



Kauno technologijos universitetas
Cheminės technologijos fakultetas



Lietuvos sveikatos mokslų universitetas
Farmacijos fakultetas

Pagalbinių medžiagų įtakos mikroemulsijų modeliavimui ir kokybei vertinimas

Baigiamasis magistro projektas

Ieva Bagdanavičiūtė

Projekto autorė

Lekt. dr. Vaida Kurapkienė

Vadovė

Kaunas, 2021



Kauno technologijos universitetas
Cheminės technologijos fakultetas



Lietuvos sveikatos mokslų universitetas
Farmacijos fakultetas

Pagalbinių medžiagų įtakos mikroemulsijų modeliavimui ir kokybei vertinimas

Baigiamasis magistro projektas
Medicininė chemija (6281CX001)

Ieva Bagdanavičiūtė

Projekto autorė

Lekt. dr. Vaida Kurapkienė

Vadovė

Lekt. dr. Modestas Žilius

Recenzentas

Kaunas, 2021



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Lietuvos sveikatos mokslų fakultetas

Farmacijos fakultetas

Ieva Bagdanavičiūtė

Pagalbinių medžiagų įtakos mikroemulsijų modeliavimui ir kokybei vertinimas

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad:

1. baigiamąjį projektą parengiau savarankiškai ir sąžiningai, nepažeisdama kitų asmenų autorius 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.

Ieva Bagdanavičiūtė

Patvirtinta elektroniniu būdu

Bagdanavičiūtė, Ieva. Pagalbinių medžiagų įtakos mikroemulsijų modeliavimui ir kokybei vertinimas. Baigiamasis magistro projektas / vadovė Lekt. dr. Vaida Kurapkienė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas; Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Farmacijos fakultetas.

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

Reikšminiai žodžiai: surfaktantas, kosurfaktantas, lipofilinė fazė, mikroemulsijų kokybės parametrai, resveratrolis.

Kaunas, 2021. 54 p.

Santrauka

Kuriant farmacinius preparatus dažnai dėmesys skiriamas jau sumodeliuotos farmacinės formos kokybės vertinimui. Sumodeliuotos mikroemulsijų sistemos neatitinkančios kokybės reikalavimų gali daryti įtaką veikliosios medžiagos stabilumui, tirpumui ir jos atpalaidavimui iš farmacinės formos. Siekiant sumodeliuoti kokybės reikalavimus atitinkančias mikroemulsijas, svarbu parinkti tinkamas pagalbines medžiagas ir vertinti atskirų pagalbinių medžiagų įtaką mikroemulsinėms sistemoms. Atsižvelgiant į tokio tyrimo poreikį, tyrimo objektu pasirinktos sumodeliuotos mikroemulsijos su skirtingomis pagalbėmis medžiagomis ir mikroemulsijos su resveratroliu. Šio tiriamojo darbo rezultatai parodė, jog didesnis sumodeliuotų mikroemulsijų plotas pseudo-trinarėse fazių diagramose formuojamas su kosurfaktantu poligliceril-6-izostearatu, o ne kosurfaktantu etanoliu. Pagamintos mikroemulsijos su sintetiniais aliejais suformavo didesnę plotą pseudo-trinarėse fazių diagramose nei mikroemulsijos su augaliniais aliejais. Mikroemulsijų su kosurfaktantu poligliceril-6-izostearatu vidutinis dalelių dydis buvo nuo 57,61 iki 107,3 nm, polidispersiškumo indeksas nuo 0,330 iki 0,519, dinaminė klampa nuo 41,4 iki 83,4 mPa·s, pH vyravo nuo 7,16 iki 7,33, elektrinis laidis – nuo 58 iki 145 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Mikroemulsijų su kosurfaktantu etanoliu vidutinis dalelių dydis buvo nuo 28,06 iki 73,58 nm, polidispersiškumo laipsnis nuo 0,280 iki 0,647, dinaminė klampa nuo 4,5 iki 25,7 mPa·s, pH svyravo nuo 5,44 iki 5,85, elektrinis laidis – nuo 6,6 iki 10 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Įterpus į mikroemulsijas resveratrolį, vidutinis dalelių dydis padidėjo 0,3–110 proc. Resveratrolio įterpimas turėjo įtakos mikroemulsijų dinaminės klamos ir elektrinio laidžio reikšmių sumažėjimui ($p < 0,05$). Resveratrolio atpalaidavimo iš mikroemulsijų *in vitro* tyrimo metu nustatyta, kad, nepriklausomai nuo aliejinės fazės ir pasirinkto kosurfaktanto, didžiausias atpalaiduotas resveratrolio kiekis buvo surfaktanto ir kosurfaktanto santykiu 9:1. Mikroemulsijų gamybai naudojant kosurfaktantą poligliceril-6-izostearatą, didžiausias atpalaiduotas resveratrolio kiekis buvo lipofilinė fazė pasirinkus izopropilo miristatą (57,41 proc.), o kosurfaktantu naudojant etanolį – su etilo oleatu (67,59 proc.). Atsižvelgiant į šio tyrimo rezultatus, galima daryti išvadas, kad modeliuojant mikroemulsines sistemas, pasirinktos pagalbines medžiagos, turi įtakos jų formavimosi plotui pseudo-trinarėse fazių diagramose. Mikroemulsijų gamybai naudotos skirtingos pagalbines medžiagos (kosurfaktantai ir aliejai) turėjo įtakos mikroemulsijų fizikiniams-cheminiams parametrams. Resveratrolio įterpimas į mikroemulsijas, padidino vidutinį dalelių dydį, sumažino elektrinio laidžio ir dinaminės klamos vertes. *In vitro* tyrimai patvirtino, kad sumodeliuotos mikroemulsijos geba atpalaiduoti veikliąją medžiagą ir yra tinkami nešikliai resveratrolio įterpimui.

Bagdanavičiūtė, Ieva. Evaluation of the Influence of Excipients on the Modelling and Quality of Microemulsions. Master's Final Degree Project / supervisor Lect. dr. Vaida Kurapkienė; 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: surfactant, cosurfactant, lipophilic phase, microemulsion quality parameters, resveratrol.

Kaunas, 2021. 54 pages.

Summary

During the development of pharmaceutical forms, the focus is often on assessing the quality of an already modelled pharmaceutical form. Microemulsion systems that do not meet the quality requirements may affect the stability, solubility, and release of the active substance from the pharmaceutical form. In order to model microemulsions that meet the quality requirements, it is important to select suitable excipients and to evaluate the influence of individual excipients on microemulsion systems. According to the importance of such a study, the object of the study was selected modelled microemulsions with different excipients and microemulsions with resveratrol. The results of the studies showed that a larger area of the modelled microemulsions in pseudo-ternary phase diagrams were formed with the cosurfactant polyglyceryl-6-isostearate than with the cosurfactant ethanol. Microemulsions with synthetic oils form a larger area than the microemulsions with natural oils in the pseudo-ternary phase diagrams. Mean droplet size of microemulsions with the cosurfactant polyglyceryl-6-isostearate ranged from 57.61 to 107.3 nm., polydispersity values were from 0.330 to 0.519, viscosity values varied between 41.4 and 83.4 mPa·s, pH values were from 7.16 to 7.33 and electrical conductivity varied between 58 and 145 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Mean droplet size of microemulsions with the cosurfactant ethanol ranged from 28.06 to 73.58 nm, polydispersity values were from 0.280 to 0.647, viscosity values varied between 4.5 to 25.7 mPa·s, pH values were from 5.44 to 5.85 and electrical conductivity varied between 6.6 and 10 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Mean droplet size increased by 0.3–110 % after resveratrol incorporation into microemulsions, respectively. Lower viscosity and electrical conductivity of microemulsions were determined ($p < 0.05$). Resveratrol release studies *in vitro* have confirmed that a higher amount of resveratrol, regardless of the oil phase and selected cosurfactant, was released from microemulsions at surfactant and cosurfactant ratio 9:1. Microemulsions that were modelled with cosurfactant polyglyceryl-6-isostearate the highest amount of resveratrol was released when the lipophilic phase was isopropyl myristate (57.41 %) and from modelled microemulsion with cosurfactant ethanol – with ethyl oleate (67.59 %). Based on the results of the study, it can be concluded that different excipients that have been used in modeling microemulsions had an influence on microemulsions forming area in pseudo-ternary phase diagrams. Different selected excipients (cosurfactants and oils) influenced the physicochemical parameters of microemulsions. Changes of higher mean droplet size, lower electrical conductivity and viscosity were determined when resveratrol was incorporated into microemulsions. *In vitro* studies confirmed that modelled microemulsions are capable of releasing the active substance and are suitable carriers for resveratrol incorporation.

Turinys

Paveikslų sąrašas.....	8
Lentelių sąrašas.....	9
Santrumpų sąrašas.....	10
Įvadas	11
1. Literatūros apžvalga	13
1.1. Mikroemulsijos ir jų modeliavimas	13
1.1.1. Pagalbinės medžiagos ir jų įtaka mikroemulsijų gamybai	13
1.1.2. Mikroemulsijų formavimasis ir jų tipai	15
1.1.3. Mikroemulsijų klasifikavimas pagal Vinslorą	16
1.1.4. Pseudo-trinarių fazių diagramų sudarymas.....	16
1.2. Mikroemulsijų kokybės vertinimas	17
1.2.1. Termodinaminis stabilumas.....	17
1.2.2. Mikroemulsijų dalelių dydis ir jų pasiskirstymas	17
1.2.3. Zeta potencialas.....	19
1.2.4. Dinaminė klampa, elektrinis laidis ir pH	19
1.3. Mikroemulsijų su emulsijomis ir nanoemulsijomis palyginimas.....	20
1.4. Mikroemulsijų pritaikymo galimybės	20
1.5. Resveratolio charakteristika ir pritaikymo galimybės.....	21
2. Medžiagos ir tyrimų metodai.....	24
2.1. Reagentai ir medžiagos.	24
2.2. Naudota įranga.....	24
2.3. Tyrimo metodai ir metodika	25
2.3.1. Pseudo-trinarių fazių diagramų sudarymas.....	25
2.3.2. Mikroemulsijų gamyba	25
2.3.3. Resveratolio su mikroemulsijomis gamyba	25
2.3.4. Mikroemulsijų termodinaminio stabilumo nustatymas.....	25
2.3.5. Mikroemulsijų fizikinių-cheminių parametrų nustatymas.....	25
2.3.6. Mikroemulsijų su resveratoliu infraraudonųjų spindulių spektroskopija	26
2.3.7. Resveratolio atpalaidavimas <i>in vitro</i> tyrimas.....	26
2.3.8. Statistinė duomenų analizė	26
3. Rezultatai ir jų aptarimas	27
3.1. Pagalbinių medžiagų atranka mikroemulsijų modeliavimui.....	27
3.2. Pseudo-trinarių fazių diagramų sudarymas ir vertinimas	27
3.2.1. Aliejinės fazės įtakos mikroemulsijų modeliavimui vertinimas.....	28
3.2.2. Kosurfaktanto įtakos mikroemulsijų modeliavimui vertinimas	28
3.3. Mikroemulsijų fizikinių-cheminių parametrų vertinimas.....	31
3.3.1. Mikroemulsijų su kosurfaktantu poligliceril-6-izostearatu fizikinių-cheminių parametrų vertinimas	31
3.3.2. Mikroemulsijų su kosurfaktantu etanoliu fizikinių-cheminių parametrų vertinimas..	34
3.4. Mikroemulsijų su resveratoliu fizikinių-cheminių parametrų vertinimas	36
3.5. Funkcinių grupių vertinimas furjė transformacijos infraraudonųjų spindulių spektroskopijos metodu	39

3.6. Resveratrolio atpalaidavimo iš mikroemulsijų tyrimas <i>in vitro</i>	41
Išvados	45
Literatūros sąrašas.....	47
Priedai	55

Paveikslų sąrašas

1 pav. ME struktūrų palyginimai: A/V (kairėje), vidurinės fazės ME (viduryje) ir V/A (dešinėje)..	15
2 pav. ME klasifikacija pagal P. Vinslor (Winslor) keturis bendruosius fazių pusiausvyros tipus...	16
3 pav. Pseudo-trinarė fazių diagrama su skirtingo tipo ME išsidėstymu joje: įprastos micelės, atvirkštinės micelės, aliejus-vandenyje (A/V) ME, vandens-aliejuje (V/A) ir vidurinės fazės ME	17
4 pav. Molekulių šiluminės judėjimas	18
5 pav. Resveratrolio cis- (Z) ir trans- (E) izomerai.....	22
6 pav. Pseudo-trinarės fazių diagramos su S – KKMg, aliejinė fazė – EO, KoS – PGI (kairėje) ir KoS – ET (dešinėje).....	29
7 pav. Pseudo-trinarės fazių diagramos su S – KKMg, aliejinė fazė – IMP, KoS – PGI (kairėje) ir su KoS – ET (dešinėje).....	29
8 pav. Pseudo-trinarės fazių diagramos su S – KKMg, aliejinė fazė – linų sėmenų aliejus, KoS – PGI (kairėje) ir su KoS – ET (dešinėje)	30
9 pav. Pseudo-trinarės fazių diagramos su S – KKMg, aliejinė fazė – alyvuogių aliejus, KoS – PGI (kairėje) ir su KoS – ET (dešinėje)	30
10 pav. Dalelių dydžio pasiskirstymo palyginimas, kai KoS – PGI, esant S/KoS santykiui 5:1, aliejinės fazės – EO, IPM, alyvuogių ir linų sėmenų aliejai	33
11 pav. Dalelių dydžio pasiskirstymas, kai KoS – ET, S/KoS 5:1, aliejinės fazės – EO, IPM.....	35
12 pav. ME-RES ir ME be resveratrolio dalelių dydžio pasiskirstymas, kai KoS – PGI ir ET, S/KoS 3:1, aliejinė fazė – EO.....	38
13 pav. Gryno resveratrolio FT-IR spektras.....	39
14 pav. ME-RES ir ME be resveratrolio spektrų palyginimai su aliejinė faze – IPM.....	40
15 pav. ME-RES ir ME be resveratrolio spektrų palyginimai su linų sėmenų aliejumi.....	41
16 pav. Resveratrolio atpalaidavimas iš ME, kai KoS – PGI, S/KoS santykiai 3:1 (viršuje), 9:1 (apačioje).....	42
17 pav. Resveratrolio atpalaidavimas iš ME, kai KoS – ET, S/KoS santykiai 3:1 (viršuje), 9:1 (apačioje).....	43

Lentelių sąrašas

1 lentelė. Dažniausiai ME gamyboje naudojami komponentai	14
2 lentelė. ME, emulsijų ir nanoemulsijų palyginimas.....	20
4 lentelė. Tyrimo metu naudoti reagentai, gamintojas ir jų kilmės šalis	24
5 lentelė. Tyrimo metu naudota įranga, gamintojas ir jų kilmės šalis	24
6 lentelė. ME sudėtis	31
7 lentelė. ME kokybiniai parametrai, aliejinę fazę naudojant EO	31
8 lentelė. ME kokybiniai parametrai, aliejinę fazę naudojant IPM	32
9 lentelė. ME kokybiniai parametrai, aliejinę fazę naudojant linų sėmenų aliejų.....	32
10 lentelė. ME kokybiniai parametrai, aliejinę fazę naudojant alyvuogių aliejų	32
11 lentelė. ME kokybiniai parametrai, aliejinę fazę naudojant EO	34
12 lentelė. ME kokybiniai parametrai, aliejinę fazę naudojant IPM	35
13 lentelė. Mikroemulsijų su resveratroliu sudėtis	37
14 lentelė. ME-RES fizikiniai-cheminiai parametrai, naudojant KoS – PGI.....	37
15 lentelė. ME-RES fizikiniai-cheminiai parametrai, naudojant KoS – ET	37

Santrumpų sąrašas

A/V – aliejus-vandenyje tipo mikroemulsija;

ET – etanolis;

EO – etilo oleatas;

FT-IR – Furjė transformacija infraraudonųjų spindulių spektroskopijos būdu;

HBL – lipofilinis ir hidrofilinis balansas;

IPM – izopropilo miristatas

KoS – pagalbinė paviršinio aktyvumo medžiaga – kosurfaktantas;

KKMG – kaprilo/kaproilo makrogolio gliceridas;

ME – mikroemulsija;

ME-RES – mikroemulsija su resveratroliu;

PGI – poligliceril-6-izostearatas;

V/A – vanduo-aliejuje tipo mikroemulsija;

S – paviršinio aktyvumo medžiaga – surfaktantas;

S/KoS – surfaktanto ir kosurfaktanto mišinys;

Įvadas

Kuriant naujus vaistinius preparatus, ieškoma būdų, kaip modifikuoti veikliųjų medžiagų fizikines ir chemines, farmakokinetines savybes. Farmaciniam produktams tobulinti dažnai yra pritaikomos nanotechnologijos. Nano dydžio dalelės naudojamos pernešti vaistines medžiagas į tikslinę veikimo vietą, pačioms išliekant neaktyviomis, pavyzdžiui, sidabro, aukso, amorfinio silicio nanodalelės, nanoemulsijos ar liposomos. Tačiau šių nano struktūrinių nešiklių gamyba yra sąlyginai sudėtinga, todėl ieškoma panašių nešiklių alternatyvų ir tokiomis įvardijamos – mikroemulsijos [1, 2].

Pastaraisiais metais mikroemulsijos sulaukia vis didesnio įvairių mokslininkų susidomėjimo, dėl paprastos gamybos technologijos ir plačių pritaikymo galimybių: maisto pramonėje, kosmetikos gamyboje, farmacijos srityje [3, 4]. Mikroemulsijos yra optiškai skaidrios, mažai klampios, termodinamiškai stabilios dispersinės koloidinės sistemos [5, 6]. Jų pagrindą sudaro lipofilinė ir hidrofilinė fazės bei paviršinio aktyvumo medžiagos (surfaktanto ir kosurfaktanto mišiniai). Sistemos pasižymi gebėjimu įterpti didelį lipofilinių ir hidrofilinių vaistinių medžiagų kiekį, todėl gali būti pritaikomos tokių medžiagų pernašai per biologines membranas, didinant jų biologinį pasisavinimą [7, 8]. Mikroemulsijos gali būti derinamos su priešgribeliniais, priešuždegiminiais, antivirusiniais, antioksidaciniais savybių turinčiomis veikliosiomis medžiagomis [9, 10, 11].

Modeliuojant mikroemulsijas, susiduriama su sistemas sudarančių komponentų nesuderinamumu, kurie turi įtakos mikroemulsijų modeliavimui ir kokybės parametrų: polidispersiškumo indeksui, vidutiniam dalelių dydžiui ir jų pasiskirstymui sistemoje, pH, elektriniam laidžiui, dinaminei klampai. Kokybės reikalavimų neatitinkančios mikroemulsijos gali turėti įtakos veikliosios medžiagos stabilumui, tirpumui ir jos atpalaidavimui iš farmacinės formos [4, 12, 13]. Siekiant suformuoti kokybės reikalavimus atitinkančias mikroemulsijas, svarbu jų gamybai parinkti tinkamas pagalbines medžiagas ir įvertinti atskirų komponentų įtaką mikroemulsijų modeliavimui ir kokybei. Atsižvelgiant į tokio tyrimo poreikį, tyrimo objektu pasirinktos mikroemulsijos su skirtingomis pagalbinėmis medžiagomis ir mikroemulsijos su resveratrolu.

Trūksta mokslinių tyrimų, kurie įvertintų skirtingų pagalbinių medžiagų įtaką mikroemulsijų modeliavimui ir kokybės parametrų, todėl tiriamajame darbe buvo atlikta mikroemulsijų gamybai naudojamų pagalbinių medžiagų atranka. Vertinta skirtingų naudotų komponentų įtaka mikroemulsijų formavimuisi ir jų kokybės parametrų. Kaip modelinė veiklioji medžiaga, parinktas resveratrolis, kuris pasižymi lipofilinėmis savybėmis bei geru tirpumu pasirinktuose surfaktanto ir kosurfaktanto komponentuose. Įvertinti pagamintų mikroemulsijų fizikiniai-cheminiai parametrai ir mikroemulsijų kaip nešiklio geba įterpti veikliąją medžiagą bei ją atpalaiduoti.

Darbo tikslas ir uždaviniai

Tikslas – įvertinti pagalbinių medžiagų įtaką mikroemulsijų modeliavimui ir kokybei.

Uždaviniai:

1. pasirinkti pagalbines medžiagas ir įvertinti jų įtaką mikroemulsijų modeliavimui;
2. įvertinti pagalbinių medžiagų įtaką mikroemulsijų kokybės parametrų;
3. pritaikyti atrinktas mikroemulsijas resveratolio įterpimui ir ištirti jų kokybinius parametrus;
4. ištirti resveratolio atpalaidavimą iš mikroemulsijų *in vitro* tyrimais.

1. Literatūros apžvalga

1.1. Mikroemulsijos ir jų modeliavimas

Mikroemulsijos (ME) pirmą kartą buvo apibrėžtos Jack H. Shulmano 1959 metais Kolumbijos universitete. Tai optiškai skaidrios, mažai klampios, termodinamiškai stabilios dispersinės koloidinės sistemos [14]. ME esančių dalelių dydis gali siekti apie 10–100 nm [15]. Tačiau, pagal naujus pateiktus literatūros šaltinius, sistema gali būti suformuojama, kai dalelių dydis yra iki 200 nm [16, 17, 18]. ME pagrindą sudaro skaidrūs nesimaišantys skysčiai: aliejus ir vanduo bei paviršiaus aktyviosios medžiagos (S/KoS) – surfaktanto (S) bei kosurfaktanto (KoS) mišinys [7, 8].

ME stabilumą, mažą dinaminę klampą, skaidrumą ir kitas svarbias fizikines, chemines savybes sistemoje lemia itin maža tarpfazinė įtemptis, kuri susidaro tarp hidrofilinės ir lipofilinės fazių sąlyčio vietos [19, 20, 21]. Tam, kad ME susiformuotų savaime, S bei KoS privalo sumažinti paviršiaus įtempį trimis ar keturiais kartais, dažniausiai įtemptis tarp aliejinės ir vandeninės fazės sumažėja iki nulio [19].

1.1.1. Pagalbinės medžiagos ir jų įtaka mikroemulsijų gamybai

Hidrofilinė (vandeninė) fazė. Dažniausiai naudojamas išgrynintas vanduo. Bet tam, kad būtų pasiekta didesnė dinaminė klampa, į hidrofilinę fazę gali būti pridama papildomos medžiagos: buferinės druskos, konservantai ir kiti skvarbos stiprikliai (žr. 1 lentelę) [22]. Vertinant vandeninės fazės įtaką ME formavimuisi, nustatyta, jog pernelyg didelis vandens kiekis sistemoje gali sukelti fazių atsiskyrimą, nevienodą dalelių pasiskirstymą ME, taip pat gali turėti įtakos dinaminei klampai [23, 24].

Lipofilinė (aliejinė) fazė. Aliejinei fazei gali būti pasirinkti tiek sintetiniai, tiek natūralūs aliejai [25, 26] (žr. 1 lentelę). Aliejinės fazės komponentai gali būti: įvairios sočiosios riebalų rūgštys, esteriai, alkoholiai, trigliceridai, gliceroliai, acto rūgštys, terpenai. Dažniausi ME modeliavimui yra naudojami esteriai – etilo oleatas, izopropilo miristatas ir izopropilo palmitatas (žr. 1 lentelę) [27]. Norint pagerinti skvarbą, naudojamos ir papildomos medžiagos, vienos iš tokių yra terpenai – limonenas, cineolis ar mentolis [22]. Trumpos aliejaus angliavandenilių grandinės dažniausiai įsiterpia giliai į organinę fazę, tokiu atveju sudarydamos stabilias ME sistemas. ME modeliavimui gali būti naudojami ir keli skirtingi aliejai [28].

Pagal literatūroje pateikiamą informaciją, nustatyta, kad ME koloidinės sistemos savybės, susidarymas, stabilumas gali būti stipriai sąlygojami aliejinės fazės fizikinių-cheminių savybių: klamos, tarpfazinės įtempties, poliškumo, tankio ir lūžio rodiklio [29]. Lyginant sintetinių ir augalinių aliejų įtaką ME kokybiniais parametrams, nustatyta, kad sintetiniai aliejai pasižymi geromis tirpiklių savybėmis, stabilumu, netoksiškumu, puikiu suderinamumu su daugeliu ME gamybai naudojamų medžiagų komponentais, todėl ME formavimas su sintetiniais aliejais yra paprastesnis [30]. ME formavimas su augaliniais aliejais sudėtingesnis, nes jų sudėtyje esantys natūralūs komponentai, tokie kaip triacilgliceroliai, gliceroliai, steroliai, gali sumažinti KoS kaip tirpiklio savybes, o tai gali turėti įtakos ME formavimosi plotui pseudo-trinarėse fazių diagramose [28, 31, 32, 33].

Surfaktantai. S yra paviršinio aktyvumo medžiagos, sudaryti iš polinių ir nepolinių grupių. S padeda ME sumažinti paviršiaus įtempį ir padeda formuoti dispersinę sistemą hidrofilinėje arba lipofilinėje

fazėje, sukurdami savarankiškas molekulinės grupes – micles [34]. S yra klasifikuojami į jonines ir nejonines paviršiaus aktyviasias medžiagas. S taip pat galima suklasifikuoti atsižvelgiant ir į jų tirpumą vandenyje arba lipiduose. Joniniai S paprastai yra hidrofilinės medžiagos, tačiau nejoniniai gali būti tiek hidrofiliniai, tiek lipofiliniai, priklausomai nuo hidrofilinės ir lipofilinės grupės pusiausvyros (žr. 1 lentelę) [34, 29].

Pagal literatūroje pateikiamus duomenis įrodyta, kad parinkti S gali turėti įtakos vidutiniam dalelių dydžiui (VDD) ir dinaminei klampai. Viena iš publikuotų tyrimų buvo tirta skirtingų S įtaka ME kokybės parametrams, naudojant skirtingos sudėties S mišinius: sorbitano monolaurato 80/sorbitano monolaurato 20 mišinį ir polietilenglikolio-3 laurilo eterio/polietilenglikolio-23 laurilo eterio mišinį. Rezultatai parodė, kad, formuojant ME sistemą su polietilenglikolio-3 laurilo eteriu/polietilenglikolio-23 laurilo eteriu mišiniu, VDD ir dinaminės klamos vertės buvo gautos mažesnės negu formuojant ME sistemą su sorbitano monolaurato 80/sorbitano monolaurato 20 mišiniu [35].

1 lentelė. Dažniausiai ME gamyboje naudojami komponentai

Mikroemulsijų komponentai	Medžiagų pavyzdžiai	Literatūros šaltiniai
Lipofilinė (aliejinė) fazė	Sintetiniai: izopropilo miristatas, izopropilo palmitatas, etilo laureatas, etilo oleatas, oleino rūgštis, triacetinas.	[3, 7, 9, 22, 25, 36]
	Augaliniai: alyvuogių, kokosų, kukurūzų, ricinų, sojų, linų sėmenų aliejai.	
Hidrofilinė fazė	Išgrynintas vanduo, buferiniai tirpalai (NaCl), injekcinis vanduo.	[9, 15, 22, 36]
Surfaktantai	Polisorbatas 20 (<i>Tween 20</i>), polisorbatas 80 (<i>Tween 80</i>), sorbitano monolauratas (<i>Span 20</i>), lecitinas, kaprilokaproilo makrogol-8 gliceridas.	[3, 9, 12, 15, 22, 36, 37]
Kosurfaktantai	Etanolis, propanolis, propilenglikolis, 1-butanolis, miristilo alkoholis, poligliceril-6-izostearatas, poligliceril-6-oleatas.	[3, 9, 22, 36]

Kosurfaktantai. Naudojami padėti sumažinti S paviršiaus įtempį tam, kad galėtų vykti savaiminis ME susiformavimas. KoS molekulės adsorbuojasi aliejaus ir vandens sąlyčio paviršiuje, įsiterpia tarp S molekulių ir padeda formuoti bei stabilizuoti micles, taip sudarydami stabilias ME dispersines sistemas [38]. KoS dažniausiai būna alkoholiai, kurių diapazonas yra nuo C4 iki C10 atomų: etanolis, propanolis, propilenglikolis (žr. 1 lentelę) [39]. Dažniausiai yra renkamos alkoholiai, kurių anglies grandinė trumpesnė, nes taip jie lengviau sąveikauja su S molekulėmis [28].

