N. Progress in stabilization and transport phenomena of double emulsions in food applications. *Lebensm-Wiss Technology*. 1997;30(3):222-35.
69. Garti N, Bisperink, C. Double emulsions progress and applications. *Colloid Interface Sci*. 1998;3(6):657-67.
70. Bibette J, Morse D, Witten T, Weitz D. Stability criteria for emulsions. *Physical review letters*. 1992;69(16):2439.
71. Benichou A, Aserin A, Garti N. Double emulsions stabilized with hybrids of natural polymers for entrapment and slow release of active matters. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2004;108:29-41.
72. Heinrich K, Heinrich U, Tronnier H. Influence of Different Cosmetic Formulations on the Human Skin Barrier. *Skin Pharmacology & Physiology*. 2014;27(3):141-7.
73. Matsumoto S, Kita Y, Yonezawa D. An attempt at preparing water-in-oil-in-water multiple-phase emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*. 1976;57(2):353-61.
74. Florence AT, Whitehill D. Stabilization of water/oil/water multiple emulsions by polymerization of the aqueous phases. *The Journal of pharmacy and pharmacology*. 1982;34(11):687-91.

75. Puglia C, Bonina F. Effect of polyunsaturated fatty acids and some conventional penetration enhancers on transdermal delivery of atenolol. *Drug delivery*. 2008; 15(2):107-12.
76. Charoo NA, Shamsher AA, Kohli K, Pillai K, Rahman Z. Improvement in bioavailability of transdermally applied flurbiprofen using tulsi (*Ocimum sanctum*) and turpentine oil. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*. 2008;65(2):300-7.
77. Zadymova NM. Colloidochemical aspects of transdermal drug delivery (review). *Colloid Journal*. 2013;75(5):491-503.
78. Jannin V, Musakhanian J, Marchaud D. Approaches for the development of solid and semi-solid lipid-based formulations. *Advanced drug delivery reviews*. 2008;60(6):734-46.
79. Boonme P, Maneenuan D. Effect of emulsifier pairs on physical stability of emulsions containing three different natural oils. *International Journal Of Pharmaceutical Compounding*. 2014;18(6):516-9.
80. Mathur AM, Drescher B, Scranton AB, Klier J. Polymeric emulsifiers based on reversible formation of hydrophobic units. *Nature*. 1998;392(6674):367-70.
81. Singla V, Saini S, Joshi B, Rana A. Emulgel: A new platform for topical drug delivery. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2012;3(1):485-98.
82. Lochhead R. Water-soluble polymers: solution adsorption and interaction characteristics. *Cosmetics and toiletries*. 1992;107(9):131-56.
83. Hemker W. Universal oil-in-water polyelectrolyte emulsifiers for advanced cosmetic product formulation. *SÖFW Seifen, Öle, Fette, Wachse*. 1990;116(14):505-8.
84. Bremecker K-D, Koch B, Krause W, Neuenroth L. Application-triggered drug release from an o/w-emulsion. *Pharmazeutische Industrie*. 1992;54(2):182-5.
85. Bobin M-F, Michel V, Martini M-C. Study of formulation and stability of emulsions with polymeric emulsifiers. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 1999;152(1-2):53-8.
86. Shahin M, Hady SA, Hammad M, Mortada N. Optimized formulation for topical administration of clotrimazole using Pemulen polymeric emulsifier. *Drug Dev Ind Pharm*. 2011;37(5):559-68.
87. Pople PV, Singh KK. Development and evaluation of topical formulation containing solid lipid nanoparticles of vitamin A. *AAPS PharmSciTech*. 2006;7(4):E63-E9.
88. Tegeli VS, Thorat YS, Shivsharan US, Gajeli GB, Kumbhar ST, Chougule GK. Pemulen as versatile emulsifier. *International Journal of Drug Formulation and Research* 2011;2:1.
89. Wahlgren M, Christensen KL, Jørgensen EV, Svensson A, Ulvenlund S. Oral-based controlled release formulations using poly (acrylic acid) microgels. *Drug development and industrial pharmacy*. 2009;35(8):922-9.
90. Carlotti ME, Pattarino F, Gasco MR, Cavalli R. Use of polymeric and non-polymeric surfactants in o/w emulsion formulation. *International Journal of Cosmetic Science*. 1995;17(1):13-25.
91. Simovic S, Tamburic S, Milic-Askabic J, Rajic D. An investigation into interactions between polyacrylic polymers and a non-ionic surfactant: an emulsion preformulation study. *International Journal Of Pharmaceutics*. 1999;184(2):207-17.
92. Budai-Szűcs, Mária. Formulation and investigation of gel-emulsions containing polymeric emulsifiers. . PhD Thesis. Szte. 2008.
93. Kandavilli S, Nair V, Panchagnula R. Polymers in transdermal drug delivery systems. *Pharmaceutical technology*. 2002;26(5):62-81.

94. Arbuckle WB, Alleman JE. Effluent toxicity testing using nitrifiers and Microtox™. *Water environment research*. 1992;64(3):263-7.
95. Greim H, Ahlers J, Bias R, Broecker B, Hollander H, Gelbke HP, et al. Assessment of structurally related chemicals: Toxicity and ecotoxicity of acrylic acid and acrylic acid alkyl esters (acrylates), methacrylic acid and methacrylic acid alkyl esters (methacrylates). *Chemosphere*. 1995;31(2):2637-59.
96. Lubrizol Advanced Materials I. Toxicology/Regulatory/Health, Safety&Environmental Studies of Pemulen™ Polymeric Emulsifiers. Noveon consumer specialties; 2003. Contract No.: TOX-007.
97. McGrath JJ, Purkiss LQ, Eberle M, McGrath WR. Long-term effects of a cross-linked polyacrylate superabsorbent in the hamster. *J Appl Toxicol*. 1995;15(1):69-73.
98. Pakalniškytė K. Faktorių, įtakojančių tiesioginio tipo emulsijos su poliakrilo rūgšties polimeru Pemulen TR-1 stabilumą, tyrimas: Lithuanian University of Health Sciences; 2013.
99. Zondlo FM. Final report on the safety assessment of Acrylates Copolymer and 33 related cosmetic ingredients. *International journal of toxicology*. 2002;21:1.
100. Szucs M, Sandri G, Bonferoni MC, Caramella CM, Vaghi P, Szabo-Revesz P, et al. Mucoadhesive behaviour of emulsions containing polymeric emulsifier. *Eur J Pharm Sci*. 2008;34(4-5):226-35.
101. Szűcs M, Vaghi P, Sandri G, Bonferoni M, Caramella C, Szabó-Révész P, et al. Thermoanalytical and microscopical investigation of the microstructure of emulsions containing polymeric emulsifier. *Journal of thermal analysis and calorimetry*. 2008;94(1):271-4.
102. Corporation L. Determination of Brookfield Viscosity applicable products: Carbopol Polymers, Pemulen Polymeric Emulsifiers or Noveon AA-1 Polycarbophil. Lubrizol test procedure 430-1. 2010:1-5.
103. Corporation L. Bulletin 08 - Emulsification Properties.pdf. *Pharmaceutical Bulletin* October 29, 2008;8:1-8.
104. Sheraz MA, Khan MF, Ahmed S, Kazi SH, Khattak SR, Ahmad I. Factors affecting formulation characteristics and stability of ascorbic acid in water-in-oil creams. *International Journal of Cosmetic Science*. 2014;36(5):494-504.
105. Schmidts T, Dobler D, Guldán A-C, Paulus N, Runkel F. Multiple W/O/W emulsions—Using the required HLB for emulsifier evaluation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2010;372(1):48-54.
106. Simovic S, Milic-Askrabic J, Vuleta G, Ibric S, Stupar M. The Influence of Processing Variables on Performance of O/W Emulsion Gels Based on Polymeric Emulsifier (Pemulen® TR-2NF). *International journal of cosmetic science*. 1999;21(2):119-25.
107. Bernatoniene J, Cizauskaite U, Ivanauskas L, Jakstas V, Kalveniene Z, Kopustinskiene DM. Novel approaches to optimize extraction processes of ursolic, oleanolic and rosmarinic acids from *Rosmarinus officinalis* leaves. *Industrial Crops and Products*. 2016;84:72-9.
108. Varka E-M. Stability Study of O/W Cosmetic Emulsions Using *Rosmarinus officinalis* and *Calendula officinalis* Extracts. *Open Journal of Applied Sciences*. 2012;02(03):139-45.
109. Burgess J, Duffy, E., Etzler, F., Hyckey, A. Particle size analysis: AAPS Workshop report, cosponsored by the food and drug administration and the United States Pharmacopeia. *AAPS Journal*. 2004;6(3).

110. Aoki K. Size-distribution of droplets in emulsions by statistical mechanics calculation. *Journal Of Colloid And Interface Science*. 2011;360(1):256-61.
111. Liu L, Zhao Q, Liu T, Kong J, Long Z, Zhao M. Sodium caseinate/carboxymethylcellulose interactions at oil–water interface: Relationship to emulsion stability. *Food Chemistry*. 2012;132(4):1822-9.
112. Jiao J, Burgess DJ. Rheology and stability of water-in-oil-in-water multiple emulsions containing Span 83 and Tween 80. *The AAPS Journal*. 2003;5(1):62-73.
113. Cupara S. Characterization of seabuckthorn oil emulsion. *Military Medical Science Letters*. 2012;81(2):56-60.
114. Varka EM, Ampatzidis, C., Kostoglou, M., Karapantsios, T., Dutschk, V. On the use of conductance measurement for the stability of oil-in-water pickering emulsions. *Colloid and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects*. 2010;1(365):181-8.
115. Cizauskaite U, Ivanauskas L, Jakštas V, Marksiene R, Jonaitiene L, Bernatoniene J. *Rosmarinus officinalis* L. extract and some of its active ingredients as potential emulsion stabilizers: a new approach to the formation of multiple (W/O/W) emulsion. *Pharm Dev Technol*. 2016;21(6):716-24.
116. Garg A, Aggarwal D, Garg S, Singla AK. Spreading of semisolid formulations: an update. *Pharmaceutical technology*. 2002;26(9):84-105.
117. Calixto G, Yoshii AC, Rocha e Silva H, Stringhetti Ferreira Cury B, Chorilli M. Polyacrylic acid polymers hydrogels intended to topical drug delivery: preparation and characterization. *Pharm Dev Technol*. 2015;20(4):490-6.
118. Shah AA, Kamdar K, Shah R, Keraliya RA. Emulgel: a topical preparation for hydrophobic drugs. *PharmTechMedica*. 2013;2:370-6.
119. Plessis Jd, Stefaniak A, Eloff F, John S, Agner T, Chou TC, et al. International guidelines for the in vivo assessment of skin properties in non-clinical settings: Part 2. transepidermal water loss and skin hydration. *Skin Research and Technology* 2013(3):265-78.
120. Pinnagoda J, Tupker RA, Agner T, Serup J. Guidelines for transepidermal water loss (TEWL) measurement. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. *Contact Dermatitis*. 1990;22(3):164-78.
121. Bouwstra JA, Nahmoed N, Groenink HW, Ponc M. Human skin equivalents are an excellent tool to study the effect of moisturizers on the water distribution in the stratum corneum. *Int J Cosmet Sci*. 2012;34(6):560-6.
122. De Paepe K, Houben E, Adam R, Wiesemann F, Rogiers V. Validation of the VapoMeter, a closed unventilated chamber system to assess transepidermal water loss vs. the open chamber Tewameter®. *Skin research and technology*. 2005;11(1): 61-9.
123. Rogiers V, Balls M, Basketter D, Berardesca E, Edwards C, Elsner P, Ennen J, Luc J, Piérard G, Rodrigues L, Schaefer H. The potential use of non-invasive methods in the safety assessment of cosmetic products. In *Workshop (ECVAM Workshop 36) 1999 (Vol. 1, p. 3)*.
124. Fader M, Clarke-O'Neill S, Wong W, Runeman B, Farbrot A, Cottenden A. Review of methods used for quantifying excess water in over-hydrated skin using evaporimetry. *Skin Research and Technology*. 2010;16(1):1-8.
125. Boucetta KQ, Charrouf Z, Derouiche A, Rahali Y, Bensouda Y. Skin hydration in postmenopausal women: argan oil benefit with oral and/or topical use. *Przegląd menopauzalny= Menopause review*. 2014;13(5):280.

126. Imhof R, De Jesus M, Xiao P, Ciortea L, Berg E. Closed-chamber transepidermal water loss measurement: microclimate, calibration and performance. *International journal of cosmetic science*. 2009;31(2):97-118.
127. Tagami H. Electrical measurement of the hydration state of the skin surface in vivo. *British Journal of Dermatology* 2014;29-33.
128. Clarys P, Clijsen R, Taeymans J, Barel AO. Hydration measurements of the stratum corneum: comparison between the capacitance method (digital version of the Corneometer CM 825®) and the impedance method (Skicon-200EX®). *Skin Research and Technology*. 2012;18(3):316-23.
129. Berardesca E. EEMCO guidance for the assessment of stratum corneum hydration: electrical methods. *Skin Research and Technology*. 1997;3(2):126-32.
130. Almeida IF, Fernandes AR, Fernandes L, Pena Ferreira MR, Costa PC, Bahia MF. Moisturizing Effect of Oleogel/Hydrogel Mixtures. *Pharm Dev Technol*. 2008;13(6):487-94.
131. Luebbberding S, Krueger N, Kerscher M. Skin physiology in men and women: in vivo evaluation of 300 people including TEWL, SC hydration, sebum content and skin surface pH. *International journal of cosmetic science*. 2013;35(5):477-83.
132. Van der Valk PG, Kucharekova M, Tupker RA. Transepidermal water loss and its relation to barrier function and skin irritation. *Bioengineering of the Skin: Water and the Stratum Corneum*, 2005:97-104.
133. Stelmakienė A, Ramanauskienė K, Briedis V, Leskauskaitė D. Examination of rheological and physicochemical characteristics in Lithuanian honey. *African Journal of Biotechnology*. 2012;11(60):12406-14.
134. Mazurkeviciute AR, K. Ivaskiene, M. Grigonis, A. Briedis, V. Modelling and biopharmaceutical evaluation of ciclopirox olamine gels. *Acta Polonia Pharmaceutica-Drug Research*. 2017;74(2):543-9.
135. Grossiord, Jean Louis, and Monique Seiler, eds. *Multiple emulsions: structure properties and applications*: Editions de Sante; 1999:169-192.
136. Malpede A, Fumagalli S. Diethyl-hexylbutamide triazole. New UVB filter for skin protection, *Cosmet Technol(Milano)*. 2000;3:33-8.
137. Brisaert M, Plaizier-Vercammen J. Investigation of the emulsifying properties of Pemulen TR-1, an acrylic acid alkyl methacrylate copolymer. *STP pharma sciences*. 1997;7(6):438-44.
138. López-Barrón CR, Macosko CW. Rheology of compatibilized immiscible blends with droplet-matrix and cocontinuous morphologies during coarsening. *Journal of Rheology*. 2014;58(6):1935-53.
139. Moncho-Jordá A, Rotenberg B, Louis AA. Effect of polymer–polymer interactions on the surface tension of colloid–polymer mixtures. *Journal of Chemical Physics*. 2003;119(23):12667-72.
140. Lyu S JT, Bates FS, Macosko CW. Role of Block Copolymers on Suppression of Droplet Coalescence. *Macromolecules*. 2002;35(20):7845-55.
141. Sing CE, Zwanikken JW, Olvera de la Cruz M. Theory of melt polyelectrolyte blends and block copolymers: phase behavior, surface tension, and microphase periodicity. *J Chem Phys*. 2015;142(3):034902.
142. Martin JD, Velankar SS. Effects of compatibilizer on immiscible polymer blends near phase inversion. *Journal of Rheology*. 2007;51(4):669-92.
143. Gámbaro A, Parente E, Roascio A, Boinbaser L. Word Association Technique Applied to Cosmetic Products – a Case Study. *Journal of Sensory Studies*. 2014; 29(2):103-9.

