



Kauno technologijos universitetas
Cheminės technologijos fakultetas



Lietuvos sveikatos mokslų universitetas
Farmacijos fakultetas

**Vietiniam vartojimui skirtų polimerinių plėvelių su
dekspantenoliu formulavimas bei skvarbos įvertinimas pro
neabliaciniu lazeriu paveiktą odą *ex vivo***

Baigiamasis magistro projektas

Ugnė Gustytė
Projekto autorė

Prof. dr. Vitalis Briedis
Vadovas

Kaunas, 2021



Kauno technologijos universitetas
Cheminės technologijos fakultetas



Lietuvos sveikatos mokslų universitetas
Farmacijos fakultetas

**Vietiniam vartojimui skirtų polimerinių plėvelių su
dekspantenoliu formulavimas bei skvarbos įvertinimas pro
neabliaciniu lazeriu paveiktą odą *ex vivo***

Baigiamasis magistro projektas

Medicininė chemija (6281CX001)

Ugnė Gustytė
Projekto autorė

Prof. dr. Vitalis Briedis
Vadovas

Lekt. dr. Vaida Kurapkienė
Recenzentė

Kaunas, 2021



Kauno technologijos universitetas
Cheminės technologijos fakultetas



Lietuvos sveikatos mokslų fakultetas
Farmacijos fakultetas

Ugnė Gustytė

Vietiniam vartojimui skirtų polimerinių plėvelių su dekspantenoliu formulavimas bei skvarbos įvertinimas pro neabliaciniu lazeriu paveiktą odą *ex vivo*

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad:

1. baigiamąjį projektą parengiau savarankiškai ir sąžiningai, nepažeisdama kitų asmenų autoriaus ar kitų teisių, laikydamasi Lietuvos Respublikos autorių teisių ir gretutinių teisių įstatymo nuostatų, Kauno technologijos universiteto ir Lietuvos sveikatos mokslų universiteto teisės aktų, reglamentuojančių akademinę etiką, intelektinės nuosavybės teises, jų valdymą ir perdavimą;
2. baigiamajame projekte visi pateikti duomenys ir tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti teisėtai, nei viena šio projekto dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar elektroninių šaltinių, visos baigiamojo projekto tekste pateiktos citatos ir nuorodos yra nurodytos literatūros sąrašė;
3. įstatymų nenumatytų piniginių sumų už baigiamąjį projektą ar jo dalis niekam nesu mokėjusi;
4. suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo ar kitų asmenų teisių pažeidimo faktui, man bus taikomos akademinės nuobaudos pagal Kauno technologijos universitete ir(ar) Lietuvos sveikatos mokslų universitete galiojančią tvarką ir mano studijų sutartis bus nutraukta, o baigiamasis projektas gali būti pateiktas Akademinės etikos ir procedūrų kontrolieriaus tarnybai dėl galimo akademinės etikos pažeidimo.

Ugnė Gustytė

Patvirtinta elektroniniu būdu

Gustytė, Ugnė. Vietiniam vartojimui skirtų polimerinių plėvelių su dekspantenoliu formulavimas bei skvarbos įvertinimas pro neabliaciniu lazeriu paveiktą odą *ex vivo*. Baigiamasis magistro projektas / vadovas prof. dr. Vitalis Briedis; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas; Lietuvos sveikatos mokslų fakultetas, Farmacijos fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis (studijų krypčių grupė): chemija, fiziniai mokslai.

Reikšminiai žodžiai: polimerinės plėvelės, dekspantenolis.

Kaunas, 2021. 50 p.

Santrauka

Darbo tikslas: pagaminti lipnias metakrilato kopolimerų plėveles su dekspantenoliu ir įvertinti jo skvarbą *ex vivo* į neabliaciniu lazeriu paveiktą odą.

Darbo uždaviniai: suformuluoti ir įvertinti lipnias ir tvirtas E100 ir RL100 polimerines plėveles, priklausomai nuo plastifikatoriaus ATBC kiekio kompozicijoje; įvertinti stabilumą bei organinio tirpiklio, acetono, likutį suformuotose E100 ir RL100 polimerinių plėvelių kompozicijose; nustatyti dekspantenolio atpalaidavimą iš atrinktų E100 ir RL100 polimerinių plėvelių; atlikti lipnumo testą su atrinktomis E100 ir RL100 polimerinėmis plėvelėmis; įvertinti dekspantenolio skvarbą į odą *ex vivo*, priklausomai nuo neabliacinio lazerio sukeltų struktūros pokyčių.

Metodai: Eksperimentinių polimerinių plėvelių gamyba; tirpiklio likučio kiekio nustatymas; polimerinės plėvelės stabilumo nustatymas; dekspantenolio atpalaidavimas ir spektrofotometrinis dozės kiekio nustatymas; polimerinių plėvelių su dekspantenoliu lipnumo tyrimas; lazerio poveikio odos mėginiams metodas; dekspantenolio skvarbos tyrimas *ex vivo* ir ultra-efektyviosios skysčių chromatografijos metodas dekspantenolio nustatymui.

Rezultatai: suformuluotos 6 skirtingos E100 ir RL100 polimerinių plėvelių kompozicijos, kurios pakankamai lipnios, plastiškos, homogeniškos ir tvirtos. Išliejus plėveles po 2 valandų tirpiklio kiekis E100 kompozicijose sumažėjo 98,0 – 98,5 proc., o RL100 kompozicijose 99,0 – 99,8 proc. Nustatyta, kad plėveles laikant kambario temperatūroje, jos iš aplinkos sugeria iki 0,5 proc. drėgmės. Į plėveles įterpus 5 proc. dekspantenolio, nustatyta, jog po 24 h iš E100 polimerinės plėvelės atpalaiduojama 13,7 – 17,5 proc. įkrautos dozės. Ir atitinkamai po 24 h iš RL100 atpalaiduojama 82,7 – 87,8 proc. dozės, o per pirmas 2 h RL100 1:1 kompozicija atpalaiduoja ~ 50 proc. dozės. Didžiausiu lipnumu pasižymi E100 1:0,5 polimerinė plėvelė, jai atplėšti nuo zondo paviršiaus reikalinga 1,87 N jėga. Vertinant RL100 polimero kompozicijas, nustatyta, jog zondui atlipti nuo 1:1 plėvelės reikalinga 0,5 N jėga, dvigubai didesnė nei kompozicijoje su didesniu ATBC kiekiu. *Ex vivo* tyrimo metu nustatyta, kad E100 1:0,5 atveju dekspantenolio srautas per nepažeistą odą į epidermį 1,6 ir 1,3 karto didesnis nei atitinkamai paveikus lazeriu 65 J/cm² ir 195 J/cm², o srautas į dermą 1,6 ir 2,0 karto didesnis. RL100 1:1 atveju srautas per nepažeistą odą į epidermį 2,8 ir 2,9 karto didesnis nei atitinkamai paveikus lazeriu 65 J/cm² ir 195 J/cm², o srautas į dermą reikšmingai nesiskiria.

Išvados: Polimerinių plėvelių plastiškumą, lipnumą ir tvirtumą lemia plastifikatorius ATBC, keičiant ATBC santykinį kiekį kompozicijoje, galima išgauti norimas savybes; Polimerinės plėvelės džiūvimo proceso metų garuoja tirpiklis, acetonas, o po 24 h jo likutis tampa nykstamai mažas; Gauta polimerinė plėvelė, kuri nėra linkusi absorbuoti drėgmę iš aplinkos; nustatyta, kad RL100 polimerinė plėvelė su dekspantenoliu pasižymi geresniu atpalaidavimu nei E100, dėl savo struktūroje esančių

ketvirtinių amonio grupių; pastebėta, jog E100 polimerinės plėvelės atveju geresnį lipnumą lemia didesnis plastifikatoriaus ATBC kiekis, priešingai nei RL100 polimerinės plėvelės atveju; rezultatai parodė, kad Nd:YAG lazerio poveikis odai, lemia mažesnę dekspantenolio srautą tyrimuose *ex vivo*.

Gustytė, Ugnė. Formulation of Topical Polymer Films with Dexpanthenol and Permeation Evaluation Through Non-Ablative Laser Pretreated Skin *ex vivo*. Master's Final Degree Project / supervisor prof. dr. Vitalis Briedis; Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology; Faculty of Pharmacy, Lithuanian Health Science University.

Study field and area (study field group): Chemistry, Physical Sciences.

Keywords: polymeric films, dexpanthenol.

Kaunas, 2021. 50 pages.

Summary

The aim of work: to design and prepare self-adhesive films for topical delivery of dexpanthenol and evaluate *in vitro* release profiles and *ex vivo* permeation through non-ablative laser pretreated skin.

Main tasks: to select adhesive and firm E100 and RL100 polymer films depending on the amount of plasticizer ATBC in the composition; to evaluate the stability and residue of the organic solvent, acetone, in the formed E100 and RL100 polymer film compositions; to evaluate the *in vitro* release of dexpanthenol from selected E100 and RL100 polymer films; to perform an adhesion test with selected E100 and RL100 polymer films; to evaluate the permeation of dexpanthenol *ex vivo*, depending on the structural changes induced by the non-ablative laser.

Methods: production of experimental polymeric films; quantification of the residual solvent; stability assessment of polymer films; *in vitro* release of dexpanthenol and spectrophotometric dose determination; adhesion testing of polymer films loaded with dexpanthenol; laser exposure method for skin samples; *ex vivo* permeation study of dexpanthenol and ultra-high performance liquid chromatography method for the quantification of dexpanthenol.

Results: 6 different polymer film compositions of E100 and RL100 were formed, which were sufficiently adhesive, flexible, homogeneous and firm. 2 hours after films preparation, the amount of solvent in the E100 compositions decreased by 98.0–98.5%, and in the RL100 compositions by 99.0–99.8%. It was found that when stored at room temperature (22-23 °C), the films absorb 0.5% moisture from the environment. Films loaded with 5% of dexpanthenol, reported that after 24 h 13.7 - 17.5 percent of API were released *in vitro* from the E100 polymer film, and after 24 h 82.7 - 87.8 percent of API were released from the RL100. During the first 2 h, the RL100 1:1 composition releases 50% of initial dose *in vitro*. E100 1:0.5 polymer film has the highest adhesion and requires a force of 1.87 N to peel off the surface of the probe. When evaluating RL100 polymer compositions, it was found that a force of 0.5 N was required to detach the probe from the 1:1 film, twice as high as in the composition with a higher amount of ATBC. In an *ex vivo* study, the flux of dexpanthenol through the intact skin into the epidermis was 1.6 and 1.3 fold higher than at 65 J / cm² and 195 J / cm² fluence, respectively from the E100 1:0.5 polymer film, and the flux to the dermis 6 and 2.0 times higher. In the case of RL100 1:1, the flow through intact skin to the epidermis was 2.8 and 2.9 times higher than with laser exposure at 65 J / cm² and 195 J / cm², respectively, and the flow into the dermis did not differ significantly.

Conclusions: The flexibility, adhesiveness and firmness of polymeric films are ensured by the plasticizer ATBC, by changing the relative amount of ATBC in the composition, the desired properties can be obtained; During the the drying process of the polymer film, the solvent, acetone

evaporates, and after 24 hours. its balance becomes vanishingly small; A relatively stable polymeric film was obtained which did not tend to absorb moisture from the environment; RL100 polymer film with dexpanthenol was found to have better *in vitro* release than E100 due to the quaternary ammonium groups in its structure; it was observed that in the case of E100 polymer film better adhesion is due to the higher amount of plasticizer ATBC, in contrast to RL100 polymer film; the effect of the Nd: YAG laser on the skin is thought to lead to lower flux of dexpanthenol *ex vivo*.

Turinys

Santrumpų sąrašas	9
Įvadas	10
1. Literatūros apžvalga	12
1.1. Oda kaip biologinis barjeras	12
1.1.1. Odos sandara ir funkcijos	12
1.1.2. Epidermis ir jo išorinis sluoksnis <i>stratum corneum</i>	12
1.1.3. Vaistinių medžiagų absorbcija	13
1.1.4. Lazerio spinduliuotės ir odos sąveikos principai.....	14
1.1.5. Lipofilinių ir hidrofilinių molekulių absorbcija veikiant skirtingais lazeriais.....	15
1.1.6. Molekulės dydžio įtaka tiekiant vaistą per odą lazeriu	16
1.1.7. Odos barjerinės funkcijos tyrimas <i>in vivo</i>	17
1.1.8. Nd:YAG lazerio apžvalga	17
1.1.9. Er:YSGG lazerio apžvalga	18
1.1.10. CO ₂ tipo lazerio apžvalga.....	19
1.2. Dekspantenolis	20
1.2.1. Struktūra ir funkcijos	20
1.2.2. Dekspantenolio farmakologija.....	21
1.3. Lazerinės terapijos rizikos	22
1.4. Polimerinės plėvelės	24
2. Medžiagos ir tyrimų metodai	26
2.1. Tyrimo medžiagos	26
2.2. Tyrimo įranga	27
2.3. Tyrimo objektas.....	27
2.4. Tyrime naudoti metodai	27
2.4.1. E100 polimeras	27
2.4.2. RL100 polimeras	29
2.4.3. Polimerinių plėvelių formulavimas ir atranka.....	31
2.4.4. Dekspantenolio atpalaidavimas	32
2.4.5. Plėvelių lipnumo tyrimas.....	33
2.4.6. Nd:YAG poveikis odai ir dekspantenolio skvarbos tyrimas <i>ex vivo</i>	34
3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas	37
3.1. Eksperimentinių polimerinių plėvelių įvertinimas	37
3.2. Tirpiklio garavimas iš kompozicijos formuojantis polimerinei plėvelei.....	38
3.3. Dekspantenolio atpalaidavimas <i>in vitro</i>	40
3.4. Polimerinių plėvelių lipnumo nustatymas	42
3.5. Dekspantenolio skvarbos tyrimas <i>ex vivo</i> , per Nd:YAG lazeriu paveiktą odą.....	42
3.6. Rezultatų apibendrinimas ir diskusija	44
Išvados	45
Literatūros sąrašas	46

Santrumpų sąrašas

ATBC – acetiltributilcitratas

E100 – butilintas metakrilato kopolimeras

Er:YAG – erbiu legiruoto, itrio aliuminio granato pagrindo lazeris

Er:YSGG – erbiu legiruoto, itrio skandžio galio granato pagrindo lazeris

Nd:YAG – neodimiu legiruoto, itrio aliuminio granato pagrindo lazeris

RL100 – amonio metakrilato kopolimeras (A tipo)

Įvadas

Vis dažniau estetinės chirurgijos procedūroms atlikti naudojamos minimaliai invazinės priemonės, keliančios mažesnę diskomfortą ar skausmą pacientui. Būtent Nd:YAG neabliacinis 1064 nm bangos ilgio lazeris, nesukelia visiško ar dalinio epidermio pašalinimo, o veikia selektyvios fototermolizės principu. Veikiami minkštuosiuose audiniuose esantys taikiniai – chromoforai, t. y. lazerio šviesa sugeria epidermyje ir dermoje esantys melaninas ar hemoglobinas [1]. Nd:YAG lazerio indikacijos apima ilgalaikį ar vienkartinį plaukų šalinimą, *pseudofolliculitis barbae* gydymą, gerybinių kraujagyslių pažeidimų – krešėjimo ir hemostazės gydymą, raudonos pigmentacijos mažinimą hipertrofiniuose randuose ir raukšlių panaikinimą akių vokų srityje bei karpų šalinimą. Nors šio tipo lazeris iš kitų išsiskiria audinius vėsinančia funkcija, proceso metu yra neišvengiama uždegiminė reakcija dėl temperatūros pokyčių, vykstanti gilesniuose sluoksniuose, konkrečiau dermoje.

Dekspantenolis yra universalus junginys, naudojamas raginio sluoksnio morfologijos ir odos barjerinės funkcijos defektams gydyti. Klinikiniais tyrimais įrodyta, jog vietiškai vartojamas dekspantenolis skatina žaizdų, nudegimų ir įtrūkimų spartesnę gyjimą bei drėkina odą, slopina uždegimą. Todėl yra tinkamas naudoti, kaip veiklioji ar drėkinanti medžiaga, įvairiuose preparatuose [2]. Parinkus tinkamą nešiklį, dekspantenolis lengvai įsiskverbia į odą ir ląstelėse esančių fermentų pagalba oksiduojasi į pantoteno rūgštį, kofermento A (CoA) sudedamąją dalį, kuri ypač svarbi angliavandenių, lipidų ir aminorūgščių apykaitoje. Taip pat, pantoteno rūgštis yra būtina, normaliai epitelio funkcijai palaikyti [3].

Vis dažniau transderminės plėvelės, kurių matricoje disperguojama ar ištirpinama vaistinė medžiaga, tampa alternatyva esamoms klasikinėms dozavimo formoms – geliams, kremams, tepalams ar pleistrams. Manipuliuojant plėvelės pagrindu ir pagalbinėmis medžiagomis galima suformuluoti tiek ilgalaikės, tiek kontroliuojamos pernašos sistemas [4]. Paprastai tokia vaisto forma naudojama transderminiam steroidinių hormonų, analgetikų, vietinės anestezijos ir vėmimą slopinančių vaistų vartojimui, siekiant sisteminio poveikio [5]. Transderminiuose preparatuose įkrautų veikliųjų medžiagų biologiniam prieinamumui įtaką daro keli veiksniai, tokie kaip: molekulės dydis, poliškumas, vaisto pH, odos hidratacijos būklė bei vaisto metabolizmas per odą [6]. Fiziologiniai veiksniai taip pat turi poveikį vaistinės medžiagos skvarbai. Poveikio stiprumas ir tikslumas priklausys nuo veikiamo odos regiono, raginio sluoksnio pobūdžio, odos storio ir plaukų folikulų skaičiaus [7].

Galimybė pasirinkti transderminę polimerinę lipnią plėvelę su dekspantenoliu po estetinės chirurgijos procedūros pacientui suteiktų komforto pojūtį. Tokią plėvelę patogiu naudoti, dozuoti, ji neutralios kosmetinės išvaizdos, taip pat nesukeliamas stiprus skausmas lupimo metu, lyginant su pleistro formos pernašos sistemomis [8].

Darbo tikslas – pagaminti lipnias metakrilato kopolimerų plėveles su dekspantenoliu ir įvertinti jų skvarbą *ex vivo* į neabliaciniu lazeriu paveiktą odą.

Uždaviniai:

1. suformuluoti ir atrinkti lipnias ir tvirtas E100 ir RL100 polimerines plėveles, priklausomai nuo plastifikatoriaus ATBC kiekio kompozicijoje;
2. įvertinti stabilumą bei organinio tirpiklio, acetono, likutį suformuotose E100 ir RL100 polimerinių plėvelių kompozicijose;

3. nustatyti dekspantenolio atpalaidavimą į vandeninę terpę iš atrinktų E100 ir RL100 polimerinių plėvelių;
4. atlikti lipnumo testą su atrinktomis E100 ir RL100 polimerinėmis plėvelėmis;
5. įvertinti dekspantenolio skvarbą į odą *ex vivo*, priklausomai nuo neabliacinio lazerio sukeltų struktūros pokyčių.

1. Literatūros apžvalga

1.1. Oda kaip biologinis barjeras

1.1.1. Odos sandara ir funkcijos

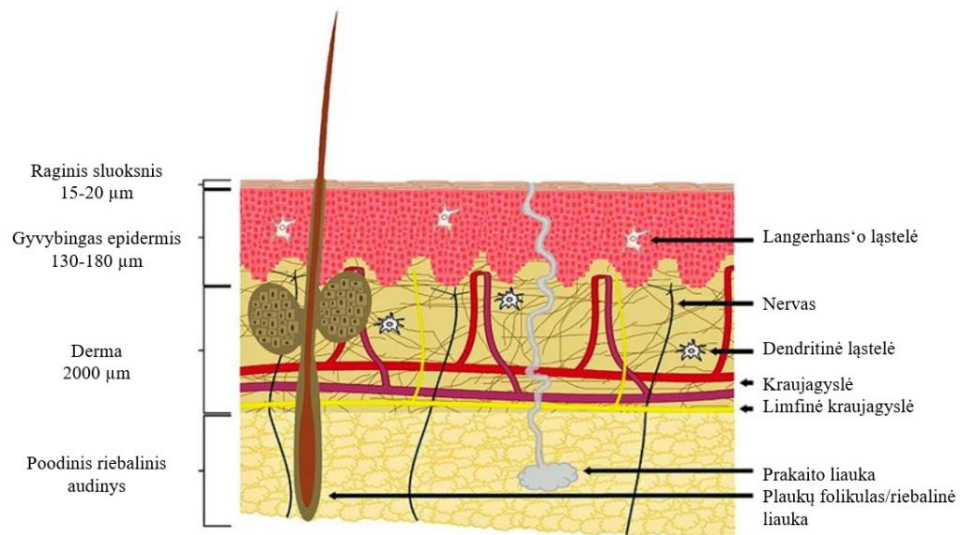
Oda yra didžiausią plotą užimantis organas žmogaus organizme, apie 1,8 m². Tai nevienalytis, daugiasluoksnis audinys, susidedantis iš įvairių baltyminės ir riebalinės kilmės komponentų. Nagrinėjant odos fiziologiją, išskirtos pagrindinės jos funkcijos: oda užtikrina neaktyvios vitamino D formos sintezę, atlieka organizmo termoreguliacijos funkciją, atsakinga už jutimus bei sekreciją [9]. Tačiau pagrindinė yra barjerinė funkcija. Įprastai ant odos paviršiaus aptinkami įvairiausi mikroorganizmai, kurių prasiskverbimas per sveikos odos sluoksnius neįmanomas [10]. Taip pat oda saugo nuo žalingo UV spinduliuotės poveikio bei neleidžia vandeniui nekontroliuojamai garuoti iš organizmo.