Mokslinės literatūros analizė parodė, kad, priklausomai nuo pasirinkto KoS ir jo kiekio, gali būti suformuojamas mažesnis arba didesnis ME plotas pseudo-trinarėse fazių diagramose. Mokslininkės Pojos Golwalos ir jos kolegų atliktame tyrime buvo tiriama, kaip skirtingi KoS ir jų kiekiai gali keisti

ME formavimosi plotą, kai KoS buvo pasirinktas butanolis ir etanolis. Buvo nustatyta, jog didesni plotą pseudo-trinarių fazių diagramose pavyko sudaryti, kai KoS buvo etanolis. Taip pat pastebėta, kad esant S/KoS santykiui 4:1, buvo gauti didžiausi ME plotai [23].

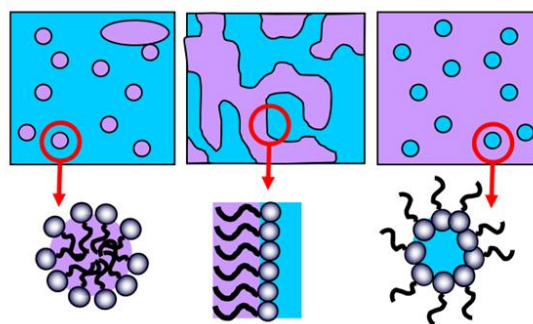
Pagal literatūroje pateiktus duomenis, skirtingų KoS naudojimas modeliuojant ME turi įtakos ir jų dinaminei klampai, VDD [12, 13, 28]. Noulkamol Arpornpong moksliniame darbe tyrė KoS įtaką dinaminei klampai bei VDD, kai KoS buvo pasirinkti: 1-butanolis, 1-oktanolis ir 1-dekanolis. Nustatyta, kad, ilgėjant KoS anglies grandinei, dinaminė klampa irgi didėjo. Naudojant KoS 1-dekanolį VDD, lyginant su 1-butanoliu ir 1-oktanolio, buvo mažesnis [40].

Literatūros analizė parodė, kad skirtingų KoS naudojimas turi įtakos pH reikšmėms bei elektriniam laidžiui. Atliekant du mokslinius tyrimus, ME kokybei tirti, abiem tyrimams buvo pasirinktas kaip S – kaprilo-kaproilo makrogolio gliceridas (KKMG), tačiau skirtingi KoS. Rezultatai parodė, kad, nepriklausomai nuo vienodo S, pH ir elektrinio laidumo, vertės skyrėsi. Naudojant KoS – poligliceril-3 dioleatą, pH svyravo apie 5,25–5,74, elektrinis laidis buvo nuo 79,5 iki 120,9 $\mu\text{S}/\text{cm}$, o naudojant KoS – oktksinolą-12 ir polisorbata 20, pH svyravo nuo 5,85 iki 6,61, elektrinis laidumas buvo nuo 26,15 iki 57,0 $\mu\text{S}/\text{cm}$ [41, 42].

Pateikti pavyzdžiai rodo, kad S ir KoS, hidrofilinės bei lipofilinės fazės pasirinkimas ir jų kiekiai, turi įtakos ME fazių elgsenai, sistemos mikrostruktūrai ir kokybei.

1.1.2. Mikroemulsijų formavimasis ir jų tipai

Hidrofilinę ir lipofilinę pusiausvyra apsprendžia (HLB) rodiklis, kurio vertės svyruoja nuo 1 iki 20 [43]. HLB rodiklis dažniausiai naudojamas kaip indikatorius pasirenkant atitinkamus S, modeliuojant ME [44, 45]. Kuo didesnė HLB vertė, tuo geriau S tirpsta hidrofilinėje fazėje [46]. S HLB vertės turi sutapti su lipofilinės fazės HLB vertėmis [22, 43, 45]. Atsižvelgiant į HLB vertę bei lipofilinės ir hidrofilinės fazių santykį, gali susidaryti trys skirtingi ME tipai: aliejus-vandenyje (A/V) tipo ME, vanduo-aliejuje (V/A) tipo ME ir vidurinės fazės ME. ME tipas priklauso nuo susidarančios paviršiaus sluoksnio plėvelės, kuri atskiria polinę ir nepolinę sritis [19, 28].



1 pav. ME struktūrų palyginimai: A/V (kairėje), vidurinės fazės ME (viduryje) ir V/A (dešinėje). Pritaikyta pagal [44]

V/A tipo ME. HLB vertė yra nuo 3 iki 6 [43]. Šiuo atveju lipofilinių grupių yra daugiau negu hidrofilinių, susidaro micelės, kur molekulių lipofilinė dalis yra aliejinėje pusėje, o hidrofilinės galvutės susiglaudžia viduje (žr. 1 pav.) [44].

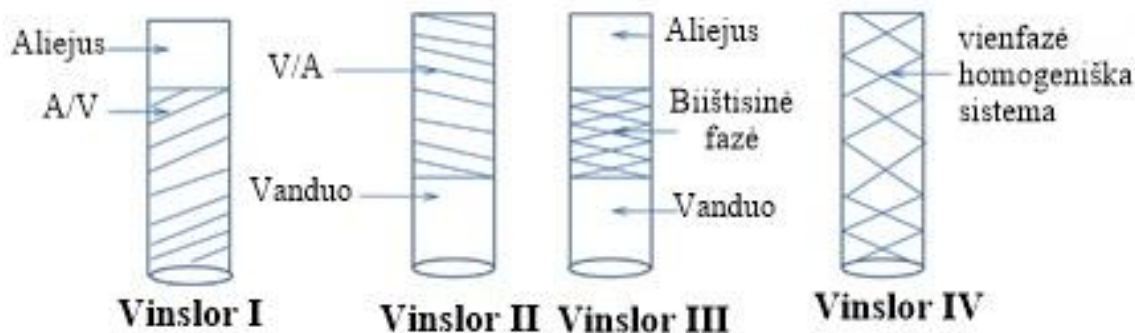
A/V tipo ME. HLB vertė yra nuo 8 iki 16 [43]. Šiuo atveju hidrofilinių grupių gaminamoje ME yra daugiau nei lipofilinių. Micelės lipofilinė molekulių dalis yra viduje, o hidrofilinės galvutės išsidėsto išorėje (vandeninėje) dalyje (žr. 1 pav.) [44].

Vidurinės fazės ME. Šioje ME hidrofilinių ir lipofilinių grupių skaičius yra panašus (žr. 1 pav.) [44].

1.1.3. Mikroemulsijų klasifikavimas pagal Vinslorą

ME yra klasifikuojamos ir pagal P. Alano Vinsloro (*Philip Alan Winslor*) keturis bendruosius fazių pusiausvyros tipus:

I tipas – tai dvifazė sistema, kai S geriau tirpsta vandenyje ir susidaro A/V ME. Tai reiškia, kad A/V ME fazė yra pusiausvyroje su viršutiniu aliejaus pertekliumi. Hidrofilinėje fazėje yra didelė S koncentracija, o lipofilinėje fazėje S sudaro mažą koncentraciją (žr. 2 pav.) [45, 47].



2 pav. ME klasifikacija pagal P. Vinslor (Winslor) keturis bendruosius fazių pusiausvyros tipus. Pritaikyta pagal [47]

II tipas – dvifazė sistema, kai didesnė S koncentracija yra pasiskirsčiusi lipofilinėje fazėje (V/A), hidrofilinėje fazėje aptinkamos nedidelės S koncentracijos (žr. 2 pav.) [45, 47].

III tipas – trifazė sistema, ji susidaro esant pusiausvyroje su viršutine pertekline lipofiline faze ir apačioje esančia pertekline hidrofiline faze. Didžiausia S koncentracija susitelkia ties vidurine faze. Viršutinėje lipofilinėje fazėje bei apatinėje hidrofilinėje fazėje S kiekis yra labai mažas (žr. 2 pav.) [20, 47, 48].

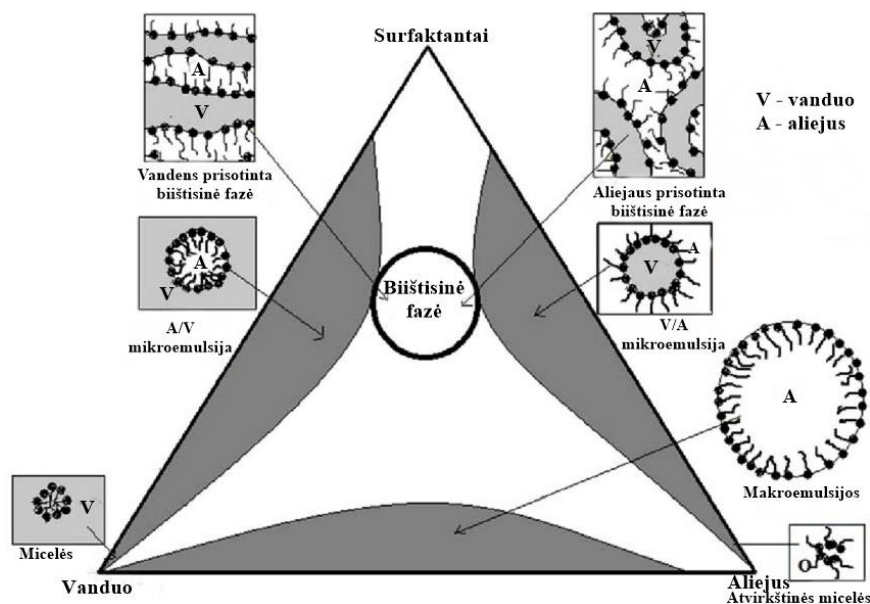
IV tipas – vienfazė homogeniška sistema, kurioje S ir KoS, lipofilinė ir hidrofilinė fazės pasiskirsto vienodai (žr. 2 pav.) [47].

1.1.4. Pseudo-trinarių fazių diagramų sudarymas

Pseudo-trinarės fazių diagramos yra sudaromos siekiant nustatyti ME formavimo ribas bei ME tipą [28]. ME komponentai dažnai parenkami pagal norimą suformuoti ME tipą, esant iš anksto nustatytam komponentų santykiui: lipofilinė fazė, S ir KoS sumaišomi ir lėtai titruojami hidrofiline faze [22]. Galimas titravimas ir lipofiline faze, šiuo atveju hidrofilinė fazė sumaišoma su S ir KoS mišiniais, o titravimas vyksta lipofiline faze [9].

Dažniausiai pseudo-trinarių fazių diagramos viršūnėje yra nurodomi S/KoS mišiniai, o hidrofilinė ir lipofilinė fazės išdėstomos kitose dvejose pusėse (žr. 3 pav.). Procentinį kiekvieno komponento

santykį apibrėžia K_m vertė. Norint nustatyti K_m vertę, kiekvieno komponento procentinė dalis turi būti fiksuojama kritiniame taške, pseudo-trinarių fazių diagramoje [28].



3 pav. Pseudo-trinarė fazių diagrama su skirtingo tipo ME išsidėstymu joje: įprastos micelės, atvirkštinės micelės, aliejus-vandenyje (A/V) ME, vandens-aliejuje (V/A) ir vidurinės fazės ME. Pritaikyta pagal [49]

Kai temperatūra ir slėgis yra pastovūs, pseudo-trinarių fazių diagrama yra padalinta į dvi ar keturias sritis. Kiekvienas kompozicijos taškas, vienos fazės srityje, virš sumaišymo linijos atitinka tam tikrą ME tipą. Kompozicijos taškai, žemiau šios linijos, atitinka daugiafazės sritis (žr. 3 pav.) [45].

1.2. Mikroemulsijų kokybės vertinimas

Pasikeitus fazių elgsenai ir sistemos mikrostruktūrai, ME kokybės parametrai ir stabilumas gali pakisti, todėl sumodeliuotoms ME yra svarbu atlikti visus galimus kokybės parametrų vertinimus. Įprastai vertinant kokybinius ME parametrus, taikomi fizikiniai-cheminiai ar instrumentiniai analizės metodai. Norint įvertinti ar ME sistemos yra kokybiškos svarbu nustatyti: polidispersiškumo indeksą (PDI), VDD ir jų pasiskirstymą, zeta potencialą, pH, elektrinį laidį, dinaminę klampą, įvertinti ME termodinaminį stabilumą [12, 50, 51].

1.2.1. Termodinaminis stabilumas

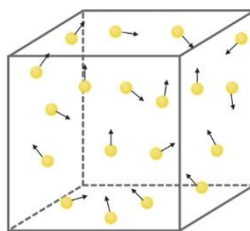
Vertinant ME kokybę yra būtina patikrinti jų termodinaminį stabilumą, nes, esant nestabiliai sistemai, ME yra nekokybiška. Termodinaminis stabilumas atliekamas per kelis ciklus, ME paveikus skirtingomis sąlygomis: centrifuguojant, šildant-šaldant (angl. *heating-cooling cycle*) ir užšaldant-atšildant (angl. *freeze-thaw cycle*). Jeigu po bandymų nėra fazių atskyrimo, fazių susidrumstimo ar nuosėdų susidarymo, tai reiškia, kad ME yra termodinamiškai stabilios [52].

1.2.2. Mikroemulsijų dalelių dydis ir jų pasiskirstymas

Vidutinis dalelių dydis. VDD ir jų pasiskirstymas yra vienas iš pagrindinių kriterijų, kuriuos įvertinus galima spręsti apie ME kokybę, funkcionalumą ir tolimesnį sistemos stabilumą [14, 16, 42]. Pagal mokslinius literatūros duomenis, ME sistemos dalelių dydis turi būti < 200 nm [16, 17, 18].

VDD išmatuoti yra naudojamas dinaminės šviesos skaidos metodas (angl. *dynamic light scattering technique, DLS*), kitaip dar vadinama fotonų koreliacijos spektroskopija (PCS) [53].

Šis metodas padeda nustatyti dalelių dydį ir aptikti dalelių aglomeraciją. Metodas pagrįstas šviesos išsklaidymu iš lazerio, kuris tiesiogiai praeina pro tiriamąjį koloidinį tirpalą. Šviesai praeinant iš aparato pro tirpalą, ji susiduria su ME esančiomis molekulėmis, kurios dėl šiluminės energijos pastoviai juda – kylant temperatūrai judėjimas intensyvėja, tokiu būdu nustatomas išsklaidytos šviesos kiekio intensyvumas (žr. 4 pav.) [6, 53].



4 pav. Molekulių šiluminis judėjimas

Dalelių šiluminis judėjimas dar vadinamas Brauno dalelių judėjimu (angl. *Brownian motion*), jis koreliuoja su dalelių hidrodinaminiu skersmeniu, dėl šios priežasties, kai ME dalelės yra mažos, jos lengviau nustatomos [54, 55]. Santykį tarp Brauno dalelės judėjimo greičio tirpale ir dalelės dydžio apibrėžia Stokso-Einšteino lygtis:

$$D = \frac{kT}{3\pi\eta D_H}$$

D = difuzijos greitis;

k = Boltzmanno konstanta;

T = absoliuti temperatūra;

η = klampa;

D_H = hidrodinaminis spindulys [55].

ME dalelių dydžius, morfologiją galima išmatuoti naudojant ir transmisinį elektroninį mikroskopą (TEM) (angl. *Transmission electron microscopy*) [26]. Metodas suteikia galimybę ištirti dalelių paviršiaus granuliotumą ar net kristalinės gardelės struktūrą [56]. TEM tiesiogiai kuria vaizdus didele skiriamąja geba. Pasitelkiant didelę įtampą, galima užfiksuoti bet kokias kartu egzistuojančias struktūras ir mikro-struktūrinius perėjimus. ME analizuojama pasitelkiant krio-transmisinę elektroninę mikroskopiją (krio-TEM). Jos metu mėginiai yra tiesiogiai analizuojami greitai juos užšaldant [54, 55, 57].

ME dalelių morfologijai nustatyti gali būti naudojami ir kiti metodai: mažos kampo rentgeno spindulių sklaidos metodas (angl. *small-angle X-ray scattering, SAXS*), infraraudonųjų spindulių spektroskopija (angl. *Infrared Spectroscopy*), branduolinis magnetinis rezonansas (angl. *nuclear magnetic resonance, NMR*) [22, 55, 58].

Polidispersiškumo indeksas. PDI nustatomas naudojant dinaminės šviesos skaidos metodą. PDI yra svarbus termodinaminiam stabilumui ir ME homogeniškumui [35]. PDI naudojamas kaip molekulinės masės pasiskirstymo dydžio matas, jis lygus vidutinės masinės ir vidutinės skaitinės

molekulinių masių santykiui. Kuo didesnė PDI, tuo didesnė molekulinė masė [59]. PDI vertė gali svyruoti nuo 0 iki 1. Kai koloidinių dalelių PDI yra mažesnis negu 0,1, dalelės yra priskiriamos prie monodispersinių (dalelių, turinčių vienodą molekulinę masę), esant didesnei reikšmei už 0,1, dalelės priskiriamos polidispersinėms (turinčioms įvairios molekulinės masės dalelių) [54]. Kuo didesnis PDI, tuo sumodeliuota sistema mažiau homogeniška. Sistema laikoma homogeniška, kai PDI mažesnis nei 0,5, o kai jis didesnis negu 0,5, sistema laikoma heterogeniška [14, 50].

1.2.3. Zeta potencialas

ME kokybės parametrą vertinti, gali būti išmatuotas zeta potencialas, nes dauguma mikroskopinių dalelių, susidūrusių su skysčiais, paviršiuje įgyja elektroninį krūvį. Zeta potencialas apibrėžiamas kaip potencialų skirtumas tarp dispersinės terpės ir stacionaraus skysčio sluoksnio, kuris pritvirtintas prie dalelės. Zeta potencialas parodo ME dalelių paviršiaus krūvį [60, 61]. Elektros potencialo skirtumas joniniame sluoksnyje aplink įkrautą koloidinį joną, naudojamas kaip koloidinio stabilumo rodiklis, kuris nusako paviršiaus pokyčius. Paprastai, kuo didesnis zeta potencialas, tuo stabilesnis koloidas. Didesnės vertės reiškia didesnę suspensijos stabilumą, nes įkrautos dalelės atstumia viena kitą ir išvengia agregacijos [60]. Zeta potencialui lygiam 0, koloidas pavirsta į kietą. Svarbus veiksnys, kuris turi įtakos zeta potencialui, yra pH, nes veikdamas dalelių paviršiaus krūvį, atstumia daleles vieną nuo kitos. Kitas veiksnys yra jonų stipris, kuris sąlygoja dvigubo sluoksnio storį ir prisideda prie efektyvaus dalelės krūvio sumažėjimo. Zeta potencialą galima įvertinti naudojant dinaminės šviesos sklaidos metodą [10, 62].

1.2.4. Dinaminė klampa, elektrinis laidis ir pH

Dinaminė klampa. Dinaminė ME klampa yra svarbus rodiklis, nes turi įtakos veikliosios medžiagos atpalaidavimui iš sumodeliuotos sistemos [3, 63]. Dinaminė klampa apibrėžiama kaip vidinė trintis, kuri atsiranda tarp skysčio sluoksnių. Kuo stambesnės skysčių dalelės, tuo didesnis jų sąlyčio paviršius ir didesnė trintis. Didelė sistemos klampa gali sukelti ME fazių atsiskyrimą, todėl yra svarbu įvertinti dinaminę klampą. Nenutrūkstama fazės klampa yra glaudžiai susijusi su sistemos difuzijos konstanta:

$$D = kT/6\pi\eta r$$

k – Boltzmanno konstanta;

T – temperatūra;

η – dinaminė klampa;

r – dalelių spindulys [61].

Dinaminė klampa yra atvirkščiai proporcinga difuzijos konstantai. Didėjant klampai, difuzijos konstanta mažėja, o bendras dalelių susidūrimų dažnis sumažėja [61]. Dėl to ME dažniausiai yra mažai klampios, o jų dinaminė klampa priklauso nuo pasirinktų gamybai komponentų ir jų kiekių santykio [21]. Klamos nustatymas atliekamas viskozimetrais [53].

Elektrinis laidis. Elektrinis laidis yra svarbus fazių inversijos reiškiniams aptikti ir patvirtinti gautos ME tipą. Paprastai V/A tipo ME elektrinio laidumo vertės labai mažos, beveik nulinės, tai parodo, jog dispersinę fazę sudaro aliejus [10]. A/V tipo ME elektrinio laidžio vertės gali būti nuo 10 iki 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$, tai parodo, kad ME dispersinę fazę sudaro vanduo [64]. Elektrinio laidžio matavimai atliekami pasinaudojant konduktometrus [36].

pH reikšmės. Svarbu įvertinti ME sistemų pH reikšmes, nes nuo pH gali priklausyti ME ir įterpiamos veikliosios medžiagos stabilumas. Jeigu pH nėra optimalus įterpiamai veikliajai medžiagai, netinkamas terpės pH gali sumažinti veikliosios medžiagos terapinį aktyvumą [65]. pH vertės yra nustatomos ir norint įvertinti, ar ME galima vartoti ant odos, nes ji turi nesukelti dirginimo, dažniausiai optimali pH vertės yra 4–7. Reikšmės nustatomos pH metru [21].

1.3. Mikroemulsijų su emulsijomis ir nanoemulsijomis palyginimas

Pagal literatūroje pateikiamus duomenis, emulsijos, nanoemulsijos, ME gali būti naudojamos kaip vaistinių medžiagų tiekimo sistemos [5, 66, 67]. Visos šios sistemos yra panašios, bet tuo pačiu ir skiriasi. Kaip buvo aptarta praėjusiame skyriuje, ME yra skaidrios, neklampios, termodinamiškai stabilios sistemos, kurių gamyba nereikalauja energijos sąnaudų (žr. 2 lentelę) [7, 8].

2 lentelė. ME, emulsijų ir nanoemulsijų palyginimas

Savybės	Mikroemulsijos	Emulsijos	Nanoemulsijos
Dispersinės fazės dalelių dydis	10–100 nm	100–500 nm	20–500 nm
Paruošimas	Savaiminis formavimasis	Reikalauja energijos sąnaudų	Reikalauja energijos sąnaudų
Išvaizda	Skaidri arba permatoma	Neskaidri	Skaidrios arba drumstos
Stabilumas	Termodinamiškai stabilios	Kinetiškai stabilios	Kinetiškai stabilios
Tarpfazinė energija	Labai žema (10^{-2} – 10^{-3} mN/m)	Aukšta	Aukšta

Lyginant ME su emulsijomis, emulsijos apibrėžiamos kaip dviejų tarpusavyje nesimaišančių skysčių (dispersinės fazės ir dispersinės terpės) sistemos, kurių dalelių vidutinis spindulys yra tarp 100–500 nm. Modeliuojant emulsijas, gali susidaryti du pagrindiniai emulsijų tipai: A/V, V/A emulsijos. Pagrindinis skirtumas tarp ME ir emulsijų toks, kad emulsijų sistemos yra termodinamiškai nestabilios, dėl sistemoje esančių nepalankių aliejaus ir vandens molekulių kontaktų, taip pat optiškai drumstos, nepermatomos ir jų gamybai yra reikalingi homogenizatoriai (žr. 2 lentelę) [5].

Nanoemulsijos yra termodinamiškai nestabilios, vidutinis dalelių spindulys vyrauja nuo 20 iki 500 nm. Nanoemulsijų sistema sudaroma iš dviejų nesimaišančių skysčių (lipofilinės ir hidrofilinės fazių) bei emulsiklių (S ir KoS), kurie padeda sudaryti vieną fazę [67] (žr. 2 lentelę). Sistemos paprastai būna skaidrios arba tik šiek tiek drumstos. Egzistuoja trys nanoemulsijų tipai: A/V, V/A ir biištisinė nanoemulsijos. Lyginant ME gamybą su nanoemulsijų gamyba, nanoemulsijų gamyba yra sudėtingesnė, nes sistemoms sudaryti reikalinga energija. Nanoemulsijos gali būti gaminamos naudojant: aukšto slėgio homogenizavimą, mikrofluidizavimą ir ultragarsą, gali būti taikomi ir mažiau energijos reikalaujantys metodai, kurie apima fazių inversijos emulsinimo ir savaiminio nanoemulsifikavimo metodus [5, 29, 67]. Todėl ME yra pranešesnės, nes jų gamyba paprastesnė.

1.4. Mikroemulsijų pritaikymo galimybės

ME yra plačiai pritaikomos farmacijoje, kaip vaistų tiekimo į tikslią veikimo vietą sistemos [7]. ME su veikliosiomis medžiagomis gali būti leidžiamos į poodį, raumenis, veną, formuluotės gali būti

vartojamos ant odos, į akis, per burną [68]. Dėl ME struktūros, susidariusiose micelėse pagerėja veikliųjų medžiagų tirpumas, jos apsaugomos nuo hidrolizės ir oksidacijos, todėl padidėja šių medžiagų absorbcija ir biologinis pasisavinimas [22, 47]. Pagal literatūroje pateikiamus duomenis, ME vartojant vietiškai, formuluotės nesukelia didelio odos sudirginimo, preparatus nesudėtinga naudoti, yra galimybė nedelsiant nutraukti gydymą be didelių nepageidaujamų reakcijų [9]. ME vartojant į akis, dėl ME sistemoje esančių mažo dalelių dydžio, lipofilinių ir hidrofilinių savybių, pagerėja veikliųjų medžiagų skvarba pro ragena bei pailgėja veikliųjų medžiagų veikimo trukmė [69]. ME gali būti pritaikomos vartoti ir per burną, taip pagerindamos veikliųjų medžiagų tirpumą ir absorbciją virškinamajame trakte. Nustatyta, jog sumodeliuotos ME, skirtos vartoti per burną, padidina veikliųjų medžiagų tirpumą ir absorbciją virškinimo trakte [4, 61]. ME gali būti derinamos su priešgrybelinių, antibakterinių, priešuždegiminių, antivirusinių, antioksidacinių savybių turinčiomis veikliosiomis medžiagomis [7, 9, 11, 70].

Antibakterinės medžiagos. Chloramfenikolis yra antibiotikas, vartojamas bakterinėms infekcijoms gydyti. Buvo sukurtos stabilios ME sistemos su chloramfenikoliu, skirtos gydyti bakterines akių infekcijas. Atlikti tyrimai parodė, kad ME buvo tinkamos vartoti į akis, nes atitiko akių preparatams taikomus kokybės reikalavimus. Lyginant grynos veikliosios medžiagos stabilumą su ME sistemoje esančia įterpta medžiaga, nustatyta, jog ME veikliosios medžiagos stabilumas padidėjo [70].

Priešgrybelinės medžiagos. Puikūs pavyzdžiai yra mikonazolas ir ketokonazolas, kurie pasižymi lipofiliškumu. ME pagalba buvo padidintas: vaisto termodinaminis stabilumas, skvarba pro odą, biologinis pasisavinimas, lyginant su įprastomis dozavimo formomis [7].