144. Covas Ma-I, Nyssönen K, Poulsen HE, Kaikkonen J, Zunft H-JF, Kiese Wetter H, et al. The Effect of Polyphenols in Olive Oil on Heart Disease Risk Factors A Randomized Trial. *Annals of Internal Medicine*. 2006;145(5):333-41.
145. Viola P, Viola M. Virgin olive oil as a fundamental nutritional component and skin protector. *Clinics in Dermatology*. 2009;27(2):159-65.
146. Beauchamp GK, Keast RSJ, Morel D, Lin J, Pika J, Han Q, et al. Phytochemistry: Ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil. *Nature*. 2005;437(7055):45-6.
147. Terjung N, Löffler M, Gibis M, Hinrichs J, Weiss J. Influence of droplet size on the efficacy of oil-in-water emulsions loaded with phenolic antimicrobials. *Food & function*. 2012;3(3):290-301.
148. Kizeviciene E, Jonaitiene L, Peciura R. Evaluation of acrylates/C10-30 alcy acrylate cross-polymer mixture effectiveness on o/w type emulsion formulation. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*. 2017;74(3):937-43.
149. Juyoung Kima DNK, Sung Ho Leeb, Sang-Ho Yooa, Suyong Leea. Correlation of fatty acid composition of vegetable oils with rheological behaviour and oil uptake. *Food chemistry*. 2010;118(2):398-402.
150. Mieželienė A., Liutkevičius A., Speičienė V., Alenčikienė G. . Aliejaus mišinių su optimizuota riebalų rūgščių sudėtimi savybės bei jų pokyčiai laikymo metu. *Maisto chemija ir technologija*. 2007;41(1):54-61.
151. Santos J, Santos I, Souza A. Effect of heating and cooling on rheological parameters of edible vegetable oils. *Journal of food Engineering*. 2005;67(4):401-5.
152. Babonienė E, Jonaitienė L, Pečiūra R. "Investigation of Lipophilic Phase Influence on the Stability of Emulsions Made Using Polymeric Emulsifiers of Poly Acrylic Acid." *Sveikatos mokslai/Health Sciences* 2014; 24.6 (97): 95-99.
153. Sengupta A, Behera J. Comprehensive view on chemistry, manufacturing & applications of lanolin extracted from wool pretreatment. *American Journal of Engineering Research*. 2014;3(7):33-43.
154. Sagiri SS, Behera B, Pal K, Basak P. Lanolin-based organogels as a matrix for topical drug delivery. *Journal of Applied Polymer Science*. 2013;128(6):3831-9.
155. De Chily PC, Raynard M, inventors; Aldivia Sa, assignee. Lanolin substitute, production method thereof and applications of same. United States patent US 8,420,842. 2013 Apr 16.
156. Raymond C, Rowe, Paul, J., Sheskey, Marian, E., Quinn, editor. Handbook of pharmaceutical excipients, sixth edition. London.Chicago: Published by the Pharmaceutical Press and the American Pharmacists Association; 2009.
157. Ahmad I, Sheraz MA, Ahmed S, Bano R, Vaid F. Photochemical interaction of ascorbic acid with riboflavin, nicotinamide and alpha-tocopherol in cream formulations. *International journal of cosmetic science*. 2012;34(2):123-31.
158. Olendraitė A. Vilnų riebalų ir jų alkoholių emulsuojančių savybių tyrimas. Kaunas: Lietuvos Sveikatos Mokslų Universitetas; 2015.
159. Abou-Dakn M, Fluhr J, Gensch M, Wöckel A. Positive effect of HPA lanolin versus expressed breastmilk on painful and damaged nipples during lactation. *Skin pharmacology and physiology*. 2010;24(1):27-35.
160. Friedman D, Besonov A, Tamarkin D, Eini M. Moisturizing foam containing lanolin. Google Patents; 2013.
161. Zirwas MJ, Stechschulte SA. Moisturizer allergy: diagnosis and management. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2008;1(4):38-44.
162. Wakelin S, Smith H, White I, Rycroft R, McFadden J. A retrospective analysis of contact allergy to lanolin. *British Journal of Dermatology*. 2001;145(1):28-31.

163. Rodrigues DF, Goulart EMA. Patch-test results in children and adolescents: systematic review of a 15-year period. *Anais brasileiros de dermatologia*. 2016;91(1):64-72.
164. Ahmad I, Sheraz MA, Ahmed S, Shaikh RH, Vaid FH, Ansari SA. Photostability and interaction of ascorbic acid in cream formulations. *AAPS PharmSciTech*. 2011;12(3):917.
165. Ahmad I, Ali Sheraz M, Ahmed S, Shad Z, Vaid F. Photostabilization of ascorbic acid with citric acid, tartaric acid and boric acid in cream formulations. *International journal of cosmetic science*. 2012;34(3):240-5.
166. Betageri G, Prabhu S. Semisolid preparations. *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. 2002;2:2436-57.
167. Rowe RC, Sheskey PJ, Owen SC. Handbook of pharmaceutical excipients. 4th. Pharmaceutical press. 2009:29-31, 43-6, 77-8, 126-7, 55-56, 81-83, 283-6, 378-80, 445-7, 592-4, 766-70.
168. Pal R. Rheology of simple and multiple emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 2011;16(1):41-60.
169. Vasiljevic D, Parojcic J, Primorac M, Vuleta G. An investigation into the characteristics and drug release properties of multiple W/O/W emulsion systems containing low concentration of lipophilic polymeric emulsifier. *International Journal Of Pharmaceutics*. 2006;309(1-2):171-7.
170. Tadros TF. Fundamental principles of emulsion rheology and their applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 1994;91:39-55.
171. Szűcs M, Vaghi P, Sandri G, Bonferoni M, Caramella C, Szabó-Révész P, Erős I. Thermoanalytical and microscopical investigation of the microstructure of emulsions containing polymeric emulsifier. *Journal of thermal analysis and calorimetry*. 2008;94(1):271-4.
172. Chanamai R, McClements DJ. Dependence of creaming and rheology of monodisperse oil-in-water emulsions on droplet size and concentration. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2000;172(1):79-86.
173. Ratajczak M, Kubicka MM, Kamińska D, Sawicka P, Długaszewska J. Microbiological quality of non-sterile pharmaceutical products. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2015;23(3):303-7.
174. Lundov MD, Moesby L, Zachariae C, Johansen JD. Contamination versus preservation of cosmetics: a review on legislation, usage, infections, and contact allergy. *Contact Dermatitis*. 2009;60(2):70-8.
175. Rahmani-Neishaboer E, Jallili R, Hartwell R, Leung V, Carr N, Ghahary A. Topical application of a film-forming emulgel dressing that controls the release of stratifin and acetylsalicylic acid and improves/prevents hypertrophic scarring. *Wound Repair and Regeneration*. 2013;21(1):55-65.
176. Rogiers V. EEMCO guidance for the assessment of transepidermal water loss in cosmetic sciences. *Skin Pharmacology and Physiology*. 2001;14(2):117-28.
177. Fluhr JW, Bornkessel A, Berardesca E. 20 Glycerol—Just Biological and Biophysical Effects. 2005.
178. Albèr C, Buraczewska-Norin I, Kocherbitov V, Saleem S, Lodén M, Engblom J. Effects of water activity and low molecular weight humectants on skin permeability and hydration dynamics—a double-blind, randomized and controlled study. *International journal of cosmetic science*. 2014;36(5):412-8.

179. Okamoto T, Inoue H, Anzai S, Nakajima H. Skin-moisturizing effect of polyols and their absorption into human stratum corneum. *Journal of Cosmetic Science*. 1998;49(1):57-8.
180. Harding, Watkinson, Rawlings, Scott. Dry skin, moisturization and corneodesmolysis. *International Journal of Cosmetic Science*. 2000;22(1):21-52.
181. Thau P. Glycerin (glycerol): Current insights into the functional properties of a classic cosmetic raw material. *Journal of cosmetic science*. 2001;53(4):229-36.
182. Bettinger J, Gloor M, Peter C, Kleesz P, Fluhr J, Gehring W. Opposing effects of glycerol on the protective function of the horny layer against irritants and on the penetration of hexyl nicotinate. *Dermatology*. 1998;197(1):18-24.
183. Moldovan M, Ciortea L. Efficacy evaluation of different cream formulations on healthy skin properties. *Farmacia*. 2010;58:787.
184. Buraczewska I, Berne B, Lindberg M, Törm H, Lodén M. Changes in skin barrier function following long-term treatment with moisturizers, a randomized controlled trial. *British Journal of Dermatology*. 2007;156(3):492-8.

DISERTACIJOS TEMA PASKELBTŲ PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS

Mokslo straipsniai leidiniuose, referuojamuose duomenų bazėje

„Thomson Reuters Web of Knowledge“ ir turinčiuose citavimo rodiklį:

1. Kizeviciene E, Jonaitiene L, Peciura R. Evaluation of acrylates/C10-30 alcy l acrylate cross-polymer mixture effectiveness on o/w type emulsion formulation. Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research. 2017; 74(3):937-43.

Mokslo straipsniai kituose leidiniuose, referuojamuose duomenų bazėje:

2. Babonienė, Edita, Jonaitienė, Laimutė, Pečiūra, Rimantas, “Lipofilinės fazės įtakos emulsijų, gaminamų su poliakrilo rūgšties polimeriniais emulsikliais, stabilumui, tyrimas / Sveikatos mokslai = Health sciences. 2014, t. 24, Nr. 6 ISSN 1392-6373 p. 95-99:

Konferencijų tezės

1. Pranešimas Babonienė, Edita, Jonaitienė, Laimutė, Motienė, Regina, Pečiūra, Rimantas, Evaluation of lipophilic phase (castor oil and olive oil) influence on the stability of emulsions made using polymeric emulsifiers of polyacrylic acid / The 5th International Conference On Pharmaceutical Sciences and Pharmacy Practice dedicated to 145th Anniversary of prof. Petras Raudonikis: November 25, 2014 Kaunas, Lithuania: Book of abstract p. 53-55.
2. Edita Kizeviciene, Viktoras Šaferis, Rimantas Pečiūra. Application of D-optimal experimental design method to optimize the formulation of O/W pharmaceutical emulsions: preformulation study/ 75th FIP World Congress of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Düsseldorf, Germany 29 September - 3 October 2015 Formulation Design and Pharmaceutical Technology. FIPSUB-2161.

LIPOFILINĖS FAZĖS ĮTAKOS EMULSIJŲ, GAMINAMŲ SU POLIAKRILLO RŪGŠTIES POLIMERINIAIS EMULSIKLI AIS, STABILUMUI, TYRIMAS

Edita Babonienė^{1,2}, Laimutė Jonaitienė², Rimantas Pečiūra¹

¹Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos akademijos Farmacijos fakultetas,

²Kauno kolegijos Medicinos fakultetas

Raktažodžiai: emulsija, polimeriniai emulsikliai, mineraliniai, augaliniai aliejai, emulsijų stabilumas.

Santrauka

Siekiant parengti naujas metodikas, įgalinančias pagaminti fiziologiškai efektyvesnes trinarės emulsinės sistemas, užsibrėžėme tikslą įvertinti, kaip kinta poliakrilo rūgšties polimerinių emulsiklių galia gaminant su jais emulsijas iš skirtingų lipofilinės fazės atstovų – nedžiūstančių, pusiau džiūstančių ir mineralinių aliejų. Emulsijų stabilumo charakteristikos buvo nustatomos taikant klasikinius tyrimo metodus: viskozimetriją, konduktometriją, potenciometriją, emulsijas mikroskopuojant, centrifuguojant. Nustatyta, kad skirtingų aliejų (nedžiūstančių, pusiau džiūstančių ir mineralinių) koncentracija, naudojant emulsiklius PTR1, PTR2 ir jų mišinius, beveik nekeitė emulsijos rūgštingumo. Nedžiūstančių aliejų koncentracija emulsijoje stipriausiai didino emulsijos klampą. Emulsijose su alyvuogių aliejumi, dispersinės fazės emulsiniai lašeliai 8°C ir 38°C temperatūroje didėjo tolygiai ir iki mažesnių matmenų, nei emulsijose su pusiau džiūstančiais (saulėgrąžų) ar mineraliniais (skystojo parafino) aliejais. Tyrimo rezultatai leidžia daryti prielaidą, kad, gaminant emulsijas iš nedžiūstančių aliejų ir panaudojant *pemulenų* tipo emulsiklius, galima tikėtis gauti didesnių matmenų emulsinių lašelių patvarią sistemą, nei tomis pačiomis sąlygomis gaminant emulsijas iš pusiau džiūstančių ar mineralinio aliejų. Pagal mūsų parengtą metodiką gaminant emulsines sistemas, kurių lipofilinė fazė yra mineraliniai aliejai, galima tikėtis gauti mažiausio dydžio emulsinių lašelių sistemas, palyginus su kitos prigimties aliejų pagrindu pagamintomis emulsijomis.

Įvadas

Holistinis požiūris į žmogaus sveikatą vis stipriau

skverbiasi į XXI amžiaus tradicinę mediciną ir farmaciją. Šio požiūrio realizavimas vyksta ir vaistinėse, gaminant jose gyventojams vaistus pagal individualiai išrašytus gydytojo receptus. Ieškant galimybių pasiūlyti pacientams individualesniu poveikiu pasižyminčius vaistinės gamybos preparatus, pabandėme nustatyti dažniausiai ekstemporalioje gamyboje naudojamų aliejų įtaką, jų pagrindu pagamintų trinarių emulsinių sistemų, efektyviau drėkinančių odą, didinančių galimybę pailginti drėkinamąjį poveikį, padedančių veiklosioms medžiagoms patekti į gilesnius odos sluoksnius, stabilumui. Mokslinėje literatūroje daigianarės emulsijos (aliejus/vanduo/aliejus (a/v/a) ir vanduo/aliejus/vanduo (v/a/v) yra aprašytos gana plačiai. T.F. Tadros (1) atliktoje mokslinėje apžvalgoje akcentuojama, kad polimerinių emulsiklių panaudojimo plėtra įgalino formuoti stabilesnes daigianarės emulsijas, todėl siekdami sukurti optimalios sudėties a/v tipo emulsiją, mes pasirinkome universaliomis emulsinimo savybėmis pasižyminčius poliakrilo rūgšties polimerinius emulsiklius (*pemulenų* PTR1 ir PTR2). Tai akrilatai/C10-30 alkilakrilatai, kurie savo struktūroje turi lipofilinę zoną – metilakrilatą bei hidrofilinę zoną – akrilo rūgštį, kuri skersiniais ryšiais susijungusi su ilgos grandinės metilakrilatais (2). *Pemulenai* yra „aliejus – vandenyje“ tipo sistemų emulsikliai, kurie naudojami mažais kiekiais, todėl mažai dirgina odą. Juos naudojant emulsijų gamybos procesas yra nesudėtingas, o pačios emulsijos greitai išlaisvina aliejaus fazę (3). Lipofilinė *pemulenų* struktūros dalis adsorbuojasi „aliejus – vanduo“ sistemos paviršiuje, o hidrofilinė dalis brinksta vandenyje ir sudaro gelį aplink aliejaus lašelius, tuo sąlygodama emulsijos stabilumą naudojant gamybai įvairius aliejus (2,4,5).

Skirtingos sudėties aliejų grupių atstovai yra naudojami gaminant vaistus ar gydomosios kosmetikos preparatus ne tik pramoniniu būdu, bet ir visuomenės vaistinėse ekstemporaliai, stengiantis kuo daugiau individualizuoti sveikatos priežiūros ir farmacinę paslaugą. Todėl šių aliejų grupių pasirinkimas mūsų tyrimui sutampa su sveikatos priežiūros

strateginiu tikslu plėsti holistinį požiūrį visuomenės vaistinių sektoriuje ne tik į asmens, bet ir į visuomenės sveikatą apskritai.

Yra žinoma, kad aliejų fizikinės – cheminės savybės priklauso nuo riebalų sudėtyje esančių riebiųjų rūgščių kompleksų sudėties bei esančių laisvųjų rūgščių, nekonjuguotų su gliceroliu. Džiūstančių aliejų (linų, kanapių, perilių, raktažolių ir kt.) pagrindinė sudedamoji dalis – linoleno rūgšties trigliceridai, tokie aliejai greitai oksiduojasi sąlytyje su oru, dėl ko aliejinio sluoksnio paviršiuje susidaro plona, ganėtinai tvirta, temperatūrai ir vandens poveikiui atspari, blizganti plėvelė. Džiūstantys aliejai gali erzinti odą. Nedžiūstančių aliejų (alyvuogių, migdolų, ricinų) sudėties pagrindinė dalis – oleino rūgšties trigliceridai, kurie žmogaus organizmo yra gerai toleruojami, patekę ant odos jie beveik niekada nesukelia alerginių reakcijų. Pusiaus džiūstančių aliejų (saulėgrąžų, garstyčių, kukurūzų, sezamo ir kt.) pagrindinė sudedamoji dalis – linolinės rūgšties trigliceridai. Paviršinė aliejaus sluoksnio plėvelė susidaro daug lėčiau, šildant aliejų ji minkštėja, lydosi ir tirpsta daugelyje organinių tirpiklių. Kaip ir nedžiūstantys aliejai, pusiau džiūstantys patekę ant odos nesukelia alerginių reakcijų(6). Mineralinis (skystasis parafinas) aliejus yra angliavandenilių mišinys, pasižymintis atsparumu mikroorganizmams ir cheminėms medžiagoms, jis gerai maišosi su riebalais, darnus su daugeliu cheminių medžiagų(6).

Augalinių (nedžiūstančių, pusiaudžiūstančių) ir mineralinių aliejų įtaka emulsijų, pagamintų su poliakrilo rūgšties polimeriniais emulsikliais (atskiris ar jų mišiniais), sedimentaciniam ir agregaciniam stabilumui (emulsijos pH reikšmei, lašelių dydžiui, klampai, išsiskyrimo indeksui (*Creaming Index*), nėra plačiai ištirta. Kai kurių autorių nustatyta, kad emulsinių lašelių dydis mažėja didinant emulsiklių (*PTR1* ar *PTR2*) kiekį, o didinant aliejaus dalį emulsinėje sistemoje, lašelių dydis didėja. Nustatyta aliejaus koncentracija, kuomet pasiekiamas didžiausias lašelių dydis (7). Abu emulsikliai (*PTR1* ir *PTR2*) padeda suformuoti didžiausius emulsinius lašelius kai aliejaus koncentracija pasiekia 30%. Esant didesnei aliejaus koncentracijai, emulsinių lašelių dydis mažėja(7). Miller ir Löffler (2001), Mosta Shahin (2010) nustatė, kad didesnis emulsiklio kiekis ne visada garantuoja stabilesnės sistemos sudarymą (8).

Tikslu parengti metodiką, kaip pagaminti fiziologiskai efektyvesnes trinares emulsines sistemas, pirmiausiai užsibrėžime uždavinį įvertinti kaip kinta poliakrilo rūgšties polimerinių emulsiklių (*PTR1*, *PTR2*) galia gaminant su jais emulsijas iš skirtingos sudėties lipofilinės fazės atstovų (nedžiūstančių, pusiau džiūstančių ir mineralinių

aliejų).

Medžiagos ir metodai

Emulsijas pagaminti buvo naudoti emulsikliai alkilakrilato krosopolimerai: Pemulen™ TR1 NF ir Pemulen™ TR2 NF (Lubrizol), Kalverto m.; Kentukis, JAV, vazelino aliejus Brentag (Lenkija). Natrio hidroksidas E.Merck, Darmstadt, Vokietija; alyvuogių aliejus (Henry Lamot oils), Bremenas (Vokietija); ricinų aliejus (Roth), Karlsruhe (Vokietija); saulėgrąžų aliejus (Natura), AGD, Zarate (Argentina).