Paprastai oda sudaryta iš trijų pagrindinių struktūrinių dalių: epidermio, dermos ir poodinio audinio – hipodermio [10]. Į odą papildomai yra įsiterpusios kitos svarbios struktūros, kaip plaukų folikulai, riebalinės ir prakaito liaukos. Svarbų vaidmenį atlieka kolagenas, kraujagyslės bei nervinės skaidulos. Kas 10-15 dienų vyksta normali epidermio regeneracija, šešiakampio ar penkiakampio formos odos ląstelės – korneocitai, praradusios ryšį su šalia esančiomis „gyvomis“ epidermio ląstelėmis, savaime pleiskanoja ir taip oda regeneruojasi [9, 10].

1.1.2. Epidermis ir jo išorinis sluoksnis *stratum corneum*

Epidermis yra gyvybingas audinys, jį sudaro 5 sluoksniai (1 pav.). Būtent viršutinę epidermio dalį sudaro *stratum corneum*, dar kitaip vadinamas raginis sluoksnis. Raginio sluoksnio ląstelės vadinamos korneocitais. Tai tankios, funkciškai negyvos, neturinčios branduolio ir užpildytos keratinu ląstelės. Raginio sluoksnio išdėstymas yra analogiškas „plytų-skiedinio“ modeliui, atitinkamai korneocitai prilyginami pagrindą sudarančiais matricai, o tarpląsteliniai lipidai – korneocitus jungiančiais medžiagai [9]. Korneocitas yra apsuptas keliais lipidų sluoksniais. Tarpląsteliniai lipidai paprastai yra sudaryti iš keramidų, cholesterolio bei riebalų rūgščių mišinio [10].

Raginiame sluoksnyje nustatoma apie 10-30 korneocitų sluoksnių, o sausasis jo storis siekia 8-20 μm. Vos sudrėkinus raginį sluoksnį, jis keičia savo matmenis – gali ženkliai brinkti, jo storis padidėja iki 40 μm. Būtent odos hidratacija yra vienas iš būdų, kaip padidinti ant odos vartojamų vaistinių medžiagų absorbciją [11].



1 pav. Pagrindiniai odos sluoksniai [12]

Atsižvelgiant į raginio sluoksnio barjerines savybes ir atsparumą vandeniui, jis tampa pagrindiniu kriterijumi, ribojančiu vaistų absorbciją per odą. Mokslinėje spaudoje kasmet paskelbiama naujų straipsnių, patvirtinančių, jog *stratum corneum* sluoksnio pašalinimas nuo odos paviršiaus, reikšmingai padidina odos pralaidumą. Atliekami tyrimai parenkant skirtingus cheminius ar fizinius faktorius, norint pašalinti tik raginį ar net visą epidermio sluoksnį. Pastaruoju atveju odos atsistatymas tampa ilgesnis ir skausmingesnis procesas, atsiranda infekcijų rizika. Svarbu paminėti, jog vaistinės medžiagos prasiskverbimas pro odą nėra paprastas procesas, galimi ir alternatyvūs keliai, pavyzdžiui, vaisto pernaša per plaukų folikulus ir prakaito liaukas. Šiuo būdu lengviau prasiskverbia įkrautos molekulės ir didesni poliniai junginiai, pavyzdžiui, vaistai, kurių pagrindą sudaro peptidai [11]. Tačiau plaukų folikulai ar prakaito liaukos sudaro tik apie 0,1 proc. viso žmogaus odos paviršiaus, todėl šis aspektas nagrinėjamas rečiau.

1.1.3. Vaistinių medžiagų absorbcija

Dažniausiai ant odos vartojamos vietinės arba transderminės vaisto formos. Pasirinkus tokį būdą tikslią vietą, dar kitaip vadinamą taikiniu, veiklioji medžiaga pasiekia lengviau ir greičiau, išvengiama nepageidaujamų sisteminių šalutinių poveikių. Taip pat vaistą naudojant lokaliai galima pasiekti prailginto veikimo trukmę. Kai vaistas vartojamas *per os* yra modifikuojamas priešsisteminio metabolizmo ir stebimas trumpesnis pusinis periodas [13]. Vaistas pavartotas lokaliai ant odos skverbiasi per kelis epidermio sluoksnius, kol galiausiai patenka į sisteminę kraujotaką. Dažniausios lokalių vaistų indikacijos yra aknės ir uždegiminių ligų gydymas: dermatito, eritematinės vilkligės [13].

Tačiau reikia nepamiršti, jog dalis ant odos ar gleivinės vartojamų vaistinių medžiagų skirtos vietinei anestezijai sukelti ar skausmui malšinti. Tuomet sisteminis poveikis yra nepageidaujamas, o norima paveikti nervines skaidulas ir taip stabdyti skausmo ar kito signalo sklidimą į centrinę nervų sistemą. Todėl didelis iššūkis yra parinkti tokią vaisto kompoziciją, kad susidarytų tinkama ir efektyvi veikliosios medžiagos koncentracija plazmoje [14]. Vaisto absorbcija ir pasiskirstymas skiriamas į smulkesnius etapus: a) vaisto ištirpimą ir atsipalaidavimą iš kompozicijos; b) vaisto patekimą į

stratum corneum; c) vaistų difuziją per *stratum corneum*, daugiausia tarpławsteliniiais lipidais d) vaisto perėjimą iš *stratum corneum* į gyvybingus epidermio sluoksnius; e) difuziją į dermą; f) bei vaisto absorbciją į kapiliarus, pasiekiant sisteminę kraujotaką [15]. Norint vaistinę medžiagą vartoti lokaliai būtina atsižvelgti į daugelį charakteristikų, įskaitant fizikochemines veikliosios medžiagos savybes bei kokiomis savybėmis pasižymi galutinė formuluotė su pagalbinėmis medžiagomis. Idealus atvejis būtų: maža molekulinė masė (<600 Da) [16]; geras tirpumas tiek vandeninėje, tiek riebalinėje fazėse, norint pasiekti aukštą koncentracijos gradientą; padidėjęs, bet subalansuotas pasiskirstymo koeficientas, nes labai dideli pasiskirstymo koeficientai gali slopinti vaisto klirensą iš odos ir skatinti kaupimąsi audiniuose, o tai lems šalutinius poveikius [13]. Vaisto absorbcijai per odą pagerinti galima taikyti cheminius, jonoforezės, raginio sluoksnio nuplėšimo pleistru, ultragarso, mikronešiklių, elektroporacijos ir termoabliacijos metodus [17,18].

Manoma, kad išankstinė odos modifikacija frakciniu lazeriu pagerina transderminį vaistų tiekimą. Publikacijose apžvelgiami tiek *in vitro*, tiek *in vivo* modeliai, patvirtinantys teigiamą poveikį [19, 20]. Tyrimuose nagrinėjamas tiek dujinių, tiek kieto kūno lazerių poveikis, jie tarpusavyje skiriasi bangos ilgiu ir energija, tenkančia paviršiaus plotui. Vyrauja metodas, kai abliacija vyksta ne ant viso paviršiaus, o sukuriamos mikroskopinės abliacinės zonos (MAZ). Šiuo atveju absorbcija taip pat pagerėja ir epidermio atsistatymas vyksta greičiau, nei atliekant pilną paviršiaus abliaciją [21].

1.1.4. Lazerio spinduliuotės ir odos sąveikos principai

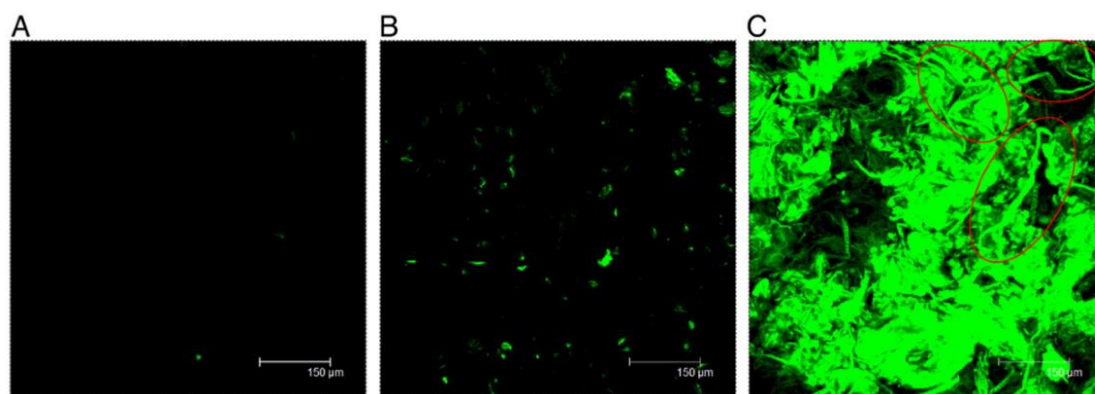
Lazeriai odos atjauninimui naudojami jau nuo 1980-ųjų metų. Odos senėjimui gydyti ir su ja susijusioms procedūroms atlikti buvo naudojami skirtingų bangos ilgių lazeriai, sukeliantys atitinkamą poveikį. Vienas iš odos atjauninimo būdų yra didelės energijos impulsų sukiamas viršutinio odos sluoksnio visiškas pašalinimas. Tačiau po tokių procedūrų audiniai atsinaujina žaizdų gijimo principu, tai užima daug laiko, todėl pamažu medicininėje praktikoje imta naudoti mažesnio galingumo lazeriai, kurie puikiai pritaikomi medicinoje. Paprasti abliaciniai ar frakciniai lazeriai naudojami odai atjauninti ir atnaujinti esant gilioms veido raukšlėms ar pigmentacijai [22, 23]. Kai tuo tarpu neabliaciniai lazeriai prasiskverbia į dermą ir šildo ją nepažeisdami epidermio. Tokio tipo lazeriai denatūroja dermos baltymus, pavyzdžiui, kolageną, ir stimuliuoja jo sintezę. O dažniausi naudojami abliaciniai lazeriai, pasižymi didele įvairove: CO₂ lazeris, erbiu legiruotas itrio aliuminio granato lazeris (Er: YAG) ir erbiu legiruoto itrio skandžio galio granato (Er:YSGG) pagrindu sukurtas lazeris. Jų veikimo principas remiasi selektyviu kaitinimu, kai lazerio šviesa yra sugerama ir taip sukurama šiluma. Esmė - kontroliuojamas lokalizacijos laikas, kuris dėl parinktos impulso trukmės yra mažesnis už audinio šiluminio atpalaidavimo laiką [23].

Riboto vietiskai vartojamų vaistų asortimento problema dėl prastos absorbcijos per viršutinius odos sluoksnius - *stratum corneum* ir epidermį, sprendžiama parenkant alternatyvias vaistinių medžiagų formas. Lazeriai yra vienas iš fizinių būdų įveikti šį barjerą, tačiau būtina atlikti daugiau tyrimų, parenkant skirtingus parametrus, kad žala nepersvertų naudos. Abliacinis lazeris gali tiksliai ir kontroliuojamu būdu pašalinti *stratum corneum* [24]. Norint pagerinti vaisto absorbciją ir tuo pačiu metu užtikrinti saugumą, reikalinga gana žema energija [25]. Žymiai naujesnis metodas - frakcinė abliacija, kurio tikslas pagerinti vaistų įsiskverbimą, bet tuo pačiu metu palengvinti *stratum corneum* ir epidermio atsistatymą [26, 27]. Šio lazerio principas remiasi sukuriamomis mikroskopinėmis abliacijos zonomis (MAZ), kurių užimamas plotas palyginus su nepažeistu audiniu yra gana mažas. Todėl pakartotinės procedūros gali būti atliekamos jau po 12–24 valandų [11]. Vietiniu būdu vartojamų vaistų prasiskverbimas per odą priklauso nuo daugelio veiksnių, įskaitant atsipalaidavimą

iš vaisto formuluotės (nešiklių), klirenso odoje ir vaistų fizikocheminių savybių. Būtent nešiklių sudėties optimizavimas yra svarbus parametras. Paprastai atliekant vaisto absorbcijos per odą tyrimus lazeriu, koncentruojamasi į lazerio veikimo parametrus, tačiau pasigendama tyrimų, kuriuose būtų lyginamas skirtingų nešiklių, kaip kintamųjų, poveikis.

1.1.5. Lipofilinių ir hidrofilinių molekulių absorbcija veikiant skirtingais lazeriais

Vaisto molekulės skvarba per epidermį priklauso nuo jos pasiskirstymo koeficiento. Viršutis sluoksnis, *stratum corneum*, yra lipofilinis, priešingai nei epidermis, kuris pasižymi labiau hidrofilinėmis savybėmis. Kaip pavyzdį galima nagrinėti imikvodolo ir 5-aminolevulino rūgšties (ALA) skvarbos per odą skirtumus. Imikvodolas, kuris yra vidutinio lipofiliškumo molekulė, pritaikomas gydant keratozę, Bowen'o ligą ar odos karcinomas [28]. Kaip alternatyva naudojama labiau hidrofilinėmis savybėmis pasižyminti medžiaga 5-aminolevulino rūgštis (ALA), kuri skiriama Bowen'o ligai ir odos vėžiui gydyti [29]. Būtent lazerinė abliacija gali būti idealus būdas padidinti imikvodolo absorbciją, tuo pačiu metu sumažinant veikliosios medžiagos dozę ir šalutinį poveikį. Kaip nešikliai gali būti naudojami hidrofiliniai tirpikliai: polietilenglikolis, propilenglikolis arba lipidų nanodalelės. Paprastai tyrimai atliekami *in vitro* naudojant Franz'o ląstelių difuzijos modelį, o norint vizualizuoti vaisto molekulių pasiskirstymą po modifikacijos lazeriu, naudojama konfokalinio lazerinio skenavimo mikroskopija (2 pav.).



2 pav. Konfokalinio lazerinio skenavimo mikroskopija (CLSM) A: nepažeista oda, be vaistinės medžiagos; B: Oda su ant paviršiaus esančiu fluoresceino izotiocianatu; C: Oda paveikta Er:YAG lazeriu (2940 nm; 3 J/cm² keturis kartus) su fluoresceino izotiocianatu [11]

Pilnai paviršiaus abliacijai naudojamas Er:YAG lazeris, kurio bangos ilgis lygus 2940 nm, pasirinkta momentinio impulso trukmė 100 µs, o abliacijos plotas lygus 1,5 × 1,5 cm², maksimali energija impulso metu tenkanti paviršiaus plotui lygi 2,5/5 J/cm², išgaunamas abliacijos zonų gylis atitinkamai lygus 10/20 µm. Fracinei abliacijai pasirinktas CO₂ lazeris, kai impulso trukmė lygi 60/80 µs, momentinė energija 2/4 mJ, mikroskopinių abliacijos zonų diametras lygus 120 µm, bendras plotas 1,2 × 1,2 cm². Būtent atliekant fracinę abliaciją viename kvadratiniam centimetre suformuojama 400 MAZ, tai sudaro apie 7,3% bendro paveikto ploto [14]. Varijuojant parametrais galima pasiekti skirtingą mikroskopinių abliacijos zonų gylį ir skaičių.

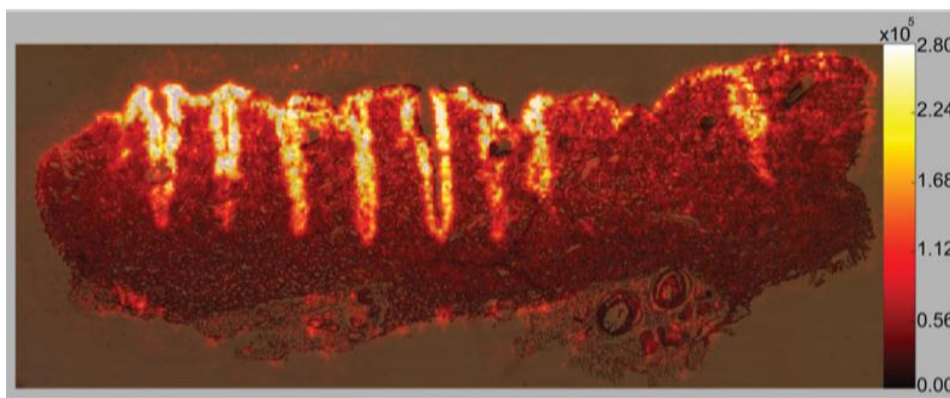
Kalbant apie Franz'o difuzijos celių modelį reikia aptarti patį eksperimento vykdymo principą bei sistemos charakteristikas. Ją sudaro donoro ir akceptorius dalys. Iš pradžių oda paveikiama bet kurio tipo lazeriu ir nedelsiant patalpinama į sistemą. Odos mėginio *stratum corneum* pusė nukreipiama į

donoro segmentą ir padengiama apie 0,5 ml vaisto formuluoatės. Akceptorius terpės gali būti įvairios priklausomai nuo vaistinės medžiagos tirpumo, ir palaikoma 37°C sistemos temperatūra. Vykdamas procesą pasirinktais laiko intervalais imami mėginiai iš akceptorinės terpės, po 300 µl, ir grąžinamas identišką etanolinio buferio kiekis. O paimtas receptorius mėginys kokybiškai ir kiekybiškai analizuojamas efektyviaja skysčių chromatografija (HPLC) [14].

Norint įvertinti odos kaip barjero funkciją nagrinėjamas transepiderminis vandens nuostolis (TEWL), kuris apibrėžiamas kaip vandens kiekis, kuris pasyviai išgaruoja per odą į aplinką dėl vandens garų slėgio gradiento susidarymo priešingose odos pusėse. Vidutinė TEWL vertė žmogaus organizme prilyginama 300–400 ml/dieną. Atliekant šiuos matavimus reikėtų nepamiršti atsižvelgti į aplinkos veiksnius, matavimų tikslumui įtakos gali turėti tokie aplinkos veiksniai, kaip drėgmė, temperatūra, ventilacija. Todėl labai svarbu, kad šie matavimai būtų atliekami standartinėmis sąlygomis [22]. Jei aplinkoje didelė drėgmė, vandens garų slėgio gradientas sumažėja, todėl pastebimi mažesni nuostoliai ir atvirkščiai. TEWL rodiklis taip pat priklauso nuo *stratum corneum* ląstelių ragenocitų dydžio, jei ląstelės mažesnės, nuostoliai išaugs [24]. TEWL taip pat yra odos dirginimo rodiklis ir yra plačiai naudojamas analizuojant įvairių produktų dirginimo potencialą. Šio parametro dydį taip pat galima vertinti Franz'o difuzinių celių modeliu. Eksperimentas atliekamas 32°C temperatūroje, laboratorijoje privalu išlaikyti nekintančią drėgmę ir temperatūrą - 26°C temperatūrą ir 55% drėgmę [25].

1.1.6. Molekulės dydžio įtaka tiekiant vaistą per odą lazeriu

Galima įvertinti ir vaistinės molekulės dydį, siekiant geresnio prasiskverbimo pro odą. Pavyzdžiui, bleomicinas pasižymi antiproliferaciniu poveikiu, todėl skirtas naudoti odos onkologinėms ligoms gydyti. Tokiai indikacijai vaistą būtų patogiau vartoti lokaliai, tačiau tokį būdą riboja didelė molekulinė masė (1415 Da). Bandyta kiekybiškai įvertinti šios vaistinės medžiagos prasiskverbimą per odos barjerą ir vizualizuoti biologinį pasiskirstymą po to, kai oda paveikta abliaciniu frakciniu lazeriu (AFL). Iš pradžių, kaip ir prieš tai aptartame tyrime, oda veikiama frakciniu abliaciniu lazeriu, kurio bangos ilgis lygus 10600 nm, abliacijos zonų tankis lygus 5%, panaudota 5, 20 arba 80 mJ energija. Pradžioje oda paruošiama tyrimui, po eutanazijos pašalinami plaukai ir poodiniai riebalai, laikoma - 80°C temperatūroje, maksimali laikymo trukmė iki vieno mėnesio. Prieš pradėdamas tyrimą odos mėginys atšildomas iki kambario temperatūros. Iš karto paveikus mėginį lazerio spinduliais, jis patalpinamas į Franz'o ląstelių sistemą, *stratum corneum* nukreipus į donoro pusę. Odos mėginio plotas parenkamas pagal modelio išmatavimus. Receptorius skyrius užpildomas 5,5-5,8 ml fosfato buferiniu tirpalu, kurio pH lygus 7,4, eksperimentas atliekamas 37°C temperatūroje. Bleomicino sulfato koncentracija parinkta 750 µl/ml ir 7,06 mg/ml. Nustatytais laiko intervalais paimamas akceptorius terpės mėginys, o pabaigoje ir donoro mėginys. Norint tirti paveiktą odos mėginį, vaistas ekstrahuojamas iš kriosekcijų 2 valandas, su 1 ml fosfato buferiu. Visi mėginiai nusodinami su 500 µl, 2% ZnSO₄ × 7H₂O 25% metanolyje, centrifuguojant 5 minutes, 4°C temperatūroje, rezultatai gaunami analizuojant supernatantą. Pabaigoje atliekama efektyvioji skysčių chromatografija HPLC. Būtina pastebėti, jog dažniausiai vaistinės medžiagos kiekis išmatuotas tiriant biopsijos kriosekcijas imant iš skirtingų gylių, pavyzdžiui: 100, 500 ir 1500 µm. Norint įvertinti biologinį pasiskirstymą pasitelkiamas matricinės lazerinės desorbcijos / jonizacijos masės spektrometrijos vaizdavimas (MALDI-MSI) [26]. Toks vaizdavimas patvirtina teoriją, jog naudojant skirtingą energiją susidaro skirtingo gylio mikroabliacinės zonos, pastebėtas didesnis bleomicino biologinis pasiskirstymas aplink MAZ ir patekimas į aplinkinius audinius (3 pav.) [26].