Antivirusinės medžiagos. Vienas iš pavydžių yra pencikloviras, kuris naudojamas įvairioms herpeso viruso infekcijoms gydyti. Jis pasižymi mažu toksiškumu ir geru selektyvumu, tačiau, vartojant per burną, pencikloviras absorbuojamas blogai. Vietiniam gydymui buvo sukurta ME kompozicija, kuri pagerino pencikloviro skvarbą į gilesnius epidermio sluoksnius [11].

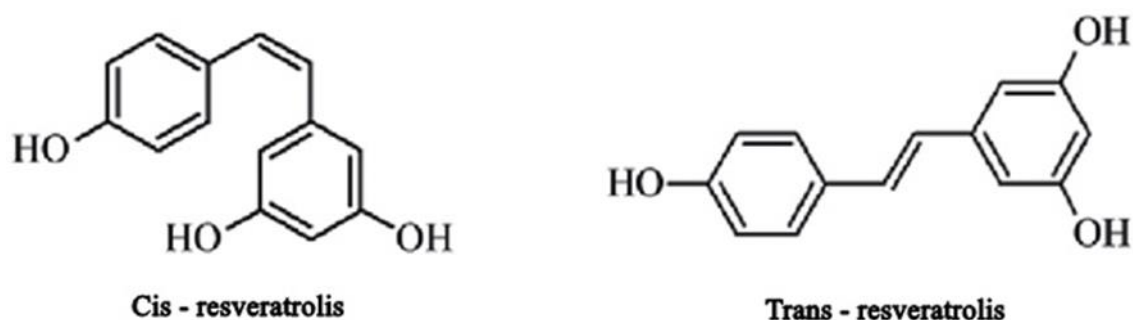
Priešuždegiminės medžiagos. Piroksikamas, vartojamas skausmingų uždegiminių ligų, tokių kaip artritas simptomams palengvinti. Sukūrus ME sistemas ir į jas įterpus piroksikamą, ME padidino veikliosios medžiagos tirpumą ir biologinį pasisavinimą. Buvo nustatyta, kad ME formuluotės su piroksikamu buvo tinkamos vartojimui per burną [7, 71].

Antioksidacinės medžiagos. Trans-resveratrolis yra stiprus antioksidantas, tačiau jo vartojimą riboja sąlyginai mažas tirpumas ir fotostabilumas. Todėl buvo sumodeliuotos trys ME formuluotės su skirtingais eteriniais aliejais: rožių, jazminų ir citrinų eteriniais aliejais. Įterpus resveratrolį į pagamintas ME sistemas buvo nustatyta, jog ME su eteriniais aliejais, padidino resveratrolio antioksidacinį aktyvumą, pagerino tirpumą ir jo fotostabilumą [72].

1.5. Resveratrolio charakteristika ir pritaikymo galimybės

Resveratrolis yra 3,5,4'-trihidroksi-trans-stilbenas, turintis stilbeno struktūrą ir gaminamas augaluose, naudojant fermentą stilbeno sintazę. Tai augalinis polifenolinis junginys, kuris sudarytas iš dviejų benzeno žiedų, sujungtų dviguba stireno jungtimi, lemiančia resveratrolio struktūrinius pokyčius [73, 74, 75]. Resveratrolui būdinga maža molekulinė masė 228,243 g/mol, jo molekulinė formulė yra $C_{14}H_{12}O_3$. Jis egzistuoja kaip cis-(Z) ir trans-(E) izomerai (žr. 5 pav.). Patvaresnis ir stabilesnis yra trans-izomeras, cis-izomerai gali atsirasti, kai trans-izofорма yra veikiami saulės, dirbtinės šviesos ar ultravioletinės spinduliuotės, svyruoja nuo 254–366 nm bangos ilgiui.

Esant ne didesnei nei 16,9 mg/l koncentracijai ir 25 °C temperatūrai, resveratrolis yra tirpus vandenyje, bet ribotai (< 0,05 mg/ml), jo tirpumas daug didesnis etanolyje. Lydymosi temperatūra yra 253°C [75].



5 pav. Resveratrolio cis- (Z) ir trans- (E) izomerai. Pritaikyta pagal [76]

Resveratrolio biologinis poveikis įvairioms organizmo sistemoms įrodytas *ex vivo*, *in vitro* ir *in vivo* tyrimais. Jo biologinis aktyvumas daugiausia priklauso nuo hidroksilo grupių skaičius ir jų padėties [77]. Nustatyta, kad resveratrolis pasižymi antioksidaciniu, antibakteriniu, priešūždegiminiu, antiradikalinu, priešvirusiniu, antigrybeliniu ir priešvėžiniu aktyvumu [74, 78]. Jis pasitarnauja gydant neurodegeneracines ligas, metant svorį, mažinant lipogenezę, lėtinant vėžio vystymąsi, stabilizuoja cukraus kiekį kraujyje, didinant energijos gamybos efektyvumą, tarpininkaujant mitochondrijoms (sustiprina oksidacinį fosforilinimą) [79].

Resveratrolis gali būti naudojamas kaip:

Priešvėžinė veiklioji medžiaga. Resveratrolis gali moduluoti nuo cdk-ciklino priklausomus mechanizmus ir sumažinti vėžio plitimą [78]. Jis taip pat geba slopinti ciklooksigenazę-2 (COX-2), kurios dažniausiai būna per daug ekspresuojamos sergant vėžiu [81].

Priešuždegiminė veiklioji medžiaga. Įrodyta, kad resveratrolis gali veikti priešūždegimiškai, apsisaugant audinius nuo uždegimo plitimo, mažindamas uždegimą skatinančių mediatorių, tokių kaip TNF- α ir IL-1 β , uždegimą skatinančių fermentų iNOS ir COX-2 ir uždegiminių takų NF-kB, signalų veikimą [81]. Resveratrolio priešūždegiminė nauda gali būti siejama su maža širdies ligų ir neurodegeneracinių ligų rizika, tokių kaip Alzheimerio liga, atminties trūkumas ar Parkinsono liga [79].

Antioksidacinė, antiradikalinė veiklioji medžiaga. Resveratrolio antioksidacinis aktyvumas susijęs su jo gebėjimu slopinti: laisvųjų radikalų gamybą, lipidų peroksidaciją, su antioksidantais susijusių fermentų moduliaciją. Vienas iš svarbių antioksidantų fermentų yra mangano superoksido dismutazė, kuri paverčia žalingą laisvąjį radikalo superoksida į molekulinę deguonį ir vandenilio peroksida, užtikrindama ląstelių apsaugą nuo reaktyviųjų deguonies rūšių. Resveratrolis padidina šio fermento išraišką, todėl prisideda prie reaktyviosios deguonies formų mažinimo [81]. Taip pat resveratrolis gali slopinti cirkuliuojančio mažo tankio lipidų frakcijos oksidaciją kraujyje, taip sumažindamas reaktyviųjų deguonies formų susidarymo galimybę [75].

Priešvirusinė veiklioji medžiaga. Resveratrolis turi priešvirusinį poveikį daugeliui virusų: hepatito C virusui, gripo virusui, žmogaus metapneumonijos virusui, enterovirusui, afrikinio kiaulių maro virusui, ŽIV virusui [79]. Jis geba slopinti viruso baltymų gamybą ir genų ekspresiją, pasitelkdamas

skirtingus veikimo mechanizmus. Gripo viruse, jis aktyviai blokuoja branduolio-citoplazmos translokaciją, todėl sumažėja virusinių baltymų ekspresija ir pasireiškia kinazės C slopinimas. Žmogaus imunodeficito viruse (ŽIV-1), jis slopina DNR sintezę. Taip pat įrodyta, kad resveratrolis sustiprina skiriamų vaistų nuo ŽIV poveikį [82].

Antibakterinė ir antigrybelinė veikioji medžiaga. Priešgrybeliniu poveikiu jis veikia: *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* ir *Trichosporon beigellii* rūšis, slopinadamas jų aktyvumą. Antibakteriniškai veikia: *Bacillus*, *Helicobacter pylori*, *Vibrio cholerae*, *Neisseria gonorrhoeae*, slopindamas jų adenozino trifosfato (ATP) sintezę [74].

Antikoagulantinė veikioji medžiaga. Resveratrolis sąveikaudamas su azoto oksidu, gali sukelti kraujagyslių išsiplėtimą, kuris atpalaiduoja arterijas ir kraujagysles. Dėka to, sumažėja kraujospūdis ir pagerėja kraujo tekėjimas visame kūne. Resveratrolis apsaugo nuo trombocitų, sukeliančių krešulius agregacijos [80, 83].

Antidiabetinė veikioji medžiaga. Įrodyta, kad resveratrolis sumažina cukraus kiekį kraujyje po valgio, padidindamas jautrumą insulinui ir sumažindamas diabeto simptomus, tokius kaip nuolatinis didelis alkis ir didelis troškulys [84, 85].

Atlikus mokslinės literatūros analizę nustatyta, kad ME yra naudingos dėl sistemų termodinaminio stabilumo, lengvo paruošimo, gebos įterpti didelį lipofilinių ir hidrofilinių vaistinių medžiagų kiekį. Pastebėta, jog yra atlikta tyrimų, vertinančių skirtingų pagalbinių medžiagų įtaką ME modeliavimui ir kokybės parametrams. Tirta lipofilinės fazės įtaka ME modeliavimui, hidrofilinės fazės įtaka VDD, dinaminei klampai, stabilumui, taip pat S įtaka VDD, dinaminei klampai, KoS įtaka ME modeliavimui, dinaminei klampai, VDD, pH, laidumui. Literatūros analizė parodė, kad ME yra vis plačiau pritaikomos veikliųjų medžiagų pernašai, todėl atsiranda mokslinių tyrimų trūkumas, kurie įvertintų skirtingų pagalbinių medžiagų įtaką ME modeliavimui ir kokybės parametrams. Dėl šios priežasties reikšminga atlikti platesnę ME gamybai naudojamų komponentų paiešką bei įvertinti jų suderinamumą. Įvertinus tokių pagalbinių medžiagų daromą įtaką kokybės parametrams, ateityje būtų lengviau modeliuoti naujas, termodinamiškai stabilias sistemas.

2. Medžiagos ir tyrimų metodai

Tyrimo objektas: sumodeliuotos mikroemulsijos su skirtingomis pagalbinėmis medžiagomis ir mikroemulsijos su resveratroliu.

2.1. Reagentai ir medžiagos.

4 lentelė. Tyrimo metu naudoti reagentai, gamintojas ir jų kilmės šalis

Reagentų pavadinimas	Gamintojas	Kilmės šalis
Izopropilo miristatas	Alfa Aesar GmbH & Co KG	Karlsruhe, Vokietija
Poligliceril-6-izostearatas (Plurol® Isostearique)	Gattefosse	Saint-Priest, Prancūzija
Kapriilo-kaproilo makrogolio gliceridas (Labrasol®)	Gattefosse	Saint-Priest, Prancūzija
Etilo oleatas	Alfa Aesar GmbH & Co KG	Karlsruhe, Vokietija
Alyvuogių aliejus	Carl Roth GmbH+Co	Karlsruhe, Vokietija
Linų sėmenų aliejus	Carl Roth GmbH+Co	Karlsruhe, Vokietija
Etanolis (96 proc.)	AB „Vilniaus degtinė“	Vilnius, Lietuva
Išgrynintas vanduo	LSMU klinikinės farmacijos katedra	Kaunas, Lietuva
Resveratrolis	Naturex	Avignon, Prancūzija

2.2. Naudota įranga

5 lentelė. Tyrimo metu naudota įranga, gamintojas ir jų kilmės šalis

Reagentų pavadinimas	Gamintojas	Kilmės šalis
Svarstyklės (Scaltec SBC 31)	Scaltec Instruments GmbH	Vokietija
Magnetinė maišyklė su kaitinamuoju paviršiumi (IKA® C-MAG HS 7)	IKA® – Werke GmbH & Co.KG	Vokietija
ZetaSizer Nano ZS aparatas	Malvern Instruments, Ltd.	Jungtinė Karalystė
pH-metras 766 su elektrodu (Knick SE 104 N)	Knick Elektronische Messgerate GmbH and Co	Vokietija
Vibracinis viskozimetras (Vibro viscometer SV-10)	A&D Company Ltd.	Japonija
Konduktometras (Cond 3110 SET 1)	ProfiLab24	Vokietija
Termostatinė purtyklė	GFM	Vokietija
IR spektroskopas (TENSOR27, Bruker Vertex 70v)	Bruker Optik GmbH	Vokietija

2.3. Tyrimo metodai ir metodika

2.3.1. Pseudo-trinarių fazių diagramų sudarymas

Pseudo-trinarių fazių diagramos sudarytos, siekiant nustatyti ME susidarymo ribas ir įvertinti komponentų įtaką ME formavimuisi. Tęsiant Robertos Šalčiūtės magistriniam darbe atliktus tyrimus, buvo suformuotos papildomos pseudo-trinarės fazių diagramos [86]. ME gamybai naudoti skirtingi S/KoS santykiai: 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1. ME formavimas vykdytas sumaišant išgrynintą vandenį su paruoštais skirtingų S/KoS santykių mišiniais. S/KoS mišinių ir išgryninto vandens santykiai buvo 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9. Aliejai buvo lašinami į paruoštus mišinius nedideliais kiekiais ir nuolat maišomi ant magnetinės maišyklės. ME susidarymas buvo vertintas vizualiai, kai titruojant mėginys iš skaidrios spalvos pereinavo į sudrumstą sistemą. Nedelsiant susidrumstus, fiksuotas sulašinto aliejaus kiekis. Pagal apskaičiuotus ME sudarančių komponentų procentinius kiekius, atitinkami taškai buvo pažymėti pseudo-trinarėse fazių diagramose [28]. Pseudo-trinarių fazių diagramos sudarytos naudojant „Ternary Plot Generator“ programą.

2.3.2. Mikroemulsijų gamyba

Lipofilinei fazei buvo pasirinkti keturi skirtingi aliejai, du sintetiniai ir du natūralūs. Sintetiniai – izopropilo miristatas (IPM), etilo oleatas (EO), natūralūs – alyvuogių bei linų sėmenų aliejai. Surfaktantas (S) – kaprilo-kaproilo makrogolio gliceridas (KKMG), kosurfaktantai (KoS) – poligliceril-6-izostearatas (PGI) ir etanolis (ET) (96 proc.). Hidrofilinei fazei naudotas išgrynintas vanduo. ME buvo pagamintos titravimo lipofiline faze metodu (angl. *oil titration method*). ME gamintos maišant išgrynintą vandenį su surfaktanto ir kosurfaktanto (S/KoS) mišiniu, lašinant aliejinę fazę ant magnetinės maišyklės [9, 21].

2.3.3. Resveratrolio su mikroemulsijomis gamyba

ME su resveratroliu gamyba vykdyta pirmiausiai paruošiant S/KoS mišinius ir vėliau pridėdant atitinkamą kiekį resveratrolio. Veikliosios medžiagos tirpimas vykdytas, mėginius nuolat maišant ant magnetinės maišyklės. Ištirpinus resveratrolį, pridėta atitinkami kiekiai vandeninės ir aliejinės fazės ir maišyta iki 15 min., 500 aps/min., greičiu. Siekiant apsaugoti resveratrolį nuo šviesos poveikio, visi mėginiai buvo uždengti folijos sluoksniu.

2.3.4. Mikroemulsijų termodinaminio stabilumo nustatymas

Sumodeliuotų ME termodinaminio stabilumui įvertinti, atlikti šildymo-šaldymo (angl. *heating-cooling cycle*) ir užšaldymo-atšildymo (angl. *freeze-thaw cycle*) ciklai [9, 36]. ME laikytos skirtinguose temperatūrose šia seka: 4 °C, 20 °C, 32 °C, 45 °C (šildymo-šaldymo ciklas) ir –21 °C, 4 °C, 25 °C (užšaldymo-atšildymo ciklas). Visose temperatūrose ME laikytos ne mažiau kaip 48 valandas. Homogeniškumas vertintas vizualiai kiekvienoje iš nurodytų temperatūrų, eksperimento pabaigoje. ME vertintos termodinamiškai stabiliomis, jeigu po eksperimento nebuvo fazių atsiskyrimo, nuosėdų susidarymo ar susidrumstimo.

2.3.5. Mikroemulsijų fizikinių-cheminių parametru nustatymas

Pagamintos ME kokybės vertintos vizualiai, ME turėjo išlikti skaidrios, nesudrumstos, homogeniškos, be fazių atsiskyrimo. Zetasizer NanoZS aparatu, naudojant dinaminės šviesos sklaidos metodą, išmatuoti VDD, PDI 25 °C temperatūroje. Klampai matuoti buvo naudojamas

vibracinis viskozimetras, ME elektriniui laidžiui matuoti naudotas konduktometras, o pH reikšmė nustatyta pH metru. Matavimai atlikti praėjus 24 val. po ME pagaminimo [36, 87].

2.3.6. Mikroemulsijų su resveratroliu infraraudonųjų spindulių spektroskopija

Furjė transformacijos spektroskopijos (FT-IR) (angl. *Fourier-transform infrared spectroscopy*) būdu analizės rezultatai buvo gauti naudojant „Bruker Vertex 70v“ spektrometrą, kurio skiriamoji geba yra 4 cm^{-1} . Nedideli kiekiai mėginio buvo užnešami ir suspausti ant deimantinio kristalo, esant $400\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$ sugerties diapazonui. Spektrų gavimo metu, priemonių kamera buvo evakuota žemiau 350 Pa, siekiant pašalinti CO₂ ir vandens garų juostų trukdžius. Gauti skirtingų mėginių FT-IR spektrai buvo analizuojami „Essential FTIR“ programa.

2.3.7. Resveratrolio atpalaidavimas *in vitro* tyrimas

Resveratrolio atpalaidavimo iš ME *in vitro* tyrimas buvo atliktas praėjus 24 valandoms po tiriamųjų mėginių pagaminimo. Tyrimas atliktas naudojant modifikuotas Franz tipo difuzines celes, difuzijos plotas – $1,13\text{ cm}^2$, donorinė fazė nuo akceptorinės fazės buvo atskirta su pusiau pralaidžia celiuliozine membrana. Prieš tyrimą membranos buvo pamerktos ir brinkinamos 24 val. išgrynintame vandenyje, tam kad užsipildytų membranos poros. Donorinė faze buvo naudotos ME su resveratroliu (apie 1 g.). Paruošti švirkštai su pritvirtinta membrana buvo talpinami į akceptorinę terpę, kurią sudarė 40 proc. etanolis. Akceptorinė terpė buvo nuolatos maišoma magnetine maišykle, palaikant $32 \pm 0,5\text{ }^\circ\text{C}$ temperatūrą. Akceptorinės terpės mėginiai imti po 30 min., 1, 2, 4 ir 6 valandų, kiekvieną kartą grąžinant tokį pat tūrį šviežios terpės. Mėginiai buvo filtruojami membraniniais filtrais, o resveratrolio kiekis difuzijos būdu patekęs į akceptorinę terpę, nustatytas taikant efektyviosios skysčių chromatografijos metodą.

2.3.8. Statistinė duomenų analizė

Statistinis tyrimų rezultatų vertinimas atliktas pasitelkiant „Microsoft Office Excel 2013“ ir „IBM SPSS 26“ duomenų analizės paketus. Tyrimai buvo kartoti mažiausiai po 3 kartus, gauti rezultatai pateikti kaip vidutinės reikšmės \pm standartiniai nuokrypiai. Statistinis duomenų vertinimas atliktas pagal vieno faktoriaus dispersinės analizės modelį ANOVA (angl. *One-Way ANOVA*), naudojant LSD (ang. *Least Significant Difference*) kriterijus. Koreliacijai apskaičiuoti naudotas Spirmeno ranginės koreliacijos koeficientas. Statistinis duomenų reikšmingumas nustatytas, kai $p < 0,05$.

3. Rezultatai ir jų aptarimas

3.1. Pagalbinių medžiagų atranka mikroemulsijų modeliavimui

Pagalbinių medžiagų atranka ME modeliavimui buvo vykdoma pagal mokslinėje literatūroje pateiktus duomenis. Nuspręsta, kaip surfaktantą (S) pasirinkti kaprilo/kaproilo makrogolio gliceridą (KKMG), kadangi tai nejoninis junginys, gerai tirpinantis tiek lipofilinės, tiek hidrofilinės kilmės veikliąsias medžiagas, todėl tinkamas modeliuoti vietinio poveikio preparatus. KKMKG padidina veikliųjų junginių skvarbą į biologines membranas, taip padidindamas jų biologinį pasisavinimą [88].

Kosurfaktantais (KoS) pasirinkti etanolis (ET) ir poligliceril-6-izostearatas (PGI). ET parinktas dėl savo struktūroje esančios trumpos anglies grandinės, kuri lemia jo saugumą ir mažą toksiškumą. ET atlieka tirpiklio vaidmenį, sumažina tarpfazinę paviršiaus įtampą ir didina ME formavimosi plotą [28, 89]. Kitu KoS pasirinktas PGI, nes jam būdingos nejoninės savybės, jis sukelia mažą toksiškumą, gerina veikliųjų medžiagų biologinį pasisavinimą, padeda padidinti veikliųjų medžiagų svarbą į odą [90]. Mokslinėje literatūroje įrodyta, jog pagalbines medžiagas, PGI ir KKMKG tarpusavyje gerai suderinamos formuojant ME pasižyminčias tinkamomis pH, laidumo savybėmis, kurios svarbios gaminant vietinio poveikio ME [90, 91].

Siekiant įvertinti aliejinės fazės įtaką ME formavimui, buvo pasirinkti skirtingi aliejiniai: sintetiniai – etilo oleatas (EO) ir izopropilo miristatas (IPM) ir natūralūs – alyvuogių, linų sėmenų aliejai. EO buvo pasirinktas dėl gerų tirpiklio savybių, stabilumo, suderinamumo su kitomis ME naudojamomis medžiagomis (KKMG, PGI) [30]. IPM buvo atrinktas, nes pasižymi netoksišku poveikiu, plačiai naudojamas farmacijoje gaminant skirtingas farmacines formas. Šis junginys taip pat puikiai geba skverbtis į odą. Moksliniais tyrimais įrodyta, kad, IPM derinant su KoS ET, susidaro stabilios ME sistemos [27, 28]. Alyvuogių aliejus buvo pasirinktas dėl to, kad tai vienas iš seniausių žinomų augalinių aliejų, taikomų skirtingų farmacinių formų modeliavimui, yra natūralus ir netoksiškas [57, 63]. Linų sėmenų aliejuje gausu natūralių antioksidantų, vitaminų, polinesočiųjų riebalų rūgščių, jis yra didelis mineralinių medžiagų šaltinis. Aliejų sudaro omega-3 riebalų rūgštys, a-linoleno rūgštys, kurios organizme virsta į eikozapentaeno rūgštį ir veikia priešuždegimiškai. Literatūroje teigiama, kad su natūraliais aliejais sumodeliuotos ME, pasižymi odą drėkinančiomis savybėmis [26]. Šiame tyrime naudotos skirtingos lipofilinės fazės, dėl to kad sintetiniai aliejai pasižymi puikiu suderinamumu su kitomis ME gamybai naudojamomis pagalbėmis medžiagomis, o natūralūs – dėl sudėtyje esančių aukščiau išvardintų naudingų medžiagų.

3.2. Pseudo-trinarių fazių diagramų sudarymas ir vertinimas

Siekiant įvertinti pagalbinių medžiagų įtaką ME modeliavimui, buvo formuotos pseudo-trinarių fazių diagramos. Kai S/KoS santykis buvo 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1. Formavimas vyko titravimo lipofiline faze metodu. Naudojant S – KKMKG bei skirtingus KoS – PGI ir ET bei skirtingas lipofilines fazes – IMP, EO, linų sėmenų, alyvuogių aliejus. Suformuotos 52 pseudo-trinarių fazių diagramos. Pseudo-trinarių fazių diagramose sritys, kurios pseudo-trinarių fazių diagramose yra virš linijos taškų, atitinka tą plotą, kuriame susidaro ME, o žemiau linijos – formuojasi nestabilios, didesnės molekulinės masės struktūros, tokios kaip emulsijos ar makroemulsijos [12, 75].

3.2.1. Aliejinės fazės įtakos mikroemulsijų modeliavimui vertinimas

Formuojant ME su sintetiniais aliejais, buvo nustatyta, kad ME formuojasi platesniame plote nei su augaliniais aliejais. Gaminant dispersines sistemas su KoS PGI, kai aliejinė fazė buvo EO ir IPM, esant santykiams 1:1 ir 2:1, formavosi gelsvai tiršti bei klampūs geliai, todėl šių sistemų buvo atsisakyta tolimesniems tyrimams. Kai buvo naudotas KoS PGI, o aliejinės fazės – EO ir IPM, didžiausias ME susidarymo plotas suformuotas, kai S/KoS santykis 3:1, o mažiausias santykiu – S/KoS 9:1 (žr. 1 priedą) ir (žr. 2 priedą). Mokslinėje literatūroje akcentuojama, kad ME sudarymui yra reikalingi gana dideli PGI ir IPM kiekiai [91]. Gauti tyrimų rezultatai pagrindžia, kad PGI ir IMP pagrindu pagamintos ME pseudo-trinarėje fazių diagramoje formuoja didesnę plotą priklausomai nuo KoS PGI.

Formuojant pseudo-trinares fazių diagramas, kai naudotas KoS ET, o aliejinės fazės EO (žr. 3 priedą) ir IPM (žr. 4 priedą), gauti žymiai mažesni susiformavę ME plotai, lyginant, kai KoS naudotas PGI. Kai KoS naudotas ET, aliejinė fazė EO ir IMP, mažiausias ME susidarymo plotas formuojamas, kai S/KoS santykis yra 1:1, o didžiausias, kai S/KoS santykis yra 9:1. Esant S/KoS santykiams 1:1, 2:1, 3:1, gelių susiformavimas nenustatytas, taip kaip su KoS PGI. Gauti tyrimai pagrindžia literatūroje pateiktus duomenis, kad formuojant ME su KoS ET, ET padeda išvengti standžių struktūrų, tokių kaip gelių, nuosėdų, skystųjų kristalų susidarymo [92].

Modeliuojant pseudo-trinares fazių diagramas, naudojant natūralius aliejus, gauti žymiai mažesni ME susidarymo plotai arba jos išvis nesusidarė, lyginat su sintetiniais aliejais. Modeliuojant dispersinę sistemą, kai KoS yra PGI, o aliejinės fazės yra alyvuogių aliejus ir linų sėmenų aliejus, didžiausi ME susidarymo plotai pseudo-trinarėje fazių diagramoje suformuojami, kai S/KoS santykiai yra 1:1, o mažiausi, kai S/KoS santykis 9:1 (žr. 5 priedą) ir (žr. 6 priedą). Didesnis ME susidarymo plotas pseudo-trinarėse fazių diagramose pastebimas su linų sėmenų aliejumi.