Emulsijų gamyba. Emulsijos buvo gaminamos tiesioginiu būdu (9), esant mišinio temperatūrai $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Maišoma laboratorine maišykle RZR2020 (Heidolph) su trijų dalių 60° kampo sparnuote (*Three-blade Marine impeller*) 250 ml talpos laboratorinėje stiklinėje. Emulsiklis buvo lėtai beriamas į vandenį, maišant 800 aps./min. greičiu, vandeninė dispersija gaminama 15 min., aliejus lėtai srovele pilamas į vandeninę dispersiją ir maišoma 15 min. 800 aps./min. greičiu, pH buvo reguliuojama 18% NaOH vandeniniu tirpalu (3).

Eksperimentai vykdyti pagal mūsų parengtą matematinį algoritmą (taikant mišinių matematinio planavimo kompiuterinę programą *Design-Expert®8*), kai algoritmo komponentai buvo pasirinkti šie: lipofilinė fazė (alyvuogių aliejus, ricinų aliejus, saulėgrąžų aliejus, skystasis parafinas), poliakrilo rūgšties polimeriniai emulsikliai (*PTR1*, *PTR2*), neutralizatorius - 18% NaOH vandeninis tirpalas, išgrynintas vanduo. Eksperimento kintamieji faktoriai buvo pasirinkti: emulsiklių koncentracija (ribos nuo 0,05% iki 0,4%), lipofilinės fazės koncentracija (ribos nuo 5% iki 50%), neutralizatorius (ribos nuo 0,05% iki 0,8%). Atsako indikatoriai – emulsinių lašelių dydžiai, pH, emulsijos išsiskyrimo indeksas (*Creaming Index*), klampa, emulsijos tipas. Emulsijų stabilumo charakteristikos buvo nustatomos taikant klasikinius tyrimo metodus: viskozimetriją, konduktometriją, potenciometriją, emulsijas mikroskopuojant, centrifuguojant.

Terpės rūgštingumo rodiklių nustatymas. Pagamintų emulsijų pH rodikliai buvo matuojami potenciometru *HJ2211 pH/ORP Meter HANNA instruments*. Matuojant emulsijos rūgštingumą, buvo gaminama kiekvieno mėginio 5% vandeninės ištraukos. Į tiriamąjį mėginį merkiamas kalomelio stiklo pH elektrodas.

Tiriamųjų pavyzdžių klampos nustatymas. Pagamintų mėginių klampa buvo matuojama rotaciniu viskozimetru *Selekta P (Abrera, Ispanija)*, 100 (aps./min.) greičiu. Vienas tiriamųjų bandinių kiekis patalpinamas į vienodų parametrų laboratorinius indelius. Emulsijos klampos matavimo zondo pasirinktas spindulys R7.

Mikroskopinis emulsijos tyrimas. Aliejinės fazės lašelių dydis buvo matuojamas optiniu mikroskopu *Motic*

BA310, naudojant kompiuterinę programą *Motic Image Plus 2.0 ML*. Mėginiai buvo mikroskopuojami vaizdą didinant 100 ir 400 kartų. Lašelių skersmuo buvo matuojamas pasitelkiant automatinio skaičiavimo programą.

Centrifugavimas. Centrifugavimo testas buvo atliekamas mėginių pagaminimo dieną ir po 28 dienų, naudojant *High Speed Centrifuge type 310* (3000 aps./min. greičiu, $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 5 min). Į šešis 2 ml tūrio mėgintuvėlius buvo patalpintas vienodas tiriamųjų pavyzdžių kiekis (g). Emulsijos stabilumas buvo vertinamas pagal atsiskyrusios vandeninės fazės masę (g). Stabilumas *CI* (*Creaming Index*) apskaičiuotas pagal formulę: $CI = (a \times 100)/m$; kur *CI* – emulsijos

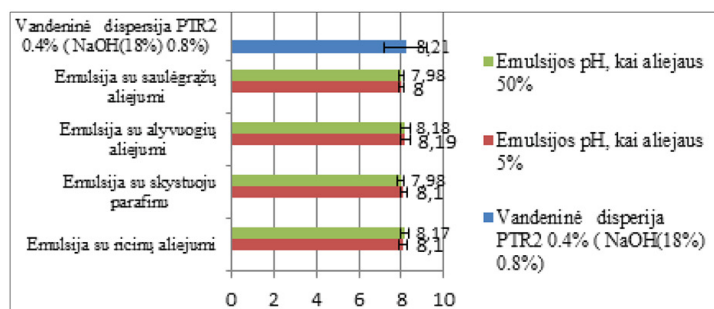
stabilumas (%); *a* – vandeninės fazės kiekis (g); *m* – paimto tirti mėginio masė (10).

Stabilumo testas. Emulsijų, pagamintų su skirtingais aliejais, atskiri mėginiai buvo laikomi esant $8^\circ\text{C} \pm 0,1^\circ\text{C}$ (šaldytuve), $38^\circ\text{C} \pm 0,1^\circ\text{C}$ (termostate). Emulsinių lašelių dydis buvo matuojamas tris kartus kas 7 dienas.

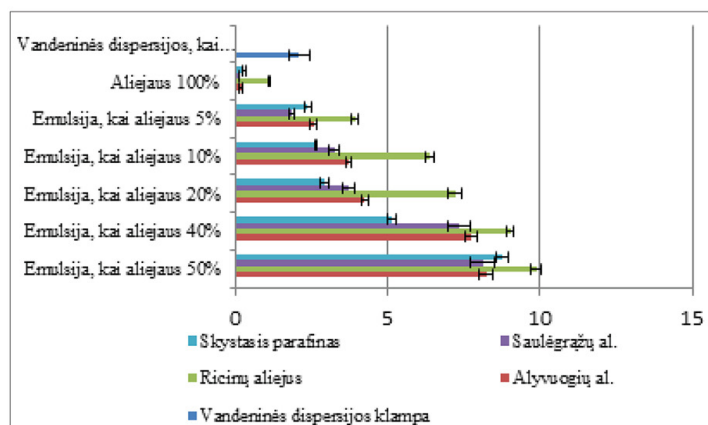
Emulsijos tipo patvirtinimas. Emulsinė sistema pasižymi konduktyvumu, kurio reikšmė, kai išorinė fazė – aliejus yra mažesnė nei $1 \mu\text{S}/\text{cm}$ („vanduo – aliejuje“ tipas), o emulsijų, kurių konduktyvumo reikšmė didesnė nei $50 \mu\text{S}/\text{cm}$, išorinė fazė yra vanduo („aliejus-vandenyje“ tipas) (3, 7, 11). Nustatant emulsijos tipą, konduktometro elektrodai buvo tiesiogiai įmerkami į mėginį (11). Matavimai atlikti kambario temperatūroje $20 \pm 2^\circ\text{C}$.

Tyrimo rezultatai

Emulsijos buvo gaminamos su poliakrilo rūgšties polimeriniais emulsikliais *PTR1*, *PTR2* ir jų mišiniais, kur emulsiklių santykis buvo ($PTR1 = PTR2$, $PTR1 < PTR2$ ir $PTR1 > PTR2$). Emulsiklių koncentracijų ribos kito nuo 0,05-0,4%, lipofilinės fazės koncentracija emulsijoje sudarė nuo 5%, iki 50%, neutralizatoriaus NaOH (18%) koncentracija emulsijoje sudarė nuo 0,05% iki 0,8%. Patvarios emulsinės sistemos (kai $CI = 0$) buvo gautos su nedžiūstančiais (alyvuogių, ricinų) aliejais (kai emulsijų pH buvo nuo 4,05 iki 8,26); su pusiau džiūstančiu (saulėgrąžų) aliejumi (kai emulsijų pH buvo nuo 4,40 iki 7,8); emulsijose su mineraliniu (skystuoju parafinu) aliejumi (kai emulsijų pH buvo nuo 4,47 iki 6,5). Buvo tirta skirtingos sudėties aliejų koncentracijos įtaka emulsijų, stabilizuotų poliakrilo rūgšties polimeriniu emulsikliu ($PTR2$ 0,4%, NaOH (18%) - 0,8%) rūgštingumui ($n = 3$).



1 pav. Skirtingos sudėties aliejų koncentracijos įtaka emulsijų, stabilizuotų poliakrilo rūgšties polimeriniu emulsikliu ($PTR2$ 0,4% Na OH (18%) 0,8%) rūgštingumui, $n = 3$



2 pav. Skirtingos sudėties aliejų (nedžiūstančių, pusiau džiūstančių ir mineralinių) koncentracijos (nuo 5% iki 50%) įtaka emulsijos klampai (Pa·s), kai emulsiklių mišinys $PTR1/PTR2$ (0,08/0,32%), pH 6-7,5, $n = 3$

1 lentelė. Emulsijų su skirtingais aliejais, emulsinių lašelių dydžio (r) pokytis laike, laikant skirtingu temperatūriniu režimu

Lipofilinė fazė	Pagaminimo diena r, μm	Laikymo trukmė 7 dienos		Laikymo trukmė 14 dienų		Laikymo trukmė 21 diena	
		Temperatūrinis režimas 8°C, (r, μm)	Temperatūrinis režimas 38°C, (r, μm)	Temperatūrinis režimas 8°C, (r, μm)	Temperatūrinis režimas 38°C, (r, μm)	Temperatūrinis režimas 8°C, (r, μm)	Temperatūrinis režimas 38°C, (r, μm)
Alyvuogių aliejus	3,24 $\pm$ 0,558	3,74 $\pm$ 0,117	3,80 $\pm$ 0,28	3,79 $\pm$ 0,140	3,745 $\pm$ 0,645	3,945 $\pm$ 0,150	3,965 $\pm$ 0,715
Skystasis parafinas	2,38 $\pm$ 0,0175	2,89 $\pm$ 0,005	2,70 $\pm$ 0,02	3,52 $\pm$ 0,120	3,38 $\pm$ 0,012	5,638 $\pm$ 0,045	4,39 $\pm$ 0,028
Ricinų aliejus	2,83 $\pm$ 0,05	3,34 $\pm$ 0,002	3,81 $\pm$ 0,05	3,38 $\pm$ 0,001	4,45 $\pm$ 0,001	3,50 $\pm$ 0,012	4,45 $\pm$ 0,002
Saulėgrąžų aliejus	2,64 $\pm$ 0,016	4,42 $\pm$ 0,325	3,59 $\pm$ 0,02	4,50 $\pm$ 0,018	4,05 $\pm$ 0,031	5,52 $\pm$ 0,211	5,28 $\pm$ 0,018

Nustatyta, kad lipofilinės fazės koncentracija, kai emulsijos gaminamos su poliakrilo rūgšties polimeriniu emulsikliu PTR2, sistemos rūgštingumui statistiškai reikšmingos įtakos neturi ($p > 0,05$) (1 pav). Analogiška priklausomybė buvo gauta, kai emulsijos gaminamos su poliakrilo rūgšties polimeriniu emulsikliu PTR1 ir emulsiklių PTR1/PTR2 mišiniais.

Sedimentacinis emulsijų patvarumas priklauso nuo lašelių dydžio, skysčių tankių skirtumo, dispersinės terpės klampumo (12, 13). Kitų autorių nustatyta, kad augaliniam aliejui būdingas niutoninis tekėjimo pobūdis (14), o klampos dydį lemia temperatūra ir aliejaus cheminė struktūra (riebiųjų rūgščių grandinių ilgis bei jų sotumo laipsnis) (14, 15); keliant temperatūrą labiausiai pakinta klampa aliejų, kurių sudėtyje esančių riebiųjų rūgščių molekules turi daugiau dvigubų jungčių; aliejų takumas taip pat priklauso nuo pagrindinių ingredientų – riebiųjų rūgščių struktūros (14). Diagrama (2 pav.) vaizduoja skirtingos sudėties aliejų įtaką tirtų emulsijų klampai. Didinant aliejaus kiekį emulsinėje sistemoje nuo 5% iki 50%, emulsijos klampa didėjo visų tirtų aliejų atvejais. Su nedžiūstančiais aliejais (alyvuogių aliejaus dalis nuo 5% iki 50%), kai naudota emulsiklių PTR1/PTR2 mišinys (0,08/0,32%), emulsijos klampa didėjo nuo 2,5602 Pa·s iki 8,239 Pa·s. Ricinų aliejaus naudojimo atveju – nuo 3,928 Pa·s iki 9,868,8 Pa·s, su mineralinio aliejaus (skystojo parafino) – nuo 3,134 Pa·s iki 8,105,3 Pa·s, pusiau džiūstančiais aliejais (saulėgrąžų aliejus) – nuo 1,838 Pa·s iki 7,925 Pa·s. Nedžiūstančių aliejų koncentracija emulsijoje nulėmė didžiausią emulsijų klampą.

Siekiant nustatyti aliejaus kilmės įtaką emulsinių lašelių dydžiui ir jo pokyčiui laike, taikant skirtingą temperatūrinį režimą, buvo pasirinkta emulsinė sistema atsižvelgiant į gautus tyrimo, programuoto vadovaujantis matematiniu algoritmu, rezultatus ir pasirinkus stabiliausius emulsijų pavyzdžius, kurių (išsiskyrimo indekso CI (*Creeping Index*) reikšmė buvo 0. Darėme prielaidą, kad šios sudėties emulsijos (fazių tūrio santykis 1:1, emulsiklių PTR1 ir PTR2 mišinio sudėtis 0,08/0,32%) yra pakankamai

stabilios. Centrifugavimo testas buvo atliekamas mėginių pagaminimo dieną ir po 28 dienų, naudojant *High Speed Centrifuge type 310*, (3000 aps./min. greitis, temperatūra 20 $\pm$ 2°C, sukimo laikas 5 min). Emulsijos stabilumas buvo vertinamas pagal atsiskyrusios vandeninės fazės masę. Emulsijos su nedžiūstančiu (alyvuogių) aliejumi per tą patį stebėjimo laiką neišsiskyriavo. Stebint emulsijas, pagamintas su ricinų, saulėgrąžų ir skystuoju parafinu, buvo pastebėti silpni sistemos fazių atsiskyrimo požymiai.

Analizuojant pagamintas emulsines sistemas mikroskopu, mažiausio dydžio emulsiniai lašeliai pagaminimo dieną buvo stebimi emulsinėse sistemose su skystuoju parafinu (1 lentelė). Stebint lašelių dydžio pokyčius, mėginius laikant skirtingoje temperatūroje (8°C ir 38°C), nustatyta, kad emulsijose su alyvuogių aliejumi emulsiniai lašeliai abiem atvejais didėjo tolygiai ir iki mažesnio dydžio, nei emulsijose su pusiau džiūstančiu (saulėgrąžų) ar mineraliniu (skystuoju parafinu) aliejais.

Kad mūsų gamintos emulsijos buvo tiesioginio a/v tipo patvirtino sistemos konduktyvumo nustatymas. Yra nustatyta, kad emulsinė sistema pasižymi konduktyvumu, kurio reikšmė, kai išorinė fazė – aliejus yra mažesnė nei 1 $\mu\text{S}/\text{cm}$ („vanduo – aliejuje“ tipas), o emulsijų, kurių konduktyvumo reikšmė yra didesnė nei 50 $\mu\text{S}/\text{cm}$, išorinė fazė yra vanduo („aliejus-vandenyje“ tipas) (3, 7, 11)

Išvados

1. Lipofilinės fazės koncentracija, kai emulsijos gaminamos su poliakrilo rūgšties polimeriniais emulsikliais (PTR1, PTR2 ir jų mišiniais), sistemos rūgštingumui statistiškai reikšmingos įtakos neturi ($p > 0,05$).

2. Didinant aliejaus kiekį emulsinėje sistemoje nuo 5% iki 50%, emulsijos klampa didėjo visų tirtų aliejų atvejais ($p < 0,05$). Nedžiūstančių aliejų koncentracija emulsijoje nulėmė didžiausią emulsijų klampą.

3. Gaminant emulsijas iš nedžiūstančio (alyvuogių) aliejaus ir naudojant poliakrilo rūgšties polimerinius emulsiklius (PTR1, PTR2) ar jų mišinius, gaunamos didesnių ma-

tmenų emulsinių lašelių sistemos, nei tomis pačiomis sąlygomis pagamintose emulsijose iš pusiau džiūstančio ar mineralinio aliejų. Stebint emulsinių lašelių dydžio pokyčius laike, skirtingoje temperatūroje (8°C ir 38°C) nustatyta, kad emulsijose su alyvuogių aliejumi emulsiniai lašeliai abiem atvejais išliko stabilesni – stebėjimo laike jie didėjo iki mažesnių matmenų, nei lašeliai emulsijų su pusiau džiūstančių (saulėgrąžų) ar mineraliniu (skystojo parafino) aliejais.

4. Pagal mūsų parengtą metodiką gaminant emulsines sistemas, kurių lipofilinė fazė yra mineralinis aliejus (skystasis parafinas), gaunamos mažiausio dydžio (potencialiai stabilios) emulsinių lašelių sistemos, palyginus su kitos priimtųjų aliejų pagrindu pagamintomis emulsijomis.