3 pav. MALDI-MSI vaizdavimas: vertikali odos kriosekcija po 24 val. veikimo, didelės bleomicino koncentracijos kanaluose (geltona spalva) [26]

1.1.7. Odos barjerinės funkcijos tyrimas *in vivo*

Norint atlikti tokio pobūdžio tyrimus *in vivo*, odos barjerą perėjusios vaistinės medžiagos koncentracija matuojama kraujo serumo mėginiuose. Nagrinėjant lidokaino pavyzdį galima pastebėti, jog lidokainas turi žinomą farmakokinetinį profilį, o kraujo serume galima įvertinti vieno iš pagrindinių metabolitų, monoetilglicinksilidido koncentraciją. Tokiam tyrimui naudojamas klasikinis Er:YAG lazeris, kurio bangos ilgis lygus 2940 nm. Pasirinkus atitinkamą energiją pasiektas skirtingas kanalų gylis: nuo 500 μm gylio, naudojant 125 J/cm^2 energiją, iki 25 μm gylio - 12,5 J/cm^2 energiją, esant 22% tankiui, bendrai veikint 1 cm^2 plotą. Iš karto po poveikio lazeriu ant odos paviršiaus paskirstoma vaistinė medžiaga ir laikoma 60 minučių. Kraujo mėginiai imti įvairiais intervalais: 0, 60 (pašalinus tvarstį), 90, 120, 180 ir 240 minučių po aplikacijos. Kraujo mėginiai buvo nedelsiant centrifuguojami (3000 aps/min iš viso 10 minučių, 4°C temperatūroje) ir laikomi -80 °C temperatūroje iki analizės [28].

1.1.8. Nd:YAG lazerio apžvalga

Nd:YAG 1064 nm bangos ilgio lazeris naudojamas bendrosios ir plastinės chirurgijos bei dermatologijos srityse. Keičiant srauto energiją, impulso trukmę, dažnį bei spindulio diametrą galima tinkamai paruošti prietaisą norimai procedūrai atlikti. Poveikio metu sukeliama, minkštuosiuose audiniuose esančių chromoforų, fototermolizė [30].

Nd: YAG lazerio bangos ilgis (1064 nm) patenka į artimąjį elektromagnetinio spektro infraraudonųjų spindulių sritį. Šis bangos ilgis žmogaus akimi nematomas, todėl pridedamas žemos galios matomas, nukreipiamas spindulys, kurio bangos ilgis 615 nm. 1064 nm Nd: YAG lazerio šviesą sugeria melaninas, taip pat ir hemoglobinas, esantys tiksliniuose audiniuose [30].

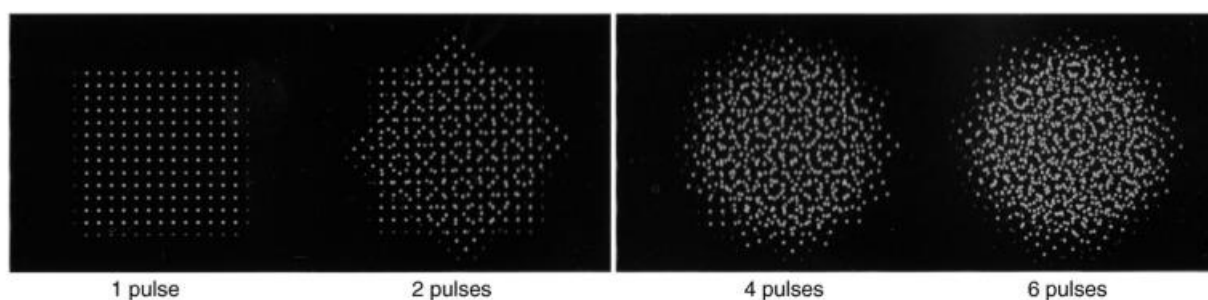
Lazeris gali dirbti dviem režimais: nepertraukiamu ir pulsuojančiu dar kitaip vadinamu Q-switched. Pastarojo režimo trumpesnis nanosekundžių impulsas sugeneruoja didesnę energiją nei nepertraukiamo režimo lazeris [31].

Praktikoje lazeris naudojamas plaukų folikulams šalinti, veido ar kojų kraujagyslėms gydyti ar karpoms naikinti. Rečiau atliekama procedūra, lyginant su abliaciniais lazeriais, kai Nd:YAG lazeriu siekiama atjauninti ar atnaujinti odą neabliaciniu būdu. Konkretus poveikis odai priklauso nuo pasirinktų parametrų ir jų tarpusavio derinimo. Galima pritaikyti 3-300 J/cm² intervalo energiją, parinkus nuo 0,1 iki 300 ms impulso trukmę ir iki 10 Hz dažnį. Nuo spinduolio pločio priklauso fototermolize veikiamas plotas, todėl skiriasi sukeltas pažeidimo laipsnis. Galimos 3,25; 5; 7 ir 10 mm diametro spinduolio pasirinktys [32].

Gydant kraujagyslių pažeidimus, kraujo temperatūra tikslinėje srityje padidėja iki tokio lygio, kuris sukelia krešėjimą, nepažeidžiant epidermio ar jį supančių audinių. Kadangi 1064 nm lazerio energiją absorbuoja melninas ir hemaglobinas esantys epidermyje, papildomai į antgalį integruota aušinimo funkcija padeda temperatūros kilimui epidermyje sumažinti. Taip išvengiama nepageidaujamo poveikio, pacientui sukeliama mažesnis diskomfortas ar skausmas [31].

1.1.9. Er:YSGG lazerio apžvalga

Paprastai renkantis kieto kūno lazerius galima prie to paties prietaiso jungti skirtingas rankines dalis, nuo to priklausys bangos ilgis ir lazerio pobūdis. Kalbant apie erbio: itrio skandžio galio granato tipo lazerį (Er:YSGG), kurio bangos ilgis lygus 2790 nm, jis sukuria elektromagnetinio spektro vidutinį infraraudonąjį spindulį, kuris plika akimi nematomas. Būtent tokio bangos ilgio sukeltą magnetinį rezonansą sugeria vandens molekulės ir odoje esantys audiniai, todėl jis puikiai tinka epidermio sluoksnio įkaitinimui ir pašalinimui [29]. Kadangi šis bangos ilgis yra nematomas akimi, bet norima tiksliai ir kokybiškai atlikti odos pakitimus, pridedamas papildomas šviesos diodas, sukuriantis raudonos spalvos spindulį (650 nm), kuris išsklaidomas pagal pasirinktą gydymo modelį. Rankiniu būdu gaunami tikslūs raštai (4 pav.) išdėstyti atitinkamu atstumu vienas nuo kito, sudaryti iš 300 μm diametro dėmių [33]. Formą ir tankį galima reguliuoti, parenkamas tankis, kuris atitinka procentinę mikroskopinių abliacijos zonų dalį visame skenuotame plote. Šios vertės gali būti lygios 4, 8, 12, 16 ar 32% [34].



4 pav. Pavaizduotas mikroabliacijos zonų galimas išdėstymas, atliekant skirtingą impulsų skaičių ir keičiant rašto padėtį, naudojant CO₂ lazerį (10600 nm) [33]

Atliekant procedūras ant odos šiuo lazeriu būtina pažymėti galimas laikinas pasekmes ar rizikas. Gali pasireikšti eritema ir edema, kurios paprastai išnyksta per mėnesį. Gali atsirasti hiperpigmentacija ar hipopigmentacija, nudegimai ar pūslių susidarymas, kai kurie iš jų gali sukelti randus. Šios komplikacijos dažniausiai kyla dėl netinkamai parinktos, per didelės impulso energijos. Po procedūrų, kurios pažeidžia odos paviršių, pacientai yra jautresni dirginimui ar infekcijai. Svarbu

tinkamai diagnozuoti ir gydyti atsiradusias komplikacijas, kad būtų išvengta uždelsto žaizdų gijimo, randų susidarymo ar infekcijos plitimo [34].

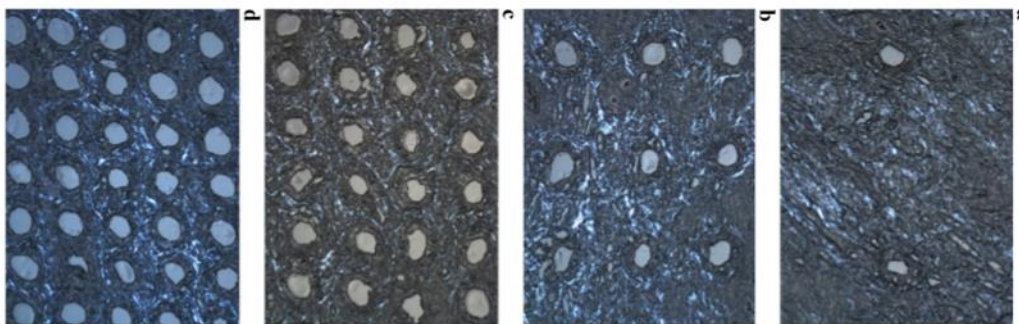
Kietojo kūno lazeriai yra koherentinės spinduliuotės šaltiniai naudojami įvairioms mokslinių tyrimų ir pramonės reikmėms. Tai sistemos, kurių aktyvioji terpė susideda iš skaidrios kietosios matricos: kristalo, stiklo ar keramikos su optiškai aktyviu jonu. Būtent erbio lazeriai yra sistemos, kuriose lantanoidas Er^{3+} sudaro aktyvųjį joną [35].

Erbio: itrio skandžio-galio granato (Er: YSGG) lazeris turi pranašumą prieš kitus lazerius dėl pakankamai gero veiksmingumo ir trumpesnio odos atkūrimo laiko po procedūros [29]. Kadangi šio lazerio bangos ilgis (2 790 nm) yra tarp Er: YAG lazerio (2 940 nm) ir CO_2 lazerio (10 600 nm), jis gerai subalansuoja epidermio sluoksnio išgarinimą ir tolimesnį dermos sluoksnio kaitinimą, skatindamas kolageno skaidulų sintezę ir augimą [36]. Impulsiniuose lazeriuose energijos tankis daro įtaką lazerio ir audinio sąveikos pobūdžiui. Galima nustatyti energijos kiekį, susidarantį su kiekvienu impulsu į atskirą tašką, šis kiekis matuojamas mJ, paprastai naudojamas energijos kiekis neviršija 400 mJ. Paties impulso trukmė gali būti iki 1000 μ s, o pasikartojimų dažnis iki 20 Hz. Taip pat galima sumažinti ar padidinti pasikartojimų dažnį: paprastai jis būna 1-2 sekundės. Būtent didesnės vertės skirtos platesniam abliacijos zonos raštui. Galima nustatyti laiko tarpą tarp atskirų impulsų (sekundėmis). Ekrane visada matomas procedūros metu užfiksuotų impulsų skaičius (*angl. shot counter*) [34].

1.1.10. CO_2 tipo lazerio apžvalga

Paprastai CO_2 tipo lazerio paskirtis medicinoje apima: frakcinį odos atnaujinimą, po aknės likusių randų gydymą, strijų šalinimą ir specifinių karpų šalinimą [37]. CO_2 lazerio spinduliuotę taip pat geriausiai sugeria vandens molekulės, kurių odos audiniuose yra apie 80–90% [38]. Toks bangos ilgis specifiškai neveikia kraujagyslių, o veikia paviršiaus abliacijos būdu. Dėl labai didelio fotonų išsklaidymo audinyje aplinkiniams audiniams bus padaryta tik ribota šiluminė žala. Kiekvienas lazerio impulsas sukelia epidermio audinio išgarinimą. Bendrai apie CO_2 lazerio procedūras reikia pastebėti, kad CO_2 paviršiaus abliacija gali sukelti tam tikrą pooperacinį šalutinį poveikį, pvz.: infekciją, kraujavimą, skausmą, edemą, eritemą, pailgėjusį gijimo laikotarpį ir randus. Norint išvengti ar sumažinti tokį šalutinį poveikį, pacientui privalu nuosekliai prižiūrėti pažeistą vietą. Atidžiai rinktis naudojamą kosmetiką, nes gali pasireikšti alerginės reakcijos, išlieka hiper- ar hipo-pigmentacijos rizika. Norint sumažinti pooperacinį šalutinį poveikį, reikia griežtai sustiprinti apsaugą nuo saulės bent 6 mėnesius [37].

Galimas nepertraukiamas veikimas arba veikimas impulsais. Šio lazerio bangos ilgis lygus 10600 nm, paklaida ± 20 nm. Galima reguliuoti įvairius parametrus. Parenkama galia, tipiškai iki 25 W, didinant ar mažinant kas 0,1-2 W. Pulso plotis (trukmė) paprastai gali būti reguliuojama nuo 10 ms iki 999 ms ir didinama ar mažinama kas 5 ms. Taip pat galima pasirinkti tarpus tarp impulsų, kurie taip pat varijuoja intervale: 10-999 ms [37]. Šis lazeris taip pat gali turėti frakcinį režimą ir sudaryti mikroabliacijos zonas odoje, tarpusavyje išsidėsčiusias tvarkingais atstumais (5 pav.) [33].



5 pav. Pavaizduotas mikroabliacijos zonų galimas išdėstymas, naudojant CO₂ lazerį (10600 nm): kai atitinkamai a – tankis 1%; b- 5%; c - 11%; d – 20% [33]

1.2. Dekspantenolis

1.2.1. Struktūra ir funkcijos

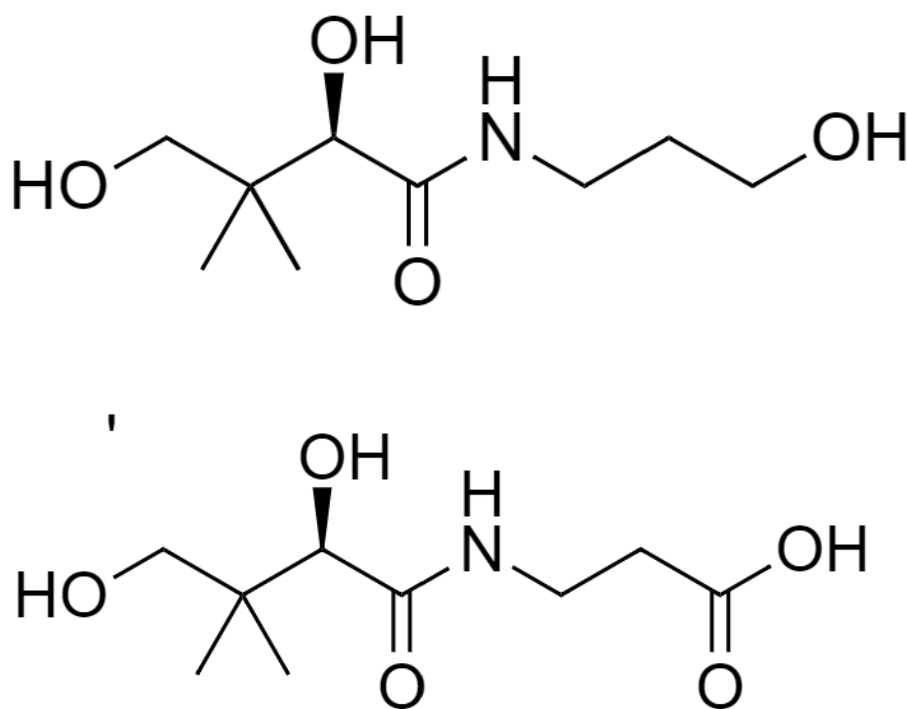
Dekspantenolis yra stabilus alkoholinis pantoteno rūgšties analogas. Priešingai nei pantoteno rūgštis, jis yra gerai absorbuojamas per odą. „BepanthenTM“ kaip tepalas pirmą kartą buvo pristatytas maždaug prieš 70 metų (1944 m.). Šiais laikais egzistuoja įvairių farmacinių formų vietiniai dekspantenolio preparatai (kremai, lašai, geliai, losjonai, aliejai, tepalai, tirpalai ir purškalai), kurie gali būti pritaikyti pagal individualius poreikius, skiriami pediatrijoms ir suaugusiems pacientams. Dekspantenolis taip pat naudojamas kaip tirpinamoji pastilė nuo burnos ir gerklės dirginimo [3].

Dekspantenolis dar kitaip vadinamas provitaminu B5 yra pantoteno rūgšties alkoholio analogas. Būtent šis vandenyje tirpus vitaminas pasižymi didesniu biologiniu aktyvumu ir stabilumu nei jo rūgštinė forma. Dėl regeneruojančių ir priešuždegiminių savybių dekspantenolis yra naudojamas įvairiuose odos, plaukų priežiūros preparatuose, kosmetinėse priemonėse bei multivitaminų preparatuose. Dekspantenolis yra geltonas, klampus, higroskopinis skystis, išlieka stabilus neutraliuose tirpaluose, tačiau yra greitai suskaidomas rūgštinėje ar šarminėje terpėje [39].

Dekspantenolio struktūrinė formulė C₉H₁₉NO₄ ir IUPAC pavadinimas (2R)-2,4-dihidroksi-N-(3-hidroksipropil)-3,3-dimetilbutanamidas (6 pav.) [40]. Šis junginys priklauso organinių junginių, žinomų kaip antriniai alkoholiai, klasei. Tai yra junginiai, turintys antrinę alkoholio funkcinę grupę, kurios bendra struktūra yra HOC(R)(R'), kai R, R' atitinkamai alkilas ir arilas. Pantenolis yra dviejų enantiomerų - D ir L, iš kurių biologiškai aktyvus yra tik D - pantenolis (dekspantenolis). Tačiau abi formos turi drėkinamųjų savybių. Pantenolis gerai tirpsta vandenyje ir alkoholyje, bet praktiškai visiškai netirpsta riebaluose ir lipofilinėse bazėse [2].

Vis dėlto pantoteno rūgštis yra kofermento A sudedamoji dalis, kuri atlieka svarbų vaidmenį angliavandenių, riebalų ir azoto junginių apykaitoje (6 pav. (')) [40]. Panaudotas tinkamame nešiklyje, dekspantenolis lengvai įsiskverbia į odą ir ląstelėje fermentų pagalba oksiduojasi į pantoteno rūgštį [41]. Prasiskverbimo laipsnis ir absorbcijos greitis yra didesnis vanduo/aliejuje kompozicijose. Teigiama, kad pantenolio rezorbcija viršija kitų vitaminų rezorbciją. Vietinio vartojimo metu pantoteno rūgštis koncentruojasi odoje, plaukų šaknyse, plaukuose ir naguose. Jis dažnai derinamas su kitomis drėkinančiomis medžiagomis, pavyzdžiui, gliceroliu, kuris yra plačiai pritaikomas dermatologijoje. Papildomas poveikis yra padidėjęs hidratacijos pajėgumas ir ilgalaikis preparato aktyvumas [42].

Dekspantenolis yra universalus junginys, ypač naudojamas raginio sluoksnio morfologijos ir odos barjerinės funkcijos defektams gydyti. Klinikiniai tyrimai teigia, kad vietiškai vartojamas pantenolis padeda žaizdų, nudegimų, įtrūkimų, ragenos pažeidimo, atopinio dermatito, kontaktinio dermatito, egzemos, odos dirginimo, psoriazės ir kt. gijimo procesui [2]. Dėl šių savybių jis ypač tinkamas naudoti kaip vaistas ir kaip veiklioji medžiaga kosmetikos preparatuose. Pastarajame jis naudojamas ne tik dėl jo drėkinimo ir minkštinimo gebėjimų, bet ir žymiai pagreitinant epidermio regeneraciją, stebint transepiderminio vandens nuostolių (TEWL) sumažėjimą [3].



6 pav. Dekspantenolio ir pantoteno rūgšties (‘) struktūrinės formulės

1.2.2. Dekspantenolio farmakologija

Dekspantenolis oksiduojasi į pantoteno rūgštį, kuri yra kofermento A sudedamoji dalis. Kofermentas A katalizuoja riebalų rūgščių ir sfingolipidų sintezę, kurie yra svarbūs raginio sluoksnio lipidų struktūrai. Taigi pantoteno rūgštis yra būtina epitelio fiziologinei funkcijai užtikrinti [43]. Dekspantenolis virstęs pantoteno rūgštimi, kuri plačiai pasiskirsto kūno audiniuose, daugiausia kaip kofermentas A ir didžiausia jo koncentracija yra kepenyse, antinksčiuose, širdyje ir inkstuose. Ši vaisto molekulė nėra linkusi rištis su plazmos baltymais. O apie 70 proc. aktyvios formos, geriamos pantoteno rūgšties, dozės nepakitusi išsiskiria su šlapimu ir apie 30 proc. su išmatomis.

Sutrikusi odos barjerinė funkcija vaidina svarbų vaidmenį esant įvairioms odos būklėms, kaip sausa, jautri oda, seborėjinis dermatitas, atopinis dermatitas arba kontaktinis dermatitas [44]. Todėl raginio sluoksnio drėkinimas ir atstatymas yra būtinos savybės, reikalingos odos priežiūros priemonėms. Dekspantenolis gerina odos drėkinimą, kai tepamas lokaliai; toks poveikis gali būti susijęs su dekspanthenolio higroskopinėmis savybėmis ir jo galimybe skatinti drėgmės sulaikymą [45]. Panašu, kad drėkinamasis poveikis yra susijęs su jo gebėjimu regeneruoti epidermio barjerą. Neseniai atliktas

eksperimentinis tyrimas parodė, kad dekspanthenolis padidina molekulinį lipidų ir baltymų segmentų mobilumą raginiame sluoksnyje, taip sukuriama drėkinimo pojūtis dehidratuotomis sąlygomis [46].

Mechanizmai, kuriais dekspanthenolis atkuria ir apsaugo odos barjero funkciją nėra iki galo išaiškinti. Skirtingiems odos sluoksniams nuolat atsinaujinant, drėkinamieji kremi sukuria aplinką, kuri skatina fiziologinius procesus, pavyzdžiui, fermentų veikimą, reikalingus palaikyti ar atkurti odos barjerinę funkciją. Be to, vietiškai naudojamos medžiagos gali taip pat prasiskverbia giliau į epidermį ir trukdyti barjerinių lipidų gamybai ir korneocitų brendimui [45]. Pasiūlyta teorija, kad dekspanthenolis skatina epidermio regeneraciją, sustiprinant epidermio diferenciaciją ir lipidų sintezę [47].