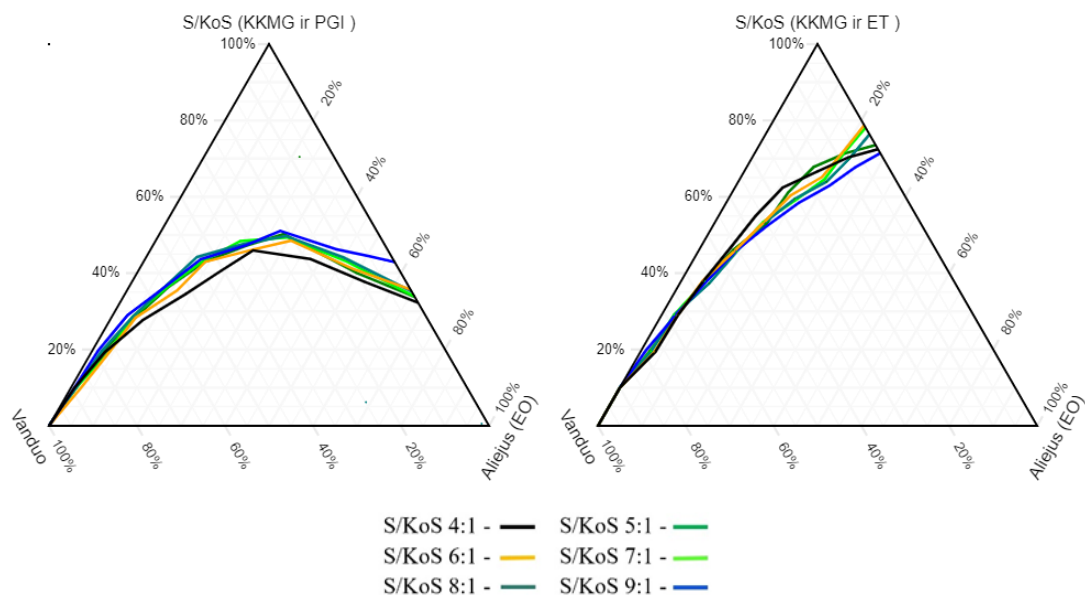
ME formuojant su KoS ET ir alyvuogių bei linų sėmenų aliejais, ME susidarymo plotas buvo labai mažas, lyginant visus S/KoS santykius tarpusavyje, ME susidarymo ploto tendencija buvo panaši (žr. 7 priedą) ir (žr. 8 priedą). Mokslinėje literatūroje pabrėžiama, kad ME formavimas su augaliniais aliejais gali būti sudėtingesnis, nes jų sudėtyje gali būti įvairių komponentų: triacilglicerolių, nedidelių kiekių laisvųjų riebalų rūgščių, glicerolių, fosfatidų, pigmentų, sterolių [33]. Linų sėmenų aliejuje gausu linoleno, linolo, oleino, stearino, palmitino [32]. Įvairios cheminės prigimties junginiai, didelis aliejų hidrofobiškumas galimai sumažino ET, kaip tirpiklio, savybes, dėl kurių padidėjo tarpfazinė įtemptis, o tai galėjo turėti įtakos ME susidarymui [31].

3.2.2. Kosurfaktanto įtakos mikroemulsijų modeliavimui vertinimas

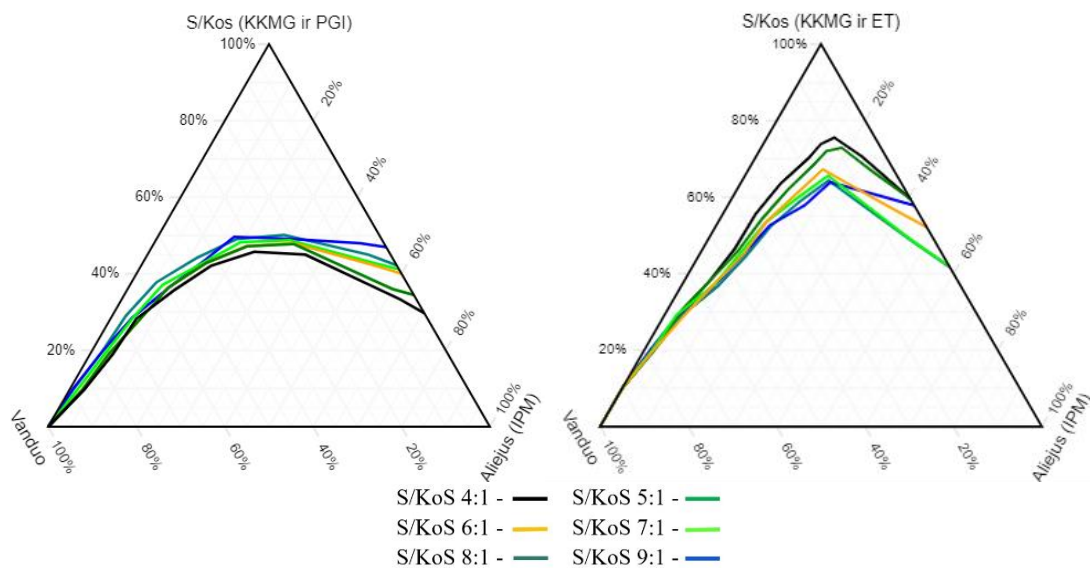
Atlikus pseudo-trinarių fazių diagramų vertinimą, nustatyta, kad pasirinkti KoS turi įtakos ME formavimosi plotui pseudo-trinarių fazių diagramoje. Gaminant dispersines sistemas su KoS PGI, pseudo-trinarių fazių diagramose užimamas plotas buvo daug didesnis nei formuojant dispersines sistemas su KoS ET. 6 ir 7 paveiksluose pateikiamas palyginimas, kaip KoS daro įtaką ME formavimuisi pseudo-trinarių fazių diagramose, kai aliejine faze naudojamas EO ir IPM.

Tyrimu rezultatai rodo, jog naudojant KoS PGI tiek su EO, tiek su IPM, formuojami plotai pseudo-trinarių fazių diagramose yra panašūs. Didesni ME plotai formuojami su KoS ET, kai aliejinė fazė yra IPM.

Formuojant pseudo-trinares fazių diagramas, nustatyta, kad KoS turi įtakos ME formavimuisi, kai aliejinėmis fazėmis pasirinkti ir augaliniai aliejai (žr. 8 pav.)(žr. 9 pav.). Pseudo-trinarėse fazių diagramose, kai KoS naudotas PGI, ME sistemos suformuojamos didesniame plote nei su KoS ET.



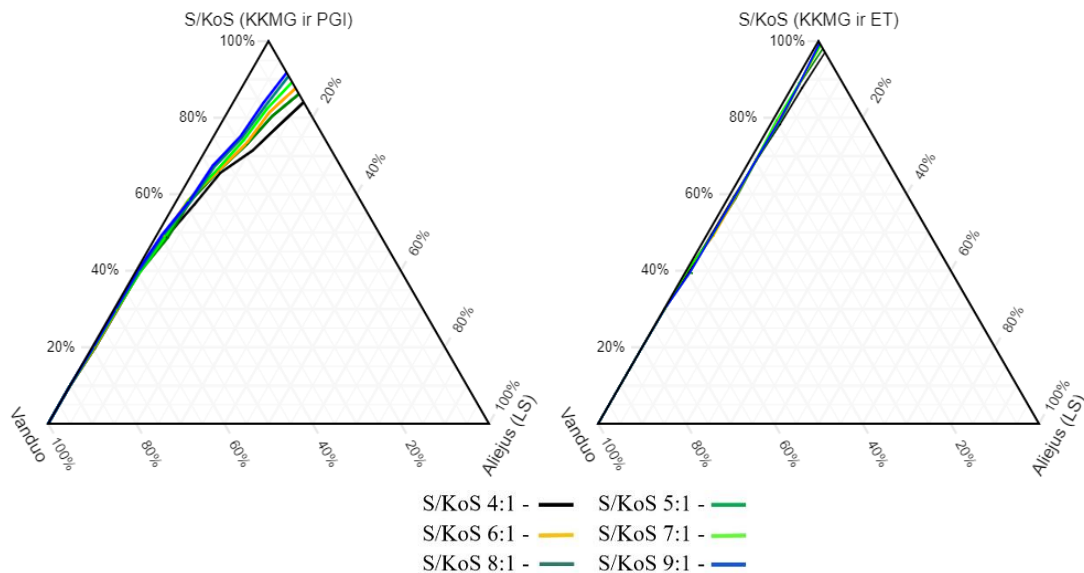
6 pav. Pseudo-trinarės fazių diagramos su S – KMG, aliejinė fazė – EO, KoS – PGI (kairėje) ir KoS – ET (dešinėje)



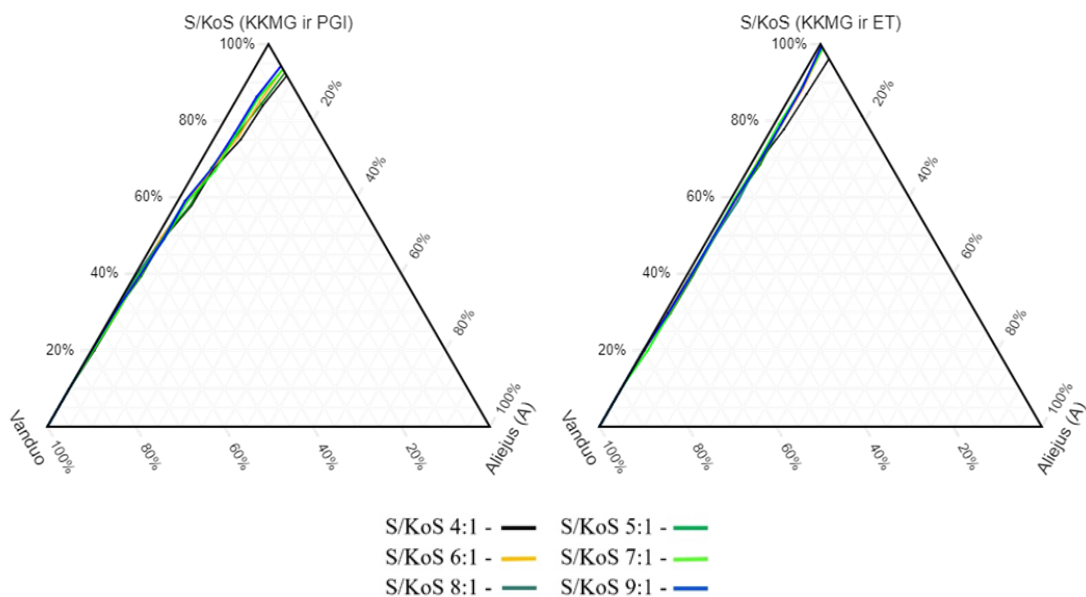
7 pav. Pseudo-trinarės fazių diagramos su S – KMG, aliejinė fazė – IMP, KoS – PGI (kairėje) ir su KoS – ET (dešinėje)

Analizuojant literatūros duomenis, nustatyta, kad pagalbinės medžiagos turi įtakos ME formavimuisi pseudo-trinarėse fazių diagramose. Suzaimah Ramli su savo grupe, moksliniame darbe ME modeliavimui parinko šiuos komponentus: S – polisorbata 20, KoS – glicerolį, aliejinę fazę – limonena, hidrofilinę fazę – išgrynintą vandenį. Nustatyta, kad esant S/KoS santykiui 1:1, užimamas plotas pseudo-trinarėje fazių diagramoje buvo tik 2,2 proc., tačiau padidinus S kiekį, esant S/KoS

santykiui 3:1, ME susidarymo plotas padidėjo iki 27,8 proc. Tolimesniame tyrime pakeitus KoS į polietilenglikolį 400, esant santykiu S/KoS 3:1, ME susidarymo plotas pseudo-trinarėje fazių diagramoje padidėjo iki 30,2 proc. [93]. Šio tyrimo rezultatai pagrindžia, jog naudojamos pagalbinės medžiagos gali keisti ME formavimosi plotą pseudo-trinarėse fazių diagramose.



8 pav. Pseudo-trinarės fazių diagramos su S – KMG, aliejinė fazė – linų sėmenų aliejus, KoS – PGI (kairėje) ir su KoS – ET (dešinėje)



9 pav. Pseudo-trinarės fazių diagramos su S – KMG, aliejinė fazė – alyvuogių aliejus, KoS – PGI (kairėje) ir su KoS – ET (dešinėje)

Apibendrinant šio tyrimo rezultatus, galima teigti, jog naudotų pagalbinių medžiagų pasirinkimas ir jų santykis, modeliuojant ME sistemas, turi įtakos jų formavimosi plotui pseudo-trinarėse fazių diagramose.

3.3. Mikroemulsijų fizikinių-cheminių parametrų vertinimas

Atlikus pagalbinių medžiagų atranką ir įvertinus ME susidarymo ribas buvo atrinkta viena ME sudėtis, kuri dominavo visose pseudo-trinarėse fazių diagramose (žr. 6 lentelę). ME sudarantys komponentai buvo šie: S – KKMg, KoS – PGI ir ET, lipofilinės fazės – IMP, EO, linų sėmenų ir alyvuogių aliejai, hidrofilinė fazė – išgrynintas vanduo.

6 lentelė. ME sudėtis

Mikroemulsijų komponentai	Kiekis, proc.
Surfaktanto ir kosurfaktanto mišinys	59
Hidrofilinė fazė	39,3
Lipofilinė fazė	1,7

Visos pagamintos ME buvo termodinamiškai stabilios, jos išliko skaidrios, nepastebėta susidrumstimo, nuosėdų susidarymo ar fazių išsisluoksniavimo. Sumodeliuotų ME kokybė buvo vertinta pagal ME kokybės rodiklius: matuojant VDD, PDI, smailių skaičių, klampą, pH reikšmę ir elektrinį laidį.

3.3.1. Mikroemulsijų su kosurfaktantu poligliceril-6-izostearatu fizikinių-cheminių parametrų vertinimas

Siekiant ištirti pagalbinių medžiagų įtaką ME kokybiniais parametrams, buvo pagamintos ME, kai KoS naudotas PGI, o aliejinės fazės: IPM, EO, linų sėmenų aliejus, alyvuogių aliejus. ME su skirtingomis aliejinėmis fazėmis fizikiniai-cheminiai parametrai, pateikti 7, 8, 9, 10 lentelėse.

7 lentelė. ME kokybiniai parametrai, aliejinę fazę naudojant EO

S/KoS (KKMG/PGI)	VDD, nm	PDI	Klampa, mPa·s	pH	Elektrinis laidis, $\mu\text{S}/\text{cm}$	Smailių skaičius
3:1	67,43 \pm 6,43	0,464 \pm 0,025	81,20 \pm 0,05	7,28 \pm 0,01	144,00 \pm 0,41	1
4:1	66,84 \pm 1,10	0,427 \pm 0,014	76,40 \pm 0,05	7,33 \pm 0,01	117,30 \pm 0,25	1
5:1	107,30 \pm 0,52	0,434 \pm 0,084	60,50 \pm 0,29	7,28 \pm 0,01	101,30 \pm 0,23	1
6:1	63,39 \pm 2,13	0,447 \pm 0,027	59,70 \pm 0,17	7,26 \pm 0,01	87,20 \pm 0,12	1
7:1	87,59 \pm 6,55	0,516 \pm 0,045	56,20 \pm 0,05	7,24 \pm 0,01	80,00 \pm 0,17	1
8:1	66,29 \pm 4,06	0,432 \pm 0,014	51,80 \pm 0,13	7,24 \pm 0,01	69,20 \pm 0,08	1
9:1	86,22 \pm 5,50	0,467 \pm 0,011	50,10 \pm 0,13	7,22 \pm 0,01	64,20 \pm 0,94	1

Modeliuojant sistemas, kai aliejinė fazė EO, nustatyta, kad VDD vyravo nuo 63,39 nm iki 107,3 nm, o ME su aliejinė faze IPM, VDD nuo 77,86 nm iki 92,07 nm, linų sėmenų aliejumi nuo VDD 57,61 nm iki 66,12 nm, alyvuogių aliejumi VDD nuo 61,74 nm iki 86,18 nm. Nustatyti VDD buvo mažesni nei 200 nm, todėl pagamintos dispersinės sistemos atitiko joms taikomus dalelių dydžio reikalavimus [6, 17].

8 lentelė. ME kokybiniai parametrai, aliejinę fazę naudojant IPM

S/KoS (KKMG/PGI)	VDD, nm	PDI	Klampa, mPa·s	pH	Elektrinis laidis, μS/cm	Smailių skaičius
3:1	59,99 ± 1,05	0,396 ± 0,040	81,50 ± 0,05	7,26 ± 0,01	143,60 ± 0,39	1
4:1	66,12 ± 1,80	0,378 ± 0,062	68,90 ± 0,12	7,25 ± 0,01	119,80 ± 0,21	1
5:1	60,04 ± 0,85	0,392 ± 0,036	65,50 ± 0,05	7,24 ± 0,01	101,60 ± 0,15	1
6:1	60,83 ± 1,52	0,405 ± 0,049	60,60 ± 0,31	7,28 ± 0,01	80,80 ± 0,43	1
7:1	60,70 ± 1,24	0,375 ± 0,047	56,00 ± 0,05	7,21 ± 0,01	72,50 ± 0,17	1
8:1	60,44 ± 2,21	0,388 ± 0,069	54,90 ± 0,08	7,21 ± 0,01	68,20 ± 0,05	1
9:1	57,61 ± 0,87	0,353 ± 0,051	41,40 ± 0,05	7,20 ± 0,01	61,40 ± 0,13	1

9 lentelė. ME kokybiniai parametrai, aliejinę fazę naudojant linų sėmenų aliejų

S/KoS (KKMG/PGI)	VDD, nm	PDI	Klampa, mPa·s	pH	Elektrinis laidis, μS/cm	Smailių skaičius
3:1	79,08 ± 0,48	0,457 ± 0,005	81,20 ± 0,19	7,20 ± 0,05	140,00 ± 0,22	1
4:1	88,35 ± 1,94	0,491 ± 0,030	71,40 ± 0,25	7,21 ± 0,01	106,10 ± 0,22	2
5:1	77,86 ± 3,55	0,476 ± 0,085	65,60 ± 0,45	7,23 ± 0,01	94,00 ± 0,76	2
6:1	83,09 ± 1,24	0,467 ± 0,026	61,00 ± 0,13	7,18 ± 0,02	81,40 ± 0,25	2
7:1	79,38 ± 6,44	0,468 ± 0,065	58,60 ± 0,05	7,19 ± 0,01	65,70 ± 0,08	2
8:1	92,07 ± 0,45	0,330 ± 0,024	54,50 ± 0,13	7,19 ± 0,01	65,70 ± 0,09	2
9:1	88,99 ± 8,83	0,373 ± 0,089	51,40 ± 0,08	7,19 ± 0,01	58,00 ± 0,14	1

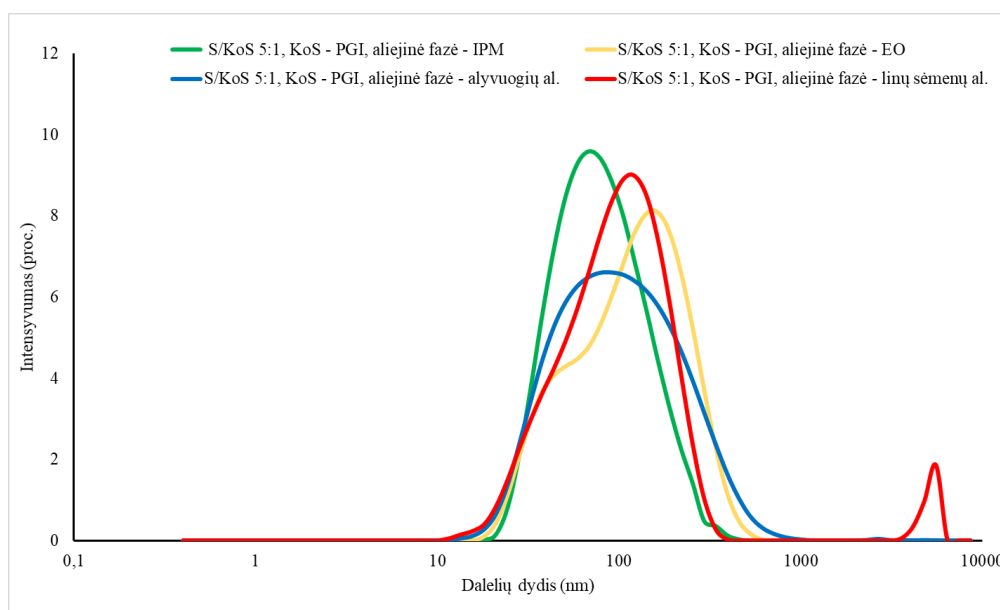
10 lentelė. ME kokybiniai parametrai, aliejinę fazę naudojant alyvuogių aliejų

S/KoS (KKMG/PGI)	VDD, nm	PDI	Klampa, mPa·s	pH	Elektrinis laidis, μS/cm	Smailių skaičius
3:1	86,18 ± 2,72	0,519 ± 0,041	83,40 ± 0,09	7,13 ± 0,01	145,00 ± 0,66	2
4:1	76,64 ± 4,37	0,497 ± 0,019	74,60 ± 0,21	7,18 ± 0,01	123,80 ± 0,36	1
5:1	72,27 ± 3,41	0,478 ± 0,027	72,60 ± 0,05	7,17 ± 0,01	101,20 ± 0,31	1
6:1	72,83 ± 5,12	0,479 ± 0,075	67,00 ± 0,13	7,18 ± 0,01	90,30 ± 0,19	1
7:1	80,09 ± 3,65	0,482 ± 0,044	61,20 ± 0,14	7,17 ± 0,01	79,20 ± 0,08	1
8:1	68,24 ± 3,53	0,435 ± 0,028	57,80 ± 0,09	7,17 ± 0,01	71,60 ± 0,17	1
9:1	61,74 ± 0,31	0,445 ± 0,007	54,50 ± 0,16	7,16 ± 0,01	64,90 ± 0,14	1

Vertinant pagamintų ME PDI, rezultatai buvo lyginami su literatūroje pateikiamomis PDI reikšmėmis. Pagal pateiktus duomenis, ME yra homogeniškesnės ir stabilesnės esant PDI reikšmėms nuo 0,1 iki 0,5. Šis intervalas parodo, kad dispersinės sistemos dalelės yra pasiskirsčiusios siauresniame intervale. Esant didesnei PDI reikšmei negu 0,5, sistema laikoma heterogeniška [50,

54]. Suformavus ME su KoS PGI, kai aliejinė fazė – EO, nustatytas PDI buvo nuo 0,427 iki 0,516, ME su aliejinė fazė – IPM nuo 0,330 iki 0,491, linų sėmenų aliejus nuo 0,353 iki 0,405, alyvuogių aliejus nuo 0,435 iki 0,519. Tyrimo rezultatai parodė, kad pagamintos ME su KoS PGI, kai aliejinės fazės – IPM ir linų sėmenų aliejus, atitiko PDI keliamus reikalavimus ir reikšmės buvo mažesnės nei 0,5, todėl galima teigti, kad sistemos buvo homogeniškos. Formuojant ME su aliejinė faze – alyvuogių aliejumi ir EO, kai kurios gautos PDI vertės buvo didesnės nei 0,500. Kai aliejinė fazė buvo alyvuogių aliejus, esant S/KoS santykiui 3:1, PDI siekė $0,519 \pm 0,041$, o kai aliejinė fazė buvo EO, S/KoS santykiu 7:1, PDI buvo $0,516 \pm 0,045$. Atsižvelgiant į gautus rezultatus, šios ME pasižymėjo mažesniu sistemos homogeniškumu.

Buvo išmatuota sumodeliuotų ME dinaminė klampa ir pH vertės. Išmatavus visų ME dinaminę klampą, ji svyravo nuo 41,4 mPa·s iki 83,4 mPa·s. Duomenų statistinė analizė parodė, labai stiprią neigiamą tiesinę koreliaciją tarp S/KoS santykio ir klamos ($r = -1,0$), kuri parodė, kad didėjant S/KoS santykiui klampa mažėjo, dėl didėjančio S ir mažėjančio KoS kiekių ME. Didžiausia ME dinaminė klampa nustatyta esant S/KoS 3:1, o mažiausia esant S/KoS 9:1 santykiams, nepriklausomai nuo naudojamos aliejinės fazės. Nustatius suformuotų ME sistemų su skirtingais aliejais pH reikšmes, jos svyravo nuo 7,16 iki 7,33. Šie rezultatai rodo, kad ME modeliavimui naudojant KoS PGI, ME pasižymėjo šarminėmis savybėmis.



10 pav. Dalelių dydžio pasiskirstymo palyginimas, kai KoS – PGI, esant S/KoS santykiui 5:1, aliejinės fazės – EO, IPM, alyvuogių ir linų sėmenų aliejai

Vertinant dalelių dydžio pasiskirstymą pagal išsklaidytos šviesos grafikus, ME dalelės pasiskirstė vienoje arba dvejose smailėse (žr. 10 pav.). Vertinant ME, kurių gamybai naudoti sintetiniai aliejai – EO ir IPM, nepriklausomai nuo S/KoS santykio, ME dalelės pasiskirstė vienoje smailėje. Tyrimo rezultatai parodė, kad aliejinė faze naudojant linų sėmenų aliejų, esant S/KoS santykiams 4:1, 5:1, 6:1, 7:1 ir 8:1, dalelės pasiskirstė dvejose smailėse. Kai aliejinė faze pasirinktas alyvuogių aliejus, dvi smailės nustatytos esant santykiui S/KoS 3:1. Gauti rezultatai parodė, kad ME, kurių dalelės pasiskirsčiusios dvejose smailėse, pasižymi mažesniu sistemos homogeniškumu.

Elektrinio laidžio matavimai atlikti siekiant įvertinti pagamintų ME tipą. Aukštos elektrinio laidžio vertės nuo 10 $\mu\text{S}/\text{cm}$ iki 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$ rodo, kad suformuojamos A/V tipo ME. Tuo tarpu žemos laidumo

vertės, rodo V/A tipo ME [64]. Įvertinus visas sumodeliuotas ME, naudojant skirtingas aliejinės fazes, vertės svyravo nuo 58 $\mu\text{S}/\text{cm}$ iki 145 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Didžiausiu laidumu pasižymėjo ME, kurių S/KoS santykis buvo 3:1, o mažiausios vertės gautos esant S/KoS santykiui 9:1, nepriklausomai nuo pasirinktos aliejinės fazės. Atlikus statistinę duomenų analizę, nustatyta labai stipri neigiama tiesinė koreliacija tarp S/KoS santykio ir laidumo ($r = -0,964$) – didėjant S kiekiui ir mažėjant KoS kiekiui, elektrinis laidis mažėjo. Atsižvelgiant į gautas laidžio vertes, galima tvirtinti, jog sumodeliuotos ME buvo A/V tipo.

Atlikus sumodeliuotų ME su KoS PGI kokybės vertinimą, nustatyta, jog pagalbinės medžiagos turi įtakos ME fizikiniams-cheminiams parametrams. Nepriklausomai nuo ME gamybai naudojamos aliejinės fazės, visos sumodeliuotos ME su KoS PGI, atitiko kokybinius parametrus.

3.3.2. Mikroemulsijų su kosurfaktantu etanolio fizikinių-cheminių parametru vertinimas

Siekiant ištirti pagalbinių medžiagų įtaką ME kokybiniams parametrams, buvo pagamintos ME, kai KoS naudotas ET, o aliejinės fazės: IPM ir EO. ME sistemos su KoS ET ir natūraliais aliejais nebuvo toliau tirtos, nes ME nesusiformavo. ME fizikiniai-cheminiai parametrai su skirtingomis aliejinėmis fazėmis pateikti 11 ir 12 lentelėse.