Literatūra

1. Tadros TF. Review Future developments in cosmetic formulations. *International Journal of Cosmetic Science* 1992;14:93-111.
2. Tegeli V, Thorat YS, Shivsharan US, Gajeli GT, Kumbhar ST, Chougule GK. Pemulen as versatile emulsifier. *International Journal of Drug Formulation & Research* 2011;2(1).
3. Emulsification Properties. *Pharmaceutical Bulletin* 2008;8:1-8.
4. Szucs M, Sandri G, Bonferoni M, Caramella C, Vaghi P, Szabo-Revesz P. et al. Mucoadhesive behaviour of emulsions containing polymeric emulsifier. *Eur J Pharm Sci* 2008;34(4-5):226-35.
5. Goodrich B. The Science of Rheology: Pharmaceutically Applied. Technical Note 1992.
6. Savickas A., Briedis V., Švambaris L., Drakšienė G., Klimas R., Ramanauskienė K. Vaistų technologija. V tomas. Kaunas. 2008: 106 - 22.
7. Budai-Szucs M. Formulation and Investigation of Gel-Emulsions Containing Polymeric Emulsifiers. 2008; Summary of PhD Thesis.
8. Shahin M, Abdel H. Optimized formulation for topical administration of clotrimazole using Pemulen polymeric emulsifier. *Drug development and industrial pharmacy* 2011; 37(5):559-68.
9. Determination of Brookfield Viscosity applicable products: Carbopol Polymers, Pemulen Polymeric Emulsifiers or Noveon AA-1 Polycarboxophil. *Lubrizol test procedure* 430-1. 2010; 1-5.
10. Varka E-M. Stability Study of O/W Cosmetic Emulsions Using *Rosmarinus officinalis* and *Calendula officinalis* Extracts. *Open Journal of Applied Sciences*. 2012;02(03):139-45.
11. Cupara S. Characterization of seabuckthorn oil emulsion. *Military Medical Science Letters* 2012; 81(2):56-60.
12. McClements DJ. Emulsion stability. *Food Emulsions - Principles, Practice and Techniques* 1999;(Washington,DC:CRC Press):235-66.
13. Particle Sciences I. Emulsion Stability and Testing. Technical Brief 2011;2.
14. Juyoung Kim, Deok Nyun Kim, Sung Ho Lee, Sang-Ho Yooa, Suyong Lee. Correlation of fatty acid composition of vegetable oils with rheological behaviour and oil uptake. *Food chemistry* 2010; 118(2):398-402.
15. Mieželiienė A., Liutkevičius A., Speičienė V., Alenčikienė G. Aliejaus mišinių su optimizuota riebalų rūgščių sudėtimi savybės bei jų pokyčiai laikymo metu. *Maisto chemija ir technologija*, 2007; 41(1):54-61.

INVESTIGATION OF LIPOPHILIC PHASE INFLUENCE ON THE STABILITY OF EMULSIONS MADE USING POLYMERIC EMULSIFIERS OF POLY ACRYLIC ACID

E. Babonienė, L. Jonaitienė, R. Pečiūra

Key words: emulsion, polymeric emulsifiers, mineral, vegetable oils, emulsion stability.

Summary

In order to develop new methodologies that enable the production of physiologically more efficient multiple emulsion systems, first we have set the aim to evaluate the variation in the capacity of poly acrylic acid polymeric emulsifiers when using them in the production of emulsions including different lipophilic phase agents—non-drying, semi-drying and mineral oils. Emulsion stability characteristics have been determined using the classical methods of analysis: microscopy, centrifugation, viscosimetry, conductometry, potentiometry. It was identified, that oil concentration of different composition (non-drying, semi-drying and mineral oils), when using emulsifiers *PTRI*, *PTR2* and their mixtures, did not have any significantly impact on the acidity of the emulsion. The concentration of non-drying oils in the emulsion mostly affected the increase in the emulsion viscosity. In the emulsions containing olive oil at a temperatures of 8°C and 38°C emulsion droplets increased gradually and up to smaller dimensions than in the emulsions with a semi-dry (*sunflower oil*) or mineral (*petroleum jelly*) oil. The research results suggest that when producing emulsions from non-drying oils and using *pemulen* type emulsifiers it is possible to expect to obtain the stable system of larger size emulsion droplets than in the emulsions produced under the same conditions from semi-drying or mineral oils. When producing emulsion systems using our methodology with the lipophilic phase of mineral oils, a system of minimum size of emulsion droplets could be obtained, compared to the emulsions based on the other nature oils.

Correspondence to: editababonienė@gmail.com

Gauta 2014-09-16

EVALUATION OF ACRYLATES/C10-30 ALKYL ACRYLATE CROSS-POLYMER MIXTURE EFFECTIVENESS ON O/W TYPE EMULSION FORMULATION

EDITA KIZEVICIENE^{1*}, LAIMUTE JONAITIENE² and RIMANTAS PECIURA¹¹Department of Drugs Technology and Social Pharmacy, Lithuanian University of Health Sciences, Medical Academy, Kaunas LT-50161, Lithuania²Department of Pharmaceutical technician, Kaunas University of Applied Sciences, Kaunas LT-44162, Lithuania

Abstract: Acrylates/C10-30 alkyl acrylate cross-polymer mixtures were used in order to prepare stable and oil-in-water (o/w) pharmaceutical emulsions of organic oils. The resulting o/w pre-emulsions, prepared with different alkyl acrylate cross-polymers were unequally stable. We observed a synergistic effect when a polymer mixture was used and the resulting pre-emulsions were more stable for significant duration. The observed effect is confirmed by statistical analysis, the feature is remarkably important when we look for more stable pharmaceutical emulsions formed with less additives.

Keywords: cross-polymer mixture, synergistic effect

Oil-in-water emulsions are present in natural and mineral oils based products, including emollients and pharmaceuticals. For many of these sensitive substances emulsion formulating without heating is the only choice, therefore, emulsifiers such as acrylate C10–C30 alkyl–acrylate cross polymers – that can be used with any oil phase and can be easily prepared without heating of ingredients (1–4) were used. Very important indicator of the emulsion quality is stability, therefore, acrylate C10–C30 alkyl–acrylate cross polymers are suitable as they act both as primary emulsifiers and viscosity enhancing agents (3, 5, 6). Several investigations of the characteristics of biosurfactant mixtures (7) and the properties of various copolymeric emulsifier blends (8) confirm a synergistic effect when the emulsifier mixtures were used and the resulting emulsions were stable for several days. Our additional investigation of surface and interfacial tension, the determining parameters affecting the size distribution of the droplets (9) of copolymers of poly (acrylic) acid single emulsifiers and their mixtures, confirmed this effect. In connection with these results the interaction of cross-links between different copolymers of poly (acrylic) acid seems possi-

ble. Another explanation of these effects can be significant changes of surface and interfacial tension of polymer mixtures compared to single polymers (10–13). Therefore, we decided to investigate the mixture of copolymers of poly (acrylic) acid to form an o/w emulsions on the base of natural, vegetable oils, widely used in pharmaceutical industry and in manufacturing of individual medicines in pharmacies worldwide. To characterize prepared emulsion systems the method of determination of emulsion droplet size and droplet volume distribution was chosen.

The aim of this work was to investigate the effect of polymeric emulsifiers – acrylate C10–C30 alkyl–acrylate cross polymers (single ones and mixtures) on droplet size distribution of resulting o/w emulsions. The effect of the mixtures of these polymeric emulsifiers on droplet size distribution was investigated on emulsions prepared with an olive oil. Surface tension and interfacial tension between liquid phases of polymer mixtures were measured in the presence of several vegetable oils. To evaluate droplet size distribution of prepared pre-emulsions an image analysis method was used and the results were converted to volume basis (14).

* Corresponding author: e-mail: editakizevicius@gmail.com

EXPERIMENTAL

Materials

We used olive oil (Henry Lamoti oils (Bremen, Germany) as a dispersed phase, distilled water as the continuous phase, and high molecular weight copolymer of acrylic acid as well as long chain alkyl methacrylate crosslinked with allyl ethers of pentaerythritol – Pemulen™ TR1 NF and Pemulen™ TR2 NF (CTFA/INCI, according to IUPAC nomenclature system, general structure of Pemulen is considered as prop-2-enoic acid (3); Advanced Materials, Inc., (Calvert city, KY, USA) as the emulsifiers, sodium hydroxyd was supplied by E. Merck (Darmstadt, Germany). The base case emulsion consisted of 10, 25 and 50 wt % oil and from 0.02 to 0.4 wt % single polymeric emulsifier and their mixture (1 : 1), with the remainder water. Relatively high oil and low polymer concentrations were used to maximize the possibility of transdermal bioavailability of biological active substances dissolved in oil phase and to avoid the human adverse reactions to emulsifier. Interfacial tension between liquid phases of polymer mixtures were measured in the presence of castor oil (Roth), Karlsruhe, Germany; sunflower oil (Natura), AGD, Zarate (Argentina); olive oil (Henry Lamoti oils (Bremen, Germany) and liquid paraffin Brentag (Poland).

Emulsion preparation

All samples were prepared at ambient temperature ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) by direct procedure: the polymeric emulsifiers were dispersed in the purified water phase containing neutralization base (sodium hydroxyd to final pH 6.0–6.5) by mixing. The calculated amount of the oil was slowly added and mixing was continued using stator-rotor device IKA® Eurostar 200 digital at 800 rpm for 15 min. Five passes were performed and approximately 0.0045 ± 0.0005 g of every pre-emulsion was sampled for measuring the droplet size distribution immediately after emulsion was formulated and 1 h, 2 h, 3 h and 24 h thereafter. To evaluate optimal quantity of

emulsifier, series of emulsions with different concentration of Pemulen™ TR1 NF, Pemulen™ TR2 NF (PTR1; PTR2) and their mixtures (PTR1 + PTR1) were prepared (Table 1). The effectiveness indicator was an absence of two separate layers of samples after 24 h (Tables 2–4).

Evaluation of droplet size distribution

Typically spherical shape droplet size was measured by image analysis and conversion from number to volume was made (14). Oil phase droplet size was measured with a 400 magnification coupled optical microscope (Motic BA310) and fixed using digital camera Motic Image Plus 2.0 M/L. Several photos were taken by the microscope from different parts of the samples (15). Automated determination of particle size was used. Triplicate measurements were made, and average specific surface area and variance were calculated (16), the coefficient of variation ($\text{std. dev./mean} \times 100$) was less than 10%.

Density measurement

Density of w/w polymeric dispersions and oils was measured using the glass ball probe supplied by the Sigma 702 instrument, with an accuracy of 10^{-4} g/cm³. Measurements were performed in an environment where temperature was ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), and air pressure was 101.325 kPa.

Surface tension measurement

Surface tension of liquids was measured using the Attension Sigma 702 tensiometer (Biolin Scientific, Finland). The Sigma 702 was designed for measuring surface tension and interfacial tension between two liquids with Du Noüy ring and platinum plate. The method using Du Noüy involves slowly raising a platinum-iridium ring through the liquid until it detaches from the surface, taking into account Hugh Masons correction. For compatibility with earlier results Zuidema-Waters correction was used. After measuring, Du Noüy ring was immersed in ethanol and water, burned

Table 1 Composition of prepared o/w emulsions.

Emulsions series A	Emulsions series B	Emulsions series C
Water	Water	Water
Olive oil	Olive oil	Olive oil
Pemulen™ TR1	Pemulen™ TR2	Mixture (1 : 1) of Pemulen™ TR1 and Pemulen™ TR2
Sodium hydroxide	Sodium hydroxide	Sodium hydroxide

Table 2. Effective lowest concentrations of Pemulen® TR1 NF, Pemulen® TR2 NF and their mixtures to form stable Ol. Olivarium, 10%, (O/W) emulsion.

Ol. Olivarium, 10%, (O/W) Emulsion		Layer separation	Layer separation	Layer separation
Total emulsifiers, wt%	Disperse phase, wt%	after 24 h, emulsifier PTR1	after 24 h, emulsifier PTR2	after 24 h, emulsifier PTR1 / PTR2 (mixture 1 : 1)
0.4	10	-	-	-
0.2	10	-	-	-
0.1	10	-	-	-
0.05	10	-	-	-
0.03	10	+	-	-
0.02	10	+	+	-
0.01	10	+	+	+

Table 3. Effective lowest concentrations of Pemulen® TR1 NF, Pemulen® TR2 NF and their mixtures to form stable Ol. Olivarium, 25%, (O/W) emulsion.

Ol. Olivarium, 25%, (O/W) Emulsion		Layer separation	Layer separation	Layer separation
Total emulsifiers, wt%	Disperse phase, wt%	after 24 h, emulsifier PTR1	after 24 h, emulsifier PTR2	after 24 h, emulsifier PTR1 / PTR2 (mixture 1 : 1)
0.4	25	-	-	-
0.2	25	-	-	-
0.1	25	-	-	-
0.075	25	+	-	-
0.05	25	+	+	-
0.036	25	+	+	-
0.03	25	+	+	-/+

Table 4. Effective lowest concentrations of Pemulen® TR1 NF, Pemulen® TR2 NF and their mixtures to form stable Ol. Olivarium, 50%, (O/W) emulsion.

Ol. Olivarium, 50%, (O/W) Emulsion		Layer separation	Layer separation	Layer separation
Total emulsifiers, wt%	Disperse phase, wt%	after 24 h, emulsifier PTR1	after 24 h, emulsifier PTR2	after 24 h, emulsifier PTR1 / PTR2 (mixture 1 : 1)
0.4	50	-	-	-
0.2	50	-	-	-
0.15	50	-	-	-
0.1	50	-/+	-	-
0.05	50	+	-/+	-
0.04	50	+	+	-
0.036	50	+	+	-/+

with gas flame (1000°C) for a short time (5s). A platinum-iridium ring (Du Noüy) dimensions: R (ring) = 9.545 mm (wire) = 0.185 mm.

Measurements were performed in an environment where temperature was $(22 \pm 2^\circ\text{C})$, and air pressure was 101.325 kPa.

Interfacial tension measurement

Interfacial tension between two liquids was measured using Du Nöuy ring. The platinum ring was preferentially moisturized by the heavier liquid. A ring from platinum was lowered and immersed into the lower layer phase (water, or polymeric PTR1, PTR2, PTR1/PTR2 dispersion). A liquid depth was regular, of 14 mm. Oily phase was carefully placed on the top of the water (polymeric PTR1, PTR2, PTR1/PTR2 dispersion) layer. The difference in the values of the density of measuring liquids were calculated using the following equation: $\rho_{\text{heavy phase}} - \rho_{\text{light phase}}$. The ring was pulled up until the lamella from the interface broke off. At this stage the measured force gives interfacial tension value. All measurements were performed in an environ-

ment where temperature was $22 \pm 2^\circ\text{C}$ and air pressure was 101.325 kPa.

Statistical analysis

Statistical analysis of additional experiments was performed by two way analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey’s multiple comparison tests using the software package Prism v.5.04 (Graph Pad Software Inc., La Jolla, CA) and Microsoft Excel software. A value $p < 0.05$ has been taken as the level of significance.

RESULTS AND DISCUSSION

We prepared sample emulsions at the basic conditions using emulsifiers PTR1, PTR2 separate-

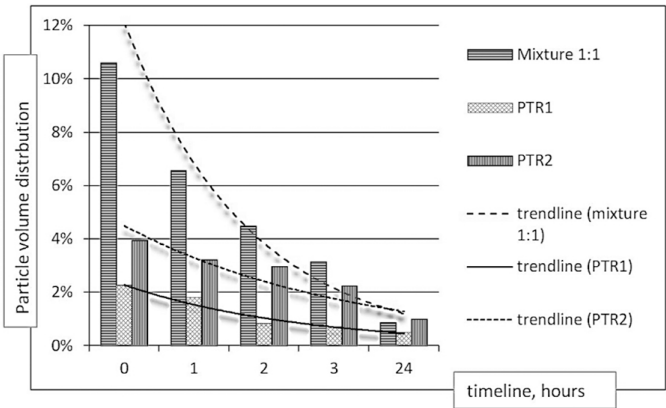


Figure 1. Volume growth dynamics of particles smaller than 10 μm of perimeter.

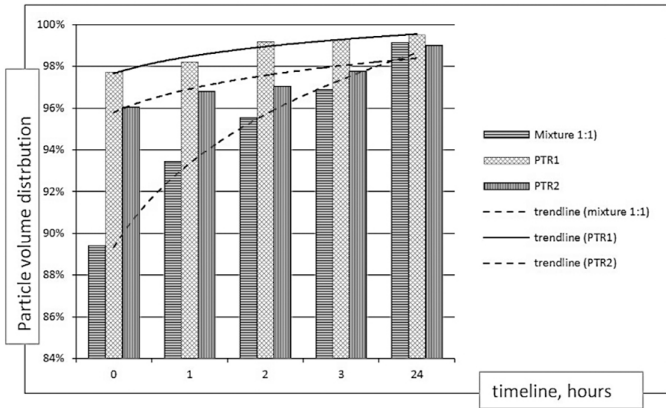


Figure 2. Volume growth dynamics of particles bigger than 10 μm of perimeter.