Žaizdų gijimo procesas dažnai skirstomas į tris fazes: uždegimas, ląstelių proliferacija ir matricos nusėdimas (antsluoksniis). Vykstant audinio persitvarkymui padidėja pantoteno rūgšties poreikis, nes padidėja ląstelių, skirtų žaizdoms užgyti, gamyba. Todėl nustatyta, kad teigiamas dekspanthenolio poveikis žaizdų gijimui yra padidėjusio fibroblastų dauginimosi ir pagreitinotos epitelizacijos rezultatas; abu procesai yra svarbūs gydant tiek gilius, tiek paviršines žaizdas [48].

Odos fibroblastai turi daugialypį diferenciacijos potencialą ir vaidina pagrindinį vaidmenį atstatant audinius, taigi ir odos žaizdų gijimo procese. Dekspanthenolio poveikis fibroblastams, pavyzdžiui, padidėjusi proliferacija, ląstelių migracija, fibroblastų prisijungimas ir kolageno sintezė patvirtina *in vitro* tyrimai [49]. Nors dekspanthenolio įtaka ląstelių dauginimuisi ir žaizdų gijimui yra plačiai aprašyti, jo savybės molekuliniam lygmenyje vis dar nėra iki galo aiškios.

1.3. Lazerinės terapijos rizikos

Dauguma lazerių naudojamų terapijos tikslais gali sąlygoti nudegimus, randus, pigmentacijos pokyčius ar infekcijas [50]. Remiantis selektyviosios fototermolizės teorija, šios komplikacijos yra tikėtinas šalutinis poveikis ir kai kuriais atvejais gali būti panaudotos paciento naudai, pavyzdžiui, mažinant pigmentaciją. Stimuliuojant chromoforą atitinkamu bangos ilgiu, jis įkaista. Šiuolaikiniai prietaisai naudoja impulso trukmę, mažesnę už chromoforo šiluminio atpalaidavimo laiką. Šiluminio atpalaidavimo laikas yra reikalingas dalelėms atvėsti iki pradinės temperatūros. Atrankios fototermolizės tikslas yra pakankamai sušildyti daleles, kad sunaikintų chromoforą, nepažeidžiant aplinkinių audinių, tai ne visada pavyksta [51]. Nudegimai gali atsirasti dėl per ilgo impulso periodo, per didelės energijos į ploto vienetą ir netinkamo vėsinimo. Siekiant išvengti tokių komplikacijų, išbandyta keletas metodų: pulsuojantis spindulys su milisekundžių veikimo diapazonu arba naudojant ypač trumpus impulsus, turinčius didelę galią [52].

Pirmieji lazeriai imti naudoti odos atnaujinimui buvo abliaciniai CO₂ arba erbio pavidalo itrio aliuminio granato (Er: YAG) lazeriai, būtent dėl didelės naudos kliniškai šalinant atrofinius randus, ar dėl UV spinduliuotės pažeistos veido odos atnaujinimui [53]. Tačiau pagrindinis nepageidaujamas poveikis buvo užsitęsęs odos atsistatymas ir galimų šalutinių poveikių rizika, todėl buvo imtasi alternatyvių metodų. Plėtojant ne abliacinio tipo lazerius buvo pastebėtas geresnis atsistatymas ir tolerancija, tačiau šis mažiau invazinis gydymo metodas sąlygojo mažesnę klinikinį veiksmingumą. Surastas tarpinis variantas atitiko naudos ir žalos santykį, jis sudaro mikroskopines abliacijos zonas, kurių plotas ir gylis yra reguliuojamas pagal poreikius, mikroskopinių zonų plotas palyginus su bendrai paveiktu odos paviršiumi yra labai mažas, todėl pasiekiamas labai greitas atsistatymas [54]. Apskritai fraccinių lazerių naudojimas beveik neturi uždelstų šalutinių poveikių.

Eritema - ši šalutinė komplikacija atsiranda vykdant odos atnaujinimo procedūras frakciniu lazeriu. Ji paprastai išnyksta per 3–4 dienas, jeigu po 4 dienų situacija nesikeičia, galima konstatuoti ilgalaikę eritemą. O naudojant abliacinį lazerį ilgalaikės eritemos terminas viršija vieną mėnesį. Ši rizika apima 1% neabliatyvių lazerių atvejų ir daugiau kaip 12,5% pacientų, kai naudojamas abliacinis lazeris, nors šiais atvejais eritema paprastai išnyksta per 3 mėnesius [55]. Norint išvengti po operacinės eritemos ar sumažinti jos intensyvumą, kartu su lazeriu naudojamas 590 nm bangos ilgio šviesos diodas (LED) [56]. Nustatyta, kad LED fotomoduliacija sumažina eritemą visose gydomose veido pusėse per 24 valandas po procedūros [57].

Atsižvelgiant į tai, kad virusinės, bakterinės ir grybelinės infekcijos dažniausiai pasireiškia per pirmąją pooperacinę savaitę, jas būtina tinkamai identifikuoti ir gydyti, kad būtų išvengta tolesnių komplikacijų, įskaitant uždelstą žaizdų gijimą, randų susidarymą, koinfekciją su kitais patogenais. Herpes simplex viruso (HSV) infekcijos - dažniausiai pasitaikančios infekcijos po odos atnaujinimo naudojant frakcinį lazerį: apie 0,3–2% atvejų [55]. Priešingai, infekcijos dažnis naudojant tradicinį (nefrakcionuotą) lazerinį gydymą yra didesnis: apie 2–7% [51]. Padidėjęs skausmas, židininė intensyvi eritema, turėtų įspėti gydytoją apie bakterinės infekcijos galimybę, kuri paprastai pasireiškia praėjus 1 - 3 dienoms po gydymo. Nors *Candida albicans* sukelta odos kandidozė yra reta. Tai dažniausiai pasitaikanti grybelinė infekcija, apie kurią pranešta po frakcinio odos paviršiaus atnaujinimo lazeriu (paprastai 7–14 dienų po gydymo), todėl ją reikia gydyti priešgrybeliniais vaistais, kad būtų išvengta randų susidarymo [57].

Po tradicinio nefrakcionuoto lazerio paviršiaus atnaujinimo atsiranda trumpalaikiai spuogai ir žaizdelės: iki 80% atvejų vystosi pirmieji, o daugiau kaip 14% - pastarieji. Esant vidutinio sunkumo ar sunkiam spuogų paūmėjimui, rekomenduojama vartoti trumpus geriamųjų tetraciklinų grupės antibiotikų kursus [57].

Hiperpigmentacija po uždegimo (PIH) yra daug retesnė, kai atliekamas odos frakcinis atnaujinimas lazeriu, nei atliekant kitas abliacines procedūras, tačiau ji pastebima nuo 1% iki 32% pacientų, atsižvelgiant į naudojamą sistemą, taikomus parametrus ir gydomus odos fototipus [58, 59]. Pacientai, kurių odos fototipai yra tamsesni (*Fitzpatrick* skirstymas: III – VI tipo), turi didesnę hiperpigmentacijos riziką. Apskritai, atliekant procedūras tamsesnės odos pacientams, reikia naudoti mažesnę tankį ir ilgesnius gydymo intervalus [60]. Hipopigmentacija yra retesnė komplikacija. Vienas užregistruotas atvejis buvo susijęs su laikina hipopigmentacija praėjus 15 dienų po gydymo. Dviem pacientams po lazerio sukeltų hipertrofinių randų ant kaklo buvo pastebėta hipopigmentacija, kuri tęsėsi keletą mėnesių po gydymo. Hipopigmentacija dažnai vėluoja (6–12 mėnesių pooperaciniu laikotarpiu), todėl reikalingas ilgesnis paciento stebėjimo intervalas komplikacijos identifikavimui [57].

Hipertrofinis randas yra žinoma ir reta abliacinio odos paviršiaus atnaujinimo, naudojant CO₂ ir Er: YAG lazerius, komplikacija [53, 54]. Naudojant frakcinį režimą tokia komplikacija retesnė. Židininės eritemos sritys po 4 savaitių gydymo yra pirmieji galimo rando formavimosi požymiai. Ypač jautri zona randų atsiradimui yra kaklo sritis, kur plonesnė ir jautresnė oda. Priežastimi gali būti per didelio energijos tankio naudojimas, po operacijos atsiradusi infekcija ar gydymą atliekančio asmens įgūdžių trūkumas. Pacientams, kurie patyrė pooperacinę žaizdų infekciją, kontaktinį dermatitą yra didžiausia randų rizika. Ankstyvas hipertrofinių randų gydymas tokiomis aplinkybėmis dažnai reiškia vietinių kortikosteroidų vartojimą ar impulsinio lazerio terapiją [61].

1.4. Polimerinės plėvelės

Plėvelių, kaip vaisto formos pagrindu dažniausiai naudojami įvairūs polimerai. Polimerai gali būti naudojami vieni arba mišiniuose su kitais polimerais, norint pasiekti norimas plėvelės savybes. Naudojami polimerai turi būti netoksiški, nedirginantys odos ar gleivinės. Vandenyje tirpūs polimerai naudojami kaip plėvelės formuotojai, norint pagaminti ploną plėvelę, kuri greitai suyra. Plėvelių gamybai naudojami tiek natūralūs, tiek sintetiniai polimerai [7].

Paprastai polimerai klasifikuojami kaip pagalbinės medžiagos, tačiau plėvelių kontekste įvardijami, kaip esminis komponentas formuojant plėveles. Prieš pradėdant projektuoti polimerinę plėvelę skirtą konkrečios vaistinės medžiagos pernašai, turi būti puikiai suprantamos ir suvokiamos polimero savybės. Tokios, kaip cheminės, reologinės bei fizikocheminės, nuo kurių priklausys plėvelės kaip produkto patrauklumas pacientui bei užtikrinamas terapinis aktyvumas.

Dažniausiai naudojamos plonų plėvelių paruošimo technologijos yra tirpiklio liejimas ir karšto lydalo ekstruzija. Tačiau per pastaruosius kelerius metus buvo sukurta tokia novatoriška technika kaip rašalinis spausdinimas [7].

Tarp kelių plėvelės gamybos būdų tirpiklių liejimas yra įmanomas, pageidautinas ir neabejotinai plačiai naudojamas metodas, daugiausia dėl paprasto gamybos proceso ir mažų perdirbimo sąnaudų. Reikėtų atsižvelgti į polimerinio mišinio reologines savybes, nes jos turi įtakos džiūvimo greičiui, plėvelės storiui, plėvelių morfologijai ir turinio vienodumui [62]. Maišymo metu oras gali netyčia patekti į skystį; todėl oro vėdinimas yra būtina sąlyga norint gauti vienalytį produktą. Įterpus tirpiklį į tinkamą substratą, jie paliekami džiovinti, kad tirpiklis išgaruotų, o tai tiesiog palieka polimerinę plėvelę su vaistu [63].

Karšto lydinio ekstruzija yra universalus būdas gaminti granules, tabletes ir plonas plėveles. Tai yra tirpiklio liejimo pakaitalas plėvelės paruošimui, ypač naudingas, kai nereikia jokių organinių tirpiklių sistemų. Karšto lydimo ekstruzijos metu visi komponentai: polimeras, vaistinė medžiaga ir kitos pagalbinės medžiagos yra lydomi kaip vienas mišinys ir formuojama plėvelė. Pagaminta homogeniška matrica supjaustoma tam tikra forma ir matmenimis, taip gaunamos tikslinės plėvelės. Kadangi veiklioji medžiaga kartu su mišiniu patenka į aukštos temperatūros aplinką, gali būti sutrikdytas biologinis aktyvumas, prarandama funkcija. Todėl šis metodas netinka termolabilioms vaistinėms medžiagoms [7].

Polimerinėms plonomis plėvelėms gaminti galima naudoti ir naujus metodus, tokius kaip 3D spausdinimas. Tai nauja platforma, leidžianti gaminti dozavimo formą, patenkinančią individualios medicinos paklausą. Lankstus ir ekonomišką pavyzdys, kai iš anksto vartotojams parduodami spausdintuvai, į kuriuos įdėti vaistais užpildyti dažai, naudojami, norint gauti tiksliai dozuotus vaistinius preparatus [64].

Vaistine medžiaga užpildytos transderminės plėvelės tapo alternatyva pakeičiančia ilgus metus egzistuojančias klasikines dozavimo formas. Sutinkamas ne vienas pavyzdys, kai veikliąją medžiagą ištirpinus ar dispergavus polimerinėje plėvelės matricoje pasiekiamas ilgalaikis ar kontroliuojamas atpalaidavimas [4]. Tokios dozuotės išbandytos su steroidiniais hormonais, analgetikais, lokaliais anestetikais.

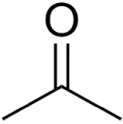
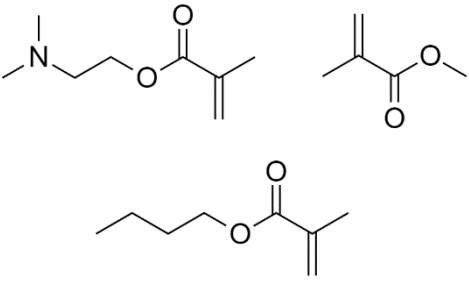
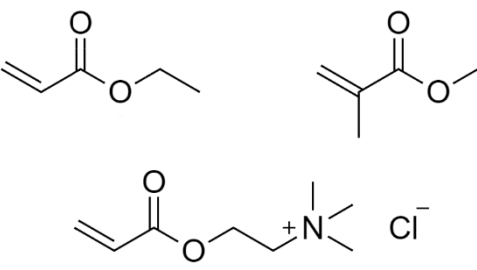
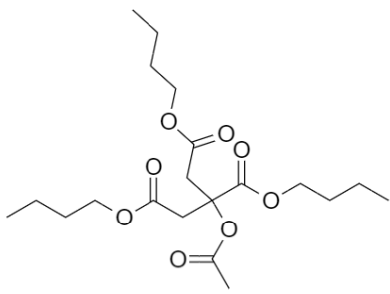
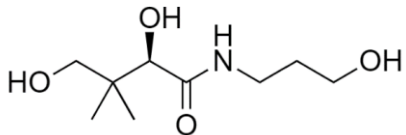
Tik transderminių plėvelių sukurta vaistinės medžiagos pernašai, nes biologiniam prieinamumui įtaką daro molekulinis dydis, poliškumas, vaisto pH, odos hidratacijos būklė, poodinis vaistų rezervuaras ir vaistų metabolizmas per odą [6]. Panašiai, norint padidinti vaisto absorbciją, labai svarbu odos drėkinimas, kuris yra įmanomas naudojant į plėvelės sudėtį įterptas pagalbines drėkinamąsias medžiagas. Fiziologiniai veiksniai, tokie kaip regioninė odos vieta, raginio sluoksnio pobūdis, odos storis, taip pat turi įtakos bendram gydomojo vaisto poveikio rezultatui [65].

Plona plėvelė gali turėti geresnę terapinę veiksmingumą ir paciento priimtinumą, palyginti su įprastomis transderminėmis dozavimo formomis, tokiomis kaip pleistrai ar geliai [66]. Dėl okliuzinių transderminių pleistrų savybių jis apsaugo nuo vandens garų prasiskverbimo iš odos paviršiaus ir sukelia stiprų skausmą lupimo metu. Tačiau polimerinės plonos plėvelės galėtų būti labai perspektyvi alternatyva vaisto transderminiam vartojimui dėl patogumo naudoti, lankstumo ir geresnės kosmetinės išvaizdos [8].

2. Medžiagos ir tyrimų metodai

2.1. Tyrimo medžiagos

1 lentelė. Tyrimo metu naudotos cheminės medžiagos

Pavadinimas	Savybės	Struktūrinė formulė	Gamintojas
Acetonas	$\geq 99,5$ proc.% $T_{vir.} = 55 - 57$ °C $\rho (20$ °C) = 0,79 g/cm ³		Honeywell Riedel-de Haën AG, Vokietija
E100 - butilintas metakrilato polimeras	$M_w \sim 47$ 000 g/mol $T_{g,m} = 45$ °C		Evonik Röhm GmbH, Vokietija
RL100 - A tipo amonio metakrilato kopolimeras	$M_w \sim 32$ 000 g/mol $T_{g,m} = 63$ °C		Evonik Röhm GmbH, Vokietija
ATBC - Acetilo tributilo citratas	98 proc.% $\rho = 1,05$ g/cm ³ (25 °C)		Sigma-aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Vokietija
Dekspantenolis	$\rho = 1,162$ g/cm ³ (25 °C) Tirpumas = 509 g/l (22 °C, pH 9.3) $\log K_{ow} = -1.92$ (25 °C)		BASF SE, Vokietija
Išgrynintas vanduo	Ph.Eur.01/2008:0008	H ₂ O	LSMU Klinikinės farmacijos katedra, Kaunas

2.2. Tyrimo įranga

Tekstūros analizatorius TA.XT plus (Stable Micro Systems Ltd, Jungtinė Karalystė)

Analitinės svarstyklės Scaltec SBC 31 (Scaltec Instruments GmbH, Vokietija)

Magnetinė maišyklė IKA C-MAG HS 7 (IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Vokietija)

Spektrofotometras Agilent 8453 UV-Vis (Agilent Technologies, JAV)

„Cutera Coolglide“ 1064 nm Nd: YAG Sistema, (Cutera Inc., JAV)

Ultra-efektyvusis skysčių chromatografas (Waters Acquity UPLC System, JAV)

Bronaugh tipo pratakios difuzinės celės sujungtos su cirkuliacine vandens vonele Grant GD120 (Grant Instruments Ltd.,UK), peristaltiniu siurbliu (Masterflex L/S) bei daugiakanale siurblio galva (ColeParmer Instrument Co., JAV)

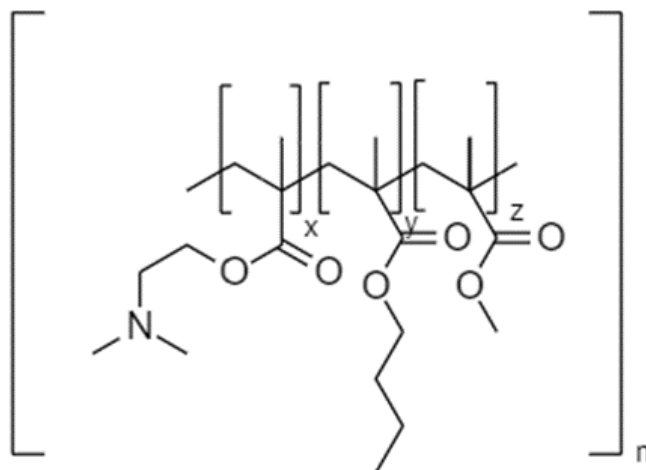
2.3. Tyrimo objektas

Tyrimų objektas yra eksperimentinės metakrilato kopolimerų plėvelės, į kurias buvo įterpta vaistinė medžiaga – dekspantenolis.

2.4. Tyrime naudoti metodai

2.4.1. E100 polimeras

E tipo polimerą galima įsigyti trijų formų: galimas granuliu pavidalas (E100), miltelių pavidalas (E PO) arba polimero 12.5 % (w/w) tirpalas izopropanolio 60 % (w/w) ir acetono 40 % (w/w) mišinyje. Nuo agregatinės būsenos priklauso polimerinės plėvelės paruošimo procesas. Naudojant iš karto paruoštą polimero tirpalą bus sutaupyta laiko, skirto polimero tirpinimui maišant, priklausomai nuo veikliosios medžiagos, ją būtų galima iš karto įterpti į kompoziciją pridėjus plastifikatoriaus ar kitų pagalbinių medžiagų. Užsiimant pramonine tokių plėvelių gamyba patogiausias forma – granulės. O norint dirbti su mažais kiekiais tinkamiausias miltelių pavidalo polimeras. Bet kuriuo iš išvardytų atvejų E yra katijoninis kopolimeras, kurio pagrindą sudaro dimetilamino etilmetakrilatas, butilmetakrilatas ir metilmetakrilatas santykiu 2 : 1 : 1 (7 pav.). Monomerai atsitiktinai pasiskirsto išilgai kopolimero grandinės. Remiantis SEC metodu vidutinė polimero molinė masė nepriklausomai nuo būsenos yra maždaug 47 000 g/mol [67].



7 pav. E100 polimero skeletinė formulė [67]

E100 tai bespalvės arba geltono atspalvio granulės, pasižyminčios aminams būdingu kvapu. E PO tai balti milteliai, taip pat turintys aminams būdingą kvapą. E 12,5: šviesiai geltonas, mažos klamos skystis, skaidrus arba šiek tiek drumstas, turintis izopropanoliui ir acetoniui būdingą kvapą.

1 g E100 arba E PO ištirpsta 7 g metanolio, etanolio, izopropilo alkoholio, acetono, etilacetato, metileno chlorido arba 1 N druskos rūgštis tirpale, ištirpus susidaro skaidrūs arba šiek tiek drumsti tirpalai. Šio polimero granulės ar milteliai yra praktiškai netirpūs vandenyje. O tirpalo pavidalo polimeras E 12,5 yra nusodinamas, sumaišius su vandeniu santykiu 1: 1.

Norint įvertinti polimero savybes, ruošiamas tiriamasis tirpalas: naudojamas E 12,5 / E100 / E PO: 12,5% (m / m) sausos medžiagos ištirpinama 60% (m / m) izopropilo alkoholio ir 40% (m / m) acetono mišinyje. Kai tiriamasis tirpalas pilamas ant stiklinės plokštelės pagrindo, tirpikliams garuojant susiformuoja skaidri plėvelė.