11 lentelė. ME kokybiniai parametrai, aliejinę fazę naudojant EO

S/KoS (KKMG/ET)	VDD, nm	PDI	Klampa, mPa·s	pH	Elektrinis laidis, $\mu\text{S}/\text{cm}$	Smailių skaičius
1:1	30,74 \pm 0,59	0,280 \pm 0,005	4,50 \pm 0,02	5,67 \pm 0,01	6,60 \pm 0,05	2
2:1	45,77 \pm 1,35	0,537 \pm 0,015	9,62 \pm 0,09	5,54 \pm 0,01	7,40 \pm 0,05	2
3:1	29,08 \pm 0,42	0,289 \pm 0,007	10,50 \pm 0,14	5,53 \pm 0,01	7,60 \pm 0,08	2
4:1	33,35 \pm 0,34	0,298 \pm 0,007	14,30 \pm 0,03	5,76 \pm 0,01	7,20 \pm 0,05	2
5:1	37,66 \pm 0,80	0,370 \pm 0,054	18,30 \pm 0,17	5,64 \pm 0,04	8,00 \pm 0,05	2
6:1	36,98 \pm 0,25	0,301 \pm 0,007	18,10 \pm 0,25	5,49 \pm 0,03	8,50 \pm 0,05	2
7:1	39,55 \pm 0,72	0,330 \pm 0,057	20,00 \pm 0,29	5,61 \pm 0,02	8,50 \pm 0,05	2
8:1	40,25 \pm 0,33	0,304 \pm 0,055	21,20 \pm 0,08	5,44 \pm 0,05	8,50 \pm 0,09	2
9:1	43,40 \pm 0,70	0,312 \pm 0,007	22,50 \pm 0,16	5,73 \pm 0,01	8,60 \pm 0,05	2

Modeliuojant ME sistemas su KoS ET, VDD vertės neviršijo 100 nm. ME VDD su KoS ET, kai aliejinė fazė – EO, VDD buvo nuo 29,08 nm iki 45,77 nm, kai aliejinė fazė – IPM, gautas VDD nuo 28,06 nm iki 73,58 nm.

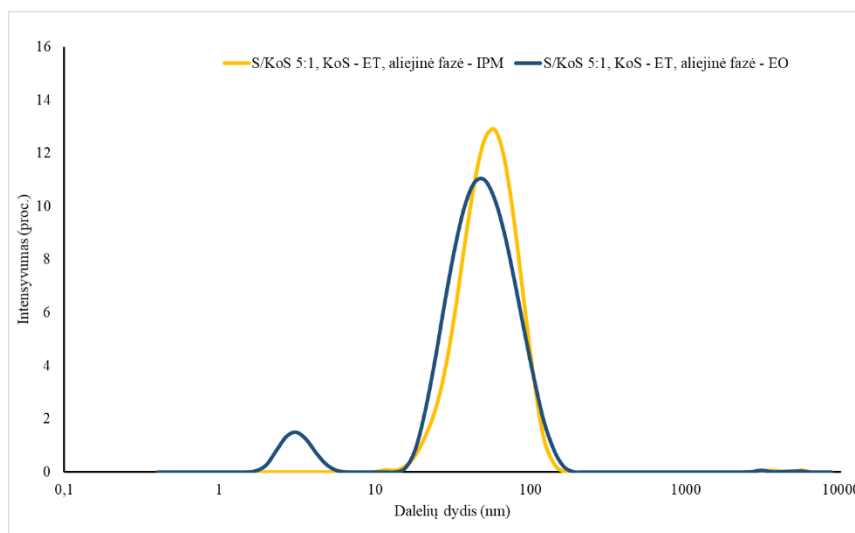
Suformavus ME su KoS ET, kai aliejinė fazė – EO, nustatytas PDI buvo nuo 0,280 iki 0,537, ME su aliejinė faze – IPM nuo 0,300 iki 0,647. Tyrimo rezultatai parodė, kad beveik visos sumodeliuotos ME su KoS ET, kai aliejinės fazės buvo IPM ir EO, atitiko keliamus PDI kokybės reikalavimus, išskyrus santykiu S/KoS 2:1. Suformavus ME esant S/KoS santykiu 2:1, kai aliejinė fazė – EO, PDI siekė 0,537 \pm 0,015, o su aliejinė faze – IPM, PDI siekė 0,647 \pm 0,029. Šie rezultatai rodo, kad sistemos pasižymėjo mažesniu homogeniškumu.

Ištirta visų sumodeliuotų ME su KoS ET dinaminė klampa ir pH reikšmė. Nustatyta dinaminė klampa su KoS ET, svyravo nuo 4,5 mPa·s iki 25,7 mPa·s. Gauta labai stipri teigiama tiesinė koreliacija tarp S/KoS santykio ir klamos, kai aliejinė fazė – EO ($r = 0,983$), ir kai aliejinė fazė – IPM ($r = 1,000$).

12 lentelė. ME kokybiniai parametrai, aliejinę fazę naudojant IPM

S/KoS (KKMG/ET)	VDD, nm	PDI	Klampa, mPa·s	pH	Elektrinis laidis, $\mu\text{S}/\text{cm}$	Smailių skaičius
1:1	28,06 ± 1,48	0,402 ± 0,071	3,90 ± 0,04	5,73 ± 0,02	7,10 ± 0,05	2
2:1	73,58 ± 5,54	0,647 ± 0,029	8,10 ± 0,10	5,85 ± 0,03	8,20 ± 0,05	2
3:1	30,79 ± 0,34	0,300 ± 0,003	12,90 ± 0,13	5,74 ± 0,05	8,60 ± 0,08	2
4:1	35,98 ± 0,36	0,371 ± 0,003	14,20 ± 0,43	5,75 ± 0,05	8,90 ± 0,05	2
5:1	38,93 ± 2,23	0,363 ± 0,053	17,40 ± 0,26	5,71 ± 0,03	9,40 ± 0,05	1
6:1	61,57 ± 5,26	0,346 ± 0,051	19,70 ± 0,08	5,55 ± 0,02	9,60 ± 0,05	1
7:1	65,98 ± 1,81	0,404 ± 0,057	20,90 ± 0,54	5,46 ± 0,05	9,60 ± 0,05	1
8:1	44,20 ± 3,95	0,351 ± 0,042	23,60 ± 0,09	5,53 ± 0,03	9,80 ± 0,08	1
9:1	65,89 ± 4,92	0,405 ± 0,034	25,70 ± 0,05	5,49 ± 0,01	10,0 ± 0,05	1

Klampa didėjo, dėl didėjančio S ir mažėjančio KoS kiekių ME. Suformuotų ME pH reikšmė buvo nuo 5,44 iki 5,85, (silpnai rūgštinis). Atlikus statistinę analizę, kai ME modeliuota su aliejinė fase – IPM, nustatyta stipri neigiama koreliacija tarp S/KoS kiekių ir pH reikšmės ($r = -0,833$) – didėjant S ir mažėjant KoS kiekiams, pH reikšmė mažėjo. Modeliuojant ME su aliejinė fase – EO, tokia koreliacija nebuvo nustatyta.



11 pav. Dalelių dydžio pasiskirstymas, kai KoS – ET, S/KoS 5:1, aliejinės fazės – EO, IPM

Įvertinus ME su aliejinė fase – EO dalelių dydžio pasiskirstymą, dalelės pasiskirstė dvejose smailėse. ME su aliejinė fase – IPM, esant S/KoS santykiams 5:1, 6:1, 7:1, 8:1 ir 9:1, dalelės pasiskirstė vienoje smailėje, o S/KoS santykiais 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, dvejose. Dalelių dydžio pasiskirstymas, kai KoS ET, esant santykiui S/KoS 5:1 ir aliejinėms fazėms – EO ir IPM pavaizduotas 11 paveiksle.

Atlikus elektrinio laidžio matavimus, nustatyta, kad ME formuojant su KoS ET, kai aliejinės fazės – EO ir IPM, elektrinis laidis svyravo nuo 6,6 $\mu\text{S}/\text{cm}$ iki 10 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Statistinė analizė parodė labai stiprią teigiamą tiesinę koreliaciją tarp S/KoS kiekio ir laidžio ($r = 0,966$) – didėjant S kiekiui ir mažėjant KoS kiekiui, elektrinis laidis didėjo. Elektrinio laidžio matavimai parodė, kad pagamintos ME yra A/V tipo, nes vertės yra didesnės, negu vandens laidžio (1.5 $\mu\text{S}/\text{cm}$) [89].

Apibendrinant visus šio tyrimo gautus rezultatus, galima teigti, kad pagalbinės medžiagos turi įtakos ME kokybės parametrams. Remiantis mokslinės literatūros duomenimis ir gautais tyrimų rezultatais, buvo įrodyta, kad pasirinktas KoS turi įtakos VDD ir PDI [36]. Statistinė duomenų analizė parodė, kad reikšmingai mažesnės VDD ir PDI vertės gaunamos, gaminant ME su KoS ET, o ne su KoS PGI ($p < 0,05$). Tyrimo rezultatai pagrindžiami mokslininkų pateiktais duomenimis, kad formuojant ME su KoS ET yra gaunamos mažesnės dispersinės sistemos dalelės nei formuojant ME su KoS PGI [94].

Palyginus pagamintas ME su KoS ET ir ME su KoS PGI, dinaminės kampos vertės skyrėsi. Sumodeliuotų visų ME su KoS PGI klampa buvo didesnė negu ME su KoS ET. Todėl, galima daryti išvadą, kad ME klampai didesnę įtaką turėjo didesnė gryno KoS PGI klampa, lyginant su KoS ET. Šie rezultatai koreliuoja su kito mokslinio tyrimo rezultatais, kad modeliuojant ME su ET, gaunama dinaminė klampa yra mažesnė negu su KoS PGI [94].

Atlikti elektrinio laidžio matavimai, parodė, kad ME formuojant su KoS ET, gaunamos vertės buvo mažesnės negu formuojant ME su KoS PGI. Pagal literatūroje pateiktus duomenis, tai gali būti siejami su žema gryno ET laidžio verte (0.516 $\mu\text{S}/\text{cm}$) [95]. Taip pat buvo pastebėta, kad pagaminus ME naudojant KoS ET, didinant S kiekį ir mažinant KoS kiekį, elektrinis laidis didėjo, priešingai nei ME su KoS PGI. Nustatytos pH reikšmės ME su KoS ET skyrėsi nuo ME su KoS PGI reikšmių, nes naudojant KoS ET, gautos rūgštinės ME, o su KoS PGI – šarminės. Gauti rezultatai sutampa su literatūroje pateiktais duomenimis, jog modeliuojant sistemas su ME KoS ET, elektrinio laidžio ir pH vertės yra mažesnės negu KoS PGI [3, 40].

Įvertinus sumodeliuotas ME su KoS PGI dalelių dydžio pasiskirstymą smailėse, nustatyta, kad homogeniškesnės sistemos gautos, kai ME gamybai naudotos aliejinės fazės buvo IPM ir EO nei su linų sėmenų ir alyvuogių aliejais. Lyginant dalelių dydžio pasiskirstymą smailėse, tarp skirtingų KoS, mažiau homogeniškos sistemos gautos, kai KoS buvo KoS ET. Dalelių dydžio pasiskirstymas smailėse su KoS ET įvertintas tik su aliejinėmis fazėmis – IPM ir EO, nes su alyvuogių ir linų sėmenų aliejais ME sistemos nebuvo suformuotos, dėl galimų augaliniuose aliejuose esančių sudėtingos cheminės prigimties junginių poveikio, kurie sumažino ET kaip tirpiklio savybes ir padidino tarpfazinę įtempį [31, 32, 33].

3.4. Mikroemulsijų su resveratroliu fizikinių-cheminių parametrų vertinimas

Siekiant įvertinti veikliosios medžiagos įtaką ME kokybiniam parametrams, tolimesniems tyrimams pasirinktos tos ME, kurioms pasižymėjo mažiausiu VDD ir mažiausiu PDI. Remiantis gautais tyrimo rezultatais, pasirinktos ME, kurių S/KoS santykiai 3:1 ir 9:1. ME formuojant su KoS ET, mažiausios VDD gautos esant S/KoS santykiui 3:1, o gaminant su KoS PGI, priklausomai nuo aliejinės fazės, mažiausi VDD arba PDI gauti esant S/KoS santykiui 9:1. Į atrinktas ME buvo nuspręsta įterpti 1 proc. veikliosios medžiagos. Modeliuojamų ME sudėtis pateikta 13 lentelėje.

13 lentelė. Mikroemulsijų su resveratroliu sudėtis

Mikroemulsijų komponentai	Kiekis, proc.
Surfaktanto ir kosurfaktanto mišinys	58,66
Hidrofilinė fazė	38,97
Lipofilinė fazė	1,37
Veiklioji medžiaga	1

Atlikus vizualinį pagamintų ME-RES vertinimą, po 24 valandų ekvibracijos, nustatyta, jog visos pagaminto sistemos išliko skaidrios ir nesudrumstos. Atlikus termodinaminį vertinimą, ME-RES išliko termodinamiškai stabilos. Norint ištirti ar įterpta veiklioji medžiaga turi įtakos VDD, PDI, klampai, elektriniam laidžiui ir pH reikšmei buvo lyginamos ME be resveratrolio ir ME su įterptu resveratroliu. Išmatuoti ME-RES kokybiniai parametrai, kai KoS – PGI ir ET, pateikiami 14 ir 15 lentelėse.

14 lentelė. ME-RES fizikiniai-cheminiai parametrai, naudojant KoS – PGI

S/KoS (KKMG /PGI)	Aliejus	VDD, nm	PDI	Klampa, mPa·s	pH	Elektrinis laidis, $\mu\text{S}/\text{cm}$	Smalių sk.
3:1	EO	77,02 \pm 0,58	0,410 \pm 0,007	74,0 \pm 0,08	7,09 \pm 0,01	136,30 \pm 0,05	1
9:1	EO	86,52 \pm 2,71	0,428 \pm 0,017	47,80 \pm 0,17	7,13 \pm 0,01	57,90 \pm 0,08	1
3:1	IPM	90,87 \pm 3,43	0,446 \pm 0,059	76,30 \pm 0,08	7,10 \pm 0,01	136,70 \pm 0,05	1
9:1	IPM	76,63 \pm 0,78	0,328 \pm 0,040	49,60 \pm 0,82	7,20 \pm 0,01	55,30 \pm 0,05	1
3:1	Linų s.	145,80 \pm 2,82	0,270 \pm 0,005	70,70 \pm 0,63	7,13 \pm 0,01	134,50 \pm 0,05	2
9:1	Linų s.	135,10 \pm 3,99	0,412 \pm 0,045	54,10 \pm 0,17	7,13 \pm 0,01	57,70 \pm 0,16	2
3:1	Alyvuogių	88,68 \pm 1,41	0,449 \pm 0,068	75,80 \pm 0,24	7,17 \pm 0,01	132,70 \pm 0,05	2
9:1	Alyvuogių	82,16 \pm 0,73	0,408 \pm 0,059	41,80 \pm 0,21	7,13 \pm 0,01	56,50 \pm 0,05	2

15 lentelė. ME-RES fizikiniai-cheminiai parametrai, naudojant KoS – ET

S/KoS (KKMG /ET)	Aliejus	VDD, nm	PDI	Klampa, mPa·s	pH	Elektrinis laidis, $\mu\text{S}/\text{cm}$	Smalių skaičius
3:1	EO	44,19 \pm 2,34	0,322 \pm 0,035	8,45 \pm 0,07	5,50 \pm 0,01	7,20 \pm 0,05	2
9:1	EO	91,20 \pm 0,39	0,503 \pm 0,036	22,50 \pm 0,13	5,32 \pm 0,01	7,57 \pm 0,05	1
3:1	IPM	51,25 \pm 1,75	0,349 \pm 0,025	10,60 \pm 0,08	5,68 \pm 0,01	7,30 \pm 0,05	1
9:1	IPM	72,17 \pm 2,65	0,385 \pm 0,042	20,60 \pm 0,08	5,53 \pm 0,03	8,27 \pm 0,05	1

Rezultatai parodė, jog įterpus 1 proc. resveratrolio į pasirinktas ME sistemas, ME-RES VDD statistiškai reikšmingai padidėjo ($p < 0,05$). Įvertinus ME, kai KoS ET, gautas VDD buvo nuo 44,19 nm iki 91,20 nm, su KoS PGI nuo 77,02 nm iki 145,80 nm. Lyginant modeliuotas ME-RES ir ME be resveratrolio, kai KoS ET, o aliejinė fazė EO, VDD padidėjo 52 proc. (S/KoS 3:1), 110 proc. (S/KoS 9:1), kai aliejinė fazė IPM, VDD padidėjo 65,5 proc. (S/KoS 3:1) ir 9,5 proc. (S/KoS 9:1). Kai KoS naudotas PGI, o aliejinė fazė EO, VDD padidėjo 14,2 proc. (S/KoS 3:1) ir 0,3 proc. (S/KoS 9:1), kai

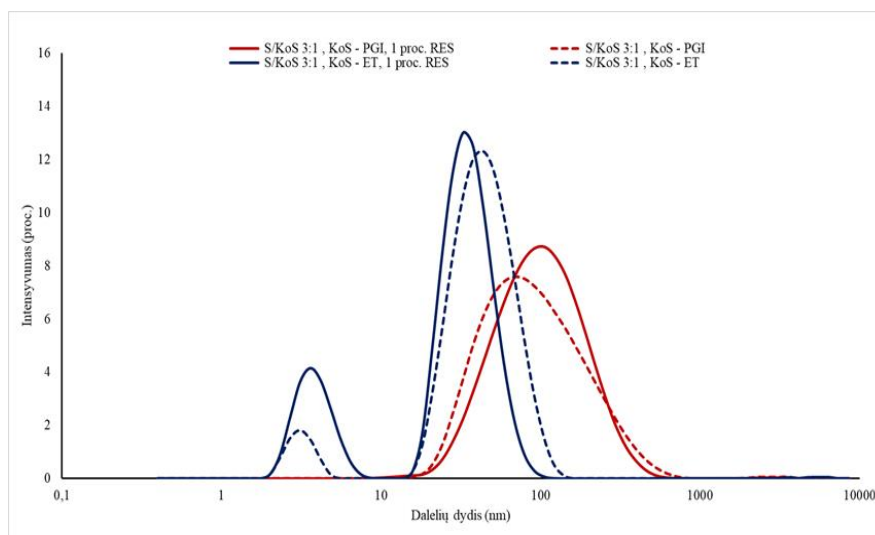
aliejinė fazė IPM, VDD padidėjo 51,5 proc. (S/KoS 3:1) ir 33 proc. (S/KoS 9:1). Aliejine faze naudojant linų sėmenų aliejų, VDD padidėjo 83,4 proc. (S/KoS 3:1) ir 51,8 proc. (S/KoS 9:1), o su alyvuogių aliejų aliejumi, padidėjo 3 proc. (S/KoS 3:1) ir 33 proc. (S/KoS 9:1). Didžiausi nustatyti VVD pokyčiai gali būti siejami su resveratrolio pasiskirstymu tarpfaziniame paviršiuje, kurį formuoja S ir KoS molekulės [6]. Nepriklausomai nuo padidėjusio VDD, ME-RES atitiko ME keliamus reikalavimus, nes VVD neviršijo 200 nm.

Įvertinus sumodeliuotų ME-RES PDI reikšmes, nustatyta, kad visos sumodeliuotos ME-RES su KoS ET ir KoS PGI, atitiko keliamus PDI kokybės reikalavimus. Mažesnis ME-RES homogeniškumas nustatytas su KoS ET, S/KoS santykiu 9:1, kai aliejinė fazė buvo EO, PDI siekė $0,503 \pm 0,036$. Sumodeliuotų ME-RES statistiškai reikšmingas PDI pokytis buvo nustatytas su aliejine faze – EO, esant KoS ET ir PGI, S/KoS santykiu 9:1 ir su aliejine faze – linų sėmenų aliejumi, esant KoS PGI, S/KoS santykiu 3:1.

Įvertinus ME klampos pokyčius įterpus resveratrolių, nustatyta, kad veikioji medžiaga turėjo statistiškai reikšmingą įtaką ME klampai, tiek su KoS ET, tiek su KoS PGI ($p < 0,05$). Lyginant ME be RES ir ME-RES, nustatytas klampos sumažėjimas. Kai KoS buvo ET, kampa varijavo nuo 8,45 mPa·s iki 22,5 mPa·s, o kai KoS PGI, vyravo nuo 41,8 mPa·s iki 76,3 41 mPa·s.

Nustačius ME-RES pH reikšmes, gauti rezultatai parodė, kad naudojant KoS PGI pH reikšmės buvo nuo 7,09 iki 7,2, o su KoS ET nuo 5,32 iki 5,68. ME-RES su KoS ET ir KoS PGI pH vertės statistiškai nesiskyrė nuo ME be resveratrolio ($p > 0,05$).

Vertinant galimą resveratrolio įtaką nustatyta, kad resveratrolio inkorporavimas statistiškai sumažino ME laidį ($p < 0,05$), visų ME-RES elektrinis laidis sumažėjo. Mažiausiu laidumu pasižymėjo ME-RES, kurios buvo pagamintos su KoS ET, nes elektrinis laidis vyravo nuo 7,2 $\mu\text{S}/\text{cm}$ iki 8,26 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Modeliuotų ME-RES su KoS PGI elektrinis laidis vyravo nuo 55,3 $\mu\text{S}/\text{cm}$ iki 136,7 $\mu\text{S}/\text{cm}$.



12 pav. ME-RES ir ME be resveratrolio dalelių dydžio pasiskirstymas, kai KoS – PGI ir ET, S/KoS 3:1, aliejinė fazė – EO

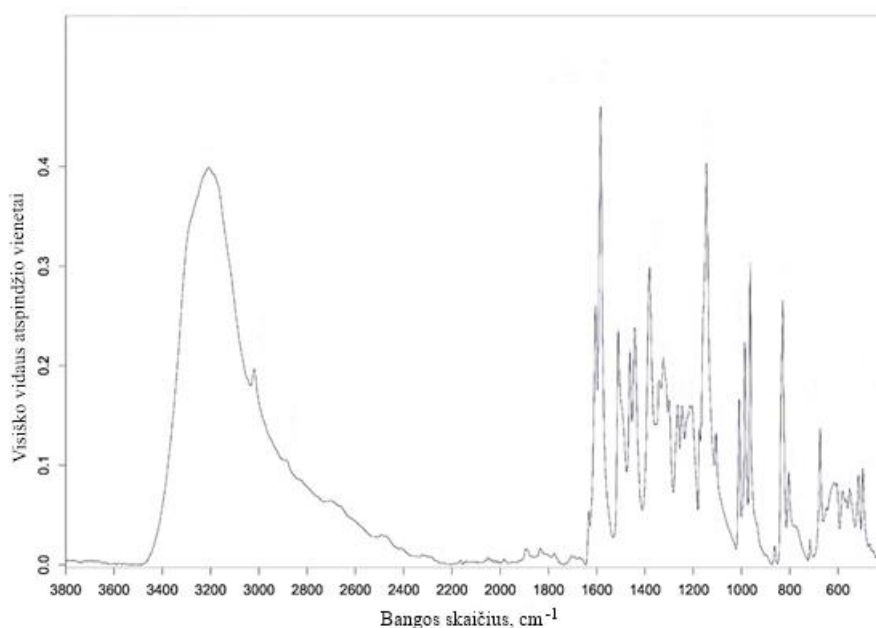
Įvertinus dalelių dydžio pasiskirstymą sistemose, ME-RES dalelės kaip ir ME be resveratrolio buvo pasiskirsčiusios vienoje arba dvejose smailėse. Resveratrolio įtaką dalelių dydžio pasiskirstymui ME, naudojant KoS PGI ir KoS ET, o aliejinę fazę – EO, rezultatai pateikiami 12 paveiksle.

Įvertinus grafikus, matome, kad ME-RES, kai Kos PGI, padaugėjo didesnių dalelių skaičius, o su KoS ET – mažesnių dalelių skaičius. Dalelių dydžio pasiskirstymo tendencija su aliejine faze – IPM išliko panaši. Palyginti ME-RES daromos įtakos dalelių dydžio pasiskirstymui, kai KoS PGI ir ET, naudojant linų sėmenų bei alyvuogių aliejus, nepavyko, nes ME su KoS ET ir natūraliais aliejais nesusiformavo.

Apibendrinant gautus rezultatus galime teigti, jog resveratrolio įterpimas į ME turėjo įtakos kokybiniais parametrams. Gauti duomenys patvirtina mokslinėje literatūroje pateikiamus rezultatus, kad veikliosios medžiagos įterpimas padidina ME VDD [36]. Taip pat buvo nustatyta, kad veikliosios medžiagos įterpimas turėjo įtakos ME dinaminės klampos ir elektrinio laidžio reikšmių sumažėjimui.

3.5. Funkcinių grupių vertinimas furjė transformacijos infraraudonųjų spindulių spektroskopijos metodu

Siekiant įrodyti, ar resveratrolis buvo įterptas į ME ir palyginti, ar sintetiniai ir augaliniai turi skirtingą įtaką ME-RES formavimuisi, buvo atlikta mėginių FT-IR spektrinė analizė. Analizei parinktos ME-RES, kai KoS – PGI, esant santykiui S/KoS 9:1, o aliejinės fazės – IPM ir linų sėmenų aliejus. Tyrimui atlikti pasirinkta ME-RES su KoS PGI, nes, formuojant ME su augaliniais aliejais ir KoS ET, ME nesusiformavo. Mažiausias PDI buvo gautas, kai ME gamybai aliejine faze naudotas IPM, esant S/KoS santykiui 9:1. Vertinant rezultatus su augaliniais aliejais, mažiausias ME-RES PDI nustatytas gamybai naudojant linų sėmenų aliejų, kai S/KoS santykis 3:1. Siekiant išvengti galimo skirtingo S ir KoS kiekio įtakos absorbcijos spektrams, buvo nuspręsta tyrimui pasirinkti ME-RES su

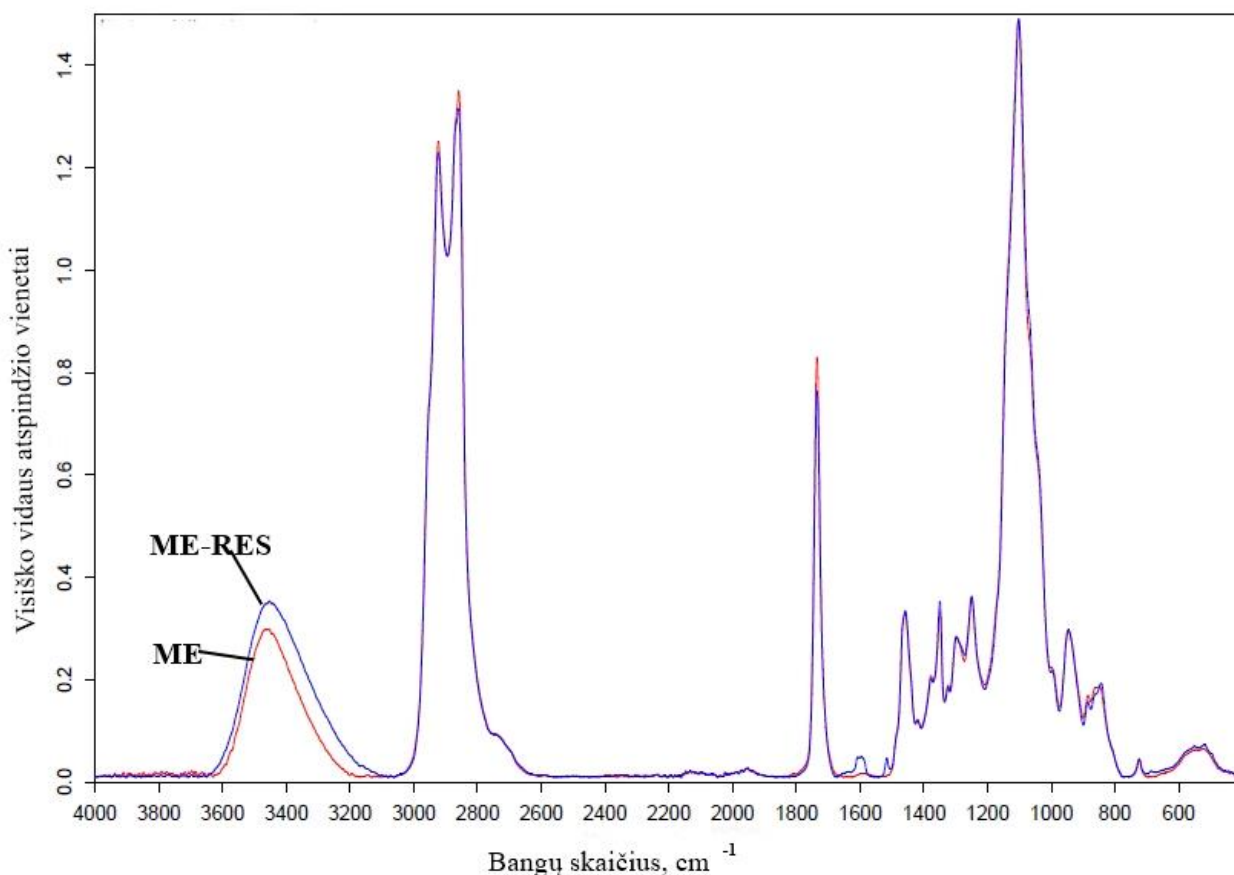


13 pav. Gryno resveratrolio FT-IR spektras

linų sėmenų aliejumi, S/KoS santykiui 9:1. Užrašyti šių komponentų FT-IR spektrai: resveratrolio, linų sėmenų, IPM, KKMg, ET, PGI, vandens, ME-RES ir ME be veikliosios medžiagos. Funkcinės grupės FT-IR spektrometrijos metodu buvo indentifikuojamos pagal būdingus jiems dažnius [96]. Gautas gryno resveratrolio miltelių spektras pateiktas 13 paveiksle. Plati absorbcijos juosta, esanti 3500–2888 cm^{-1} galima priskirti -OH grupių svyravimams. Siauro ir mažo intensyvumo juostos, esančios ties 2888–3019 cm^{-1} susijusios su C-H aromatiniam žiede esančiomis jungtimis. Smailės

ties 1604 cm^{-1} , 1584 cm^{-1} , 1510 cm^{-1} būdingos aromatinių žiedų C=C jungtims. Smailė, kai bangos ilgis yra 1145 cm^{-1} būdinga karbonilo C-O jungtims fenoliniuose junginiuose. Smailė ties 964 cm^{-1} yra būdinga trans-resveratrolio konfiguracijai. Juosta ties $860\text{--}770\text{ cm}^{-1}$, kurioje matoma 831 cm^{-1} smailė, yra būdinga =C-H arenų vibracijoms, konjuguotoms su olefinine grupe. Deformacijos juostos esančios ties $650\text{--}500\text{ cm}^{-1}$, kuriose matoma smailė ties 674 cm^{-1} , atitinka olefinines grupes =C-H [96, 97].