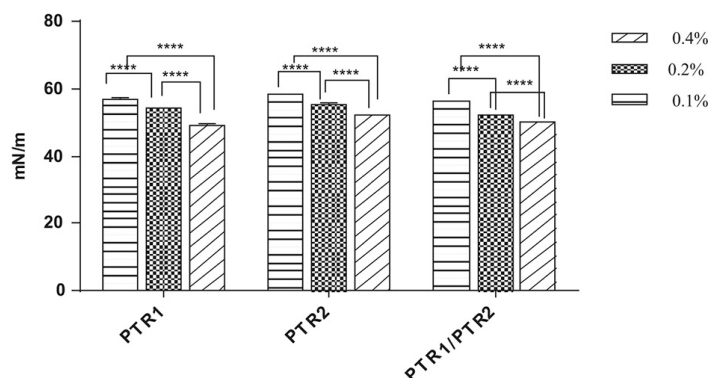


Figure 3. PTR1, PTR2 and (PTR1 + PTR2) w/w dispersions surface tension versus concentration, n = 5

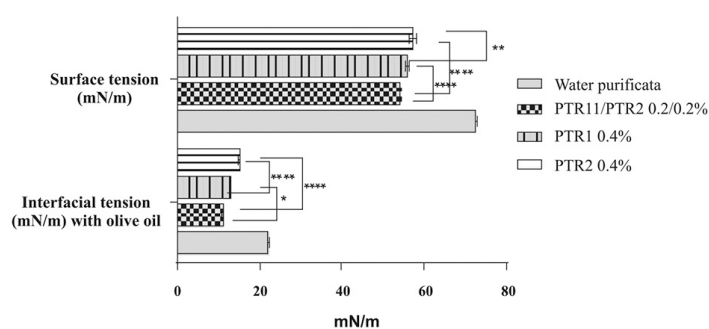
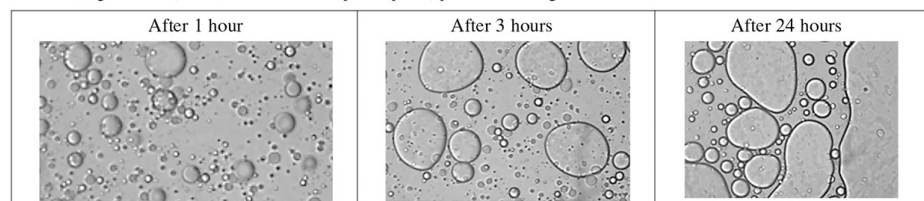


Figure 4. PTR1, PTR2 and (PTR1 + PTR2) w/w dispersions surface tension, interfacial tension of olive oil /aqua purificata and olive oil / PTR1 + PTR2 w/w) dispersions, n = 5

Table 5. Images of o/w (Ol.Olivarum 50 wt% dispersed phase) pre-emulsion degradation.



ly and a mixture of both emulsifiers (1 : 1). Every emulsion was prepared three times repeatedly, and the volume of emulsion droplets distribution was measured to ensure data reproducibility. The reproducibility of experimental procedure and the distribution measurements were confirmed by the maximum standard deviation (about 10%) in the measured droplet size distribution based on five repetitions for any sample of pre-emulsions. Dynamics of

o/w pre-emulsion, prepared on olive oil basis, degradation was investigated as an oil phase droplets coalescence. Images of oil droplet size growth in emulsion with disperse phase 50 wt % is shown in Table 5.

The droplet size was measured immediately after preparation of pre-emulsions and, thereafter, 1, 2, 3 and 24 h, subsequently; obtained data was converted to volume basis. The dynamics of oil

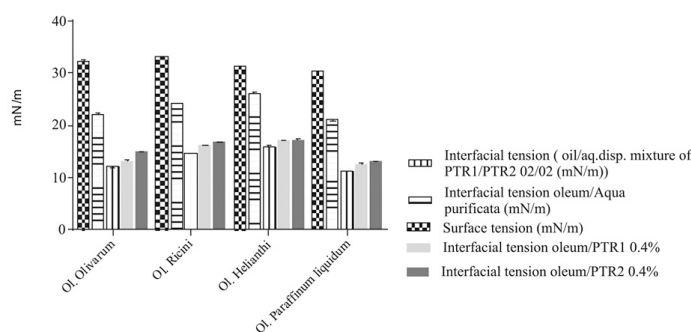


Figure 5. PTR1, PTR2 and (PTR1 + PTR2) w/w dispersions surface tension, interfacial tension of oil /aqua purificata and oil /PTR1, PTR2 or PTR1 + PTR2 w/w) dispersions, $n = 5$

droplets coalescence is shown in Figures 1, 2. Figure 1 shows a change of the total volume of oil particles with perimeter $< 10.0 \mu\text{m}$, Figure 2 shows a change of total volume of oil droplets with perimeter $10.0 \mu\text{m}$ and more. Whereas the effective concentration of PTR1 + PTR2 mixture in emulsion system is significantly lower (0.04 wt%, total, instead of 0.1 wt% for PTR2 and 0.15 % for PTR1), emulsifier mixture demonstrates a clear synergistic effectiveness to form a bigger volume of small oil droplets.

Previous studies confirmed that due to their surfactant nature *Pemulens*, like other polymeric emulsifiers, migrated toward the interface and showed low surface activity (17, 18). Surface tension of PTR1, PTR2, PTR1/PTR2 aqueous dispersions and interfacial tension of PTR1, PTR2, PTR1/PTR2 aqueous dispersions / olive oil was observed and evaluated (Figures 3, 4). When the quantity of the polymers PTR1, PTR2 is increased (0.1 – 0.4 wt%), surface tension decreases significantly ($p < 0.05$) and surface tension w/w dispersions of mixtures PTR1 + PTR2 is significantly lower in w/w dispersions of PTR1, PTR2 separately ($p < 0.05$) which has been clearly shown by the surface tension results (Fig. 3). PTR1 and PTR2 aqueous dispersion of surface tension differ significantly (PTR1 lower than PTR2, $p < 0.05$), however, previous studies have shown that the surface tension with PTR1 and PTR2 are similar (18). Interfacial tension between the mixture of an aqueous dispersion of emulsifiers PTR1 + PTR2 / olive oil was significantly ($p < 0.05$) lower compared to an aqueous dispersion of PTR1 or PTR2 separately / olive oil (Fig. 4). This phenomena was confirmed by the interfacial measurements using different oils (Fig. 5). The interfacial tension reduction some-

what justify the effectiveness of emulsifier PTR1/PTR2 mixture to form more stable emulsion systems compared to when PTR1 and PTR2 are used separately. It was observed that the mixture of polymeric emulsifiers PTR1/PTR2 reduces particle size by suppressing droplet coalescence and by aiding droplet breakup through reduced interfacial tension.

CONCLUSION

Synergistic effect of polymeric emulsifiers PTR1 and PTR2 mixtures was observed. The effective concentration of acrylate C10–C30 alkyl–acrylate cross polymer mixtures in emulsion system can be significantly lower compared to emulsions, prepared with a single polymeric emulsifier. This effect is remarkably important when looking for stable pharmaceutical emulsions formed with less additives.

Acknowledgment

The authors wish to express their acknowledgement to the Advanced Materials, Inc., (Calvert city, KY USA) for benevolent provision of Pemulen samples.

Declaration of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this paper.

REFERENCES

1. Yassin G.E.: Br. J. Pharm. Res. 4, 1014 (2014).
2. Traynor M.P., Burke R., Frias J.M., Gaston E., Barry-Ryan C.: Int. Food Res. J. 20, 173 (2013).

3. Tegeli V., Thorat Y.S., Shivsharan U.S., Gajeli G.T., Kumbhar S.T., Chougule G.K.: *Med. Chem. Res.* 2, (2011).
4. Szucs M., Sandri G., Bonferoni M.C., Caramella C.M., Vaghi P., Szabó-Révész P. et al.: *Eur. J. Pharm. Sci.* 34, 226 (2008).
5. Shahin M., Hady S.A., Hammad M., Mortada N.: *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 37, 559 (2011).
6. Hemker W.: *SÖFW Seifen, Öle, Fette, Wachse* 116, 505 (1990).
7. Cerón-Camacho R., Martínez-Palou R., Chávez-Gómez B., Cuéllar F., Bernal-Huicochea B. et al.: *Fuel (Lond)* 110, 310 (2013).
8. Martin J.D., Velankar S.S.: *J. Rheol. (N Y)* 51, 669 (2007).
9. Kryukova E., Sister V., Rustambekov M., Ivannikova E.: *J. Pet. Sci. Eng.* 50, 766 (2015).
10. Sing C.E., Zwanikken J.W., de la Cruz M.O.: *J. Chem. Phys.* 142, 1 (2015).
11. López-Barrón C.R., Macosko C.W.: *J. Rheol. (N Y)* 58, 1935 (2014).
12. Moncho-Jordá A., Rotenberg B., Louis A.A.: *J. Chem. Phys.* 119, 1266 (2003).
13. Lyu S. J.T., Bates F.S., Macosko C.W.: *Macromolecules* 35, 7845 (2002).
14. Burgess J., Duffy E., Etlzer F., Hickey A.: Particle size analysis: AAPS Workshop report, cosponsored by the Food and Drug Administration and the United States Pharmacopeia. *AAPS J.* 6, (3), 23 (2004).
15. Varka E.M.: *Open J. Appl. Sci.* 2, 139 (2012).
16. Dapčević H.T., Dokić P., Krstonošić V., Hadnašev M.: *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 115, 313 (2013).
17. Bobin M.F., Michel V., Martini M.C.: *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 152, 53 (1999).
18. Simovic S., Tamburic S., Milic-Askarabic J., Rajic D.: *Int. J. Pharm.* 184, 207 (1999).

Received: 29. 04. 2016

SUMMARY

Introduction

Polymeric emulsifiers are often used in semi-solid pharmaceutical and cosmetic products due to their power to change rheological properties, microstructure, and lubricity, film forming properties, bioavailability and texture of active ingredients [1–4]. Due to molecular size polymeric emulsifiers do not pass through the skin barrier, they strengthen the penetration of other carrier substances [5], while because of emulsifying and viscosity-increasing properties the application of polymeric emulsifiers decreases the concentration of low molecular weight emulsifiers, preserving carrier stability and rheological properties [6]. Polymer science progress allows the development of new drug delivery systems [3, 7]. The emulsion systems of the newest composition, which are called „*emulsifier free*“ are made using polymeric materials and can be applied in the production of extemporaneous medication in producing community pharmacies. These kinds of emulsions do not contain surfactants or the content of emulsifiers is very low, therefore, they are perfectly compatible with the skin functions [3]. The use of *PemulenTM* type polymeric emulsifiers enables the creation of modern emulsions [8].

In order to improve the quality of pharmaceutical services and to meet the specific needs of patients, medication prescribed by a physician is produced in the community pharmacies [9]. According to the data of sociological research, the large proportion of the produced extemporaneous medication includes semi-solid formulations – ointments, liniments, creams and gels. Ointments are produced in all the public industrial pharmacies; most pharmacies make creams, gels or liniments. Of all the above mentioned semi-solid forms of medication ointment production is predominant [10]. The prevalence of production of semi-solid pharmaceutical formulations is explained by the fact that these formulations are quickly produced, their use is simple, and the ingredients are able to distribute the active ingredients in the right area of the skin [10–13]. The components of different chemical origin, physical state, diverse use and biological activity can be combined in semi-solid pharmaceutical formulations because physical and chemical processes are slow in viscous environment [10, 14, 15]. The ointments and creams most often produced in Lithuanian pharmacies are used to solve skin problems (60% of pharmacies produce them on a daily basis and 28,6% of pharmacies produce them once a week), as well as all other specified health problems such as upper respiratory diseases and rheumatic disorders (20% is produced daily and 22,9% is produced every

week) [10]. Lately new semi-solid forms of medication such as polynomial emulsions (w/o/w, o/w/o, etc.), microemulsions, gel emulsions, hydrogels, liposomes, oleo gels, niosomes, transferosomes, etosomes, proniosomes etc. receive increasing attention and wider application opportunities, because they have better lubricating properties, faster release of medication and more effective transportation of the medication into the skin than the traditional semi-solid forms of medication (ointments) [4, 10, 12, 14, 16–18]. It is therefore advisable to create a semi-solid emulsion base – a carrier that can be quickly and easily produced in a pharmacy, easily applied and removed, non-toxic, not irritating the skin, chemically stable, homogeneous, bacteriostatic, cosmetically attractive, pharmacologically inert, quickly releasing the drug substance, effectively hydrating, keeping the skin barrier function intact [17, 19–21].

One of the most important functions of the carriers of semi-solid product is the protective one [22–28], and the penetration of active ingredients into the skin can be improved by the hydration of the skin [15, 29], therefore, such excipients as ethanol, propylene glycol, glycerol, etc., which change the structure of the stratum corneum and increase the penetration of substances, are used [15, 30–32]. Besides, oils included in the semi-solid pharmaceutical formulations – creams, usually serve as carriers – penetration enhancers for the active substance [10, 33, 34], which also increase the permeability of drugs in the skin [10, 33]. The most popular of vegetable oils, used in the manufacture of semi-solid forms of medications in Lithuanian pharmacies is olive oil. In scientific literature it is considered to be an effective penetration enhancer that protects against UVB-induced carcinogenesis [10, 34, 35].

When modeling semi-solid pharmaceutical carriers it is important to assess the stability of the structure, the durability of internal connections that determine the quality of the system established after production and during storage. The evaluation of centrifugation, microstructural image analysis and emulsion droplet size were chosen to assess the stability of structures by applying different temperature mode, conductometric measurements, reologic assessment, acidity determination of the medium, microbiological research methods showing the durability of internal communication systems and allowing to detect changes in the system in the absence of visible signs of instability. Biomedical research was used to assess the effects of formulations on skin barrier functions and their moisturizing effect, which is necessary to improve the condition of the skin and to maintain the absorption.

The aim of the dissertation:

To investigate the application possibilities of alkyl acrylic cross polymers, lipophilic phase and additives when modeling safe, physiologically effective emulsion bases for semi-solid medical formulations.

Objectives:

1. To evaluate the effect of the different oil based emulsion phase volume ratio, temperature, pH-value as well as the change in the size of the emulsion particles on sedimentary and the physical stability of emulsions
2. To investigate the relevance of the use of the combination of polymer emulsifiers *PemulenTM* TR1 NF, *PemulenTM* TR2 NF for the formation of stable w/o and w/ o/w type emulsions
3. To examine the effect of the preservatives, which increase systemic resilience for gram-positive and gram-negative bacteria, fungi and molds on the stability of new emulsions.
4. To evaluate the impact of the stable semi-solid emulsion systems on the skin moisture and transepidermal water loss

The insights to be confirmed:

1. The combinations of polymeric emulsifiers *PemulenTM* TR1 NF, *PemulenTM* TR2 NF act synergistically in stabilizing the emulsion systems.
2. The use of the *PemulenTM* type polymeric emulsifiers allows the production of stable o/w, w/o/w emulsions without the use of surfactants with different lipophilic phase

Innovativeness of the scientific work:

1. The emulsifying properties of polymeric emulsifiers as well as possibilities to use them in the production of new binary and poly-nominal emulsion systems were investigated and compared.
2. The power synergy of polymeric emulsifiers in producing a new type of emulsion systems was observed and confirmed.
3. Chemical compatibility of new emulsion systems with safe, wide spectrum preservatives was confirmed
4. The influence of new stable emulsion systems o/w and w/o/w on skin moisture and transepidermal water loss was investigated and evaluated

Practical and theoretical value. The prepared stable semi-solid emulsion systems using olive, castor, sunflower oils and liquid paraffin can be applied for the production of extemporaneous (centesimal and descriptive), semi-solid pharmaceutical forms as well as therapeutic cosmetics without any additional use of surfactants. Due to the selected composition the modeled semi-solid bases are distinguished by skin barrier enhancing properties and can be used for daily skin care, prevention and correction of various skin conditions. The selected appropriate preservatives extend the shelf life of emulsion systems and expand the possibilities of use. Semi-solid emulsion carrier with olive oil, produced in the pharmacy of LUHS, is offered to pharmacy customers with skin function problems (dry skin and related irritation, cracking and rash symptoms) as well as for those applying on self-medication issues.

Approbation of work results. The results of the work were presented in 2 scientific conferences: 2 research articles were published on the basis of the research information, 1 of which was published in the publications, included into the data base of the Institute for Scientific Information

Thesis volume and structure Doctoral dissertation consists of the introduction, literature review, research object and methods, results and discussion, articles published on the dissertation topic, conclusions, list of references (184 literature sources), 24 tables, 18 pictures, the list of articles on the dissertation topic and conferences where the results of the dissertation research were published. Curriculum vitae.

Research object. Binary and polynomial emulsion systems of water, mineral and vegetable oils, alkyl acrylate cross polymer.

Research methods. Extemporaneous production of semi-solid forms of emulsifying agents using emulsifying method; viscosimetry; microscopy; texture analysis of emulsion systems; identification of rheological parameters, centrifugation; measuring of surface tension, the surface tension interphase, microbiological research methods; skin analysis using skin analysis software; pH-meter of the interphase; conductimetry; statistical analysis.

Materials and methods

We used Olive oil (Henry Lamoti oils (Bremen, Germany) as a dispersed phase, distilled water as the continuous phase, and high molecular weight copolymer of acrylic acid as well as long chain alkyl methacrylate cross-linked with allyl ethers of pentaerythriol – *Pemulen*TM TR1 NF and *Pemulen*TM TR2 NF (CTFA/INCI, according to IUPAC nomenclature system, general structure of Pemulen is considered as prop-2-enoic acid (3); Advanced Materials, Inc., (Calvert city, KY, USA) as the emulsifiers, sodium hydroxyd was supplied by E. Merck (Darmstadt, Germany). Interfacial tension between liquid phases of polymer mixtures were measured in presence of castor oil (Roth), Karlsruhe, Germany; sunflower oil (Natura), AGD, Zarate (Argentina); olive oil (Ph.Eur. 01/2010:0518) (Henry Lamoti oils (Bremen, Germany) and liquid paraffin (Ph.Eur.01/2008:0239) Brentag (Poland). Wool greasy without water (Ph.Eur. 01/2008:0135; “Carl Roth GmbH&Co”, Germany); Glycerine (Ph.Eur. 01/2008:0496; Supplier UAB “NATURLIT”, Lithuania, country of origin France); digital mixer IKA® Eurostar 200; homogenizer IKA Ultra-Turrax® T 18 digital (“Bandelin electronic GmbH&Co.KG” Germany), potentiometer HJ2511 pH/ORP Meter HANNA instruments; rotary viscosimeter Selekt P (Abrera, Spain); optical microscope Motic BA310, using computer software Motic Image Plus 2.0 ML; centrifuge SIGMA 3-18KS, Osterode am Harz (Germany); Analytical scales “Scaltec” (Scaltec Instruments GmbH, Germany); Conductometre Profiline Cond 3110 WTW (Germany); tensiometre Attension Sigma 702 (Biolin Scientific, Finland); texture analyzer TA XT plus (Stable Micro Systems, Vienna, Austria); rheometre Antor Paar MCR102 (Antor Paar, Austria). VapoMeter DalfinWin 4 (Finland), corneometer Scalar MY-808S (China); climatic cabinet Climacell (MMM, Medcenter Einrichtungen GmbH, Germany); measurements of skin fat and keratin content were carried out using a certified dermatoscopic camera COSCAM CCL-215USB (increasing the lyceum up to 100x), which is connected to the computer and the program “Skinsys Software”. Optical device COSCAM CCL-215USB.