Sausos medžiagos kiekio ir likučio garinant tyrimas E100 ir E PO polimerams atliekamas pagal farmakopėjos monografiją: gaunama ne mažiau kaip 98,0% likusio sauso polimero. Testas atliekamas pagal Ph. Eur. 2.2.32 d. 1 g polimero džiovinamas termostate 3 valandas, 110 °C temperatūroje. Atitinkamai nuostoliai džiovinant lygūs 2 proc.

Norint įvertinti polimero spalvą, atliekamas testas pagal Ph. Eur. 2.2.25 arba USP monografiją. Matuojama absorbcija (A) – maks. 0,300. Geltona tiriamojo tirpalo spalva nustatoma 1 cm kiuvetėje, kai bangos ilgis lygus 420 nm ir palyginamasis tirpalas – vanduo.

Tiriamojo tirpalo klampa nustatoma naudojant Brookfield viskozimetrą (UL adapteris / 30 aps / min / 20 °C). Testas atliekamas pagal Ph. Eur. 2.2.10 arba USP <912> II metodą, gaunama klamos vertė lygi 3-6 mPa · s. O atliekant kinematinės klamos tyrimą pagal JPE monografiją E100 / E PO polimerams gaunamos 2,5–5,5 mm²/s vertės. Tiriamojo tirpalo lūžio rodiklis nustatomas pagal Ph. Eur. 2.2.6. ir yra lygus n_D^{20} : 1.380 - 1.385. O santykinis tiriamojo tirpalo tankis nustatomas pagal Ph. Eur. 2.2.5 ir lygus – d_{20}^{20} : 0,811 - 0,821.

Taip pat identifikuojamas monomerų likutis bendrame produkte: E100 / E PO iš viso monomerų: <2500 ppm, o atskirai: butilmetakrilato: <1000 ppm, metilmetakrilato: <500 ppm, dimetilamino etilmetakrilato: <1000 ppm. Tyrimas atliekamas pagal Ph. Eur., USP / NF arba JPE monografiją.

Tirpiklių likučiai E100 / E PO: sudėtyje yra nedidelis kiekis 2-propanolio, kurio koncentracija yra mažesnė nei 0,5%. Produkte galima nustatyti nedidelius metanolio kiekius, per minimalų stabilumo laikotarpį, koncentracija išlieka mažesnė nei 0,1%. Produkte galima nustatyti nedidelius n-butanolio kiekius, per minimalų stabilumo laikotarpį, koncentracija išlieka žemesnė nei 0,5%. Testas atliekamas pagal Ph. Eur. 2.4.24 mėginio paruošimą 2 arba USP <467> vandenyje netirpios medžiagos.

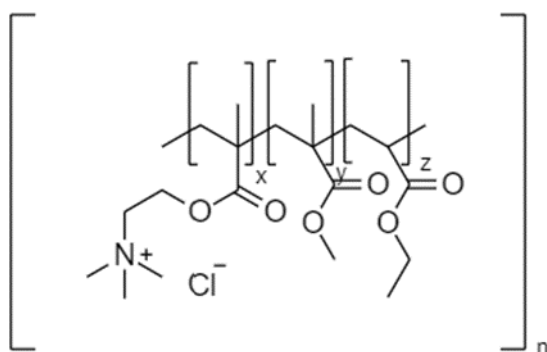
Šis polimeras gali būti kokybiškai nustatomas IR spektroskopijos metodu. IR spektroskopijos analizė atliekama tiriant sausą 15 μm storio plėvelę, kuri gaunama kelis lašus bandomojo tirpalo dedant ant kristalinio KBr ar NaCl disko ir džiovinant vakuume apie 2 valandas 70 ° C, temperatūroje. Gaunamos būdingos IR juostos: esterio grupei būdinga juostos prie 1150–1190 ir 1240 ir 1270 cm⁻¹; taip pat C = O esterio smailė esant 1 730 cm⁻¹. Be to, CH_x vibracijos gali būti pastebimos esant 1 385, 1 450 - 1 490 ir 2 950 cm⁻¹. Absorbciją esant 2 770 ir 2 820 cm⁻¹ galima priskirti dimetilamino grupėms.

Polimero nustatymas dozavimo formose atliekamas ekstrahuojant su prieš tai išvardytais tirpikliais (etanoliu, acetone ir kt.), esant būtinybei dozuotė smulkinama/gniuždoma. Netirpios medžiagos išskiriamos filtruojant arba centrifuguojant, o likęs skaidrus filtratas užvirinamas ir likučiai identifikuojami prieš tai aptartu IR spektroskopijos metodu.

Granulių pavidalo polimerą reikia laikyti, vengiant aukštos temperatūros ir drėgmės. Saugiausia laikyti intervale nuo 8 ° C iki 25 ° C. Aukštesnėje nei ≥ 30 ° C temperatūroje yra linkę formuotis gumulai, sulimpant atskiroms granulėms, šis pokytis polimero kokybei įtakos neturi, gumulai lengvai atskiriami. Miltelių pavidalo polimero laikymo sąlygos nesiskiria, o tirpalą reikia laikyti sandariai uždarytoje talpoje.

2.4.2. RL100 polimeras

RL100 / RL PO ir RS100 / RS PO yra etilakrilato, metilmetakrilato ir metakrilo rūgšties esterio su ketvirtine amonio grupe (trimetilamonioetilmetakrilato chlorido) kopolimerai. Amonio grupės laikomos druskomis, kurios suteikia polimerams pralaidumo. yra kaip druskos ir padaro polimerus pralaidžius. Etilakrilato molinis santykis su metilmetakrilatu ir trimetilamonioetilmetakrilatu yra apytiksliai lygus 1:2:0,2 RL polimere ir apytiksliai lygus 1:2:0,1 RS polimere. Monomerai atsitiktinai pasiskirsto išilgai kopolimero grandinės. Remiantis SEC metodu vidutinė polimero molinė masė nepriklausomai nuo būsenos yra maždaug 32 000 g/mol [68].



8 pav. RL100 polimero skeletinė formulė [68]

RL/RS100: bespalvės, skaidrios arba šiek tiek matinės granules su silpnu į aminus panašiu kvapu.
RL/RS PO: balti milteliai, taip pat turintys silpną aminams būdingą kvapą.

1 g polimero granulių ar miltelių ištirpsta 7 g vandeninio metanolio, etanolio, izopropilo alkoholio, (vandens kiekis apie 3 proc.) ir acetono, etilacetato, metileno chloride tirpaluose, susidarant skaidriems arba šiek tiek drumstiesiems tirpalams. O šio polimero milteliai ir granulės yra praktiškai netirpūs 1 N druskos rūgšties tirpale ir vandenyje.

Norint įvertinti polimero savybes, ruošiamas tiriamasis tirpalas: naudojamas RL 100 / RL PO: 12,5% (m / m) sausos medžiagos ištirpinama 60% (m / m) izopropilo alkoholio ir 40% (m / m) acetono mišinyje. Kai tiriamasis tirpalas pilamas ant stiklinės plokštelės pagrindo, tirpikliams garuojant susiformuoja skaidri plėvelė.

Sausos medžiagos kiekis ir likutis garinant atliekamas pagal farmakopėjos monografiją: RL100 / RL PO: gaunama ne mažiau kaip 97,0 proc. likusio sauso polimero. Testas atliekamas pagal Ph. Eur. 2.2.32 d. 1 g polimero džiovinamas vakuume 5 valandas, 80 °C temperatūroje. Atitinkamai nuostoliai džiovinant lygūs 3 proc.

Tiriamąjį tirpalą klampa nustatoma naudojant Brookfield viskozimetą (UL adapteris / 30 aps / min / 20 °C). Testas atliekamas pagal Ph. Eur. 2.2.10 arba USP <912> II metodą, gaunama klampos vertė lygi 1-15 mPa · s. O atliekant kinematinės klampos tyrimą pagal JPE monografiją RL100 / RL PO polimerams gaunamos 1,0–4,0 mm²/s vertės. Tiriamąjį tirpalą lūžio rodiklis nustatomas pagal Ph. Eur. 2.2.6. ir lygus n_D^{20} : 1.380 - 1.385. O santykinis tiriamąjį tirpalą tankis nustatomas pagal Ph. Eur. 2.2.5 ir lygus d_{20}^{20} : 0.816 - 0.836.

Taip pat identifikuojamas monomerų likutis bendrame produkte: etilakrilato maks. 100 ppm ir metilmetakrilato maks. 50 ppm. Tyrimas atliekamas pagal Ph. Eur., USP / NF arba JPE monografiją.

Galutiniame polimero produkte nustatomi gamybos procese naudotų tirpiklių likučiai. Jų kiekis gali skirtis priklausomai nuo pasirinkto polimerizacijos metodo. Industrinės polimerizacijos atveju galutiniame produkte nustatomas nedidelis kiekis metanolio – koncentracija išlieka mažesnė nei 0,3%. Ir nedidelis kiekis etanolio – koncentracija išlieka žemesnė nei 0,5%. Metanolio nustatymas atliekamas pagal USP 467 procedūrą C (vandenyje netirpioms medžiagoms).

Šis polimeras gali būti kokybiškai nustatomas IR spektroskopijos metodu. IR spektroskopijos analizė atliekama tiriant sausą 15 μm storio plėvelę, kuri gaunama kelis lašus bandomojo tirpalo dedant ant kristalinio KBr ar NaCl disko ir džiovinant vakuume apie 2 valandas 70 °C, temperatūroje. Gaunamos būdingos IR juostos: esterio grupei būdinga juostos prie 1150–1190 ir 1240 ir 1270 cm⁻¹; taip pat C = O esterio smailė esant 1730 cm⁻¹. Be to, CHX vibracijos gali būti pastebimos esant 1385, 1450, 1475 ir 2 950-3000 cm⁻¹.

Polimeras aptinkamas dozavimo formose vykdant ekstrakciją su prieš tai išvardytais tirpikliais (etanoliu, acetone ir kt.), esant būtinybei dozuotė smulkinama/gniuždoma. Netirpios medžiagos išskiriamos filtruojant arba centrifuguojant, o likęs skaidrus filtratas užvirinamas ir likučiai identifikuojami prieš tai aptartu IR spektroskopijos metodu.

Granulių pavidalo polimerą reikia laikyti, vengiant aukštos temperatūros ir drėgmės. Saugiausia laikyti intervale nuo 8 °C iki 25 °C. Aukštesnėje nei ≥ 30 °C temperatūroje yra linkę formuotis gumulai, sulimpant atskiroms granulėms, šis pokytis polimero kokybei įtakos neturi, gumulai lengvai atskiriami.

2.4.3. Polimerinių plėvelių formulavimas ir atranka

Polimerinių plėvelių atrankai pasirinktos apskritimo formos lėkštelės iš folijos (9 pav. 16), kurių diametras $d = 4$ cm, o aukštis apytiksliai lygus 1 cm. Lėkštelės formuojamos, iš polilaktinės rūgšties atspausdintu, cilindro formos štampu, kurio pagrindo paviršiaus plotas lygus $12,57 \text{ cm}^2$. Į pagamintas lėkšteles liejamas polimero tirpalas su pagalbinėmis medžiagomis ir formuojamos plėvelės. Pasirinkti du polimerai, kaip matricą formuojančios medžiagos E 100 ir RL 100. Iš pradžių analitinėmis svarstyklėmis pasveriamas polimeras. Pagal jo masę paskaičiuojamas 5 kartus didesnis acetono kiekis, reikalingas polimerui ištirpti, santykis polimeras:acetonas – 1:5. Polimerams tirpinti organiniame tirpiklyje nereikalinga aukšta temperatūra. Polimero tirpalas nuosekliai maišomas magnetine maišykle kambario temperatūroje, cheminė stiklinė viso proceso metu laikoma uždengta folija, norint išvengti lakaus tirpiklio nuostolių, pats procesas atliekamas traukos spintoje. E 100 polimeras organiniame tirpiklyje visiškai ištirpsta per ~15 min, o RL 100 ištirpsta per 45 minutes. Pagal pradžioje pasverto polimero masę apskaičiuojamas reikalingas plastifikatoriaus ATBC kiekis (2 lentelė), kuris pridedamas į polimero tirpalą. Toliau maišoma magnetine maišykle, kol tirpalas tampa homogeniškas. Automatinė pipete tiksliai paimami 5 ml galutinio tirpalo ir atsargiai supilama į $12,57 \text{ cm}^2$ folijos formas, taip, kad nesusidarytų oro burbuliukai. Mėginiai paliekami džiūti kambario temperatūroje. Acetono nuostoliai nustatomi po 30, 60, 90, 120 min ir 24 valandų, matuojant masės pokytį analitinėmis svarstyklėmis. Tirpikliui pasišalinus iš polimerinės plėvelės po 24 val atliekamas organoleptinis susiformavusių plėvelių vertinimas ir atrenkamos geriausios sudėties plėvelės, kurios teoriškai tenkina lipnumo ir tvirtumo sąlygas.

2 lentelė. Polimerinių kompozicijų sudėtis

Plėvelės nr.	Polimeras	Polimeras:ATBC	
1	E100	1,0	0,0
2	E100	1,0	0,1
3	E100	1,0	1,0
4	E100	1,0	1,5
5	E100	1,0	2,0
6	RL100	1,0	0,0
7	RL100	1,0	0,5
8	RL100	1,0	1,0
9	RL100	1,0	1,5
10	RL100	1,0	2,0

Tolimesniems lipnumo, atpalaidavimo ir *ex vivo* tyrimams plėvelė ruošiama įterpiant vaistinę medžiagą – dekspantenolį. Kaip ir prieš tai analitinėmis svarstyklėmis pasveriamas polimeras ir apskaičiuojami reikalingi acetono bei ATBC kiekiai pagal santykius (3 lentelė). Tačiau visų pirma atliekamas dekspantenolio tirpinimas acetone. Analitinėmis svarstyklėmis pasveriamas toks dekspantenolio kiekis, jog galutinėje kompozicijoje jis sudarytų 5 proc. visos plėvelės masės. Kadangi dekspantenolis hidrofiliinė medžiaga jis tirpinamas acetone maišant magnetine maišykle kambario temperatūroje, vaistinė medžiaga ištirpsta per 1-2 min. Ir tik tada analogiškai plėvelėms be vaistinės medžiagos pridedamas polimeras, o jam ištirpus plastifikatorius ATBC. Automatinė pipete tiksliai paimama 0.5 ml galutinio tirpalo ir atsargiai supilama į $1,33 \text{ cm}^2$ ir $12,57 \text{ cm}^2$ folijos formas (9 pav. 2), taip, kad nesusidarytų oro burbuliukai. Mėginiai paliekami džiūti kambario temperatūroje. Parinktas mažesnis $1,33 \text{ cm}^2$ plėvelių diametras skirtas tolimesniems atpalaidavimo ir *ex vivo* tyrimams, kad atitiktų, naudojamos aparatūros išmatavimus. O didesnės $12,57 \text{ cm}^2$ diametro plėvelės naudojamos lipnumo tyrimui atlikti.

3 lentelė. Polimerinių plėvelių su dekspantenoliu sudėtis

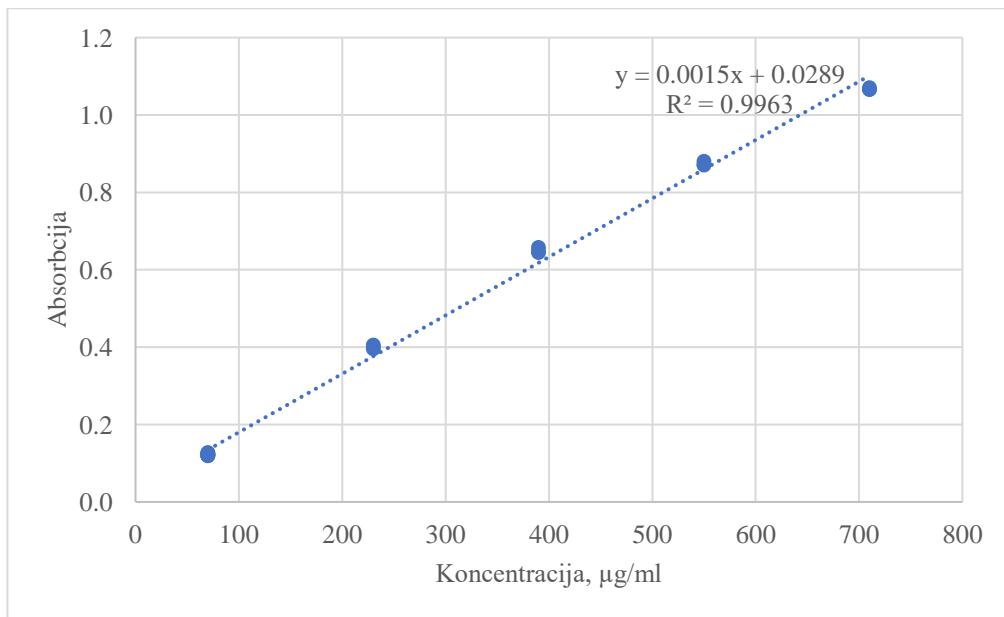
Plėvelės nr.	Dekspantenolio kiekis, proc.	Polimeras	Polimeras:ATBC	
1	5	E100	1,0	0,3
2	5	E100	1,0	0,4
3	5	E100	1,0	0,5
4	5	RL100	1,0	1,0
5	5	RL100	1,0	1,1
6	5	RL100	1,0	1,2



9 pav. 12,57 cm² folijos lėkštelės pavyzdys (16) ir folijos lėkštelės su polimerine plėvele pavyzdys (2)

2.4.4. Dekspantenolio atpalaidavimas

Iš pradžių sukuriamas metodas, konkrečiai veikliajai medžiagai, dekspantenoliui, nustatyti. Nustatomas bangos ilgis kuriame dekspantenolio absorbcija yra didžiausia, t. y. aukščiausia absorbcijos smailė, parenkant skirtingas koncentracijas. Ir nustatoma apatinė bei viršutinė ribos, kad absorbcijos vertės apytiksliai patektų į intervalą 0,12 – 1,2. Po to sudarinėjama kalibracinė kreivė, absorbciją matuojant prieš tai nustatytame bangos ilgyje (219 nm). Paruošiamas pradinis (koncentruotas) tirpalas, dekspantenolis tirpinamas mažame kiekyje išgryninto vandens ir skiedžiamas matavimo kolboje iki 100 ml ribos. Ruošiami etaloniniai 70, 230, 390, 550, 710 µg/ml tirpalai, automatine pipete imamas atitinkamas kiekis pradinio paruošto tirpalo ir matavimo kolboje skiedžiamas iki 10 ml ribos. Taip gaunami tirpalai kalibracinei kreivei sudaryti. Etaloninių tirpalų absorbcija matuojama 1cm UV kiuvetėse, 219 nm bangos ilgyje. Gaunama kalibracinė kreivė (10 pav.).

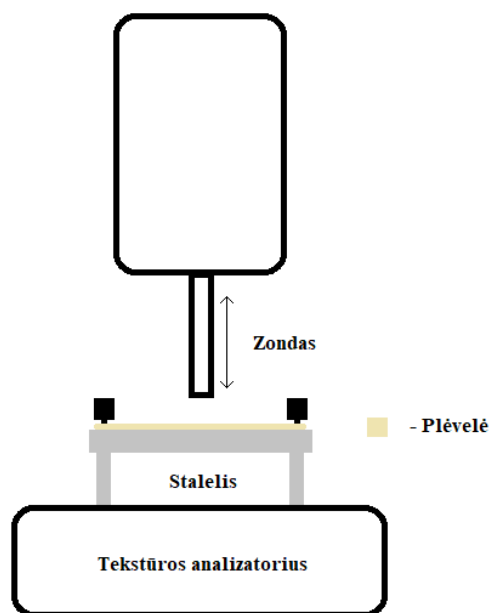


10 pav. Dekspantenolio atpalaidavimo in vitro kalibracinė kreivė

Po to pradedamas tiriamųjų tirpalų absorbcijos matavimas. Matuojamos šešių skirtingų kompozicijų (3 lentelė) polimerinės plėvelės. Vertinama vaisto forma – plėvelės su sudėtyje esančiais 5 proc. dekspantenolio talpinamos į 10 ml akceptorinę terpę – išgrynintą vandenį, palaikoma 32°C terpės temperatūra. Akceptorinė terpė analizuojama po 1, 2, 3, 4, 5 ir 24 val., ištirtas mėginio kiekis iš kiuvetės iš karto gražinamas į cheminę stiklinę su vaisto forma (palaikomas pastovus 10 ml kiekis). Pastebėjus polimerinės plėvelės atplaišų, esant būtinybei, akceptorinė terpė filtruojama. Programinė įranga esanti kompiuteryje iš karto automatiškai nustato dekspantenolio koncentraciją akceptorinėje terpeje, remiantis prieš tai sudarytos kalibracinės kreivės duomenimis. Gauti duomenys grafiškai pateikti atpalaiduotos dozės kiekio proc. priklausomybe nuo laiko (atpalaidavimo trukmės).

2.4.5. Plėvelių lipnumo tyrimas

Polimerinių plėvelių su dekspantenoliu lipnumui įvertinti naudojamas tekstūros analizatorius TA.XT plus (Stable Micro Systems Ltd, Godalming, Jungtinė Karalystė). Kompiuterinės įrangos pagalba pasirenkamas adhezijos tyrimas skirtas plėvelių lipnumui įvertinti. Sukuriamas naujas metodas ir nustatomi konkretūs tyrimo parametrai (4 lentelė). Iš pradžių prietaisas atlieka aukščio kalibraciją. Po to polimerinė plėvelė dedama ant specialaus pagrindo stalelio ir pritvirtinama (11 pav.). Eksperimentas pradedamas *Start* mygtuku, zondas pajuda iš pradinės padėties nustatytu 0,50 mm/s greičiu. Pasiekęs plėvelės paviršių ir įsirežęs į ją, zondas nekeičia savo pozicijos 10 sekundžių. Vienas svarbiausių parametru atlipimo greitis 0,50 mm/s, po kontakto matuojama jėga reikalinga atplėšti zondą nuo lipnios plėvelės paviršiaus. Kompiuteryje brėžiama kreivė ir smailė atitinka lipnumo (*angl. adhesiveness*) vertę, kuri matuojama niutonais.