Įvertinus gautus ME FT-IR spektrus be resveratrolio, naudojant aliejines fazes – IPM ir linų sėmenų aliejus, absorbcijos spektrai žymiai nesiskyrė. Suformuotų ME-RES ir ME be resveratrolio spektrų palyginimai su aliejine faze – IPM pavaizduota 14 paveiksle, o su aliejine faze – linų sėmenų aliejumi pavaizduota 15 paveiksle.



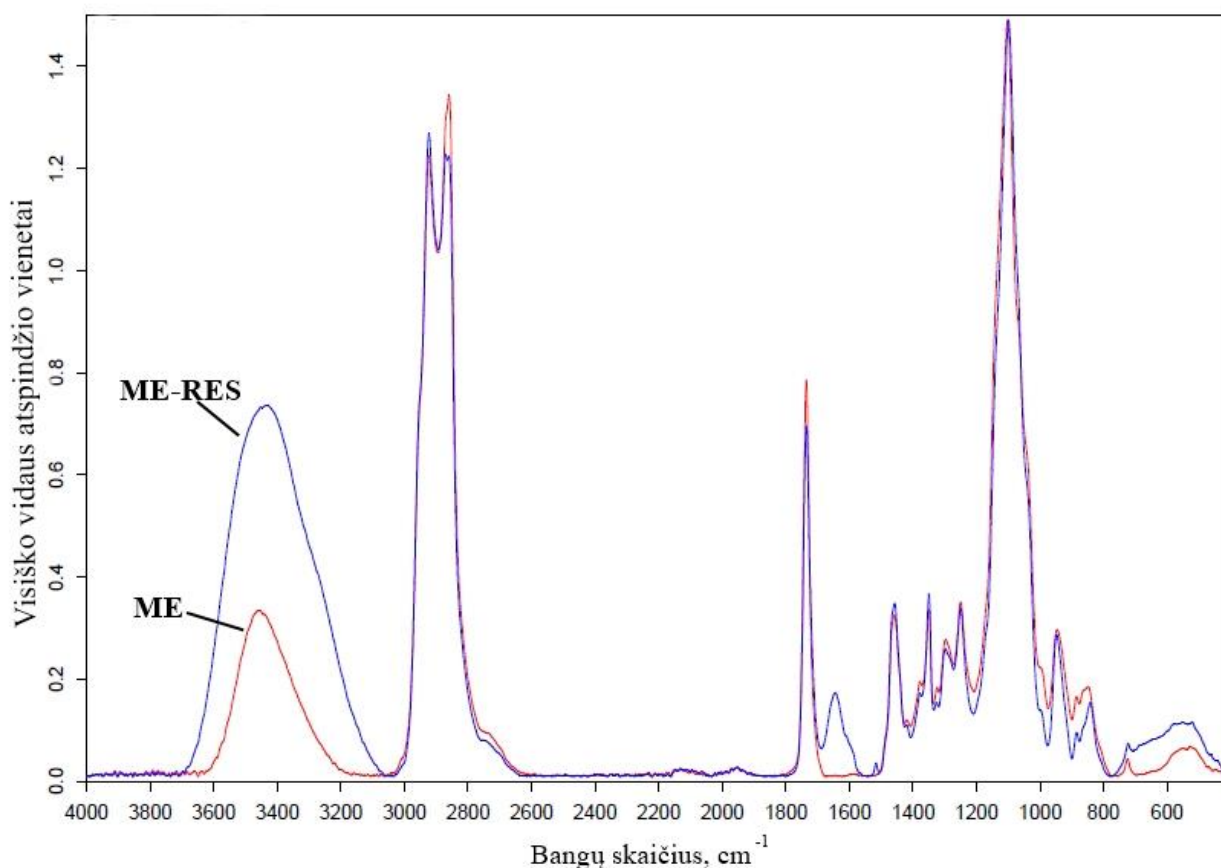
14 pav. ME-RES ir ME be resveratrolio spektrų palyginimai su aliejine faze – IPM

Raudona spektrų spalva žymi ME be resveratrolio, mėlyna su ME resveratroliu. Gautas plačias juostas nuo 3200 cm^{-1} iki 3600 cm^{-1} galima priskirti -OH grupių svyravimams. Užregistruotos spektro smailės, esant bangos ilgiams nuo 2923 cm^{-1} iki 2859 cm^{-1} , būdingos alifatiniam C-H funkcinės grupės valentiniam svyravimams, smailė ties 1734 cm^{-1} parodo C=O svyravimus ir plati smailė ties 1110 cm^{-1} , esanti tarp 1200 cm^{-1} ir 1010 cm^{-1} bangos ilgių, rodo C-O svyravimus [58].

Palyginus ME be resveratrolio su ME-RES FT-IR spektrus, dauguma smailių gautos esant tam pačiam bangos skaičiui, skyrėsi tik ME-RES smailių intensyvumas, jis nustatytas didesnis. Tai parodo, jog į ME įterpus veikliąją medžiagą, funkcinę grupių skaičius padidėjo, todėl ir stebimas didesnis smailių intensyvumas [97]. Įterptas resveratrolio labiausiai sąlygojo smailių intensyvumo padidėjimą ties 3451 cm^{-1} , modeliuojant sistemą, kai ME buvo sumodeliuota su linų sėmenų aliejumi,

o ne su IPM. Pagamintų ME su linų sėmenų aliejumi absorbcijos juostos intensyvumo padidėjimas matomas ir nuo 800 cm^{-1} iki 400 cm^{-1} .

Įterpus resveratrolį į ME, kai aliejine faze naudotas IPM, smailių absorbcijos intensyvumas nežymiai padidėjo esant tik 3441 cm^{-1} banginiui skaičiui, kitur pokyčių nepastebėta. Matoma nauja atsiradusi smailė ties 1600 cm^{-1} , kuri yra būdinga resveratrolui, nepriklausomai nuo naudotos aliejinės fazės. Mažo intensyvumo smailė atsirado dėl resveratrolio įterpimo, nes C=C ryšius ir aromatinio žiedo C-C ryšius turi resveratrolio molekulės [98]. Kitų smailių, be veikliosios medžiagos smailės, neatsirado.



15 pav. ME-RES ir ME be resveratrolio spektrų palyginimai su linų sėmenų aliejumi

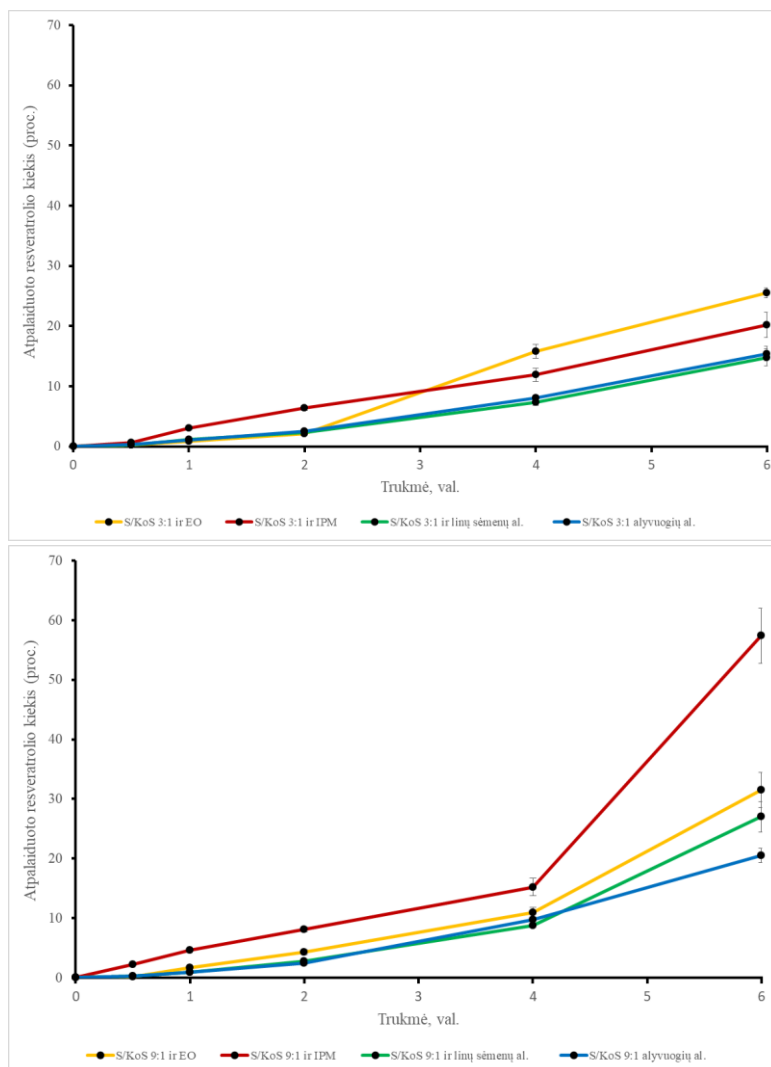
Atlikta FT-IR analizė parodė, kad resveratrolis buvo įterptas į ME sistemas, nes papildomų spektrų neužfiksuota. Įvertinus sintetinių ir augalinių aliejų įtaka absorbcijos juostos padidėjimui, nustatyta, jog ME-RES su linų sėmenų aliejumi pasižymėjo didesne absorbcijos juosta nei ME-RES su IPM.

3.6. Resveratrolio atpalaidavimo iš mikroemulsijų tyrimas *in vitro*

Veikliosios medžiagos atpalaidavimas iš ME sistemos gali priklausyti nuo keletos veiksnių: ME modeliavimui naudotų pagalbinių medžiagų ir jų kiekio, dalelių dydžio, difuzijos greičio ir dinaminės klampos [4]. Norint įvertinti sumodeliuotų ME-RES gebėjimą atpalaiduoti veikiają medžiagą buvo atliktas resveratrolio atpalaidavimo iš ME tyrimas.

In vitro tyrimui pasirinktos ME-RES su KoS ET, esant S/KoS santykiams 3:1 ir 9:1, kai aliejinės fazės – IPM ir EO ir ME-RES su KoS PGI, kai aliejinės fazės – IPM ir EO, linų sėmenų ir alyvuogių aliejai. Naudojant KoS PGI, didžiausi resveratrolio atpalaiduojami kiekiai po 6 valandų buvo esant S/KoS santykiams 9:1, nepriklausomai nuo naudotos aliejinės fazės. Įvertinus aliejinės fazės įtaką

resveratrolio atpalaidavimui po 6 valandų iš sintetinių aliejų, didesnis atpalaiduotas resveratrolio kiekis buvo iš ME-RES su IPM ($57,41 \pm 8,1$ proc.), o mažesnis iš EO ($31,51 \pm 9,3$ proc.). Įvertinus atpalaiduoto resveratrolio kiekį iš ME su augaliniais aliejais po 6 valandų, didesnis atpalaiduotas kiekis buvo naudojant aliejinę fazę – linų sėmenų aliejų ($27,00 \pm 9,6$ proc.), o mažesnis su alyvuogių aliejumi ($20,49 \pm 5,7$ proc.) (žr. 16 pav.).

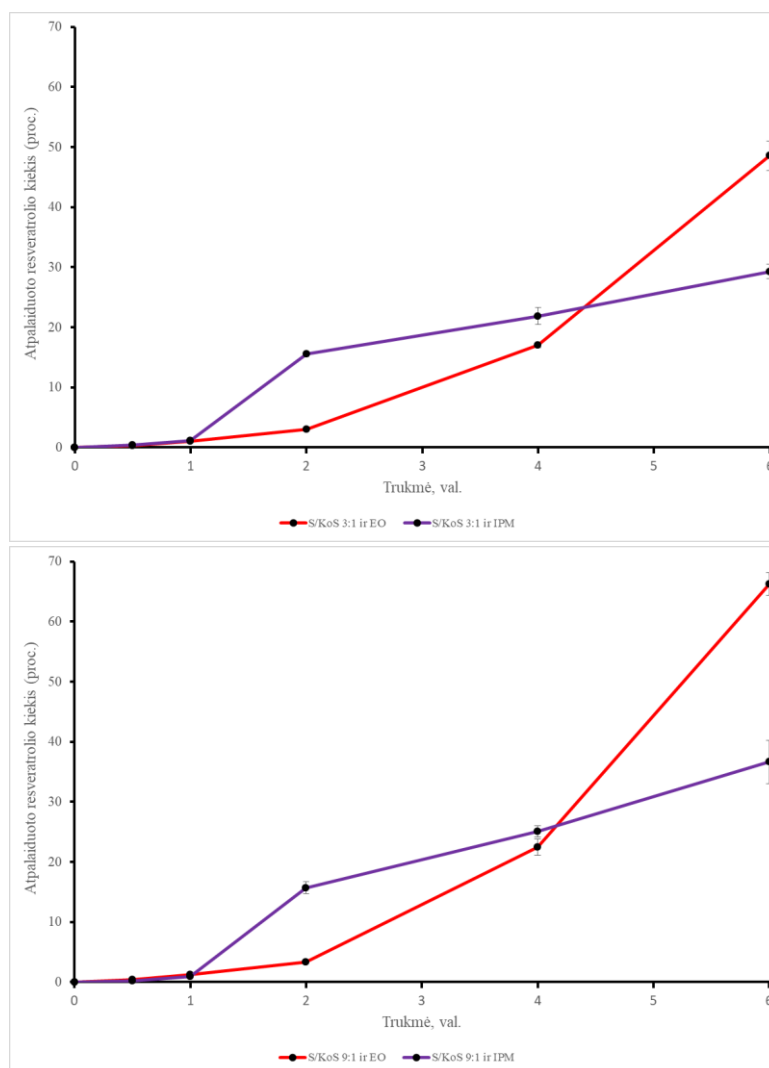


16 pav. Resveratrolio atpalaidavimas iš ME, kai KoS – PGI, S/KoS santykiai 3:1 (viršuje), 9:1 (apačioje)

Lyginant augalinių ir sintetinių aliejų įtaką resveratrolio atpalaidavimui pagal moksliniuose straipsniuose pateiktą informaciją, veikliosios medžiagos atpalaidavimas gali būti siejamas su geresniu KoS bei aliejinės fazės suderinamumu. Įrodyta, kad ME esančios medžiagos gali veikti viena kitą sinergetiškai (sustiprinant savo chemines savybes), taip paskatindamos ir veikliosios medžiagos atpalaidavimą [41, 98]. Todėl iš sumodeliuotų ME-RES su sintetiniais aliejais (EO, IPM) atpalaiduotas kiekis buvo didesnis negu modeliuojant su natūraliais aliejais (linų sėmenų ir alyvuogių aliejumi). Ankstesni mokslininkų tyrimai įrodo, kad, norint atpalaiduoti didesnę veikliosios medžiagos kiekį, sumodeliuota sistema turi būti kuo labiau homogeniška. Šiuo atveju ME esančios dalelės turi būti panašaus dydžio ir pasiskirsčiusios sistemoje vienodai [63]. Vertinant ME-RES su aliejinę fazę – linų sėmenų ir alyvuogių aliejais, dalelės S/KoS santykiais 3:1 ir 9:1 buvo pasiskirsčiusios per dvi smailes, todėl galima daryti išvadą, jog sistemoje yra didesnio dydžio dalelių,

kurios galimai sumažino santykinę tarpfazinę paviršiaus plotą ir tokiu atveju sumažino resveratrolio atpalaidavimą iš pagamintų ME sistemų [63].

Vertinant *in vitro* tyrimo rezultatus, nustatyta, kad didžiausias atpalaiduotas veikliosios medžiagos kiekis iš ME-RES su KoS ET buvo santykiu S/KoS 9:1, kai aliejinė fazė – EO ($66,27 \pm 2,8$ proc.), o mažesnis su IPM ($40,69 \pm 9,8$ proc.) (žr. 17 pav.). Didesnis atpalaiduoto resveratrolio kiekis, iš ME-RES naudojant EO, galėtų būti siejamas su geresniu EO suderinamumu su KoS ET.



17 pav. Resveratrolio atpalaidavimas iš ME, kai KoS – ET, S/KoS santykiai 3:1 (viršuje), 9:1 (apačioje)

Palyginus resveratrolio atpalaiduotus kiekius po 1 valandos, matome, kad lėtesnis atpalaidavimas vyko iš tų ME-RES, kurios buvo pagamintos su KoS ET, tačiau, tęsiant tyrimą, po 6 valandų nustatytas greitesnis resveratrolio atpalaidavimas ir galutiniame taške atpalaiduotos veikliosios medžiagos kiekis buvo didesnis su KoS ET. Todėl galima teigti, kad šiems rezultatams įtakos turėjo pasirinktas KoS.

Vertinant gautus rezultatus, resveratrolio atpalaidavimui turėjo įtakos ir klampa. Pagal literatūroje pateiktus duomenis, didėjant dinaminei klampai, atpalaiduojamos veikliosios medžiagos kiekis mažėja, nes didelė klampa riboja vaisto atpalaidavimą iš ME, dėl šios priežasties didesnis atpalaiduotas veikliosios medžiagos kiekis buvo naudojant KoS – ET [3, 63]. Pagal literatūroje

pateiktus duomenis nustatyta, kad didesnį veikliosios medžiagos kiekio atpalaidavimą iš ME gali sąlygoti ir ME esančio KoS giminingumas akceptorinei terpei [98]. Todėl galime daryti prielaidą, jog atliktame *in vitro* tyrime, dėl didesnio KoS ET giminingumo akceptorinei terpei buvo atpalaiduotas didesnis kiekis resveratrolio iš ME-RES su KoS ET.

Gauti šio tyrimų rezultatai koreliuoja su mokslininko Surajito Daso ir jo grupės atliktu tyrimu, kuriame jie tyrė resveratrolio atpalaidavimą iš ME, kurias sudarė šie komponentai: polisorbatas 80, etanolis, arbatmedžio aliejus, propilenglikolis di (kaprilatas/kapratas), išgrynintas vanduo, dinatris EDTA bei natrio metabisulfatas. Nustatyta, kad didesnė resveratrolio koncentracija atpalaiduota iš tų ME, kuriose KoS buvo pasirinktas ET, o ne polisorbatas 80. Įtakos turėjo ir didesnis aliejinės fazės kiekis sistemose. ME, kurių sudėtyje buvo didesnė koncentracija aliejinės fazės, pasižymėjo geresniu vaisto atpalaidavimu [98]. Todėl galima teigti, jog skirtingos ME sudėtyje esančios aliejinės fazės, skirtingi KoS ir jų kiekiai, turi įtakos ME kokybiniais parametrams bei resveratrolio atsipalaidavimui iš ME sistemų.

Įvertinus pagalbinių medžiagų įtaką resveratrolio atpalaidavimui iš ME, nustatyta, kad didesnis resveratrolio atpalaiduojamas kiekis buvo iš tų ME-RES, kurios buvo modeliuotos su sintetiniais aliejais, nei iš tų, kurios modeliuotos su augaliniais aliejais. Mažesniai atpalaiduojamos veikliosios medžiagos kiekiui įtakos galėjo turėti ir dalelių dydžio pasiskirstymas, nes ME-RES, kurių gamybai buvo naudoti natūralūs aliejai, dalelės buvo pasiskirsčiusios per dvi smailes. Įvertinus pasirinkto KoS įtaką, atpalaiduoti didžiausią koncentraciją veikliosios medžiagos gebėjo KoS ET. Įtakos turėjo ir pasirinktas KoS santykis, nes S/KoS santykiu 3:1 tiek su KoS ET, tiek su KoS PGI, atpalaiduojami kiekiai po 6 valandų buvo mažesni, negu esant S/KoS santykiui 9:1. Resveratrolio atpalaidavimui iš ME-RES turėjo įtakos klampa, nes ME-RES su KoS PGI klampa buvo didesnė negu ME-RES su KoS ET, todėl iš šių ME-RES atpalaiduota mažesnis kiekis veikliosios medžiagos. Gauti *in vitro* tyrimo rezultatai įrodė, kad veikliosios medžiagos atpalaidavimas priklauso nuo ME gamybai pasirinktų pagalbinių medžiagų (aliejinės fazės, KoS ir S bei jų santykių), dalelių dydžio pasiskirstymo ME-RES bei dinaminės ME-RES klamos. Atsižvelgiant į gautus tyrimo rezultatus galima daryti išvadą, jog sumodeliuotos ME-RES yra tinkamas nešiklis veikliosios medžiagos įterpimui ir gebėjimui ją atpalaiduoti.

Išvados

1. Mikroemulsijų modeliavimui buvo parinktos šios medžiagos: surfaktantas – kaprilo/kaproilo makrogolio gliceridas, kosurfaktantai – etanolis ir poligliceril-6-izostearatas, lipofilinės fazės – etilo oleatas, izopropilo miristatas, linų sėmenų ir alyvuogių aliejai. Parinkti komponentai leido suformuoti mikroemulsijas, tačiau turėjo įtakos mikroemulsijų formavimosi plotui pseudo-trinarėse fazių diagramose. Nustatyta, jog didesnis mikroemulsijų plotas pseudo-trinarėse fazių diagramose formuojamas, kai kosurfaktantu naudotas poligliceril-6-izostearatas. Įvertinus aliejinės fazės įtaką, didesnis mikroemulsijų plotas pseudo-trinarėse fazių diagramose gautas su sintetiniais, o ne su augaliniais aliejais. Formuojant mikroemulsijas su kosurfaktantu etanoliu ir augaliniais aliejais, formuojamas labai siauras mikroemulsijų plotas pseudo-trinarėse fazių diagramose, kuris rodo mažesnę šių pagalbinių medžiagų suderinamumą.
2. Įvertinus atrinktų visų mikroemulsijų fizikinius-cheminius parametrus, nustatyta, kad sumodeliuotos sistemos atitiko joms keliamus kokybei reikalavimus: dalelių dydis < 200 nm, polidispersiškumo indeksas $< 0,500$, išskyrus mikroemulsijas su kosurfaktantu etanoliu, kai aliejinės fazės – izopropilo miristatas (PDI – 0,647) ir etilo oleatas (PDI – 0,537), kai surfaktanto ir kosurfaktanto santykis 2:1, kurios pasižymėjo mažesniu homogeniškumu. Mikroemulsijų gamybai naudotos pagalbinės medžiagos turėjo įtakos mikroemulsijų fizikiniams-cheminiams parametrams. Mažesnis vidutinis dalelių dydis gautas, kai mikroemulsijų formavimui naudotas kosurfaktantas etanolis, ne kosurfaktantas poligliceril-6-izostearatas ($p < 0,05$). Mikroemulsijų, kurios buvo modeliuotos su kosurfaktantu etanoliu, elektrinio laidžio, pH, dinaminės klamos vertės buvo mažesnės negu formuojant su kosurfaktantu poligliceril-6-izostearatu.
3. Veikliosios medžiagos įterpimas į mikroemulsijas lėmė statistiškai reikšmingą vidutinio dalelių dydžio padidėjimą ($p < 0,05$), tačiau atitiko mikroemulsijoms keliamus kokybės reikalavimus. Resveratrolio įterpimas į mikroemulsijas turėjo įtakos klamos ir elektrinio laidžio sumažėjimui visose sistemose ($p < 0,05$). Furjė transformacijos infraraudonųjų spindulių spektroskopijos tyrimai parodė, kad spektrų absorbcijos intensyvumas priklausė nuo naudojamos aliejinės fazės.
4. Atpalaidavimo *in vitro* tyrimo metu nustatyta, kad mikroemulsijų gamybai naudotos pagalbinės medžiagos turėjo įtakos resveratrolio atpalaidavimui. Didesnis resveratrolio atpalaiduotas kiekis buvo iš tų mikroemulsijų, kurių gamybai naudoti sintetiniai, o ne augaliniai aliejai. Mikroemulsijų gamybai naudojant kosurfaktantą etanolį, atpalaiduoto resveratrolio kiekis buvo didesnis nei iš mikroemulsijų su poligliceril-6-izostearatu. Gauti rezultatai parodė, kad tiek su kosurfaktantu etanoliu, tiek su kosurfaktantu poligliceril-6-izostearatu didesni kiekiai veikliosios medžiagos buvo atpalaiduoti, kai surfaktanto ir kosurfaktanto santykis 9:1. *In vitro* tyrimai patvirtino, kad sumodeliuotos mikroemulsijos geba atpalaiduoti veikliąją medžiagą ir yra tinkami nešikliai resveratrolio įterpimui.

Padėka

Už suteiktas žinias, pagalbą, konsultacijas, kantrybę, pastabas, rengiant magistro baigiamąjį darbą, noriu nuoširdžiai padėkoti savo darbo vadovei lekt. dr. Vaidai Kurapkienei. Dėkoju lekt. dr. Modestui Žiliui už pasiūlytas idėjas bei visam Klinikinės farmacijos katedros kolektyvui už puikias darbo sąlygas ir materialinius išteklius.