Pre-emulsion preparation

All samples were prepared at ambient temperature (20 ± 2 °C) by direct procedure: the polymeric emulsifiers were dispersed in the purified water phase containing neutralization base (sodium hydroxyd to final pH 6.0–6.5) by mixing. Five passes were performed and approximately 0.0045 ± 0.0005 g of every pre-emulsion was sampled for measuring the droplet size distribution immediately after emulsion was formulated and 1 hour, 2 hours, 3 hours and 24 hours thereafter. To evaluate optimal quantity of emulsifier,

series of emulsions with different concentration of *Pemulen*TM TR1 NF, *Pemulen*TM TR2 NF (PTR1; PTR2) and their mixtures (PTR1+PTR1) were prepared (Table 1). The effectiveness indicator was an absence of two separate layers of samples after 24 hours.

Composition of the semi-solid emulsion systems w / o and w / o / w

Production of w/o emulsion system. The composition of w/o emulsion was developed by experimental method, when the oil concentration 40–55%, the chosen emulsion Wool greasy content varied from 6 to 25%, the selected stable composition is consistent with the published scientific literature [104]. The weighed Wool greasy (without water) and cetyl alcohol are incorporated into the oily medium and heated to the melting point in the electric water bath up to 60–65 °C. The water is slowly poured into the oily medium by stirring 500 Rpm, Speed is increased to 1000 rpm. Stirring is continued for 15 minutes.

Production of w/o/w emulsion system. W/o/w emulsions were produced in two steps [105], in 20 ± 2 °C temperature. Mixing is done with a digital stirrer IKA[®] Eurostar 200, in a laboratory glass of 250 ml. Emulsifier was slowly added to the water stirring it with the speed of 800 rpm, 40% w/o oil was slowly poured into an aqueous dispersion and stirred for 15 minutes in 800 rpm speed, pH was controlled by 18% NaOH solution [103], mixing speed is increased to 1500 rpm. The mixture is stirred for 20 minutes [106]. *Production of E02N emulsion:* emulsifiers were added to the oily phase, heated to the melting point, In an electric water bath up to 60–65 °C, the resulting solution was cooled to 40 °C, it was slowly added to the aqueous polymer dispersion medium and stirred for 15 min. at 800 rpm speed, pH was controlled by 18% NaOH solution. Composition of w/o and w/o/w formulations are presented in Table 2.5.11.2.

Evaluation of droplet size distribution

Typically spherical shape droplet size was measured by image analysis and conversion from number to volume was made. Oil phase droplet size was measured with a 400 magnification coupled optical microscope (Motic BA310) and fixed using digital camera Motic Image Plus 2.0 ML. Automated determination of particle size was used. Triplicate measurements were made, and average specific surface area and variance were calculated, the coefficient of variation (std dev/mean)×100) was less than 10%.

Surface tension measurement

Surface tension of liquids was designed for measuring surface tension and interfacial tension between two liquids with Du Noüy ring and platinum plate. The method using Du Noüy involves slowly raising a platinum-iridium ring through the liquid until it detaches from the surface. A platinum-iridium ring (Du Noüy) dimensions: R (ring) = 9.545 mm (wire) = 0.185 mm. Measurements were performed in an environment where temperature was $(22 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C})$, and air pressure was 101.325 kPa.

Interfacial tension measurement

Interfacial tension between two liquids was measured using Du Noüy ring.. A ring from platinum was lowered and immersed into the lower layer phase (water, or polymeric *PTR1*, *PTR2*, *PTR1/PTR2* dispersion). A liquid depth was regular, of 14 mm. Oily phase was carefully placed on the top of the water (polymeric *PTR1*, *PTR2*, *PTR1/PTR2* dispersion) layer. The ring was pulled up until the lamella from the interface broke off. All measurements were performed in an environment where temperature was $22 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ and air pressure was 101.325kPa.

Stability assessment

Stability assessment at room temperature $25 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ and the accelerated stability examination at $38 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ with relative humidity of $75 \pm 5\%$ were carried out using Climacell (MMM, Medcenter Einrichtungen GmbH, Germany). The pH value, viscosity, conductivity, droplet size and the creaming index of the prepared samples were determined according to the methods described above.

Creaming index measurement

Centrifugation was carried out to test samples on the manufacturing date using the Sigma 3 – 18KS, 10 000 rpm $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 10 min. The samples were placed in 2 ml volume tubes using the same quantity (g), $n = 3$. Emulsion phase separation was evaluated according to separated aqueous phase (g). CI stability (creaming index) was calculated according to the formula: $\text{CI} = (a \times 100) / m$; where CI – emulsion stability (%); a – the aqueous phase content (g) m – mass of the sample taken for investigation. For all prepared samples $\text{CI} = 0$.

Determination of emulsion viscosity

Produced samples viscosity was measured by rotational viscometer, equipped with R7 spindle. The viscosity of each emulsion sample was measured at ambient (22 ± 2 °C) temperature at the same share rate (100 rpm).

pH measurement

The pH value was measured with the pH meter HJ2211 pH / ORP Meter Hanna Instruments. 5% aqueous solution of emulsions was prepared by dissolving 2.5 g of samples in 47.5 g of distilled water. The solution was stirred then filtered through paper filter. Each sample was measured 5 times, the mean and standard deviation was calculated.

Conductivity measurement

Conductivity of the emulsions was determined immediately after preparation using a *Profiling Cond 3110* (WTW GmbH, Weilheim, Germany) by immersing conductivity measuring element in the test sample. The electrical conductivity of emulsion changes due to the change of oil phase and continuous phase. When continuous phase is oil – conductivity is lower than 1 $\mu\text{S}/\text{cm}$, when continuous phase is water – conductivity is higher than 50 $\mu\text{S}/\text{cm}$. The conductivity of prepared samples was $232 \pm 2,1$ $\mu\text{S}/\text{cm}$ to E03N and 260 ± 3.0 to sample E02N.

Investigation of rheological properties

The rheological properties were determined by the rheometer Antor Paar MCR102 (Antor Paar, Austria) using a cone-plate geometry system (cone angle – 2°) [133]. The oscillation test is carried out in the range of 1–40 rad/s. [134]. Tested sample is subject to vibratory deformation by oscillating mode and the tension formed in the sample is recorded. It is dispersed into the component of the energy dissipation module (G'') and the energy accumulation module component (G'). Gel elastic properties are evaluated according to the module of elasticity (G'), and the viscous properties of the sample are assessed using viscosity model (G''). The connection between these modules is expressed by: $\tan\delta = G''/ G'$ [53]. The phase angle describes the relationship between sample viscosity and elasticity: when the angle of the phases is equal 90° , the substance is an ideal liquid, and when 0° – the substance is ideally elastic [53,112] changing the deformation speed in the range 1–10–1 1/s, $22\text{--}32$ °C [135]. The lower the $\tan\delta$ (when $G' > G''$), the stronger the interaction of the gel structure [53, 92].

Skin testing

Prior to the test, the volunteers were examined by a cosmetic expert for any serious skin disease or damage especially on forearms. Before the study, every volunteer was provided with a volunteer protocol. This protocol stated the terms and conditions of the testing and volunteers were asked to sign. On the first day, informed consent was obtained from all volunteers. The study was approved by the local ethics committee. Volunteers were not informed about the contents of formulations. Evaluation was carried out using non-invasive bioengineering techniques of measuring electrical capacitance of the skin and of transepidermal water loss (*TEWL*). The average result of five recordings was taken. Of these, 60 healthy female volunteers with no skin morbidity were selected whose age ranged between 21–67. During the study, volunteers were forbidden to use any other skin care products on their volar forearms. Participants were divided into two groups (A and B). Participants of the *Group A* had the w/o/w emulsion applied to their volar forearms (E03N), and the skin of the left arm was not smeared. Volunteers of the *Group B* had the o/w emulsion system E02N applied, and the skin of the left arm was not smeared. Measurements were performed on the skin of both volar forearms, always on the same place. The groups of volunteers (A and B) were homogeneous and comparable. All the skin tests were done at 22 °C and $65 \pm 5\%$ humidity conditions throughout the study. Topical emollient was dispensed to each volunteer in tubes containing 50 g, which contained enough emollient for 1 month. Skin therapy was applied twice a day. Evaluation of the skin condition was performed 15, 30, 60, 120, 180, 240, 320 minutes, after the preceding application of skin therapy (at comparable times in the control group) and after 7, 14, 21 and 28 days for topical application two times per day (in the morning and in the evening).

Skin hydration measurement

Skin hydration measurements in the SC were measured using a Corneometer (Scalar MY-808S). The determination is based on the linear dependency of the electrical property of the epidermis to its hydration. The results are displayed in arbitrary units (AU). In each testing area five measurements were performed on the volar forearm. The effect of the vehicles on skin hydration was calculated by the equation:

$$H = \left(\frac{\frac{T_i}{U_i}}{\frac{T_0}{U_0}} - 1 \right), \quad (1)$$

H – skin hydration; i – (measuring time (after 15, 30, 60, 120, 180, 240, 320 minutes and/or 7, 14, 21, 28 days), T_i and U_i are the mean values of the treated (T) and untreated (U) at time point.

Accordingly T_0 and U_0 are the mean values of the treated and untreated forearm before the treatment at the beginning of the study. They served as reference values. Percentage changes indicate the difference from baseline values at different points in time. These were calculated by equation:

$$\text{Changes (\%)} = \frac{H_i - H_0}{H_0}, \quad (2)$$

H – skin hydration; i – (measuring time (after 15, 30, 60, 120, 180, 240, 320 minutes and/or 7, 14, 21, 28 days), H_0 – baseline skin hydration.

Trans epidermal Water Loss measurement (TEWL)

Measurements were performed according to the European Guidance for the Assessment of Transepidermal Water Loss. The effect of the vehicles on TEWL was calculated by equation:

$$\text{TEWL} = \left(\frac{\frac{T_i}{U_i}}{\frac{T_0}{U_0}} - 1 \right), \quad (3)$$

TEWL – transepidermal water loss; i – (measuring time (after 15 min, 30 min and 1, 2, 3, 4, 5 hours and 7, 14, 21, 28 days); T_i and U_i – are the mean values of the treated (T) and untreated (U) at time point and accordingly T_0 and U_0 are the mean values of the treated and untreated forearm before the treatment at the beginning of the study.

These served as reference values. Percentage changes indicate the difference from baseline values at different time points. It was calculated by equation:

$$\text{Changes (\%)} = \frac{\text{TEWL}_i - \text{TEWL}_0}{\text{TEWL}_0}, \quad (4)$$

TEWL_i – transepidermal water loss; i – (measuring time (after 15, 30, 60, 120, 180, 240, 320 minutes and/or 7, 14, 21, 28 days); TEWL₀ – baseline transepidermal water loss.

Statistical data evaluation

The results of the study were statistically processed using statistical data analysis packages SPSS 21.0, Microsoft Office Excel 2010, software package “Prizma v.5.04” (GraphPad Software Inc, La Jolla, California). Confidence Interval (CI) of the significance level was chosen ($\alpha = 0,05$). The study data was analyzed using the method of the two-phase dispersion analysis ANOVA (Two-Way ANOVA), by applying comparative tests of the integrated software package Dunnett's, Sidak's, Mann-Whitney, Tukey's. Non-parametric tests were used: One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test, 2 Related Samples Wilcoxon test, K Related Samples – Friedman Test. Sample averages, moda and standard deviations were calculated.

Influence of the lipophilic phase on the stability of o/w emulsions produced using *PemulenTM* type polymer emulsifiers

The influence of vegetable and mineral oils on sedimentation and aggregate stability of emulsions (pH of the emulsion, droplet size, viscosity, and creaming index), produced using alkyl acrylic acid polymeric emulsifiers (alone or in mixtures) has not been widely explored. According to the published research data the size of the emulsion droplets decreases by increasing the amount of emulsifiers (PTR1 or PTR2), and when increasing the amount of oil in the emulsion system, the size of the droplets increases [8, 86, 137]. Oil concentration when the maximum droplet size is reached has been identified [92]. Both emulsifiers (*PTR1* and *PTR2*) help to form the largest emulsion droplets when the oil concentration reaches 30%. This was confirmed by our experiments with different oils (olive, castor, and sunflower, mineral). Above this limit, the size of emulsion droplets decreases. This property is explained by the greater stability of the emulsion at almost constant concentration of both phases [92]. It is known that the viscosity of the vegetable oil is determined by the chemical composition of the oil – the length of fatty acid chains and their degree of satiety [149–152].

The assessment of the influence of different lipophilic phases of emulsions produced using *Pemulen*TM type polymeric emulsifiers PTR1 and PTR2 and their combinations revealed that when emulsions are produced with polyacrylic acid polymer emulsifiers (PTR1, PTR2 and their combinations) the concentration of the lipophilic phase has no significant effect ($P \geq 0.05$) on the acidity of the system, and increasing the amount of oil in the emulsion system from 5% to 50% increase the viscosity of the emulsion for all tested oils ($P \leq 0.05$) [152].

Series of experiments were designed to determine the influence of temperature on the change in emulsion droplet size and creaming index, by keeping samples at 8 °C and 38 °C (humidity $75 \pm 5\%$) for 21 days. The lipophilic phase of the test formulations was 50%, samples differed only in the origin of the oil phase (olive, sunflower, and castor, mineral), and the ratio of emulsifier PTR1: PTR2 mixture was 1:4, the total amount of emulsifiers was 0.4%, pH 6.3 ± 2 . Initial measurements were performed 24 hours after production. The initial size of emulsion droplets of formulations with different lipophilic phases varied significantly: olive oil and sunflower oil ($P \leq 0.05$), Olive oil and liquid paraffin ($P \leq 0.05$), however, the difference in the size of olive oil and castor oil containing emulsion droplets was insignificant ($P \geq 0.05$). According to the size of emulsion droplets, the sequence of emulsions has been distributed as follows: emulsions containing olive oil > castor oil > sunflower oil > emulsions with liquid paraffin.

When storing samples at 8 °C and 38 °C (humidity $75 \pm 5\%$) for 21 days, emulsion droplets significantly increased in all studied emulsions after 7 days, however, the emulsions remained homogeneous, not creamy; *CI* (3500 rpm) was equal 0 during all investigation of 21 days. It was identified that there was no significant difference ($P \leq 0.05$), in the average size of emulsion droplets where the lipophilic phase was liquid paraffin or olive oil after 7 days at the temperature of 8 °C and 38 °C, whereas the average size of droplets of emulsions, in which the lipophilic phase was castor or sunflower oil, varied significantly: the droplets of the emulsions with castor oil were 13.3% smaller at 8 °C than at 38 °C, while emulsion droplets of emulsions containing sunflower oil were 18.8% bigger at the temperature of 8 °C than at 38 °C. Storing samples for 14 days at the temperature of 8 °C and 38 °C the size of emulsion droplets significantly differed in castor oil emulsions and was 29.9% smaller at the temperature of 8 °C than at 38 °C, While the difference in the emulsion droplet size of emulsions with sunflower, olive, mineral oil (paraffin) at 8 °C and 38 °C was insignificant. After 21 days the droplet size of the emulsions containing olive and sunflower oils at the temperature 8 °C and 38 °C differed insignificantly, while

emulsion droplets of the emulsions containing castor oil at the temperature of 8 °C were 25.7% smaller than at the temperature of 38 °C. Emulsion droplets of emulsions containing liquid paraffin were 21.9% bigger at the temperature of 8 °C than at 38 °C (see Fig. 3.2.1, 3.2.2). The findings showed that the storage temperature of 8–38 °C has no significant impact on the microstructure of emulsions with olive oil, while emulsions with castor oil had higher emulsion droplets at 38 °C and emulsion droplets of emulsions with sunflower oil and liquid paraffin were smaller compared to the medium-size of emulsion droplets while storing them at 8 °C.

Evaluating the microstructure image of emulsion formulations (magnification 400x) it can be seen that at the temperature of 38 °C the biggest changes took place in the emulsion droplets of the emulsions where the lipophilic phase is sunflower oil and mineral oil (see Tables 3.2.1). These results correlated with the measuring data of changes in emulsion droplet size when stored at different temperatures (8 °C and 38 °C) (Fig. 3.2.1, 3.2.2).

Modeling and evaluation of stability of w/o/w emulsions containing the mixture of alkyl acyl cross polymers PTR1 / PTR2

Selection of the composition of the first group of emulsion systems (w/o, w/o/w)

The lipophilic phase of the first group modeled emulsions and additives were chosen following the results of our performed and published research [10], which revealed that in the community pharmacies olive, sunflower, castor and almond oils are used for the production of semi-solid formulations. Olive oil is most often used in the pharmacies – 88.6% and 80.0% of pharmacies use sunflower oil, 65.7% – castor oil and 25.9% – almond oil [10]. Wool greasy was selected for the modelling of w/o emulsion because it is widely used in the community pharmacies in Lithuania for the production of medications according to medical prescriptions (30.6%) including (21.1%) semi-solid pharmaceutical formulations [10]. The published research results show that due to the similarity in the chemical composition wool greasy has a high biocompatibility with human skin fat [153], it increases the penetration of biologically active substances through the skin barrier [153, 154] and is able to incorporate a large amount of water in its structure, it is used as emulsifier and as plasticizer, binding, and chemically inert material containing antimicrobial properties [153, 155–157]. Wool greasy easily melts with hydrophobic materials, it makes reverse type emulsions, perfectly absorbs into the skin, it is not affected by acids, moisture, light. The scientific research has proven, that wool grease has softening, emulsifying and moisturizing properties, they absorb twice as much water as

their own weight [155, 156, 158], they have anti-inflammatory, antimicrobial, skin barrier function restoring effects by creating a temporary airtight barrier, which keeps moisture in the affected area of the skin and promotes wound healing [155, 159, 160]. The published scientific research results show that it is non-toxic, non-irritating substance: allergy to wool grease is a rare phenomenon [159, 161–163], and in order to reduce the possibility of allergic reactions wool grease is purified by removing free alcohols and detergent residues [156, 159].