11 pav. Lipnumo nustatymo schema tekstūros analizatoriumi [27]

4 lentelė. Lipnumo tyrimo metodo parametrai

Parametras	Vertė	Matavimo vienetai
Zondo greitis prieš kontaktą	0,50	mm/s
Zondo greitis atlipimo momentu	0,50	mm/s
Zondo grįžimo į pradinę poziciją greitis	0,50	mm/s
Pritaikyta jėga	0,500	N
Atstumas nuo pradinės zondo pozicijos iki mėginio	15,0	mm
Kontakto trukmė	10,00	sek.

2.4.6. Nd:YAG poveikis odai ir dekspantenolio skvarbos tyrimas *ex vivo*

Ex vivo tyrimams naudota baltaodžių moterų (25–40 metų amžiaus) oda, kuri gauta po plastinių operacijų, vykdytų Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Plastinės ir rekonstrukcinės chirurgijos klinikoje. Oda laikyta šaldiklyje (-20°C) ne ilgiau kaip šešis mėnesius prieš naudojimą. Skvarbos tyrimo dalį, kurioje išskirtinai buvo kontaktuota su biologine membrana, žmogaus oda, atliko dr. Modestas Žilius, kuris priklauso „Klinikinės farmacijos“ katedros tyrėjų grupei. Grupės nariai turi galiojantį Kauno regioninio biomedicininų tyrimų etikos komiteto leidimą (2016-07-14, Nr. BE-2-41). Atšildyta žmogaus oda vizualiai įvertinama dėl galimų pažeidimų, nukarpomi plaukeliai ir pašalinami poodinio sluoksnio riebalų likučiai. Oda sukarpoma į $\sim 1,77\text{ cm}^2$ dydžio pavyzdžius, konkretus plotas reikalingas, jog odos mėginiai tilptų į skvarbos tyrimui atlikti parinktas celes.

Paruošti odos mėginiai veikiami LSMU ligoninės Odos ir Venerinių ligų klinikoje esančiu Nd:YAG lazeriu su prof. dr. Skaidros Valiukevičienės pagalba. Parenkami keli Nd:YAG lazerio veikimo režimai (5 lentelė). Esant 3 mm spinduolio pločiui, tolygiai paveikiamas visas $1,77\text{ cm}^2$ odos mėginio paviršius. Su lazeriu paveiktais odos mėginiais toliau galima atlikti skvarbos tyrimą *ex vivo* ant jos aplikuojuojant polimerines plėveles su dekspantenoliu.

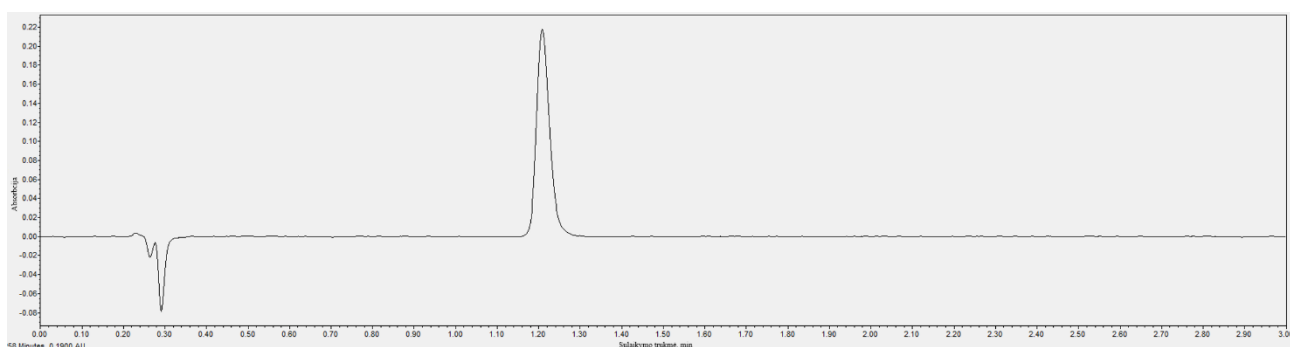
5 lentelė. Nd:YAG poveikio režimai

Režimas	Energija, J/cm ²	Impulso plotis, ms	Spinduolio plotis, mm
1	65	15	3
2	195	15	3

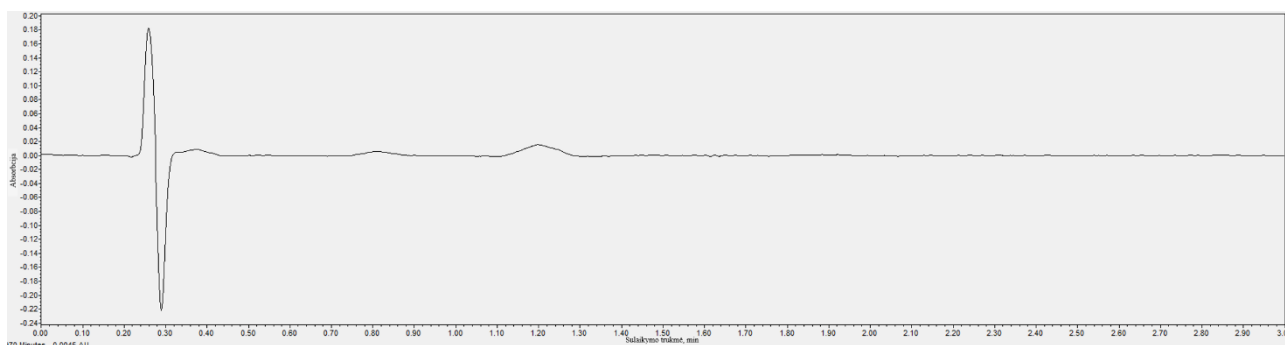
Dekspantenolio skvarbos į odą *ex vivo* tyrimai atlikti, naudojant *Bronaugh* tipo pratakias difuzines celes. Iš pradžių Nd:YAG lazeriu paveikti odos mėginiai talpinami į celes ir ant jų užnešama donorinės fazės begalinė dozė: 5 proc. dekspantenolio lipni polimerinė plėvelė. Celės su odos mėginiais ir vaisto dozuote dedamos ant specialaus termostatuojamo metalinio bloko, kuriame palaikoma 37°C temperatūra cirkuliuojančio vandens pagalba, naudojant termostatuojamą cirkuliacinę vandens vonelę Grant GD120 (Grant Instruments Ltd., Kembridžas, Didžioji Britanija). Efektyvus difuzijos plotas celėse lygus 0,64 cm². Akceptorinė terpė sudaryta iš 0,9 proc. natrio chlorido tirpalo ir papildomai pridėto 0,005 proc. konservanto – natrio azido. Akceptorinė fazė cirkuliuoja po oda 0,6 ml/min greičiu. Pastoviam greičio palaikymui naudojama įranga, kurią sudaro peristaltinis siurblys Masterflex® L/S® su daugiakanale siurblio galva (Cole-Parmer Instrument Co., Ilinojus, JAV). Paruošus visą sistemą pradedamas skvarbos į odą *ex vivo* tyrimas, kuris trunka 24 val. Po to donorinė fazė pincetu nuimama nuo žmogaus odos paviršiaus, jo nepažeidžiant, pastarasis nusausinamas. Epidermis atskiriamas nuo dermos, taikant „sausos karščio“ metodą: iškirpti odos gabalėliai (epidermio puse) 37 sekundėms priglaudžiami prie įkaitinto metalinio paviršiaus (~60°C) ir epidermis nuo dermos nulupamas pincetu. Atskirti žmogaus odos sluoksniai ekstrahuoti 30 min. 1 ml metanolio, naudojant Bandelin Sonorex Digitec ultragarso vonelę (DT 156, Bandelin electronic GmbH & Co. KG, Berlynas, Vokietija)^[5]. Po ultragarso procedūros, epidermis ir derma pašalinami iš mėginio, o supernatantas filtruojamas. Taip paruošiami metanoliniai tirpalai UPLC analizei atlikti [69].

Lazeriu paveiktų odos mėginių kiekybinė ir kokybinė analizė atlikta ultra efektyviosios skysčių chromatografijos metodu. Dekspantenolio kiekiui nustatyti naudota ACQUITY UPLC BEH C18 kolonėlė (matmenys: 2,1 × 50 mm), o stacionarios fazės dalelių dydis joje lygus 1,7 μm. Mobilioji fazė sudaryta iš 0,1 proc. trifluoracto rūgšties vandeninio tirpalo ir metanolio sistemos, parinktas izokratinis režimas. Analizės metu palaikoma pastovi 25 °C kolonėlės temperatūra ir 0,6 ml/min eliuento tėkmės greitis. Injekavimo tūris lygus 1 μl. Diodų matricos detektorius fiksuoja dekspantenolį UV spektro dalyje, kai bangos ilgis λ lygus 200 nm. Gaunamos chromatogramos, kurių smailės atitinka dekspantenolio vertėms μg/cm².

Metodas yra tinkamas kiekybiškai ir kokybiškai įvertinti polimerinėse plėvelėse ištirpintą dekspantenolį, kuris *ex vivo* tyrimo metu prasiskverbia į epidermį ir dermą. Dekspantenolio standarto chromatogramoje matoma smailė (12 pav.), kai sulaukymo trukmė apytiksliai lygi 1,21 min.

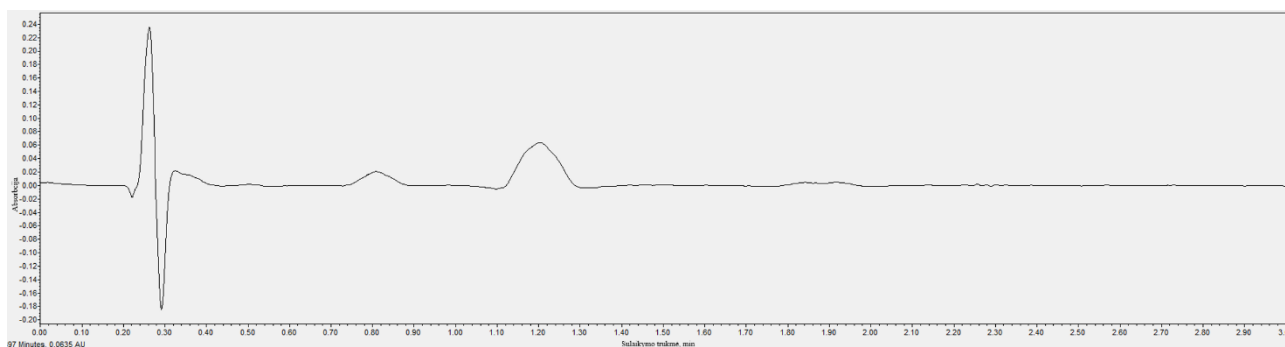
**12 pav.** Dekspantenolio standarto chromatograma

Dekspantenolio skvarbos į epidermį chromatogramoje (13 pav.) dekspantenolio smaile prie ~1,21 min nepersidengia su nežinomos analitės smaile prie 0,82 min, todėl galimas tikslus analitės vertinimas



13 pav. Į epidermį prasiskverbusio dekspantenolio chromatograma

Dekspantenolio skvarbos į dermą chromatogramoje (14 pav.) dekspantenolio smaile prie ~1,21min nepersidengia su nežinomos analitės smaile prie 0,82 min, todėl galimas tikslus analitės vertinimas



14 pav. Į dermą prasiskverbusio dekspantenolio chromatograma

3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

3.1. Eksperimentinių polimerinių plėvelių įvertinimas

Pradinis polimerinio tirpalo storis folijos lėkštelėje apytiksliai lygus 0,4 cm, kai lėkštelės diametras 4 cm. Atliekant tirpalo perkėlimą automatine pipete iš bendro mišinio į prieš tai pasvertas folijos lėkšteles stebimas momentinis kompozicijoje esančio organinio tirpiklio, acetono, garavimas. Tuo pačiu metu tirpalo klampa didėja ir kompozicijos storis atitinkamai mažėja, ima formuotis plėvelė. Po 24 h išgaravus tirpikliui gaunamos minimaliai kintančios masės polimerinės plėvelės tarpusavyje besiskiriančios mechaninėmis savybėmis priklausomai nuo plastifikatoriaus ATBC kiekio.

Remiantis mokslinės literatūros duomenimis pirmiausia buvo pasirinktos kelios kompozicijos, besiskiriančios E 100/ RL 100 polimero ir plastifikatoriaus (ATBC) santykiu. Kiekvienos kompozicijos seriją sudarė 5 pakartojimai. Plėvelės pagamintos iš E100 ir RL100 polimerų buvo vizualiai įvertintos. Kiekvienos serijos organoleptinis vertinimas pateiktas 6 lentelėje.

6 lentelė. Bandymo metu gautų skirtingų kompozicijų plėvelių savybės

Plėvelės nr.	Eudragit®	Eudragit® : ATBC		Organoleptinės savybės
1	E 100	1,0	0,0	Kieta, trapi, gelsva, skaidri, homogeniška, nelipni
2	E 100	1,0	0,5	Tvirta, plastiška, gelsva, skaidri, homogeniška, lipni
3	E 100	1,0	1,0	Tąsi, gelsva, skaidri, homogeniška, labai lipni
4	E 100	1,0	1,5	Tąsi, gelsva, skaidri, homogeniška, labai lipni
5	E 100	1,0	2,0	Tąsi, gelsva, skaidri, homogeniška, labai lipni
6	RL 100	1,0	0,0	Kieta, trapi, bespalvė, skaidri, homogeniška, nelipni
7	RL 100	1,0	0,5	Tvirta, plastiška, bespalvė, matinė, homogeniška, nelipni
8	RL 100	1,0	1,0	Tvirta, plastiška, bespalvė, matinė, homogeniška, lipni
9	RL 100	1,0	1,5	Bespalvė, matinė, nehomogeniška, nelipni
10	RL 100	1,0	2,0	Bespalvė, matinė, nehomogeniška, nelipni

Plėvelės 1 ir 6 savo sudėtyje neturinčios plastifikatoriaus (6 lentelė) pasižymi trapumu ir visiškai nelimpa. E 100 polimero atveju didinant ATBC kiekį plėvelės lipnumas didėja, ji pasidaro be galo tąsi, sunku tokią plėvelę atplėšti nuo folijos paviršiaus ir naudoti tolimesniems tyrimams. O RL 100 atveju viršijus 1:1,5 santykį ir toliau didinant ATBC kiekį stebima nehomogeniška struktūra, lėkštelės apačioje lieka išsisluoksniavęs ATBC, plėvelė nebelipni ir tepanti. Iš visų dešimties pagamintų plėvelių 2 ir 8 buvo pakankamai lipnios, plastiškos, homogeniškos ir tvirtos. Todėl remiantis šiais rezultatais susiaurinta polimerinių kompozicijų atranka. Tolimesniems tyrimams parinktos naujos kompozicijos, jų sudėtys pateiktos 7 lentelėje.

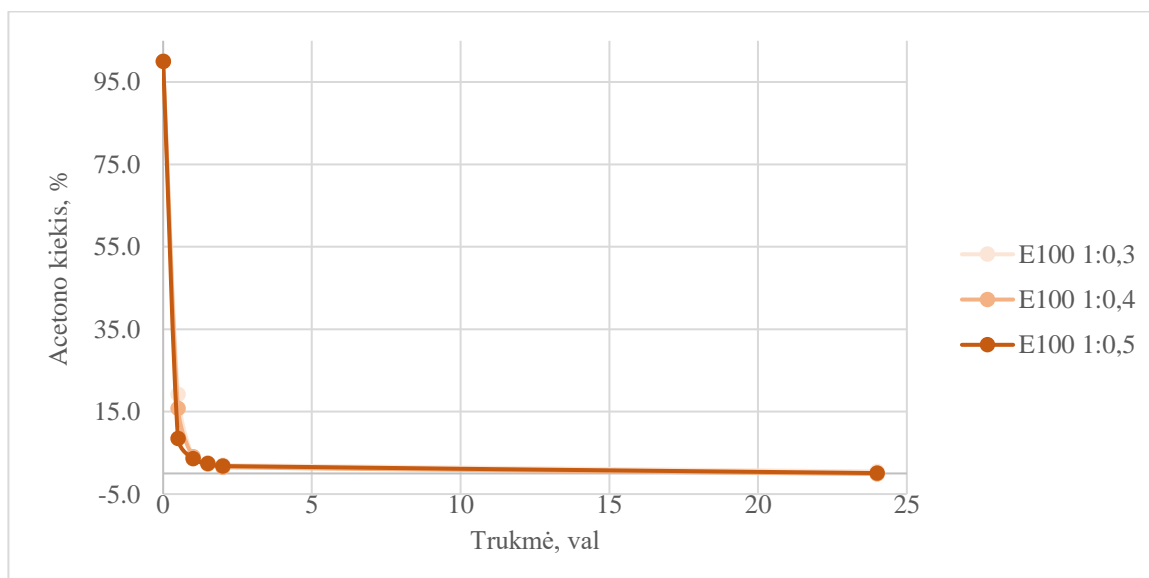
7 lentelė. Atrinktos kompozicijos atpalaidavimo tyrimams

Plėvelės nr.	Eudragit®	Eudragit® : ATBC	
1	E100	1	0,3
2	E100	1	0,4
3	E100	1	0,5
4	RL100	1	1,0
5	RL100	1	1,1
6	RL100	1	1,2

3.2. Tirpiklio garavimas iš kompozicijos formuojantis polimerinei plėvelei

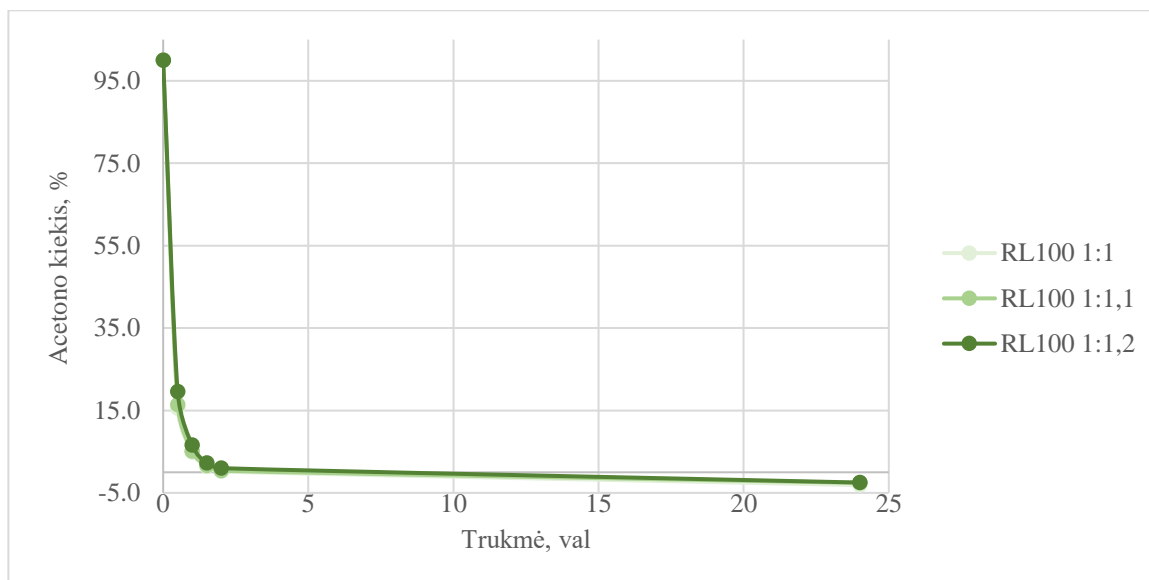
Acetonas priskiriamas ypač lakių organinių tirpiklių grupei, dėl silpnų tarpmolekulinių sąveikų ir aukšto garų slėgio jis linkęs garuoti ir kambario temperatūroje. Ypač jeigu laikomas nesandariai. Polimerinių plėvelių pagrindą sudarantys metakrilato tipo kopolimerai nėra linkę tirpti vandenyje. Tačiau puikiai tirpsta organiniuose tirpikliuose, tarp jų ir acetone, todėl nereikalinga aukštesnė temperatūra tirpiklio pašalinimui iš kompozicijos. Atliktas tirpiklio, acetono, nuostolių kinetikos nustatymas, fiksuojant masės sumažėjimą analitinėmis svarstyklėmis po 30, 60, 90, 120 min ir 24 h. Kiekvienos kompozicijos seriją sudarė 5 pakartojimai. Tiksliai pradinė polimerinio tirpalo masė neužfiksuota dėl staigaus tirpiklio garavimo.

Polimerinio E 100 tirpalo atveju jau per pirmąsias dvi valandas iš E100 kompozicijos išgaruoja apie 98,0 proc. acetono, kai polimero ir plastifikatoriaus santykis atitinkamai lygus 1:0,3; ~98,5 proc. acetono, kai polimero ir plastifikatoriaus santykis atitinkamai lygus 1:0,4 ir ~98,2 proc. acetono išgaruoja, kai polimero ir plastifikatoriaus santykis atitinkamai lygus 1:0:5. Po 24 valandų, E100 1:0,4 kompozicijoje stebimos neigiamos acetono kiekio vertės, džiovinant kambario temperatūroje (15 pav.). Daroma prielaida, jog acetonas maksimaliai pašalinama iš kompozicijos formuojantis polimerinei plėvelei.