Literatūros sąrašas

1. UR, Asad, Akram, et. al. Lipid nanocarriers: Formulation, properties and applications. *In: Smart Nanocontainers* [interaktyvus]. Elsevier Inc., 2020, pp. 355–382 [žiūrėta 2020-06-07]. ISBN 9780128167700. Doi: 10.1016/b978-0-12-816770-0.00021-6.
2. DOBROVOLSKAIA, Marina, A. Pre-clinical immunotoxicity studies of nanotechnology-formulated drugs: Challenges, considerations and strategy. *Journal of Controlled Release* [interaktyvus]. 2015, t. 220, pp. 571–583 [žiūrėta 2020-06-08]. Doi:10.1016/j.jconrel.2015.08.056.
3. KOGAN A. ir N. GARTI. Microemulsions as transdermal drug delivery vehicles. *Advances in Colloid and Interface Science* [interaktyvus]. AAPS PharmSciTech, 2006, t. 123-126, pp. 369–385 [žiūrėta 2020-06-08]. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2006.05.014>.
4. MUZAFFAR, F., U., K., SINGH ir L., CHAUHAN. Review on microemulsion as futuristic drug delivery. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* [interaktyvus]. 2013, t. 3, pp. 39–53 [žiūrėta 2020-06-10]. ISSN 09751491.
5. RAO, J. ir D., J. MCCLEMENTS. Formation of flavor oil microemulsions, nanoemulsions and emulsions: Influence of composition and preparation method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [interaktyvus]. 2011, **59**(9), 5026–5035 [žiūrėta 2020-06-11]. Doi: <https://doi.org/10.1021/jf200094m>.
6. KUMAR P. ir R. MAZUMDER. Comparative study on formulation and evaluation of microemulsion based gel of curcumin with different combinations of polymers. *World Journal of Pharmaceutical Research* [interaktyvus]. 2018, **7**(15), 445–466 [žiūrėta 2020-06-11]. Doi: <https://doi.org/10.20959/wjpr201815-12793>.
7. MISHRA, A., R. PANOLA ir A., C. RANA. Microemulsions: As drug delivery system. *Journal of Scientific and Innovative Research* [interaktyvus]. 2014, **3**(4), 467–474 [žiūrėta 2021-03-11]. ISSN 2320-4818.
8. BOONME, Prapaporn. Applications of microemulsions in cosmetics. *Journal of Cosmetic Dermatology* [interaktyvus]. 2007, pp. 223–228 [žiūrėta 2020-06-11]. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1473-2165.2007.00337.x>.
9. THAKKAR, P., J., P. MADAN ir S. LIN. Transdermal delivery of diclofenac using water-in-oil microemulsion: formulation and mechanistic approach of drug skin permeation. *Informa Healthcare* [interaktyvus]. 2013, t. 7450, pp. 1–12 [žiūrėta 2020-06-11]. Doi: <https://doi.org/10.3109/10837450.2013.788658>.
10. NASTITI, Christofori, M., et. al. Topical Nano and Microemulsions for Skin Delivery. *Pharmaceutics* [interaktyvus]. 2017, pp. 1–25 [žiūrėta 2020-06-17]. Doi: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics9040037>.
11. ARORA, S., A. CHAWLA, P. PAWAR ir P. SHARMA. Novel drug delivery approaches on antiviral and antiretroviral agents. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research* [interaktyvus]. 2012, **3**(3), 147–159 [žiūrėta 2021-03-17]. Doi: <https://doi.org/10.4103/2231-4040.101007>.
12. ZVONAR A., et. al. The influence of microstructure on celecoxib release from a pharmaceutically applicable system: mygliol 812®/labrasol®/plurol oleique®/water mixtures. *Acta Chimica Slovenica* [interaktyvus]. 2009, **56**(1), 131–138 [žiūrėta 2021-04-17]. ISSN 13180207.

13. NASR, Maha Abdel-hamid, et. al. Jojoba Oil Soft Colloidal Nanocarrier of a Synthetic Retinoid: Preparation, Characterization and Clinical Efficacy in Psoriatic Patients [interaktyvus]. 2016, pp. 1–7 [žiūrėta 2020-06-17]. Doi: <https://doi.org/10.2174/15672018136661605131323>.
14. OZGENC, E., M. EKINCI, D. OZDEMIR ir E. GUNDOGDU. Microemulsion Drug Delivery Systems for Radiopharmacy Studies. *International Journal of Medical Research & Health Sciences* [interaktyvus]. 2016, t. 5, pp. 311-317 [žiūrėta 2020-06-17]. ISSN 2319-5886.
15. KREILGAARD, M., E., J. PEDERSEN ir J., W. JAROSZEWSKI. NMR characterisation and transdermal drug delivery potential of microemulsion systems. *Journal of Controlled Release* [interaktyvus]. Elsevier, 2000, **69**(3), 421–433 [žiūrėta 2021-03-17]. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(00\)00325-4](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(00)00325-4).
16. TANG, H., S. XIANG, X. LI, J. ZHOU ir C. KUANG. Preparation and in vitro performance evaluation of resveratrol for oral self-microemulsion. *PLoS ONE* [interaktyvus]. 2019, **14**(4) 1–17 [žiūrėta 2020-06-17]. ISSN 19326203. Doi: [10.1371/journal.pone.0214544](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214544).
17. Vladislavjević, Goran, T. Preparation of microemulsions and nanoemulsions by membrane emulsification. *A: Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [interaktyvus]. 2019, t. 579, pp [žiūrėta 2021-05-17]. 123709. ISSN 18734359. Doi: [10.1016/j.colsurfa.2019.123709](https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.123709).
18. CHEN, Y., H. ZHANG, J. YANG ir H., SUN. Improved antioxidant capacity of optimization of a self-microemulsifying drug delivery system for resveratrol. *A: Molecules* [interaktyvus]. 2015, **20**(12), 21167-21177 [žiūrėta 2021-03-18]. ISSN 14203049. Doi: [10.3390/molecules201219750](https://doi.org/10.3390/molecules201219750).
19. KANWAR, Rohini, et. al. Microemulsions as Nanotemplates: A Soft and Versatile Approach. *Microemulsion - a Chemical Nanoreactor* [interaktyvus]. 2018, pp. 1–17 [žiūrėta 2021-02-18]. Doi: <https://doi.org/10.5772/intechopen.80758>.
20. MEHTA, S., K. ir G. KAUR. Microemulsions: Thermodynamic and Dynamic Properties. *Thermodynamics* [interaktyvus]. 2011 [žiūrėta 2020-06-18]. Doi: [10.5772/12954](https://doi.org/10.5772/12954).
21. KUMAR, A., V. KUSHWAHA ir P., K. SHARMA. Pharmaceutical Microemulsion: Formulation, Characterization and Drug deliveries across skin [interaktyvus]. 2014, **6**(1), 1–21 [žiūrėta 2020-06-21]. ISSN 0975-9344.
22. WATKINSON, A. C. ir J., H. LANE. Application of microemulsions in dermal and transdermal drug delivery. *Skin Pharmacology and Physiology* [interaktyvus]. 2008, **21**(5), 246–259 [žiūrėta 2021-02-21]. Doi: <https://doi.org/10.1159/000140228>.
23. GOLWALA, Pooja, et. al. Effect of cosurfactant addition on phase behavior and microstructure of a water dilutable microemulsion. *A: Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [interaktyvus]. Elsevier, 2020, t. 186, pp. 110736 [žiūrėta 2021-05-21]. ISSN 18734367. Doi: [10.1016/j.colsurfb.2019.110736](https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110736).
24. DENG, Lingli, et al. Solubilization of tea seed oil in a food-grade water-dilutable microemulsion. *A: PLoS ONE* [interaktyvus]. 2015, **10**(5), pp. 1-12 [žiūrėta 2021-03-21]. ISSN 19326203. Doi: [10.1371/journal.pone.0127291](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127291).
25. EL-HEFNAWY, M., E. Water in Olive Oil Surfactantless Microemulsions as Medium for CdS Nanoparticles Synthesis. *Modern Applied Science* [interaktyvus]. 2012, **6**(4), 101–105 [žiūrėta 2021-03-21]. Doi: <https://doi.org/10.5539/mas.v6n4p101>.
26. PUBLISHER, Taylor, et al. Submicron Size Formulation of Linseed Oil Containing Omega-3 Fatty Acid for Topical Delivery. *A: Journal of Dispersion Science and Technology* [interaktyvus]. 2012, **33**(9) 37-41 [žiūrėta 2021-03-21]. Doi: [10.1080/01932691.2011.596339](https://doi.org/10.1080/01932691.2011.596339).

27. ZHANG, Y., et al. The phase behavior and solubilization of isopropyl myristate in microemulsions containing hexadecyl trimethyl ammonium bromide and sodium dodecyl sulfate. *Journal of Molecular Liquids* [interaktyvus]. 2017, t. 244, pp. 262–268 [žiūrėta 2021-03-21]. ISSN 01677322. Doi: 10.1016/j.molliq.2017.08.074.
28. CHEN, J., et. al. Microemulsion-based anthocyanin systems: Effect of surfactants, cosurfactants, and its stability. *International Journal of Food Properties* [interaktyvus]. 2018, **21**(1), 1152–1165 [žiūrėta 2021-03-22]. Doi: <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1485032>.
29. PAVONI, Lucia, et. al. An Overview of Micro- and Nanoemulsions as Vehicles for Essential Oils: Formulation, Preparation and Stability. *Nanomaterials* [interaktyvus]. 2020, **10**(1) [žiūrėta 2021-03-22]. Doi: <https://doi.org/10.3390/nano10010135>.
30. PAVONI, Lucia, et. al. Microemulsions: An effective encapsulation tool to enhance the antimicrobial activity of selected EOs. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* [interaktyvus]. 2019, t. 53 pp. 101101 [žiūrėta 2021-03-22]. ISSN 17732247. Doi: 10.1016/j.jddst.2019.05.050.
31. XAVIER-JUNIOR, F., H., et. al. Microemulsion systems containing bioactive natural oils: an overview on the state of the art. *Drug Development and Industrial Pharmacy* [interaktyvus]. 2017, t. **43**(5), 700–714 [žiūrėta 2021-03-23]. ISSN 15205762. Doi: 10.1080/03639045.2016.1235186.
32. DLUGOGORSKI, J., B., Z. KENNEDY ir J., C. MACKIE. Identification and quantitation of volatile organic compounds from oxidation of linseed oil. *Industrial and Engineering Chemistry Research*. 2012, **51**(16), 5645–5652 [žiūrėta 2021-03-25]. DOI <https://doi.org/10.1021/ie202535d>.
33. *Olive oil*. [interaktyvus]. [žiūrėta 2021-03-12] Prieiga per: <https://www.oliveoilsource.com/page/chemicalcharacteristics#:~:text=Olive%20oil%20is%20composed%20mainly,reserve%20for%20plants%20and%20animals.>)
34. YAMASHITA, Yuji, et. al. *Cosmetic Science and Technology: Theoretical Principles and Applications: Theoretical Principles and Applications* [interaktyvus]. Elsevier Science & Technology Books, 2017 [žiūrėta 2021-04-13]. ISBN 9780128020548. Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802005-0.00015-X>.
35. LU, I-ju Fu, et. al. Using Microemulsion as Carrier for Drug Transdermal Delivery: The Effect of Surfactants and Cosurfactants. *Current Pharmaceutical Design* [interaktyvus]. 2019, **25**(10), 1052-1058 [žiūrėta 2021-05-13]. Doi: 10.2174/1381612825666190527091528.
36. JUŠKAITĖ, V., K. RAMANAUSKIENĖ, V. BRIEDIS. Design and Formulation of Optimized Microemulsions for Dermal Delivery of Resveratrol. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* [interaktyvus]. 2015, pp.1–10 [žiūrėta 2020-06-17]. Doi: 10.1155/2015/540916.
37. KAUR, G. ir S., K. MEHTA. Developments of Polysorbate (Tween) based microemulsions: Preclinical drug delivery, Toxicity and antimicrobial applications. *International Journal of Pharmaceutics* [interaktyvus]. 2017, **529**(1-2), 134–160 [žiūrėta 2020-06-18]. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.06.059>.
38. ITA, Kevin. *Transdermal Drug Delivery: Concepts and Application* [interaktyvus]. Elsevier Science & Technology, 2020 [žiūrėta 2021-04-19]. ISBN 9780128225509. Doi: 10.1016/B978-0-12-822550-9.00006-5.
39. MALIK, M. A., M. YOUNUS ir M., A. HASHIM. Microemulsion method : A novel route synthesise organic and inorganic nanomaterials. *Arabian Journal of Chemistry* [interaktyvus]. 2012, **5**(4), 397–417 [žiūrėta 2021-03-19]. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.09.027>.

40. ARPORNPOONG, Noulkamol, et. al. Ethanol-in-palm oil/diesel microemulsion-based biofuel: Phase behavior, viscosity, and droplet size. *Fuel* [interaktyvus]. 2014, t. 132, 101–106 [žiūrėta 2021-04-19]. ISSN 00162361. Doi: 10.1016/j.fuel.2014.04.068.
41. DJEKIC, Lijljana, et. al. Investigation of surfactant/cosurfactant synergism impact on ibuprofen solubilization capacity and drug release characteristics of nonionic microemulsions. *International Journal of Pharmaceutics* [interaktyvus]. 2012, 433(1–2), 25–33 [žiūrėta 2021-04-19]. ISSN 03785173. Doi: 10.1016/j.ijpharm.2012.04.070.
42. De Oliveira Neves, Jamilly Kelly, et. al. Microemulsions containing Copaifera multijuga Hayne oil-resin: Challenges to achieve an efficient system for β -caryophyllene delivery. A: *Industrial Crops and Products* [interaktyvus]. 2018, t. 111, pp. 185-192 [žiūrėta 2021-04-20]. ISSN 09266690. Doi: 10.1016/j.indcrop.2017.10.025.
43. NG, N. ir M., A. ROGERS. Surfactants. In: *Encyclopedia of Food Chemistry* [interaktyvus]. 2019, pp. 276–282 [žiūrėta 2021-04-21]. Doi: 10.1016/b978-0-08-100596-5.21598-9.
44. SOLANS, C. ir M., J. GARCÍA-CELMA. Microemulsions and Nano-emulsions for Cosmetic Applications. *Cosmetic Science and Technology: Theoretical Principles and Applications* [interaktyvus]. 2017, pp. 507–518 [žiūrėta 2020-06-21]. Doi: 507–518. Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802005-0.00029-X>.
45. STUBENRAUCH, Cosima. Microemulsions: Background, New Concepts, Applications, Perspectives. *Microemulsions: Background, New Concepts, Applications, Perspectives* [interaktyvus]. 2009, pp. 1–375 [žiūrėta 2020-06-21]. Doi: <https://doi.org/10.1002/9781444305524>.
46. PANAPISAL, V., S. CHAROENSRI ir A. TANTITUVANONT. Formulation of Microemulsion Systems for Dermal Delivery of Silymarin. *AAPS PharmSciTech*. 2012, **13**(2), 389–399 [žiūrėta 2020-06-21]. Doi: 10.1208/s12249-012-9762-y.
47. SHARMA, A., K., T. GARG, A., K. GOYAL ir G. RATH. Role of microemulsions in advanced drug delivery. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology* [interaktyvus]. 2016, **44**(4), 1177–1185 [žiūrėta 2021-04-21]. Doi: <https://doi.org/10.3109/21691401.2015.1012261>.
48. SALLEH, Intan, M., et. al. Micro-emulsion-based dissolver for removal of mixed scale deposition [interaktyvus]. *Journal of Petroleum Exploration and Production Technology*. 2019, **9**(4), 2635–2641 [žiūrėta 2020-06-21]. Doi: 10.1007/s13202-019-0643-8.
49. AKTER, N., S. RADIMAN, M. FAIZAL, R. MOHAMMAD. Self-Assembled Potential Bio Nanocarriers for Drug Delivery. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* [interaktyvus]. 2013, t. 13, pp. 1327-1339 [žiūrėta 2020-06-21]. Doi: 10.2174/1389557511313090007.
50. KHAN, M., F., M., K. SINGH ir I. SEN. Measuring Size, Size Distribution, and Polydispersity of Water-in-Oil Microemulsion Droplets using Fluorescence Correlation Spectroscopy: Comparison to Dynamic Light Scattering. A: *Journal of Physical Chemistry B* [interaktyvus]. 2016, **120**(5), 1008-1020 [žiūrėta 2020-06-23]. ISSN 15205207. Doi: 10.1021/acs.jpcc.5b09920.
51. ALAOUI, Yassir El Fahry, et. al. Formulation, optimization and characterization of ibuprofen loaded microemulsion system using d-optimal mixture design. A: *International Journal of Applied Pharmaceutics* [interaktyvus]. 2019, **11**(4), 304-312 [žiūrėta 2020-06-23]. ISSN 09757058. Doi: 10.22159/ijap.2019v11i4.33076.
52. MAULVI, Furqan A., et. al. Lidocaine tripotassium phosphate complex laden microemulsion for prolonged local anaesthesia: In vitro and in vivo studies. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [interaktyvus]. Elsevier, 2020, t. 185, pp. 110632 [žiūrėta 2020-06-23]. ISSN 18734367. Doi:10.1016/j.colsurfb.2019.110632.

53. *Dynamic Light Scattering (DLS) - Understanding the Basics*. [žiūrėta 2020-06-12] Prieiga per: <https://www.azonano.com/article.aspx?ArticleID=3662#:~:text=The%20Benefits%20of%20DLS&text=DLS%20is%20essentially%20very%20good,particles%20from%202nm%20and%20above/>.
54. RAVAL, Nidhi, et. al. Importance of physicochemical characterization of nanoparticles in pharmaceutical product development. *Basic Fundamentals of Drug Delivery* [interaktyvus]. Elsevier, 2018, pp. 369-400 [žiūrėta 2020-06-24]. Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817909-3.00010-8>.
55. YOGI, J. ir V., DABHI. Microemulsion as advanced topical drug delivery: a review. *International journal of pharmaceutical research and bio-science* [interaktyvus]. 2015, **4**(1), 320–340 [žiūrėta 2020-06-23]. ISSN: 2277-8713.
56. WANG, Yaping, et. al. Design and Development of Lidocaine Microemulsions for Transdermal Delivery. *A: AAPS PharmSciTech* [interaktyvus]. 2019, pp. 1-9 [žiūrėta 2020-06-23]. Doi: [10.1208/s12249-018-1263-1](https://doi.org/10.1208/s12249-018-1263-1).
57. THIRAPIT S. ir T. NGAWHIRUNPAT. Development of a novel microemulsion for oral absorption enhancement of all-trans retinoic acid. *International Journal of Nanomedicine* [interaktyvus]. 2017, pp. 5585–5599 [žiūrėta 2021-05-09]. Doi: [10.2147/IJN.S142503](https://doi.org/10.2147/IJN.S142503).
58. KARATAŞ, A. ir Ş. BEKMEZCI. Evaluation and enhancement of physical stability of semi-solid dispersions containing piroxicam into hard gelatin. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research* [interaktyvus]. 2013, **70**(5), 883–897 [žiūrėta 2021-05-06]. ISSN 00016837.
59. MAKUŠKA, Ričardas. *Polimerų tyrimo metodai* [interaktyvus]. 2012 [žiūrėta 2021-05-06]. Doi: [10.5755/e01.9786094331480](https://doi.org/10.5755/e01.9786094331480).
60. BARBA, Anna Angela, et. al. Polymeric and lipid-based systems for controlled drug release: An engineering point of view. *Nanomaterials for Drug Delivery and Therapy* [interaktyvus]. Elsevier, 2019, pp. 267-304 [žiūrėta 2021-03-06]. Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816505-8.00013-8>.
61. CALLENDER, S., P., J., A. MATHEWS, K. KOBERNYK ir S., D. WETTIG. Microemulsion utility in pharmaceuticals: Implications for multi-drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics* [interaktyvus]. 2017, **526**(1–2), 425–442 [žiūrėta 2020-06-24]. ISSN 18733476. Doi: [10.1016/j.ijpharm.2017.05.005](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.05.005).
62. MOORE, J. Ir E. CERASOLI. *Particle light scattering methods and applications* [interaktyvus]. Elsevier: 2016, [žiūrėta 2020-06-25]. ISBN 9780128032244. Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803224-4.00040-6>.
63. ASADA, Takumi, et. al. Formulation of a poorly water-soluble drug in sustained-release hollow granules with a high viscosity water-soluble polymer using a fluidized bed rotor granulator. *International Journal of Pharmaceutics* [interaktyvus]. 2018, **541**(1–2), 246–252 [žiūrėta 2020-06-24]. ISSN 18733476. Doi: [10.1016/j.ijpharm.2018.02.043](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.02.043).
64. SASIVIMOLPHAN, P. et al. Microemulsion-based oxyresveratrol for topical treatment of herpes simplex virus (HSV) infection: Physicochemical properties and efficacy in cutaneous HSV-1 infection in mice. *A: AAPS PharmSciTech* [interaktyvus]. 2012, **13**(4), 1266-1275 [žiūrėta 2020-11-24]. ISSN 15309932. Doi: [10.1208/s12249-012-9828-x](https://doi.org/10.1208/s12249-012-9828-x).
65. MORI C., N. CALIFANO ir A., N., LORENZO. Physical and chemical stability under environmental stress of microemulsions formulated with fish oil. *A: Food Research International* [interaktyvus]. 2019, t. 119, pp. 283-290 [žiūrėta 2021-03-26]. ISSN 18737145. Doi: [10.1016/j.foodres.2019.01.067](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.067).

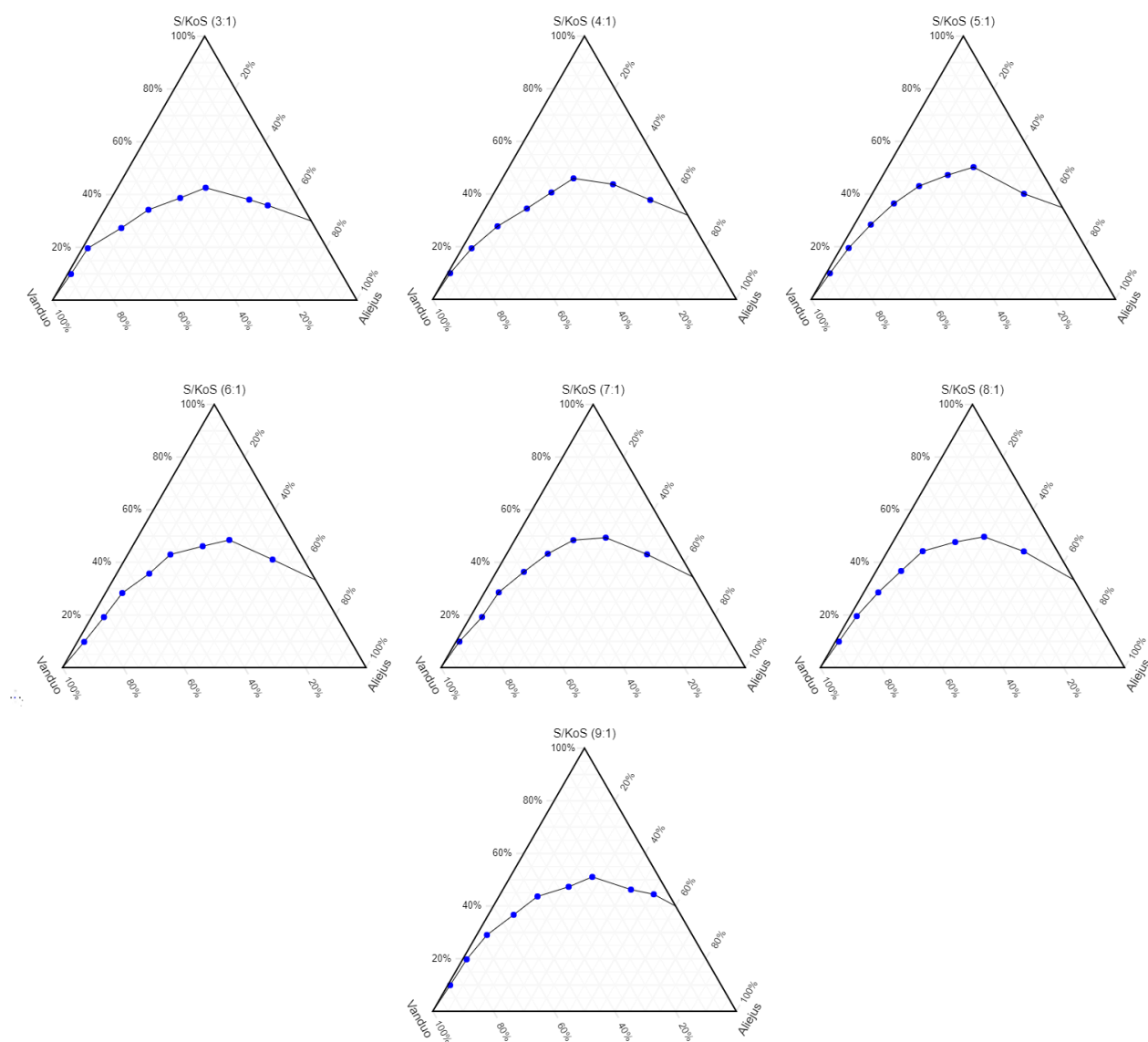
66. HARWANSH, R., K. PULOK, K. MUKHERJEE ir S. BISWAS. Nanoemulsion as a novel carrier system for improvement of betulinic acid oral bioavailability and hepatoprotective activity. *Journal of Molecular Liquids* [interaktyvus]. 2017, [žiūrėta 2020-06-26]. ISSN 0167-7322. Doi:10.1016/j.molliq.2017.04.051.
67. JAISWAL, M., R. DUDHE, P., K. SHARMA. Nanoemulsion: an advanced mode of drug delivery system. *A: 3 Biotech* [interaktyvus]. 2015, **5**(2), 123-127, [žiūrėta 2021-03-26]. ISSN 21905738. Doi: 10.1007/s13205-014-0214-0.
68. LI, Haiying, et. al. Improved oral bioavailability of poorly water-soluble glimepiride by utilizing microemulsion technique. *A: International Journal of Nanomedicine* [interaktyvus]. 2016, t. 11, pp. 3777-3788 [žiūrėta 2020-06-20]. ISSN 11782013. Doi: 10.2147/IJN.S105419.
69. HEGDE, R., R., A. VERMA ir A. GHOSH. Microemulsion: New Insights into the Ocular Drug Delivery. *A: ISRN Pharmaceutics* [interaktyvus]. 2013, t. 2013, pp. 1-11 [žiūrėta 2021-05-13]. ISSN 2090-6153. Doi: 10.1155/2013/826798.
70. RASHID, Muhammad Abid, et al. Chloramphenicol Loaded Microemulsions: Development, Characterization and Stability. *A: Colloids and Interface Science Communications*. 2019, t. 28, pp. 41-48. ISSN 22150382. Doi: 10.1016/j.colcom.2018.11.006.
71. XING, Qiao, et al. Microemulsions containing long chain oil ethyl oleate improve the oral bioavailability of piroxicam by increasing drug solubility and lymphatic transportation simultaneously. *A: International Journal of Pharmaceutics* [interaktyvus]. 2016 [žiūrėta 2021-05-13]. ISSN 0378-5173. Doi: 10.1016/j.ijpharm.2016.07.061.
72. LV, X., et. al. Improvement of the solubility, photostability, antioxidant activity and UVB photoprotection of trans-resveratrol by essential oil based microemulsions for topical application. *A: Journal of Drug Delivery Science and Technology* [interaktyvus]. 2018, t. 48, pp. 346-354 [žiūrėta 2020-12-04]. ISSN 17732247. Doi: 10.1016/j.jddst.2018.10.017.
73. PAULING, Linus. *Resveratrol* [interaktyvus]. Oregon State University, Corvallis, 2019 [žiūrėta 2020-12-03]. Prieiga per: <https://pi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/resveratrol>.
74. *Resveratrol* [interaktyvus]. Drugbank, [žiūrėta 2020-12-03]. Prieiga per: <https://go.drugbank.com/drugs/DB02709>.
75. RISULEO, G. ir C. LA MESA. Resveratrol: Biological Activities and Potential Use in Health and Disease. *Nutraceuticals in Veterinary Medicine*. 2019, pp. 215–226. Doi:10.1007/978-3-030-04624-8_15.
76. GAMBINI, J., et. al. Properties of Resveratrol: In Vitro and In Vivo Studies about Metabolism, Bioavailability, and Biological Effects in Animal Models and Humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [interaktyvus]. 2015, pp. 1–13 [žiūrėta 2020-12-04]. Doi:10.1155/2015/837042.
77. REDZA-DUTORDOIR, M. ir D., A. AVERILL-BATES. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* [interaktyvus]. 2016, **1863**(12), 2977 [žiūrėta 2020-12-05]. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.09.012>.
78. ZHU, Xia, et. al. The antidepressant- and anxiolytic-like effects of resveratrol: Involvement of phosphodiesterase-4D inhibition. *Neuropharmacology* [interaktyvus]. 2019, t. 153 pp. 20-31 [žiūrėta 2020-12-04]. Doi:10.1016/j.neuropharm.2019.04.022.
79. ANNUNZIATA, G., et. al. Resveratrol as a Novel Anti-Herpes Simplex Virus Nutraceutical Agent: An Overview. *Viruses* [interaktyvus]. 2018, **10**(9), 473 [žiūrėta 2020-12-06]. Doi:10.3390/v10090473.