According to the published scientific research skin penetration can improve skin hydration resulting in easier absorption of medicinal substances through the SC [15, 48, 117], therefore, glycerol, which diffuses into SC, maintains moisture in the skin, changes the structure of the stratum corneum and thereby increasing the penetration of the substances, was chosen as an additive [15, 30–32].

Assessment of the stability of the first group emulsion systems w/o, w/o/w

The formulation of the first group w/o/w emulsion system was developed in two stages, using anhydrous wool greasy, purified water and a mixture of polyacrylic acid polymer emulsifiers PTR1 and PTR2 (0.4%). Emulsion water-olive oil (40%), wool grease (without water) – (6%), purified water (54%) (see Table 2.4.2). Primary w/o and w/o/w emulsion systems were stored for 9 days at the temperature of 25 ± 2 °C, the moisture was $65 \pm 5\%$, viscosity (mPa×s), pH, emulsion droplet size ($d_{\text{vid.}}$, μm) were measured. The measurements were made on the emulsion production day, after 1 day, after 2 days, after 3 days, after 6 days, after 9 days, ($n = 5$). On the production day the viscosity of w/o emulsion systems was 4.72% lower comparing it with the emulsion system viscosity after 9 days and continued to decrease from $2,534.2 \pm 37.302$ mPa×s to $2,185.1 \pm 205.786$ mPa×s, while pH was increasing (from 6.12 ± 0.1 to 6.21 ± 0.1). The findings show that the viscosity and medium pH of the w/o emulsion system was changing statistically insignificantly throughout the study period ($P > 0.05$). The viscosity of the ternary w/o/w emulsion when storing it at the temperature of 25 ± 2 °C differed statistically insignificantly ($P > 0.05$) during the study period: 24 hours after the production of the emulsion system viscosity decreased 0.97% ($P > 0.05$), after 9 days viscosity was 1.5% lower than on the production day ($P > 0.05$) and was changing from $3,265.5 \pm 42.959$ mPa×s to $3,216.9 \pm 14.99$ mPa×s ($n = 3$). The pH of w/o/w emulsions increased (from 5.5 ± 0.1 to 5.8 ± 0.1) insignificantly ($P > 0.05$). The results indicate that the viscosity and medium acidity of w/o/w emulsion system did not change significantly during the entire study period ($P > 0.05$). The centrifugation

gation test revealed that the creaming index CI of the ternary emulsion on the production day was 11.42 ± 0.23 , and after 9 days of observation time it was 12.26 ± 0.16 , $P \leq 0.05$. With the increase in emulsion droplets, the creaming index increased significantly. There was a statistically significant difference in w/o emulsion droplets when storing samples at the temperature of $25 \pm 2^\circ\text{C}$ after 5 days ($P < 0.05$), after three days the diameter of the emulsion droplets increased from $6.68 \pm 0.239 \mu\text{m}$ to $9.18 \pm 0.15 \mu\text{m}$, and after 9 days it was $12.40 \pm 0.08 \mu\text{m}$. W/o/w emulsion droplets statistically significantly increased five days after production. Three days after the manufacture of emulsions, emulsion droplets increased from $9.88 \pm 0.287 \mu\text{m}$ to $13.44 \pm 2.178 \mu\text{m}$, and after 9 days they were $19.96 \pm 0.484 \mu\text{m}$ (see Fig. 3.3.2.1) The study showed that the increase in w/o/w emulsion droplets significantly correlated with an increase in emulsion drops ($R^2 = 0.94$). The research results show that the mixture (0.4%) of *PemulenTM* type polymer emulsifiers PTR1+PTR1, wool grease (6%) and purified water forms a three-part emulsion system without additional use of low molecular weight surfactant.

Assessment of the stability of the second group emulsion systems

In order to stabilize w/o emulsion selection of experimental emulsions was performed (see Table 2.4.2). Stable formulation of w/o emulsion was selected (see Table 3.4.1). W/O emulsion systems containing emulsifier sheep wool grease was investigated by a number of scientists [104, 157, 164–166]. Sheraz et al. developed stable w/o base containing ascorbic acid, the lipophilic phase of which was 32%, wool grease 21%, cetyl alcohol 4% and determined the influence of medium acidity, lipophilic phase and humectant on the stability of the newly created emulsion with ascorbic acid [104]. Our selected stable w/o emulsions produced using different oils (Olive, mineral, castor, sunflower), were yellow because of the lanolin contained therein [157, 167]. All the emulsions produced were homogeneous, not creamy, there were no changes in color during the 3 months storage.

We made the assumption that w/o emulsion, the composition of which is presented in Table 3.4.1 and the microstructure in Table 3.4.2, is stable (see Table 3.4.4). Another series of experiments was performed to simulate a stable three-layer emulsion, to evaluate the rheological properties of the ternary emulsion obtained. Rheological properties of emulsions produced using *PemulenTM* type emulsifiers PTR1, PTR2 and their combinations were investigated by a number of scientists: Mostafa Shahin et al studied the effect of the drug carrier composition on stability, rheological properties and drug release, when using emulsifiers PTR1, PTR2 and their combinations and it was identified that o/w emulsion systems, produced using a less

hydrophobic *Pemulen*TM type emulsifier PTR1 have a higher fluidity index than emulsion systems manufactured with a more hydrophobic emulsion PTR2. Emulsion fluidity index of emulsions containing *Pemulen*TM type emulsifiers increased by increasing the concentration of the polymer, and the emulsion's viscosity depended on both the type of emulsifier (emulsion with emulsifier PTR1 was more viscous than emulsion with emulsifier PTR2) and oil phase [86, 117]. Marie-France Bobin et al assessed the rheological properties of the samples tested and identified that the emulsion with polymeric emulsifier PTR1 without a gelling agent is unstable [85]. The evaluation of rheological properties is widely used in the characterization of w/o/w emulsions to assess their stability [53, 55, 112, 168, 169]. Rheological properties of test samples (o/w, w/o/w) were evaluated after 24 hours. After production (emulsion composition, microstructure (see Tables 3.4.1, 3.4.2). The oscillation test is carried out in the range of 1–40 rad/s. The flow test is carried out by changing the deformation speed in the range 1–100–1 l/s, 22–32 °C [112,134]. The selected temperature is close to the skin surface temperature, rheological properties identified under these conditions were close to the sample conditions of use. For the description of the test curves of emulsions we selected Oswald's equation, which describes the behavior of non-Newtonian fluids with certain deformations since all the reograms in the samples tested correspond to the (Power Law) mathematical model ($R^2 = 0,929–0,996$). As the displacement gradient increased, displacement stress increased and viscosity decreased, which showed that the resulting emulsions have pseudo plastic properties (see Fig. 3.4.1, 3.4.2) [170]. Consistency coefficient and flow rate of stable o/w, w/o/w emulsion systems when temperature varied from 22 °C to 32 °C increased insignificantly ($P \leq 0.05$), which showed that the change in temperature from 22 °C to 32 °C did not break the structure of the systems.

The elastic properties of the emulsions tested were evaluated according to the module of elasticity (G'), and the viscosity module (G'') was used to assess viscous properties. These two modules are linked by a complex module ($G^* = G' + iG''$), where $i = -1$. The reograms show that the viscosity module G'' of the test samples is greater than G' , this suggests that the structure of the test samples is gel, stable [7, 53, 112, 134] (see Fig. 3.4.3, 3.4.4). The results obtained confirmed our hypothesis, that the use of a mixture of emulsifiers PTR1 and PTR2 may result in stable w/o and w/o/w gel emulsions without any additional use of surfactants and / or gelling agents, but there is evidence in the literature, that the use of PTR1 or PTR2 separately results in unstable emulsions [85, 86, 92, 137, 171].

Further experiments were performed in order to evaluate the influence of lipophilic phase on the assessment of physical properties and stability of

w/o/w emulsions. It was found that the lowest average droplet size was in emulsions with castor and sunflower oil compared to the average droplet size of emulsions with a lipophilic phase containing olive oil or liquid paraffin ($P \leq 0.05$) (see Table 3.4.3).

Size of emulsion droplets, their concentration – these are the parameters that have an influence on the appearance, texture and stability of the emulsion [172]. The average emulsion droplet size of experimental w/o/w emulsions with different lipophilic phases (olive oil, castor oil, sunflower oil, liquid paraffin) (d , μm) during the period of 6 months, when storing emulsions at $25 \pm 5^\circ\text{C}$ (humidity $65 \pm 5\%$), remained unchanged. The calculations of stable w/o/w emulsion droplets dispersion according to the volume of different size droplets showed that emulsions with liquid paraffin and olive oil were dominated by emulsion droplets with a diameter of 5 to 10 μm , while emulsions with castor and sunflower oil were dominated by emulsion droplets with a diameter of 0.5 to 5 μm . During the centrifugation at 10,000 rpm speed, the creaming index of emulsions with sunflower, castor oils and liquid paraffin was equal to 0, and in the emulsions with olive oil indeterminate droplets of the separated oily phase were observed after 4 months of storage, although the viscosity of the emulsion, the acidity of the medium, and conductivity did not change significantly. The electrical conductivity (conductivity) significantly decreased in the paraffin emulsions, which showed changes inside the emulsion system, however, the viscosity of the system and the size of emulsion droplets did not change significantly, the emulsion did not precipitate throughout the study.

Assessment of the stability of the second group emulsion system after the use of preservatives

The experimental series were performed to investigate the influence of broad-spectrum preservatives (phenoxyethanol, benzyl alcohol with dehydroacetic acid), which increase the resistance to gram-positive and gram-negative bacteria, fungi and molds on the stability of the semi-solid form of an emulsion w/o/w carrier (see Table 3.4.1). Synthetic preservatives phenoxyethanol and benzyl alcohol with dehydroacetic acid and antioxidant tocopherol acetate have recently been widely used in the manufacture of cosmetics. In order to evaluate the influence of these preservatives and antioxidants on sedimentation and aggregation stability of emulsions, we produced emulsions with the maximum recommended preservative and antioxidant content. We performed emulsion stability tests: centrifugation, emulsion droplet size, dynamic viscosity measurements (see Table 3.5.1).

It has been found that preservatives and antioxidants (tocopherol acetate) are suitable for the following reasons: they did not change the

particle size and the acidity of the medium, the smell and color of emulsions remained unchanged, They did not settle down for three months and while centrifuged (10,000 rpm for 5 min) (see Tables 3.5.1, 3.5.2).

Assessment of the effect of stable o/w, w/o/w semi-solid pharmaceutical emulsion systems on the changes in skin moisture

One of the most important functions of the vehicles of the semi-solid product is protection [22–28] Many studies have confirmed the importance of the carrier interaction with the skin [4, 24, 28, 72, and 175]. The effect of tested semi-solid pharmaceutical formulations on the moisture content of skin SC is used as an indicator assessing the positive or negative impact of the vehicle on skin barrier functions [119]. The measured *TEWL* shows the diffusion of condensed water through SC [176], and the increased *TEWL* indicates skin barrier dysfunction resulting in a decrease in moisture content and skin dryness [72, 131]. According to the published research data the penetration of active ingredients into the skin can be improved by the hydration of the skin [15, 29]. Additives such as ethanol, propylene glycol, glycerol alter the structure of the stratum corneum and increase penetration of the substances [15, 30–32]. The glycerol dissolved in semi-solids tested vehicles, which, like other well-known polyols (polyester glycol, ethane-diol), is highly soluble in water, hygroscopically [30, 177] diffuses into SC, maintains the moisture content of skin, improves the penetration of active substances through the skin [30, 178]. Moisturizing effect of glycerol depends on its absorbed amount in SC [179] and the concentration as well as vehicle composition are the key factors in achieving maximum effect of glycerol [180–182]. The chemical composition of the investigated o/w and w/o/w semi-solid emulsion systems is the same and glycerol in o/w system is dissolved in the aqueous medium, and ternary emulsion system in the water phase of oil droplets. The compositions of experimental samples are presented in Table 2.5.11.2. The biomedical study was carried out in stages. The first phase was designed to standardize the group of volunteers under investigation according to the physiological parameters of the skin, the second step is to identify and evaluate the short-term effects of the test substances on skin moisture over a period of 5 hours, The third step was to evaluate the effect of the formulations on skin moisture during a long-term 28-day study (see Table 2.5.11.1).

Evaluation of the effect of semi-solid emulsion vehicles on short-term skin moisturizing

The aim of the research was to identify short-term moisturizing effect of on semi-solid pharmaceutical forms of o/w and w/o/w emulsion vehicles after a single formulation application on the skin. The volunteers who participated in the study were divided into two groups A and B; both groups were homogeneous according to age ($N = 40$, $n = 5$), comparable; (*Mann-Whitney*, *Wilcoxon* test, $P \geq 0.46$) (see Table 3.6.1.1) The ternary emulsion system (E03N) was applied on the right volar forearm of the A group volunteers while the volar forearm of the left arm was not treated. The right volar forearm of the volunteers of the group B was treated with binary emulsion system (E02N) and the volar forearm of the left arm was not treated.

The skin of all subjects was healthy. The initial skin moisture content on the measured areas of the left and right forearm skin of the volunteers in the Group A differed significantly ($P \leq 0.05$): on the treated skin 41.864 ± 1.489 , on the untreated skin 43.373 ± 1.831 , $P \geq 0.05$ (see Table 3.6.1.2).

The initial assessment of the skin condition of the groups A and B revealed that there was no significant difference in moisture content, transepidermal water loss, pigmentation, skin fat, keratin content and smoothness of the treated and untreated arms

Within 60 minutes after the single skin treatment with sample E03N, the moisture of the treated skin increased significantly. The moisture content of the skin has increased and after 60 min. it was (12.471%) higher than before applying the sample remained significantly higher over the entire five hour period of measurement ($P \leq 0.05$). After five hour period of measurement it was higher than at the beginning of the study by 9.11% than in the beginning of the study (see Table 3.6.1.1). According to the published research data the skin hydration may partly be partly influenced by lipophilic substance which covers the skin and forms a more or less occlusive layer, which prevents the loss of transepidermal water and the water present in the outer layer of the emulsion [183]. Besides, *Pemulen*TM type polymer emulsifiers quickly release the oil phase in contact with the electric charge of the skin surface as well as the salts present [89].

In the Group B, the difference in the initial skin moisture content on the left and right forearm skin was not significant ($P \geq 0.05$) (see Table 3.6.1.2). Over a five-hour period the moisture content of the untreated volar forearm skin remained unchanged. Meanwhile the skin of the right volar forearm, after a single application of the E02N sample, significantly changed within 120 minutes (17.42%), after 180 minutes it was (11.7%), and after 240 mi-

notes the measured moisture content of the skin did not significantly differ from the moisture content before applying the sample E02N (Fig. 3.6.1.2).

The change in skin moisture (%), compared to the initial skin moisture content (%) over a five-hour period, was calculated according to the formula (5), presented in Fig. 3.6.1.3.

The influence of the investigated carriers on skin moisture content, compared to moisture in the skin, was calculated using formula 6 (see 2.5. “Materials and methods”), presented in Fig. 3.6.1.4. The change in moisture (%) after the application of o/w emulsion system was higher after 120 minutes than after the application of sample E03N, however, the moisturizing effect after five hours after the application of the samples was higher after applying sample E03N. Five-hour skin hydration measurement results show that w/o/w emulsion formulation E03N has a long-lasting, uninterrupted skin moisturizing effect and this is consistent with the findings of the published research that ternary emulsions can be successfully applied for long-term, continuous, controlled release of active substances [22, 60, 72].

After a single application of ternary emulsion the *TEWL* of the skin of the participants in the group A was steadily decreasing and after 5 hours was statistically significantly lower compared to the initial *TEWL* ($P \leq 0.001$). The loss of transepidermal water of the skin of the participants in the group B decreased and was statistically significantly lower comparing to the untreated skin *TEWL* after 60 minutes ($P \leq 0.001$) and it remained significantly lower for two more hours within 2 hours after single application (2 hours after single application it was lower than before the application of the sample (E02N), ($P \leq 0.001$). After four hours after the application, there was no significant difference from the initial *TEWL* ($P > 0.05$).

Change in *TEWL* (%) during the period of five hours after the application of o/w (group B) or w/o/w (group A), compared to the initial non-treated skin *TEWL*, and was calculated according to the formula 7 and presented in Fig. 3.6.1.5.

It was found, that in the group, which consumed gel-emulsion E03N, skin *TEWL* remained statistically significant as compared with the basal measurements, after 5 hours duration ($P \leq 0.001$). Meanwhile, after 5 hours, the group which applied gel-emulsion E02N – showed no significant statistical difference from the basal *TEWL* value ($P > 0.05$) (see Table 3.6.1.3).

It was identified that semi-solid pharmaceutical emulsion vehicles E02N and E03N have different instant skin hydrating, barrier function protecting effect. The formulation E03N significantly moisturized skin after 1 hour and the hydrating effect of skin lasted for a full five hour period of study. E02N significantly hydrated after 2 hours and this hydration effect lasted for two hours.

Determination of the effect of semi-solid emulsion vehicles on a long-term skin hydration

The aim of the study was to determine the long-term hydrating effect of semi-solid pharmaceutical o/w and w/o/w emulsion vehicles on the skin. The study subjects were divided into groups A and B, both groups were homogeneous by age ($N = 60$, $n = 5$), comparable (Mann-Whitney, Wilcoxon test, $P = 0.80$) (see Table 3.6.2.1)

The skin moisture of the volunteers from Group A, was treated with the test sample E03N twice per day, it varied from 42.147 ± 5.772 to 57.167 ± 7.360 . After 21, 28 days the skin moisture was significantly higher, compared with moisture before applying the sample. Compared to the untreated skin, there was no significant difference between them (treated and untreated skin) at the baseline ($P > 0.05$), however, after 21 days ($P \leq 0.05$) and after 28 days of the sample use, the moisture of the treated skin was significantly higher ($P \leq 0.05$).