15 pav. Tirpiklio pašalinimo iš E100 polimerinės kompozicijos kinetika

Formuojant RL100 kompozicijos plėveles pastebėta, jog po 2 valandų išgaruoja apie 99,8 proc. acetono, kai polimero ir plastifikatoriaus santykis atitinkamai lygus 1:1; ~ 99,6 proc. acetono, kai polimero ir plastifikatoriaus santykis atitinkamai lygus 1:1,1 ir ~ 99,0 proc. acetono, kai polimero ir plastifikatoriaus santykis atitinkamai lygus 1:1,2. Po 24 valandų, visose RL 100 kompozicijose stebimos neigiamos acetono kiekio vertės, džiovinant kambario temperatūroje (16 pav.). Taip pat daroma prielaida, jog acetonas maksimaliai pasišalina ir kompozicijos formuojantis RL 100 polimerinei plėvelei.



16 pav. Tirpiklio pasišalinimo iš RL100 polimerinės kompozicijos kinetika

Pastebėta, kad tirpiklio garavimo kinetikos profiliai nepriklauso nuo naudoto polimero tipo ir nuo plastifikatoriaus ATBC kiekio kompozicijoje.

Papildomai įvertinamas acetono likučio kiekis, paruoštas polimerines plėveles laikant 40°C temperatūroje 24 valandas. Fiksuojamas masės pokytis ir pastebėta, jog acetono likučio kiekis kinta nežymiai, laikant aukštesnėje nei kambario temperatūroje (8 lentelė).

8 lentelė. Acetono likučio pokytis polimerinėje plėvelėje po 24h 40 °C temperatūroje

Polimerinė kompozicija	Polimeras : ATBC	Acetono kiekio sumažėjimas, proc.
E 100	1 : 0,3	-0,10
E 100	1 : 0,4	-0,05
E 100	1 : 0,5	-0,08
RL 100	1 : 1,0	-0,13
RL 100	1 : 1,1	-0,10
RL 100	1 : 1,2	-0,15

Taip pat įvertinamas polimerinių plėvelių stabilumas 7 parų intervale (168 val.), laikant kambario temperatūroje. Fiksuojamas polimerinių plėvelių masės pokytis. Nustatytos masės prieaugis neviršija 0,5 proc. (9 lentelė).

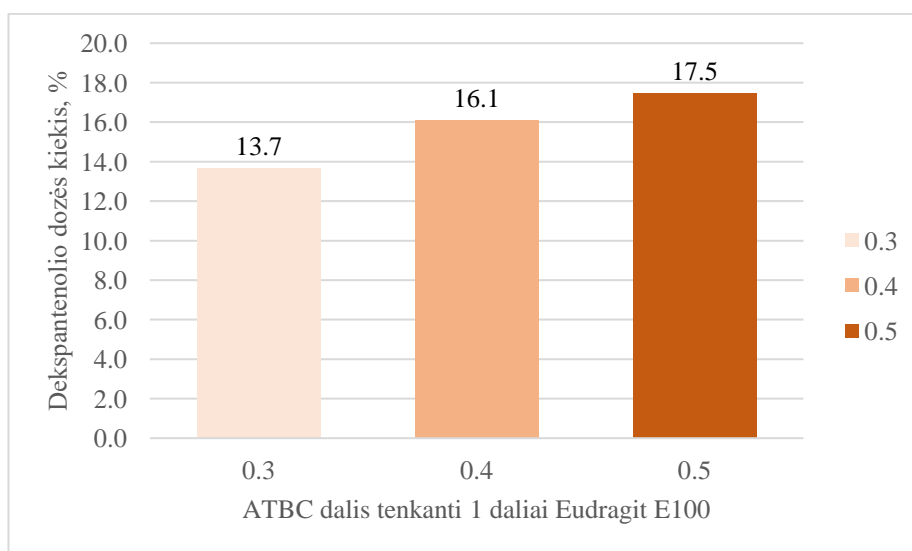
9 lentelė. Polimerinių plėvelių masės stabilumas

Polimerinė kompozicija	Polimeras : ATBC	Plėvelės masės pokytis, proc
E 100	1 : 0,3	+0,00
E 100	1 : 0,4	+0,04
E 100	1 : 0,5	+0,02
RL 100	1 : 1,0	+0,20
RL 100	1 : 1,1	+0,13
RL 100	1 : 1,2	+0,08

3.3. Dekspantenolio atpalaidavimas *in vitro*

Vaistinės medžiagos, dekspantenolio, atpalaidavimui į vandeninę terpę parinkta 32 °C temperatūra. Paprastai tokia yra žmogaus odos temperatūra, tačiau atpalaidavimo profilis galimai skirsis atliekant tyrimą farmacinei formai kontaktuojant su biologine membrana, labiau pasižyminčia lipofilinėmis savybėmis.

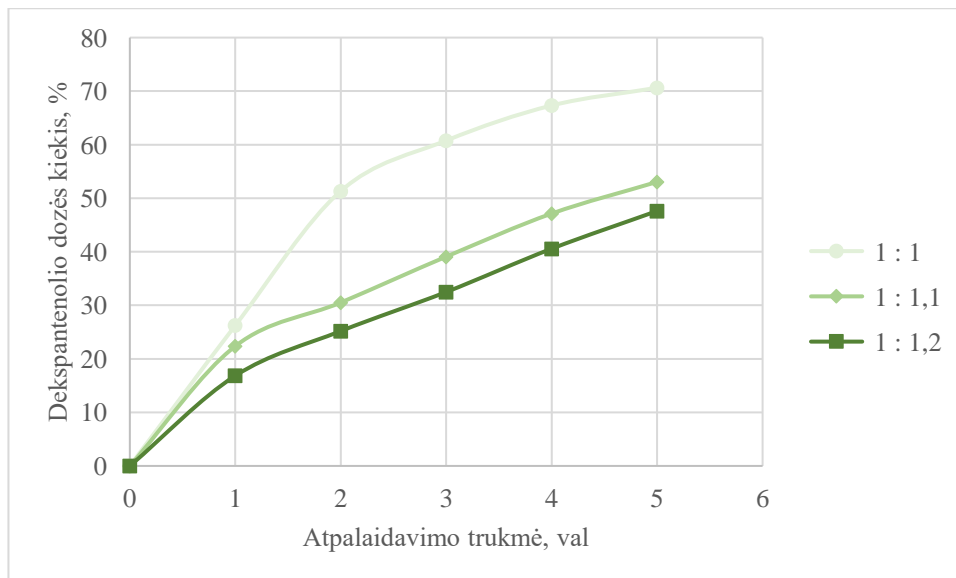
Atliktas dekspantenolio atpalaidavimo tyrimas ir užfiksuotos tiriamųjų mėginių absorbcijos vertės konvertuotos į atpalaiduoto dekspantenolio dozės kiekį procentais. E100 kompozicijos absorbcijos vertės po 1, 2, 3 valndų nepateko į kalibracinės kreivės ribas, todėl priklausomybės nuo laiko tyrimas su šia kompozicija neatliktas. Tyrimo metu užfiksuotos atpalaiduotos dozės vertės po 24 h (17 pav.). Kiekvienos kompozicijos seriją sudarė 5 pakartojimai.



17 pav. Dekspantenolio dozės kiekis atpalaiduotas iš Eudragit E100 polimerinės plėvelės į vandeninę terpę po 24 val., esant skirtingam ATBC kiekiui.

Nustatyta, jog didžiausia dekspantenolio dozės dalis, lygi 17,5 proc., atpalaiduojama į vandeninę akceptorinę terpę, kai E100 polimero ir plastifikatoriaus ATBC santykis atitinkamai lygus 1:0,5. Tuo tarpu mažiausia dekspantenolio dozės dalis, 13,7 proc., atpalaiduojama, kai santykis lygus 1:0,3.

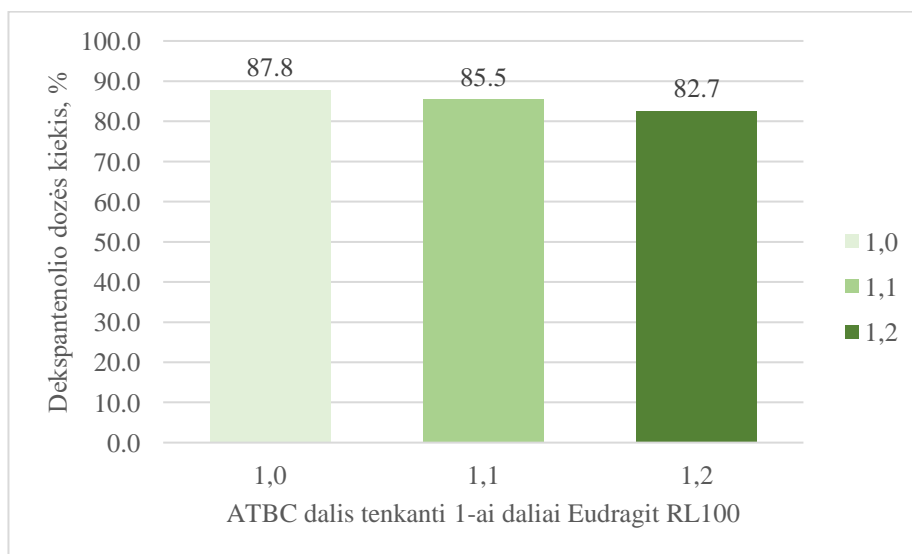
Analogiškai, ištyrus polimerinės plėvelės su RL100 polimeru atpalaidavimą, sudaryta kinetikos kreivė, kurioje pavaizduota atpalaiduotos dekspantenolio dozės kiekio priklausomybė nuo laiko (18 pav.). Kiekvienos kompozicijos seriją sudarė 5 pakartojimai.



18 pav. Dekspantenolio dozės kiekio priklausomybė nuo atpalaidavimo trukmės iš Eudragit RL100 polimerinės plėvelės į vandeninę terpę, kai polimero ir ATBC santykis lygus: (○) 1:1, (◇) 1:1,1 ir (□) 1:1,2.

Pastebėta, jog analogišku atpalaidavimo profiliu pasižymi 1:1,1 ir 1:1,2 kompozicijos. Iš šių polimerinių plėvelių ~ 50 proc. dekspantenolio dozės atpalaiduojama tik po 5 val. O kompozicija RL100 1:1 pusę dozės (apie 50 proc.) atpalaiduoja per pirmąsias 2 valandas.

Taip pat tyrimo metu užfiksuotos atpalaiduotos dozės vertės iš RL 100 polimerinių plėvelių po 24 h (19 pav.). Kiekvienos kompozicijos seriją sudarė 5 pakartojimai.



19 pav. Dekspantenolio dozės kiekis atpalaiduotas iš Eudragit RL 100 polimerinės plėvelės į vandeninę terpę po 24 val., esant skirtingam ATBC kiekiui.

Nustatyta, jog didžiausia dekspantenolio dozės dalis, lygi 87,8 proc., atpalaiduojama į vandeninę akseptorinę terpę, kai E100 polimero ir plastifikatoriaus ATBC santykis atitinkamai lygus 1:1. Tuo tarpu mažiausia dekspantenolio dozės dalis, 82,7 proc., atpalaiduojama, kai santykis atitinkamai lygus 1:1,2.

Lyginant atpalaiduotus dekspantenolio dozės kiekius iš polimerinių plėvelių, galima daryti prielaidą, jog RL 100 polimerinė plėvelė atpalaiduoja reikšmingai didesnę dekspantenolio kiekį. Tokie rezultatai gali būti grindžiami skirtingomis polimerų sudėtimis. RL 100 yra netirpus polimeras esant

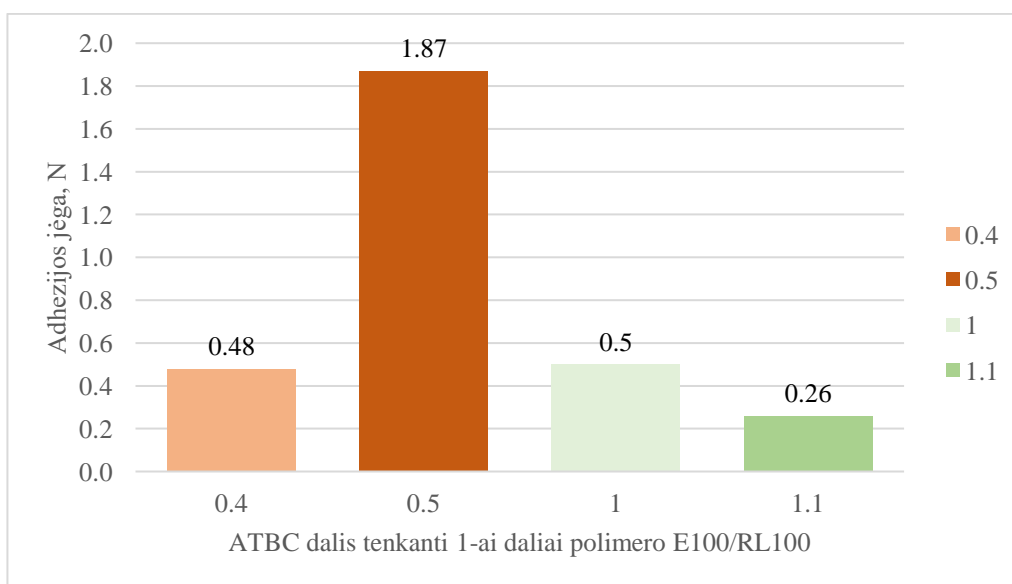
fiziologiniam pH, tačiau brinksta sudarydamas sąlygas vaistinei medžiagai migruoti iš polimerinės matricos. RL 100 savo struktūroje turi ketvirtines amonio grupes. Formuojant polimerines plėvelės šios grupės sudaro druskas, kurios kontaktuodamos su vandenine terpe leidžia vandens molekulėms prasiskverbti į polimerinę plėvelę. Taip lengviau atpalaiduojama polinė vaistinė medžiaga – dekspantenolis [68].

Tolimesniems lipnumo nustatymo tyrimams atrinktos E100 kompozicijos plėvelės, kaip polimero ir plastifikatoriaus ATBC santykis atitinkamai lygus 1:0,4 ir 1:0,5. Šios plėvelės atpalaidavo didesnę kiekį dekspantenolio, lyginant su kitomis E100 kompozicijomis. RL100 plėvelių atveju, atrinktos kompozicijos, kai polimero ir ATBC santykis atitinkamai lygus 1:1 ir 1:1,1.

3.4. Polimerinių plėvelių lipnumo nustatymas

Metakrilato polimerinės plėvelės, savo sudėtyje neturinčios plastifikatoriaus ATBC, yra visiškai nelipnios, o esant per dideliu ATBC kiekiui stebima nehomogeniška struktūra arba per didelis tūsumas.

Atliktas atrinktų E100 ir RL100 polimerinių plėvelių lipnumo įvertinimas, priklausomai nuo plastifikatoriaus ATBC kiekio kompozicijoje (20 pav.). Kiekvienos kompozicijos seriją sudarė 5 pakartojimai.



20 pav. Plėvelės lipnumas, esant skirtingam polimero ir ATBC santykiui: E100:ATBC - 1:0,4 ; 1:0,5 (oranžinė) ir RL100:ATBC – 1:1,0 ; 1:1,1 (žalia).

Pastebėta, jog didžiausiu lipnumu pasižymi E100 1:0,5 polimerinė plėvelė, jai atplėšti nuo zondo paviršiaus reikalinga 1,87 N jėga. Vertinant mažiau lipnias RL100 polimero kompozicijas, nustatyta, jog zondui atlipti nuo 1:1 plėvelės reikalinga 0,5 N jėga. Bendrai abiem polimerams nustatyta prasčiausiu lipnumu pasižyminti RL100 1:1,1 plėvelė, jai atlipti nuo zondo reikalinga 0,26 N energija. Remiantis lipnumo rezultatais atrinkta po vieną kiekvieno polimero kompoziciją galutiniam skvarbos tyrimui *ex vivo*. Pasirinktos E100 1:0,5 ir RL100 1:1 polimerinės plėvelės.

3.5. Dekspantenolio skvarbos tyrimas *ex vivo*, per Nd:YAG lazeriu paveiktą odą

Įvykdžius polimerinių plėvelių atranką, parinktos dvi kompozicijos atitinkančios fizikomechaninius reikalavimus ir pasižyminčios geriausiais dekspantenolio atpalaidavimo į vandeninę terpę profiliais.

Atliktas dekspantenolio skvarbos *ex vivo* tyrimas, paveikus odą dviem skirtingos energijos lazerio impulsais: 65 J/cm² ir 195 J/cm², dvi skirtingų polimerų kompozicijas: E100 1:0,5 ir RL100 1:1. Kiekvienos kompozicijos seriją sudarė 3 pakartojimai ir papildomai atliktas kontrolinis skvarbos tyrimas per nepažeistą odą, aplikuojuant E100 ir RL100 polimerines plėveles (10 lentelė).

10 lentelė. Dekspantenolio *ex vivo* skvarbos tyrimas

Kompozicija	Odos sluoksnis	Srautas per nepažeistą odą, µl/cm ²	Srautas per 65 J/cm ² paveiktą odą, µl/cm ²	Srautas per 195 J/cm ² paveiktą odą, µl/cm ²
E100 1:0,5	Epidermis	126,0	89,9	98,0
	Derma	94,0	58,9	47,2
RL100 1:1	Epidermis	284,6	100,6	98,3
	Derma	279,2	270,7	287,4

Nustatytas didesnis dekspantenolio srautas po 24 h epidermyje per nepažeistą odą abiejų dekspantenolio kompozicijų atveju nei per lazeriu paveiktą odą. E100 1:0,5 polimerinės plėvelės atveju srautas per nepažeistą odą į epidermį 1,6 ir 1,3 karto didesnis nei atitinkamai paveikus lazeriu 65 J/cm² ir 195 J/cm². O srautas per nepažeistą odą į dermą 1,6 ir 2,0 karto didesnis nei atitinkamai paveiktus lazeriu. RL100 1:1 atveju naudojant tą pačią srauto energiją pastebėta, jog srautas per nepažeistą odą į epidermį 2,8 ir 2,9 karto didesnis nei atitinkamai paveikus lazeriu 65 J/cm² ir 195 J/cm², o srautas į dermą panašus kaip ir per nepažeistą odą (10 lentelė).

Didesnis dekspantenolio srautas per nepažeistą odą teoririškai galėtų būti aiškinamas keliais pavyzdžiais. Atliekant gydymą Nd: YAG lazeriu, kaip vienas iš šalutinių poveikių – stebima laikina po uždegiminę hiper-pigmentacija, ypač pacientams su V ar VI odos foto tipais . Hiper-pigmentacija galimai atsiranda dėl melanino antsluoksniu susidarymo (nusėdimo) po procedūros. Susidaręs negyvų ląstelių antsluoksnis, galimai riboja hidrofilinių medžiagų skvarbą į gylesnius odos sluoksnius [70].

Literatūroje taip pat minima, jog atliekama hiper-terminės lazerinės lipolizės procedūra susideda iš poodinio riebalinio audinio šildymo, išoriškai veikiant odą konkrečiu lazerio sukeliama bangos ilgiu. Ilgesnį laiką kaitinami adipocitai pasiekia hiper-terminę temperatūrą (43–47 °C), kuri sukelia adipocitų ląstelių žūtį/apoptozę. *In vivo* temperatūros matavimai parodė, kad poodinį riebalinį audinį galima pašildyti iki hiper-terminės temperatūros naudojant 1 064 nm Nd:YAG lazerį kartu su papildomu paviršiaus aušinimu, siekiant išvengti sunkių šalutinių poveikių. Palaikant aukštesnę temperatūrą 25 minutes, histologiniai požymiai parodo pradinį uždegimą, maždaug po 2 savaičių prasideda makrofagų infiltracija, o maždaug po 6 mėnesių baigiasi negyvų nusėdusių ląstelių pašalinimas iš audinio. Adipocitų randama ir dermos sluoksnyje aplink plauko folikulus, jie svarbūs žaizdų gijimo procuose ir plaukų atsinaujinimo cikle. Būtent adipocitai daugiausia sudaryti iš lipidų, lipofilinės matricos. Kurie galimai trukdytų hidrofilinio vaisto, dekspantenolio, skvarbai per odos sluoksnius [71].

Vykdam histologinius tyrimus lyginama nepažeista oda ir Nd:YAG lazeriu paveikta oda. Odos mėginiuose išryškėję epidermio, dermos ir odoje esančių papildomų struktūrų sluoksniai, kurie lyginami su lazeriu paveiktos odos sluoksnių pokyčiais. Būtent kontroliniuose mėginiuose nematomi

jokie terminiai sužalojimai ant odos paviršiaus. Lazerio sukelti pokyčiai odoje priklauso nuo parinkto spindulio pločio ir srauto. Esant mažesniai spindulio pločiui stebimos tik nedidelės skaidulų deformacijos, o rimtų audinių pažeidimų nėra. Kai spindulio skersmuo didesnis, dermos sluoksniuose susidaro daugiau pluoštinių audinių. Visų pirma, 1064 nm lazeris sukelia fibroblastų aktyvumo ir kolageno reformacijos stimuliavimą. Didžiausio galimo Nd:YAG lazerio spindulio pločio atveju padaryti kliniškai reikšmingi pokyčiai epidermyje ir dermoje, būtent dermos temperatūrai pakylus $> 70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Paprastai gali būti sukelta epidermolizė ir kornifikacija, kartu su bazinių sluoksnių suirimu ir epidermio nekroze. Padidinus spindulio diametrą stebimi ryškesni histologiniai pokyčiai dermoje dėl temperatūros poveikio didesniai plotui. O epidermio pokyčiams didesnę įtaką daro srauto stipris. Būtent kolageno reformacijos metu susidariusios sankaupos gali slopinti vaistinės medžiagos, dekspantenolio, srautą į dermą, kadangi kolagenas yra daugiausia hidrofobinė molekulė, atstumianti vandenį. Be to, odos temperatūrai, esant 60–70 $^{\circ}\text{C}$ intervale, gali sutvirtėti oda, todėl ženkliai didindama barjerinę funkciją nepalanki hidrofilišioms medžiagoms [32].

Prieš tai minėtas Nd:YAG lazerio sukeltas kornifikacijos procesas apibūdinamas kaip keratinocitų diferenciacija, vykstanti viršutiniame odos sluoksnyje. Tai lėtas, koordinuotas procesas, leidžiantis susiformuoti negyvų ląstelių (korneocitų) sluoksniui, taip sukuriama fizinis odos barjeras. Todėl galimai trikdoma įprastinė hidrofilišnių molekulių skvarbai į oda [72].

3.6. Rezultatų apibendrinimas ir diskusija

Būtina pastebėti, jog tyrimo objektas, eksperimentinės polimerinės plėvelės, nėra įvardijamos, kaip galutinis produktas skirtas vartoti pacientams dermatologiniais tikslais, o įvardijamos kaip prototipas.

Darbo metu suformuluotos ir pagamintos E100 polimerinės plėvelės pasižymi prastu hidrofilišios veikliosios medžiagos, dekspantenolio, atpalaidavimu į vandeninę terpę. Tačiau pasižymi 5 kartus geresniu lipnumu už RL100 polimerines plėveles. Galbūt šis polimeras labiau tiktų atlikti tyrimams disperguojant lipofilinę veikliąją medžiagą ir analizuot jos atpalaidavimą. Atvirkščiai, polimerinės RL100 plėvelės prastai limpa, tačiau demonstruoja ilgalaikio atpalaidavimo profilį per 24 h. Lipnumo įvertinimas galėtų būti tikslinamas, eksperimentą atliekant su odos mėginiu ar jos sintetiniu analogu. Ilgalaikio atpalaidavimo profilis abiejų polimerinių plėvelių atveju galėtų būti gerinamas, sluoksniuojant metakrilato kopolimerus. Vienų jų parenkant kaip rezervuarą, o kitą kaip, labiau tinkamą kontaktuoti su odos paviršiumi ir atpalaiduoti vaistinę medžiagą.

Norint tinkamai įvertinti dekspantenolio skvarbą per lazeriu paveiktą odą *ex vivo*, reikėtų išplėsti tyrimų imtį susijusią su polimerinės plėvelės gebėjimu atpalaiduoti hidrofilišią veikliąją medžiagą, neapsiribojant dekspantenoliu. Lygiagrečiai galėtų būti atliekami skvarbos tyrimai su kremais, kurių didžiąją dalį sudaro vanduo ir tepalais, kuriuose vandens kiekis paprastai būna iki 10 proc. Ir skvarbos rezultatai lyginami su dekspantenolio polimerinėmis plėvelėmis.

Išvados

1. Norint gauti lipnias, plastiškas bei tvirtas plėvelės iš metakrilato kopolimero tirpalą būtina pridėti šias savybes gerinančią plastifikatorių ATBC, kitu atveju plėvelės pasižymi trapumu ir stikliška būsena. Norimoms plėvelių savybėms išgauti iš E100 polimero tirpalą reikia pridėti sąlyginai mažesnę plastifikatoriaus kiekį nei iš RL100 polimerinį tirpalą.
2. Polimerinė plėvelė formuojasi garuojant lakiam tirpikliui, acetoniui. Pastebėta, jog tirpiklio garavimo kinetika nepriklauso nuo polimero ir plastifikatoriaus santykio kompozicijoje. Per pirmąsias 2 h E100 polimerinio tirpalo atveju išgaruoja 98-98,5 proc. acetono, o RL100 atveju 99-99,8 proc. tirpiklio. Gauti rezultatai leidžia teigti, jog acetonas po 24 h, 22-24 °C temp. maksimaliai pašalinama ir kompozicijos formuojantis polimerinei plėvelei. Pastebėta, jog iš aplinkos plėvelės nėra linkusios absorbuoti drėgmę ar pačios išskirti lakius junginius iš kompozicijos į aplinką.
3. E100 polimerinė plėvelė su 5 proc. dekspantenolio iš vandeninę terpę atpalaiduoja vidutiniškai 5,5 karto mažesnę kiekį dekspantenolio nei RL100 polimerinė plėvelė, tokį rezultatą lemia RL100 polimere esanti ketvirtinė amonio grupė. RL100 polimerinė plėvelė, kai polimero ir plastifikatoriaus santykis atitinkamai lygus 1:1, pusę įkrautos dozės atpalaiduoja per pirmąsias 2 val. Esant didesniai ATBC kiekiui kompozicijoje analogiškas vaistinės medžiagos kiekis atpalaiduojamas tik po ~5 h.
4. Tyrimų rezultatai nurodo, kad E100 polimero pagrindu suformuluotos plėvelės lipnumą stipriai lemia plastifikatoriaus ATBC kiekis. Kai polimero ir plastifikatoriaus santykis atitinkamai lygus 1:0,5, nustatytas plėvelės lipnumas 3,9 karto didesnis nei 1:0,4 polimerinės plėvelės. RL100 polimero pagrindu suformuluotos plėvelės lipnumas taip pat priklauso nuo plastifikatoriaus ATBC kiekio. Kai polimero ir plastifikatoriaus santykis atitinkamai lygus 1:1, nustatytas plėvelės lipnumas 1,9 karto didesnis nei 1:1,1 polimerinės plėvelės.
5. Poveikis Nd:YAG lazeriu keičia dekspantenolio pasiskirstymą odoje dėl pakitusios odos morfologijos, kai fototermolizės procesas sukelia temperatūrinius pokyčius odoje. Pakitusios epidermio ir dermos struktūrinės dalys: kolagenas, fibroblastai ir keratinocitai, trukdo dekspantenoliui skverbtis į odą.

Literatūros sąrašas

1. KAYA, T.I. - GUVENC, U. Long pulse 1,064-nm neodymium-doped yttrium aluminum garnet laser in aesthetic dermatology. In *Dermatologic Therapy* . 2019. Vol. 32, no. 3, p. e12907.
2. PAVLAČKOVÁ, J. ir kt. In vivo efficacy and properties of semisolid formulations containing panthenol. In *Journal of Cosmetic Dermatology* . 2019. Vol. 18, no. 1, p. 346–354.
3. EBNER, F. ir kt. Topical use of dexpanthenol in skin disorders. In *American Journal of Clinical Dermatology* . 2002. Vol. 3, no. 6, p. 427–433.
4. NESSEEM, D.I. ir kt. Development of novel transdermal self-adhesive films for tenoxicam, an anti-inflammatory drug. In *Life Sciences* . 2011. Vol. 89, no. 13, p. 430–438.
5. AKTAR, B. ir kt. Optimization of Biopolymer Based Transdermal Films of Metoclopramide as an Alternative Delivery Approach. In *Polymers [interaktyvus]*. 2014. Vol. 6, no. 5. [žiūrėta 2021-06-02]. . Prieiga per internetą: <<https://www.readcube.com/articles/10.3390%2Fpolym6051350>>.
6. TANNER, T. - MARKS, R. Delivering drugs by the transdermal route: review and comment. In *Skin Research and Technology* . 2008. Vol. 14, no. 3, p. 249–260.
7. KARKI, S. ir kt. Thin films as an emerging platform for drug delivery. In *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences* . 2016. Vol. 11, no. 5, p. 559–574.
8. GUO, R. ir kt. Bioadhesive film formed from a novel organic-inorganic hybrid gel for transdermal drug delivery system. In *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics: Official Journal of Arbeitsgemeinschaft Fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V* . 2011. Vol. 79, no. 3, p. 574–583.
9. HUMBERT, P. ir kt. *Sud. Agache's Measuring the Skin: Non-invasive Investigations, Physiology, Normal Constants [interaktyvus]*. . 2. Ed. [s.l.]: Springer International Publishing, 2017. ISBN 978-3-319-32381-7.
10. BARONI, A. ir kt. Structure and function of the epidermis related to barrier properties. In *Clinics in Dermatology* . 2012. Vol. 30, no. 3, p. 257–262.
11. MENON, G.K. ir kt. The structure and function of the stratum corneum. In *International Journal of Pharmaceutics* . 2012. Vol. 435, no. 1, p. 3–9.
12. SOMANI, R. - WAGHMARE, R. Application of Transdermal Drug Delivery System in Major Depressive Disorders. In . Vol. 16, p. 15.
13. RUELA, A.L.M. ir kt. Evaluation of skin absorption of drugs from topical and transdermal formulations. In *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* . 2016. Vol. 52, p. 527–544.
14. SELZER, D. ir kt. Finite and infinite dosing: Difficulties in measurements, evaluations and predictions. In *Advanced Drug Delivery Reviews* . 2013. Vol. 65, no. 2, p. 278–294.
15. KALIA, Y.N. - GUY, R.H. Modeling transdermal drug release. In *Advanced Drug Delivery Reviews* . 2001. Vol. 48, no. 2–3, p. 159–172.
16. PATHAN, I.B. - SETTY, C.M. Chemical Penetration Enhancers for Transdermal Drug Delivery Systems. In *Tropical Journal of Pharmaceutical Research [interaktyvus]*. 2009. Vol. 8, no. 2. [žiūrėta 2021-06-02]. . Prieiga per internetą: <<https://www.ajol.info/index.php/tjpr/article/view/44527>>.
17. ALEXANDER, A. ir kt. Approaches for breaking the barriers of drug permeation through transdermal drug delivery. In *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society* . 2012. Vol. 164, no. 1, p. 26–40.

18. SUBEDI, R.K. ir kt. Recent advances in transdermal drug delivery. In *Archives of Pharmacal Research* . 2010. Vol. 33, no. 3, p. 339–351.
19. HAEDERSDAL, M. ir kt. Fractional CO(2) laser-assisted drug delivery. In *Lasers in Surgery and Medicine* . 2010. Vol. 42, no. 2, p. 113–122.
20. LEE, W.-R. ir kt. Laser-assisted topical drug delivery by using a low-fluence fractional laser: imiquimod and macromolecules. In *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society* . 2011. Vol. 153, no. 3, p. 240–248.
21. LEE, W.-R. ir kt. Impact of different vehicles for laser-assisted drug permeation via skin: full-surface versus fractional ablation. In *Pharmaceutical Research* . 2014. Vol. 31, no. 2, p. 382–393.
22. Current Laser Resurfacing Technologies: A Review that Delves Beneath the Surface. - Abstract - Europe PMC. In [interaktyvus]. [žiūrėta 2021-06-02]. Prieiga per internetą: <<https://europepmc.org/article/pmc/3580982>>.
23. Lasers in skin resurfacing - Dover - 2000 - Australasian Journal of Dermatology - Wiley Online Library. In [interaktyvus]. [žiūrėta 2021-06-02]. Prieiga per internetą: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1440-0960.2000.00399.x>>.
24. LEE, W.-R. ir kt. Topical delivery of methotrexate via skin pretreated with physical enhancement techniques: low-fluence erbium:YAG laser and electroporation. In *Lasers in Surgery and Medicine* . 2008. Vol. 40, no. 7, p. 468–476.
25. CHEN, X. ir kt. Facilitation of transcutaneous drug delivery and vaccine immunization by a safe laser technology. In *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society* . 2012. Vol. 159, no. 1, p. 43–51.
26. HAAK, C.S. ir kt. The impact of treatment density and molecular weight for fractional laser-assisted drug delivery. In *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society* . 2012. Vol. 163, no. 3, p. 335–341.
27. LEE, W.-R. ir kt. Fractional laser as a tool to enhance the skin permeation of 5-aminolevulinic acid with minimal skin disruption: a comparison with conventional erbium:YAG laser. In *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society* . 2010. Vol. 145, no. 2, p. 124–133.
28. METCALF, S. ir kt. Imiquimod as an antiaging agent. In *Journal of the American Academy of Dermatology* . 2007. Vol. 56, no. 3, p. 422–425.
29. MUSIOL, R. ir kt. Prodrugs in photodynamic anticancer therapy. In *Current Pharmaceutical Design* . 2011. Vol. 17, no. 32, p. 3548–3559.
30. [Interaktyvus]. . [žiūrėta 2021-06-02]. Prieiga per internetą: <https://www.gethairless.com/wp-content/uploads/2017/09/Xeo_OperatorManual.pdf>.
31. OKTEM, A. - KOCYIGIT, P. Comparison of effectiveness of 1,064-nm Nd:YAG laser and Nd:YAG laser–IPL combination treatments in hand skin rejuvenation. In *Journal of Cosmetic and Laser Therapy* . 2016. Vol. 18, no. 5, p. 270–274.
32. LEE, J.H. ir kt. Comparison of Epidermal/Dermal Damage Between the Long-Pulsed 1064 nm Nd:YAG and 755 nm Alexandrite Lasers Under Relatively High Fluence Conditions: Quantitative and Histological Assessments. In *Photomedicine and Laser Surgery* . 2014. Vol. 32, no. 7, p. 386–393.
33. SOTOODIAN, B. - MAIBACH, H.I. Noninvasive test methods for epidermal barrier function. In *Clinics in Dermatology* . 2012. Vol. 30, no. 3, p. 301–310.
34. MACHADO, M. ir kt. The relationship between transepidermal water loss and skin permeability. In *International Journal of Pharmaceutics* . 2010. Vol. 384, no. 1–2, p. 73–77.

35. ENGELKE, L. ir kt. Application of water-soluble polyvinyl alcohol-based film patches on laser microporated skin facilitates intradermal macromolecule and nanoparticle delivery. In *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics: Official Journal of Arbeitsgemeinschaft Fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V* . 2018. Vol. 128, p. 119–130.
36. WENANDE, E. ir kt. Laser-assisted delivery of synergistic combination chemotherapy in in vivo skin. In *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society* . 2018. Vol. 275, p. 242–253.
37. HENDEL, K. ir kt. Fractional laser-assisted topical delivery of bleomycin quantified by LC-MS and visualized by MALDI mass spectrometry imaging. In *Drug Delivery* . 2019. Vol. 26, p. 244–251.
38. ONI, G. ir kt. Can fractional lasers enhance transdermal absorption of topical lidocaine in an in vivo animal model? In *Lasers in Surgery and Medicine* . 2012. Vol. 44, no. 2, p. 168–174.
39. MAHBOUBI, A. ir kt. Development and Validation of A Fast, Simple And Specific Stability Indicating RP-HPLC Method for Determination of Dexpanthenol in Eye Gel Formulation. In *Iranian Journal of Pharmaceutical Research : IJPR* . 2019. Vol. 18, no. 2, p. 670–676.
40. KULIKOV, A.U. - ZINCHENKO, A.A. Development and validation of reversed phase high performance liquid chromatography method for determination of dexpanthenol in pharmaceutical formulations. In *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* . 2007. Vol. 43, no. 3, p. 983–988.
41. KELLY, G.S. Pantothenic acid. Monograph. In *Alternative Medicine Review: A Journal of Clinical Therapeutic* . 2011. Vol. 16, no. 3, p. 263–274.
42. LODÉN, M. - WESSMAN, W. The influence of a cream containing 20% glycerin and its vehicle on skin barrier properties. In *International Journal of Cosmetic Science* . 2001. Vol. 23, no. 2, p. 115–119.
43. ABIKO, Y. ir kt. Enzymatic conversion of pantothenylalcohol to pantothenic acid. In *The Journal of Vitaminology* . 1969. Vol. 15, no. 1, p. 59–69.
44. DANBY, S.G. Biological Variation in Skin Barrier Function: From A (Atopic Dermatitis) to X (Xerosis). In *Current Problems in Dermatology* . 2016. Vol. 49, p. 47–60.
45. LODÉN, M. Treatments Improving Skin Barrier Function. In *Current Problems in Dermatology* . 2016. Vol. 49, p. 112–122.
46. BJÖRKLUND, S. ir kt. The effects of polar excipients transcutol and dexpanthenol on molecular mobility, permeability, and electrical impedance of the skin barrier. In *Journal of Colloid and Interface Science* . 2016. Vol. 479, p. 207–220.
47. GIMÉNEZ-ARNAU, A. Standards for the Protection of Skin Barrier Function. In *Current Problems in Dermatology* . 2016. Vol. 49, p. 123–134.
48. OGUZ, A. ir kt. Topical N-Acetylcysteine Improves Wound Healing Comparable to Dexpanthenol: An Experimental Study. In *International Surgery* . 2015. Vol. 100, no. 4, p. 656–661.
49. OBRIGKEIT, D.H. ir kt. Xenobiotics in vitro: the influence of L-cystine, pantothenat, and mliacin on metabolic and proliferative capacity of keratinocytes. In *Cutaneous and Ocular Toxicology* . 2006. Vol. 25, no. 1, p. 13–22.
50. TANZI, E.L. ir kt. Lasers in dermatology: four decades of progress. In *Journal of the American Academy of Dermatology* . 2003. Vol. 49, no. 1, p. 1–31; quiz 31–34.

51. NANNI, C.A. - ALSTER, T.S. Complications of cutaneous laser surgery. A review. In *Dermatologic Surgery: Official Publication for American Society for Dermatologic Surgery* [et Al.] . 1998. Vol. 24, no. 2, p. 209–219.
52. WILLEY, A. ir kt. Complications of laser dermatologic surgery. In *Lasers in Surgery and Medicine* . 2006. Vol. 38, no. 1, p. 1–15.
53. ALSTER, T. - TANZI, E. Laser Skin Resurfacing: Ablative and Non-ablative. In . 2005. p. 611–624. ISBN 978-0-323-02752-6.
54. ALSTER, T. - TANZI, E. Complications in Laser and Light Surgery. In . 2008.
55. GRABER, E.M. ir kt. Side effects and complications of fractional laser photothermolysis: experience with 961 treatments. In *Dermatologic Surgery: Official Publication for American Society for Dermatologic Surgery* [et Al.] . 2008. Vol. 34, no. 3, p. 301–305; discussion 305–307.
56. ALSTER, T.S. - WANITPHAKDEEDECHA, R. Improvement of postfractional laser erythema with light-emitting diode photomodulation. In *Dermatologic Surgery: Official Publication for American Society for Dermatologic Surgery* [et Al.] . 2009. Vol. 35, no. 5, p. 813–815.
57. METELITSA, A.I. - ALSTER, T.S. Fractionated laser skin resurfacing treatment complications: a review. In *Dermatologic Surgery: Official Publication for American Society for Dermatologic Surgery* [et Al.] . 2010. Vol. 36, no. 3, p. 299–306.
58. CHAN, H.H.L. ir kt. The prevalence and risk factors of post-inflammatory hyperpigmentation after fractional resurfacing in Asians. In *Lasers in Surgery and Medicine* . 2007. Vol. 39, no. 5, p. 381–385.
59. RAHMAN, Z. ir kt. Fractional Laser treatment for pigmentation and texture improvement. In *Skin Therapy Letter* . 2006. Vol. 11, no. 9, p. 7–11.
60. IZIKSON, L. - ANDERSON, R.R. Resolution of blue minocycline pigmentation of the face after fractional photothermolysis. In *Lasers in Surgery and Medicine* . 2008. Vol. 40, no. 6, p. 399–401.
61. ALSTER, T.S. - TANZI, E.L. Hypertrophic scars and keloids: etiology and management. In *American Journal of Clinical Dermatology* . 2003. Vol. 4, no. 4, p. 235–243.
62. RUSSO, E. ir kt. A focus on mucoadhesive polymers and their application in buccal dosage forms. In *Journal of Drug Delivery Science and Technology* . 2016. Vol. 32, p. 113–125.
63. PATEL, V.F. ir kt. Advances in oral transmucosal drug delivery. In *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society* . 2011. Vol. 153, no. 2, p. 106–116.
64. BORGES, A.F. ir kt. Oral films: Current status and future perspectives: I - Galenical development and quality attributes. In *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society* . 2015. Vol. 206, p. 1–19.
65. MALI, A. ir kt. An updated review on transdermal drug delivery systems. In *International Journal of Advances in Scientific Research* . 2015. Vol. 1, p. 244.
66. ZURDO SCHROEDER, I. ir kt. Delivery of ethinylestradiol from film forming polymeric solutions across human epidermis in vitro and in vivo in pigs. In *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society* . 2007. Vol. 118, no. 2, p. 196–203.
67. Evonik onCare | Technical solutions on demand. In [interaktyvus]. [žiūrėta 2021-06-02].
Priega per internetą:
<<https://idp.evonik.com/nidp/saml2/sso?id=1189&sid=0&option=credential&sid=0>>.

68. [Interaktyvus]. [žiūrėta 2021-06-02]. Prieiga per internetą: <https://oncare.evonik.com/media/?file=875_evonik_specification_and_test_methods_eudragit_rl_100_rl_po_rs_100_rs_po.pdf>.
69. ŽILIUS, M. DERMATOLOGINIŲ PUSKIEČIŲ FORMŲ SU PROPOLIO PRODUKTAIS MODELIAVIMAS, OPTIMIZAVIMAS IR BIOFARMACINIS VERTINIMAS. In . p. 106.
70. MODENA, D.A.O. ir kt. Efficacy and safety of ND:YAG 1064 nm lasers for photoepilation: a systematic review. In *Lasers in Medical Science* . 2020. Vol. 35, no. 4, p. 797–806.
71. Numerical Study of Hyper-Thermic Laser Lipolysis With 1,064 nm Nd:YAG Laser in Human Subjects - Milanic - 2019 - *Lasers in Surgery and Medicine* - Wiley Online Library. In [interaktyvus]. [žiūrėta 2021-06-02]. Prieiga per internetą: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/lsm.23124>>.
72. CANDI, E. ir kt. Cornification of the Skin: A Non-apoptotic Cell Death Mechanism. In *eLS* [interaktyvus]. [s.l.]: American Cancer Society, 2016. p. 1–10. [žiūrėta 2021-06-02]. ISBN 978-0-470-01590-2 Prieiga per internetą: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9780470015902.a0021583.pub2>>.