After using E03N skin over 7 days period, the moisture of the volar forearm increased by 10.57%, after 14 days it increased by 14.84%. After 21 and 28 days it was 35.2% and 35.63% higher respectively than the skin moisture before applying sample E03N. Compared to the moisture of untreated skin, the moisture of the skin treated with the sample E03N was 4, 77% higher after 7 days, after 14 days 6.54% higher, 9.2% higher after 21 days and 13.08% higher after 28 days (see Fig. 3.6.2.1). The change in skin moisture (%), compared to the initial skin moisture content was calculated according to the formula (5).

The initial skin moisture of the B group volunteers before applying E02N sample varied from 40.867 ± 6.162 to 61.713 ± 4.266 . Statistically significant increase in skin moisture was observed after 21 days of the skin treatment with a sample of E02N ($P \leq 0.05$). Compared to the moisture of untreated skin, the moisture of the skin treated with the sample E02N twice per day after 7, 14, 21, 28 days, it was found that after 14 days the skin moisture increased by 52%, after 21 days it increased 52.235%, and after 28 days it was 57.011% higher than during the initial moment, however comparing the moisture content between the untreated and treated volar

forearm skin, showed no statistically significant difference: after 7 days ($P > 0.05$), after 14 days ($P > 0.05$), after 21 days ($P > 0.05$), after 28 days ($P > 0.05$). Meanwhile the difference in skin moisture between treated and untreated volar forearms by applying E03N emulsion over the period of 21 and 28 days was statistically significant ($P \leq 0.05$) (see Table 3.6.2.2, Fig. 3.6.2.2).

It was identified that using a newly created composition (ternary (w/o/w) or binomial (o/w) emulsion system (see Table 2.5.11.2), the loss of transepidermal water significantly decreased compared to the *TEWL* before applying the sample after 21 and 28 days (see Fig. 3.6.2.3, 3.6.2.4).

A series of experiments has shown that everyday use of o/w, w/o/w emulsion systems for 28 days had a positive effect on the skin hydration preserving the protective function and maintaining moisture in the skin without damaging the special bilayer lipid structure of SC and without increasing *TEWL*. Skin moisturizing effect correlated with *TEWL* $R^2 = -0.9811$, $P \leq 0.05$. *TEWL* was measured in order to evaluate the influence of two measures (i.e. E02N and E03N) on protective skin function. The skin moisture parameters have been used to confirm the results of the *TEWL*, because the reduction in *TEWL* increases skin moisture content thus promoting water retention [119, 127, 184].

It was found that the w/o/w emulsion provides a reliable and lasting moisturizing effect, slows the water loss by evaporation and better meets the requirements for ideal semi-solid form of medication vehicles than the o/w emulsion system of the same chemical composition. The data obtained are in agreement with the results of other researchers who have studied the effects of ternary emulsion systems on skin barrier functions [184]. We believe that the moisturizing effect is determined both by the properties of the ternary emulsion and oil as an occlusive ingredient forming a protecting film on the skin surface, thereby arresting water loss. On the other hand, the influence on their micro gels structure, they have a strong water binding capacity and they can deliver the differently bound water in several steps as well as the more effective influence of the humectant glycerol characteristics after incorporating it into the ternary emulsion system.

Conclusions

1. The investigation of the influence of oil origin on the stability of emulsions identified that the production of o/w emulsions, the lipophilic phase of which is a mineral oil (liquid paraffin), the size of resulting emulsion droplets is smaller compared to emulsions based on vegetable oil, however, according to the experimental data the difference between the average size of emulsion droplets was not significant for the stability of the different nature of emulsion systems. The storage temperature of the emulsions with olive oil (between 8 °C and 38 °C) did not significantly affect the changes in the size of the emulsion droplets, meanwhile, the average change in the size of emulsion droplets in the emulsions containing sunflower, castor and mineral (paraffin oil) oil was significantly different with a change in temperature from 8 °C to 38 °C. Despite this difference, the stability of the emulsions produced using alkyl acrylic cross polymer emulsions was largely determined by the volume ratio of the emulsion phases and the aqueous phase acidity of the emulsions produced.
2. Experimental studies have proven that the selected mixtures of alkyl acrylic cross-polymer emulsifiers PTR1 and PTR2 allow to model stable emulsion systems. The synergistic effect of polymeric emulsifiers observed during the research, allows reducing the quantity of systemic additives in the formulation of o/w, w/o/w emulsion systems.
3. Emulsions, produced using polyacrylic acid polymeric emulsifiers PTR1 and PTR2 mixture, are compatible with the selected synthetic preservatives (phenoxyethanol, Benzyl alcohol, dehydroacetic acid) as well as antioxidant tocopherol acetate from the system stability aspect.
4. The developed new semi-solid pharmaceutical formulation vehicle, w/o/w emulsion containing olive oil 25%, cetyl alcohol 0.8%, glycerol 2%, purified water 65%, phenoxyethanol 0.5%, sodium 0.1%, *PTR1* 0.2% and *PTR2* 0.2% mixture, was characterized by a greater and longer-lasting moisturizing effect as well as more effective reduction in transepidermal water loss. During the short-term five-hour trial, after a single application of w/o/w sample on the skin moisture measurements showed that the instantaneous moisturizing effect of the tested emulsion vehicle has increased significantly one hour after application and lasted for a full five hour study period; while after the application of o/w emulsion vehicle the moisturizing effect of the skin was significant after two hours and lasted for two hours. During the long-term study after the application of the emulsion base on the skin twice a day the established moisturizing effect was statistically significant after 21, 28 days.

PRIEDAI



KAUNO REGIONINIS BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS
LSMUL KK, Fiziologijos ir farmakologijos institutas (Klinikinės farmakologijos padalinys), Eivenių g.2, LT-50009 Kaunas,
tel. (+370) 37 32 68 89; el.paštas: kaunorbtek@lsmuni.lt

LEIDIMAS ATLIKTI BIOMEDICININĮ TYRIMĄ

2014-06-19 Nr. BE-2-26

Biomedicininio tyrimo pavadinimas:	"Puskiečių preparatų (kremų, gelių) įtaka žmogaus odos drėgmės, lipidų kiekiui, pigmentacijai ir odos porų dydžiui"
Protokolo Nr.:	B-1
Data:	2014-05-25
Versija:	2
Asmens informavimo forma bei Informuoto asmens sutikimo forma data:	Versija Nr. 2, 2014-05-25
Pagrindinis tyrėjas:	Prof. R. Pečiūra
Biomedicininio tyrimo vieta:	LSMU vaistinė
Įstaigos pavadinimas:	Sukilėlių g. 51, LT-50106, Kaunas
Adresas:	

Išvada:

Kauno regioninio biomedicininio tyrimų etikos komiteto posėdžio, įvykusio 2014 m. gegužės 7 d. (protokolo Nr. 89/2013) sprendimu pritarta biomedicininio tyrimo vykdymui.

Mokslinio eksperimento vykdytojai įsipareigoja: (1) nedelsiant informuoti Kauno Regioninį biomedicininio Tyrimų Etikos komitetą apie visus nenumatytus atvejus, susijusius su studijos vykdymu, (2) iki sausio 15 dienos – pateikti metinį studijos vykdymo apibendrinimą bei, (3) per mėnesį po studijos užbaigimo, pateikti galutinį pranešimą apie eksperimentą.

Kauno regioninio biomedicininio tyrimų etikos komiteto nariai			
Nr.	Vardas, Pavardė	Veiklos sritis	Dalyvavo posėdyje
1.	Prof. Romaldas Mačiulaitis	Klinikinė farmakologija	taip
2.	Prof. Edgaras Stankevičius	Fiziologija, farmakologija	taip
3.	Doc. Eimantas Peičius	Filosofija	taip
4.	Dr. Ramunė Kasperavičienė	Kalbotyra	taip
5.	Med. dr. Jonas Andriuškevičius	Chirurgija	taip
6.	Agnė Krušinskaitė	Teisė	taip
7.	Prof. Skaidrius Miliauskas	Pulmonologija, vidaus ligos	taip
8.	Med. dr. Rokas Bagdonas	Chirurgija	ne
9.	Eglė Vaižgelienė	Visuomenės sveikata	taip

Kauno regioninis biomedicininio tyrimų etikos komitetas dirba vadovaudamasis etikos principais nustatytais biomedicininio tyrimų Etikos įstatyme, Helsinkio deklaracijoje, vaistų tyrinėjimo Geros klinikinės praktikos taisyklėmis.

Pirmininkas



Prof. Romaldas Mačiulaitis

LR Asmens duomenų teisinės apsaugos įstatymo 10 str. 3 punktas numato, jog asmens duomenys apie asmens sveikatą automatinio būdu, taip pat mokslinio **medicininio tyrimo tikslais** gali būti tvarkomi tik pranešus Valstybinei duomenų apsaugos inspekcijai. Šiuo atveju Valstybinė duomenų apsaugos inspekcija privalo atlikti išankstinę patikrą.

Pasibaigus tyrimui, tyrėjas ar tyrimo užsakovas privalo informuoti KRBTEK raštu apie tyrimo pabaigą bei pateikti tyrimo ataskaitos santrauką.

Reikalavimas pateikti pranešimą apie tyrimo pabaigą bei ataskaitos santrauką įsigaliojo nuo 2010 m. gegužės 6 d. Šį reikalavimą rasite Lietuvos Respublikos sveikatos apsaugos ministro įsakymo "Dėl leidimų atlikti biomedicininį tyrimą išdavimo tvarkos aprašo patvirtinimo" (Žin., 2008, Nr. 6-225; 2010, Nr. 55-2706; 2011, Nr. 233-1570; Nr. 67-3184) 18¹ punkte „*Leidimas atlikti biomedicininį tyrimą galioja iki biomedicininio tyrimo paraiškoje nurodytos tyrimo pabaigos datos. Biomedicininį tyrimų užsakovas, jo įgaliotas atstovas ir (ar) pagrindinis tyrėjas per 30 kalendorinių dienų privalo raštu pranešti leidimą atlikti biomedicininį tyrimą išdavusiai institucijai (Lietuvos bioetikos komitetui ar regioniniam biomedicininį tyrimų etikos komitetui) apie tyrimo pabaigą ir per 90 kalendorinių dienų pateikti tyrimo vykdymo ataskaitos santrauką*“.

Įsakymo nuostata taikoma visiems biomedicininiais tyrimams.

Vilniaus regioniniam biomedicininį
tyrimų etikos komitetui,
M. K. Ciurlionio g. 21/27, Vilnius
Faks.: +370 5 268 69 98

2014-04-04 Nr. LT_3/10-05-2014- 210
Vilnius

DĖL PLANUOJAMO ATLIKTI TYRIMO TEMA „PUSKIEČIŲ PREPARATŲ (KREMŲ, GELIŲ) ĮTAKA ŽMOGAUS ODOS DRĖGMEI, LIPIDŲ KIEKIUI, PIGMENTACIJAI IR ODOS PORŲ DYDŽIUI“

Gerbiamosios Ponios ir gerbiamieji Ponai,

Šiuo raštu norėtume Jums pareikšti „BTA Insurance Company“ SE filialo Lietuvoje nuomonę dėl pagrindinių tyrėjų ir biomedicininį tyrimų užsakovų privalomojo civilinės atsakomybės draudimo reikalavimo taikymo studijai „Puskiečių preparatų (kremų, gelių) įtaka žmogaus odos drėgmei, lipidų kiekiui, pigmentacijai ir odos porų dydžiui“, kurią atliks Lietuvos sveikatos mokslų universitetas (pagrindinė tyrėja Jurga Bernatienė). Kaip teigiama pateiktuose dokumentuose apie šią studiją, jos tyrimas neatlieka klinikinių eksperimentų su žmonėmis. Tai nebus naujų ar nežinomų pacientų sveikatos tyrimų bei vertinimo metodų ar testų taikymas. Tyrimo tikslas – įvertinti puskiečių preparatų (kremų, gelių) įtaką žmogaus odos drėgmei, lipidų kiekiui, pigmentacijai ir odos porų dydžiui, naudojant šioms tyrimams skirtą dermatoskopinę kamerą. Tyrimas bus atliekamas naudojant šioms tyrimams skirtą dermatoskopinę kamerą COSCAM CCL-215USB. Emulsinių sistemų gamybai bus naudojamos tik tos medžiagos, kurios yra neribojamos ir nedraudžiamos. Bus vadovaujamas Lietuvos higienos norma ir Europos parlamento nutarimais (HN 62:2003 „Kosmetikos gaminiai: bendrieji reikalavimai, draudžiamos ir ribojamos medžiagos“ ir Europos parlamento nutarimas No 1223/2009 dėl kosmetikos produktų.). Remiantis gautais duomenimis bus priimtos atitinkamos išvados.

Atsižvelgiant į šią bei kitą pateiktą informaciją, Lietuvos Respublikos Biomedicininį tyrimų etikos įstatymo (2000 m. gegužės 11 d. Nr. VIII-1679) 2 str. 1 d. biomedicininį tyrimų sąvokos apibrėžimą bei Pagrindinių tyrėjų ir biomedicininį tyrimų užsakovų civilinės atsakomybės privalomojo draudimo taisyklių (patvirtintų Sveikatos apsaugos ministro 2000 m. gruodžio 20 d. įsakymu Nr. 745) 15 punktą, mes manome, kad pagrindo suteikti draudimo apsaugą pagal minėtas draudimo taisykles nėra, kadangi studijos metu atliekami veiksmai sudaro arba medicininio personalo profesinės civilinės atsakomybės, arba pačios gydymo įstaigos civilinės atsakomybės draudimo objektą, bet ne pagrindinių tyrėjų ir biomedicininį tyrimų užsakovų privalomojo civilinės atsakomybės draudimo objektą.

Pagarbiai
Vadovaujantis BCA ir aviacinių
rizikų draudimo specialistas

Eugenijus Bulavas

Parengė: Vadovaujančiojo BCA ir aviacinių rizikų draudimo specialisto asistentė Jekaterina Januškevič, tel. +370 5 2102 681, el. paštas j.januskevici@bta.lt

**Vanduo/aliejus/vanduo tipo emulsinės sistemos,
skirtos vartoti ant odos, įdiegimo aktas
Lietuvos sveikatos mokslų universiteto vaistinė**

TVIRTINU: Lietuvos sveikatos mokslų
universiteto vaistinės direktorius
Rimantas Pečiūra



**EKSTEMPORALAU DRĖKINAMOJO EMULSINIO
GELIO PAGAMINIMO
AKTAS**

2016-04-17

2016 m. balandžio 17 d. Universiteto vaistinės Ekstemporaliosios gamybos skyriuje buvo pagamintas drėkinamasis emulsinis gelis pagal Editos Kizevičienės, LSMU Vaistų technologijos ir socialinės farmacijos katedros doktorantės parengtą ekstemporalaus recepto sudėtį ir sukurtą gamybos metodiką.

Drėkinamojo emulsinio gelio ekstemporalaus recepto sudėtis: alyvuogių aliejus, avių vilnų riebalai, cetilo alkoholis, glicerinas, fenoksietanolis, natrio hidroksidas, emulsikliai (alkil- akrilo krosopolimerai Pemulen TR1 ir Pemulen TR2), išgrynintas vanduo.

Ekstemporalusis preparatas naudojamas pasiūlant jį vaistinės klientams, besikreipiantiems savigydos klausimais ir, papildomai, turintiems odos funkcinių problemų (sausą odą ir su tuo susiję sudirginimo, skilinėjimo ar bėrimo simptomai).

Lietuvos sveikatos mokslų universiteto vaistinė

Universiteto vaistinės Ekstemporaliosios
gamybos skyriaus vadovė Aldona Krivickienė



(parašas)

CURRICULUM VITAE

Name, Surname: **Edita Kizevičienė**
Address: Kaunas University of Applied Sciences, Faculty of Medicine, K. Petrausko 15, Kaunas.
E-mail: editakizevicius@gmail.com

Education:

1986–1991 *Professional qualification of pharmacist*
Master of Pharmacy, Kaunas Academy of Medicine

Work experience:

Since 01/2001–present	<i>Lecturer, Faculty of Medicine, Kaunas University of Applied Sciences</i>
08/2004–2015 08 31	<i>Head of Pharmacy Department, Faculty of Medicine, Kaunas University of Applied Sciences</i>
10/2009 01–2014 01 31	<i>Pharmacist, “UAB Nemuno vaistinė”, Kaunas</i>
11/2002–07/2003	<i>Pharmacist, “UAB Išlaužo vaistinė”, Veiveriai.</i>
05/1996 – 01/2000	<i>Pharmacist, “UAB Maureska”, Kaunas.</i>

PADĖKA

Dėkoju moksliniam vadovui profesoriui Rimantui Pečiūrai, Vaistų technologijos ir socialinės farmacijos katedros vedėjui prof. Arūnui Savickui ir visam katedros kolektyvui už visapusišką pagalbą ir suteiktą materialinę bazę.

Dėkoju Klinikinės farmacijos katedros vedėjui prof. Vitaliui Briedžiui už suteiktą galimybę atlikti reologinius tyrimus, odos drėgmės, transepiderminio vandens netekties matavimus, m. dr. Modestui Žiliui už praktinius patarimus.

Dėkoju Kauno kolegijos Medicinos fakulteto dekanui Juliui Dovydaičiui, docentei m. dr. Laimutei Jonaitienei už galimybę įgyti patirties ir atlikti paviršiaus įtempimo matavimus, už visapusišką pagalbą.

Dėkoju savo šeimai už nuolatinį palaikymą ir supratimą doktorantūros studijų metu.