80. MOSHAWIH, Said, et. al. Potential application of resveratrol in nanocarriers against cancer: Overview and future trends. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* [interaktyvus]. 2019, pp. 101187 [žiūrėta 2020-12-06]. Doi:10.1016/j.jddst.2019.101187.
81. HONARI, Mohadese, et. al. Resveratrol is a promising agent for colorectal cancer prevention and treatment: focus on molecular mechanisms. *Cancer Cell International* [interaktyvus]. 2019, **19**(1) [žiūrėta 2020-12-07]. Doi:10.1186/s12935-019-0906-y.
82. ABBA, Y., H. HASSIM, H. HAMZAH ir M. NOORDIN. Antiviral Activity of Resveratrol against Human and Animal Viruses. *Advances in Virology* [interaktyvus]. 2015, pp. 1–7 [žiūrėta 2020-12-07]. Doi: 10.1155/2015/184241.
83. CAMPAGNA, M. ir R., CARMEN. Antiviral activity of resveratrol. *Biochemical Society Transactions* [interaktyvus]. 2010, **38**(1) 50 [žiūrėta 2020-12-07]. Doi: 10.1042/BST0380050.
84. KOSOVIĆ E., M. TOPIAŘ, P. CUŘÍNOVÁ ir M. SAJFRTOVÁ. Stability testing of resveratrol and viniferin obtained from *Vitis vinifera* L. by various extraction methods considering the industrial viewpoint. *University of Chemistry and Technology in Prague* [interaktyvus]. 2020 [žiūrėta 2020-12-07]. Doi: 10.1038/s41598-020-62603-w.
85. CHACHAY Veronique, et. al. Resveratrol – pills to replace a healthy diet. *British Journal of Clinical Pharmacology* [interaktyvus]. 2011, **72**(1), 27–38 [žiūrėta 2020-12-07]. Doi:10.1111/j.1365-2125.2011.03966.x.
86. ŠALČIŪTĖ, Roberta. *Mikroemulsijų pritaikymas resveratrolio stabilizavimui ir jų kokybės vertinimas* [interaktyvus]. Lietuvos Sveikatos Mokslų Universitetas, 2020 [žiūrėta 2021-03-06]. Prieigaper:https://www.lsmuni.lt/cris/bitstream/20.500.12512/107089/1/Magistro_baigiamasis_darbas_Roberta_%C5%A0al%C4%8Di%C5%ABt%C4%97.pdf.
87. GÜRBÜZ, A., S. GÜNGÖR ir M., S. ERDAL. Development and In Vitro Characterization of Microemulsions of Isotretinoin. *ACTA Pharmaceutica Scientia* [interaktyvus]. 2017, **55**(2), 17–32 [žiūrėta 2021-03-20]. Doi:10.23893/1307-2080.APS.0559.
88. FOROUZ, Farzaneh., et. al. Development of an oil-in-water self-emulsifying microemulsion for cutaneous delivery of rose Bengal: Investigation of anti-melanoma properties. *Pharmaceutics* [interaktyvus]. 2020, **12**(10), 1–17 [žiūrėta 2021-03-20]. ISSN 19994923. Doi:10.3390/pharmaceutics12100947.
89. KLOSSEK, M., L., J. MARCUS, D. TOURAUD A., W. KUNZ. The extension of microemulsion regions by combining ethanol with other cosurfactants. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [interaktyvus]. 2013, t. 427, pp. 95–100 [žiūrėta 2021-03-20]. ISSN 18734359. Doi:10.1016/j.colsurfa.2013.03.059.
90. RIZWAN, Mohammad, et. al. Enhanced transdermal delivery of carvedilol using nanoemulsion as a vehicle. *Journal of Experimental Nanoscience* [interaktyvus]. Taylor & Francis, 2015, pp. 37–41 [žiūrėta 2021-03-20]. Doi:10.1080/17458080903583964.
91. CUI, Ying, et. al. Investigation of microemulsion system for transdermal delivery of ligustrazine phosphate. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* [interaktyvus]. 2011, 5(14), pp. 1674-1681 [žiūrėta 2021-03-23]. ISSN 1996-0816. Doi: 10.5897/AJPP11.138.
92. SZUMAŁA, Patrycja. Structure of Microemulsion Formulated with Monoacylglycerols in the Presence of Polyols and Ethanol. *Journal of Surfactants and Detergents* [interaktyvus]. 2015, **18**(1), 97–106 [žiūrėta 2021-03-23]. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11743-014-1618-x>.
93. RAMLI, S.Chyi, et. al. The influence of surfactant/co-surfactant hydrophilic-lipophilic balance on the formation of limonene-based microemulsion as Vitamin C carrier. *Sains*

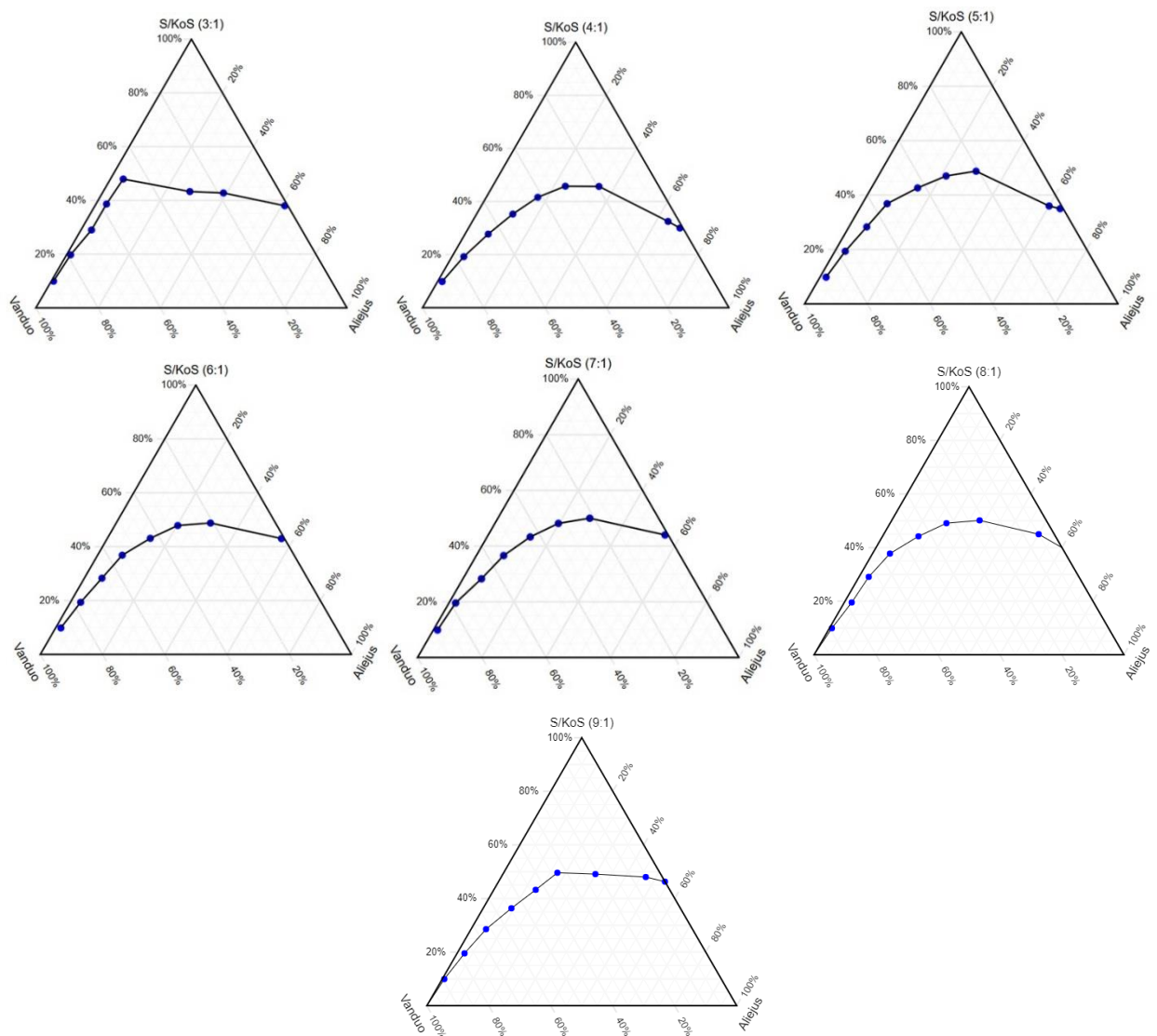
- Malaysiana* [interaktyvus]. 2019, **48**(5), 1035–1042 [žiūrėta 2021-03-23]. ISSN 01266039. Doi:10.17576/jsm-2019-4805-12.
94. EL MAGHRABY ir M. GAMAL. Transdermal delivery of hydrocortisone from eucalyptus oil microemulsion: Effects of cosurfactants. *International Journal of Pharmaceutics* [interaktyvus]. 2008, **355**(1–2), 285–292 [žiūrėta 2021-03-24]. ISSN 03785173. Doi:10.1016/j.ijpharm.2007.12.022.
95. LUECKE, J. ir R. MCCORMICK. Electrical Conductivity and pHe Response of Fuel Ethanol Contaminants. *Energy & Fuels* [interaktyvus]. 2014, t. 28, pp. 5222-5228 [žiūrėta 2021-04-23]. Doi: 10.1021/ef5013038.
96. VENDITTI, Iole Iucci, et. al. Direct conjugation of resveratrol on hydrophilic gold nanoparticles: Structural and cytotoxic studies for biomedical applications. *Nanomaterials* [interaktyvus]. 2020, **10**(10), 1–19. ISSN 20794991. Doi:10.3390/nano10101898.
97. PORTO, Isabel, et. al. Use of polyphenols as a strategy to prevent bond degradation in the dentin–resin interface. *European Journal of Oral Sciences* [interaktyvus]. 2018, **126**(2), 146–158 [žiūrėta 2021-04-23]. ISSN 16000722. Doi:10.1111/eos.12403.
98. DAS, S., S., H. LEE, P., S. CHOW, A., C. MACBEATH. Microemulsion composed of combination of skin beneficial oils as vehicle: Development of resveratrol-loaded microemulsion based formulations for skin care applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [interaktyvus]. Elsevier, 2020, t. 194, pp. 111161 [žiūrėta 2021-04-23]. ISSN 18734367. Doi:10.1016/j.colsurfb.2020.111161.

Priedai

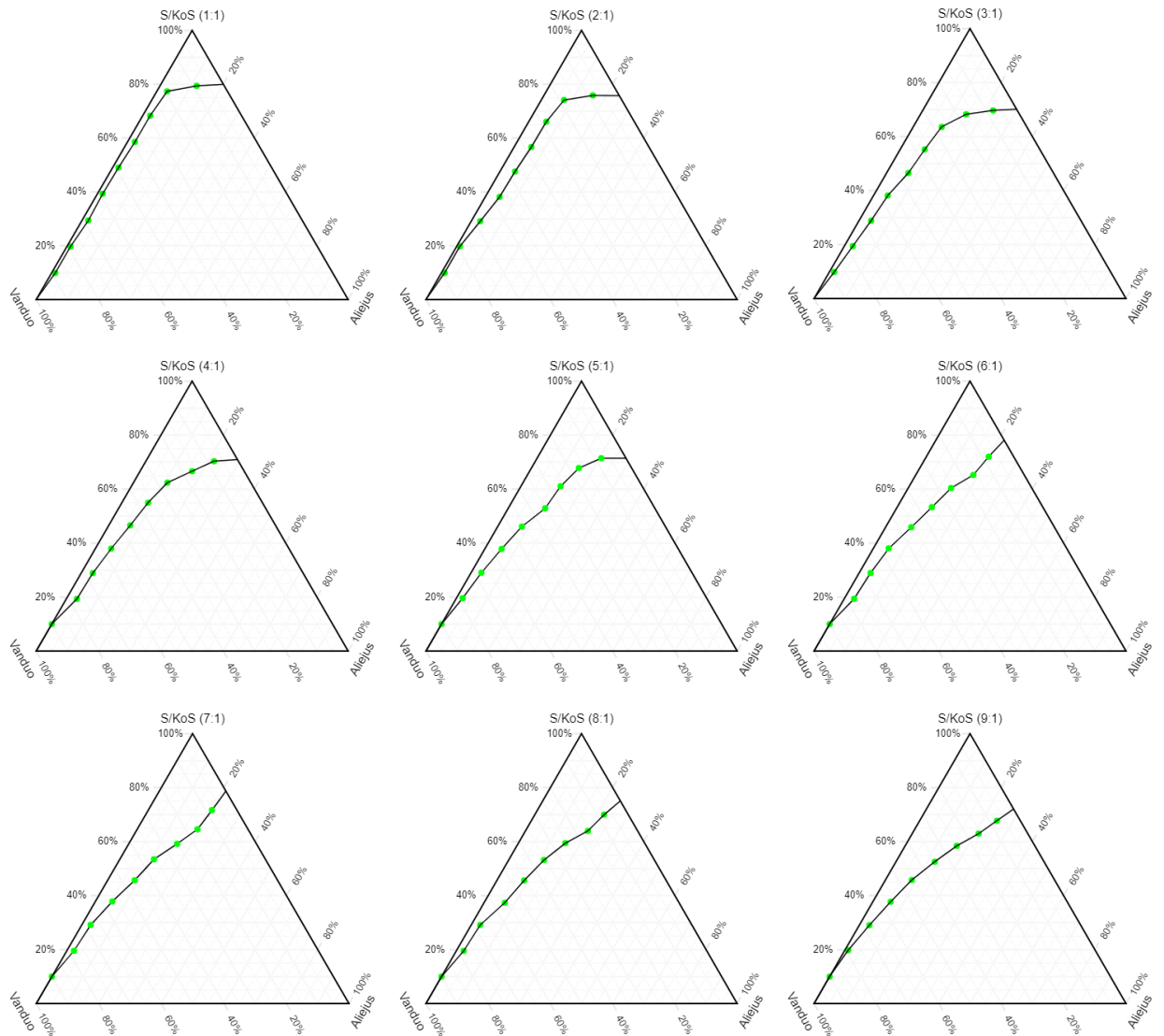
1 priedas. Pseudo-trinarės fazių diagramos esant S/KoS 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1 santykiams, kai KoS – PGI, aliejinė fazė – EO



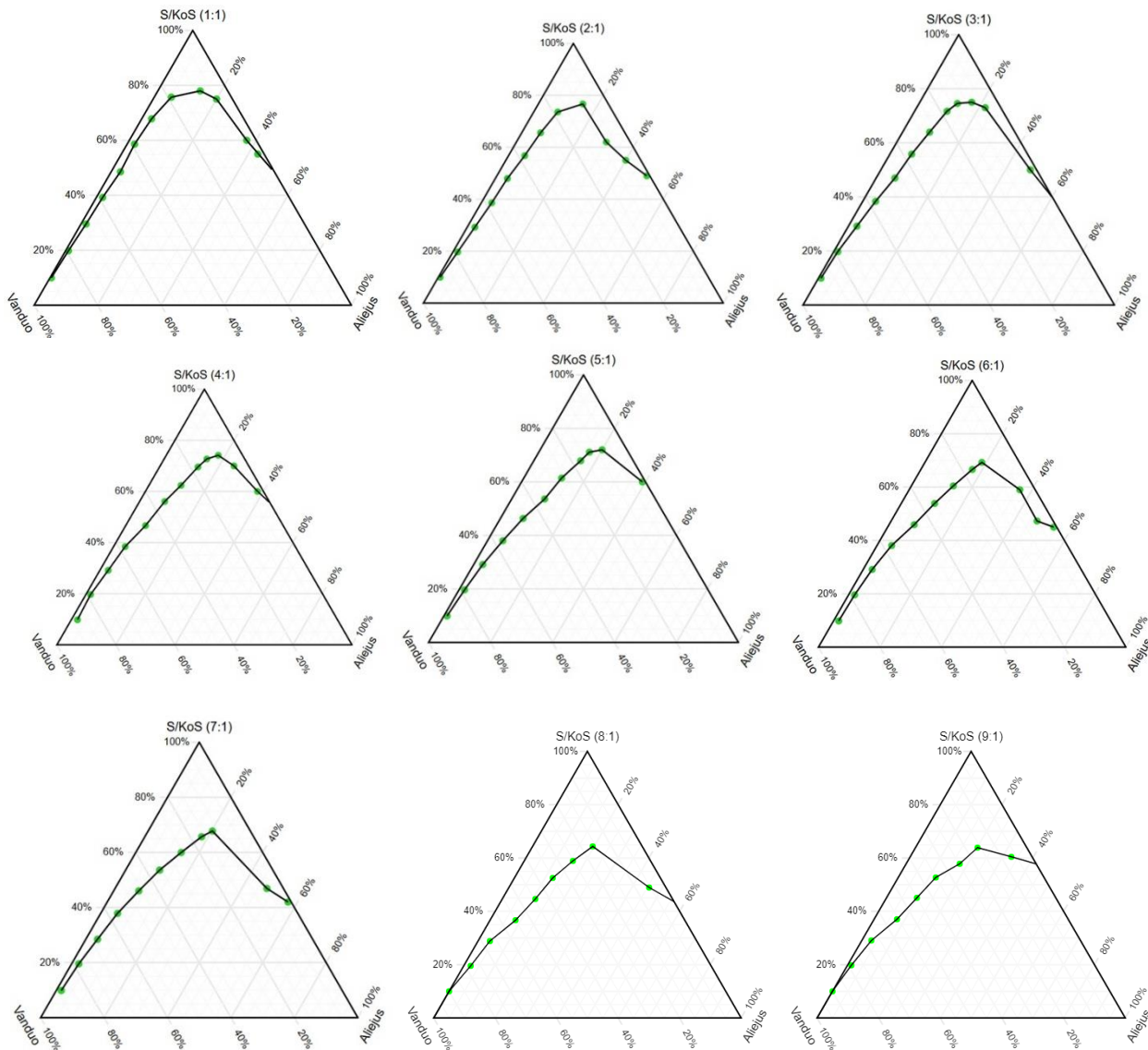
2 priedas. Pseudo-trinarės fazių diagramos esant S/KoS 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1 santykiams, kai KoS – PGI, aliejinė fazė – IMP. (Pseudo-trinarės fazių diagramos, kai S/KoS santykiai 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, gautos su leidimu, iš Robertos Šalčiūtės tiriamojo darbo).



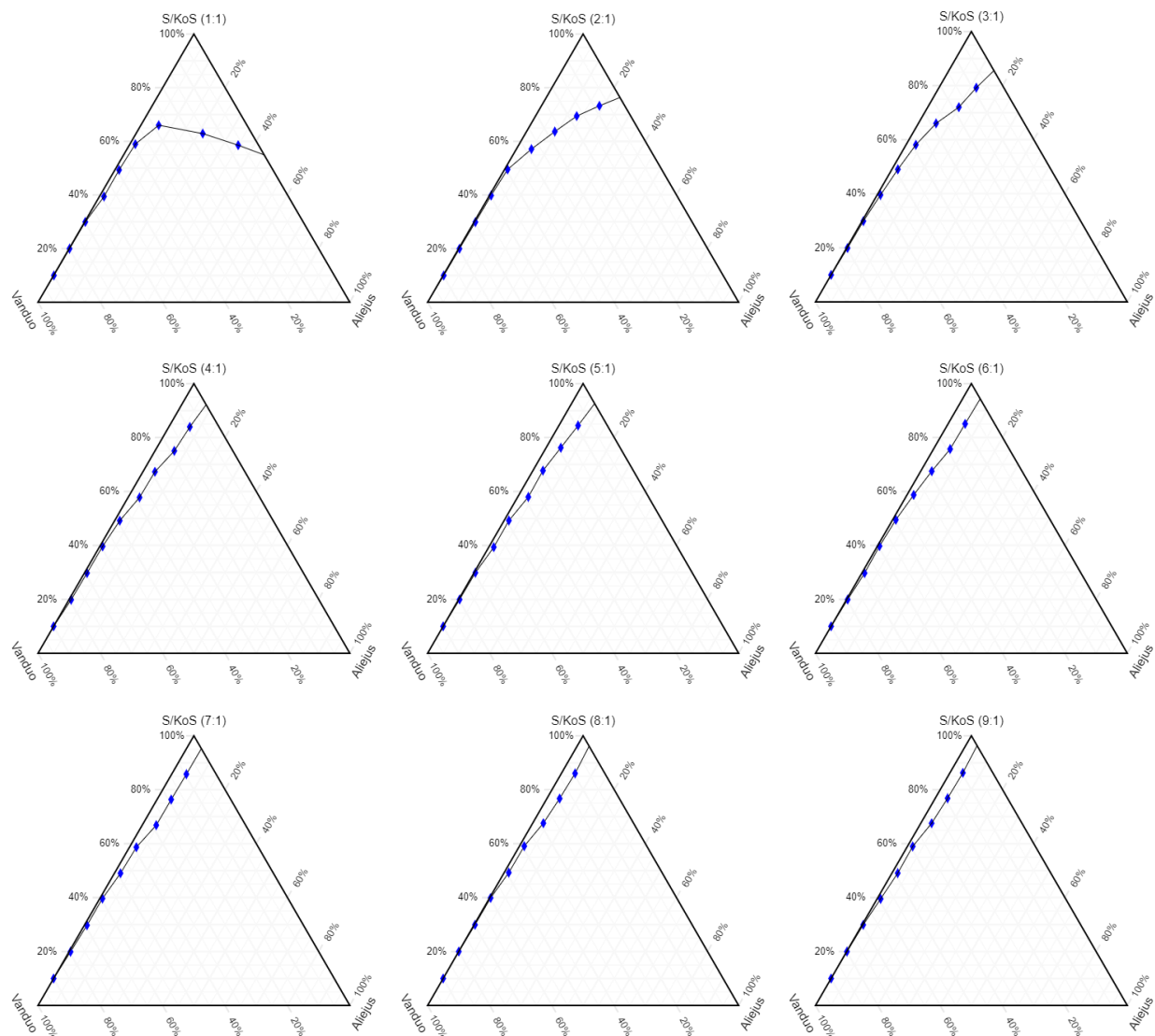
3 priedas. Pseudo-trinarės fazių diagramos esant S/KoS 1:1, 2:1,3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1 santykiams, kai KoS – ET, aliejinė fazė – EO



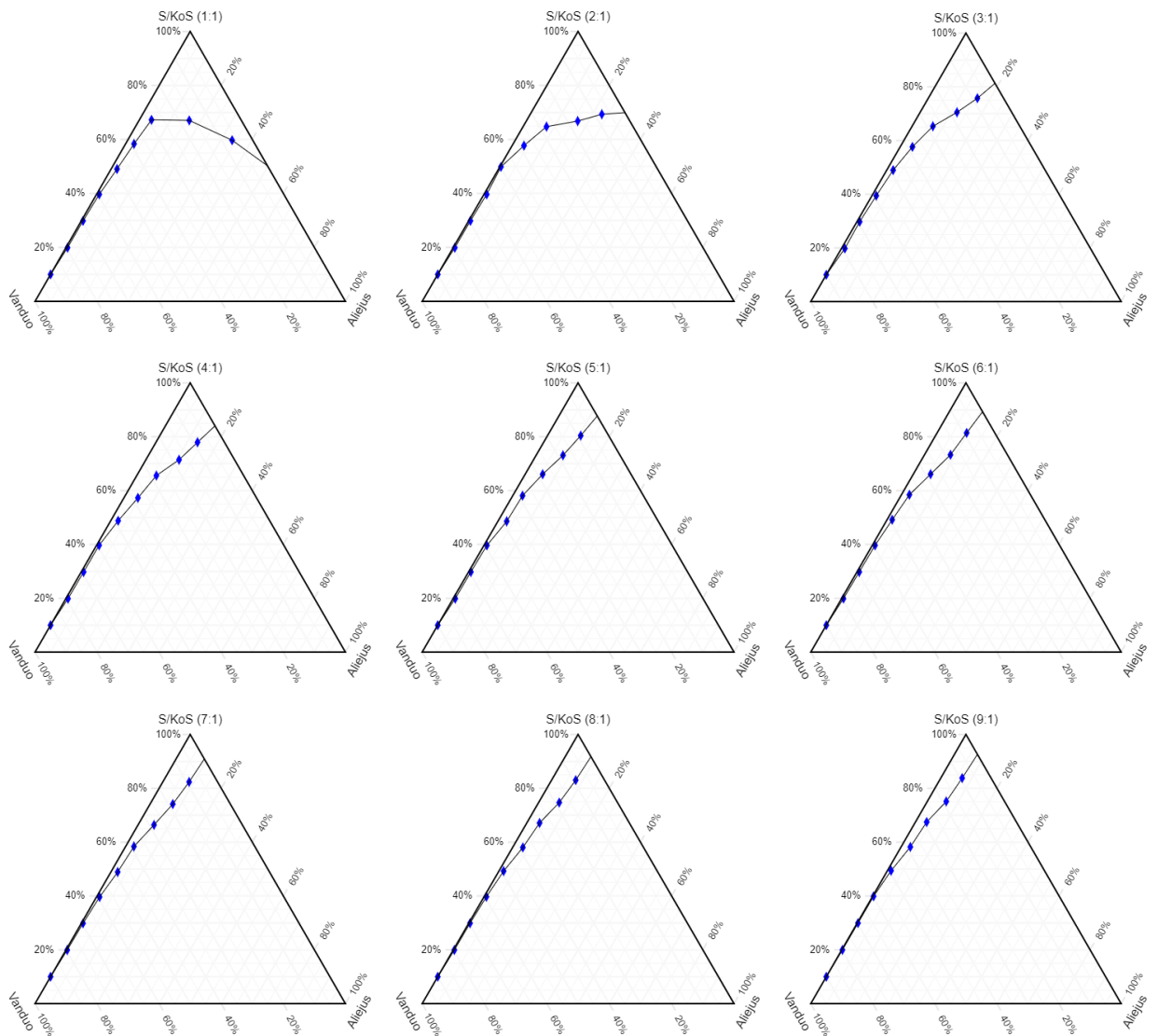
4 priedas. Pseudo-trinarės fazių diagramos esant S/KoS 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1 santykiams, kai KoS – ET, aliejinė fazė – IMP. (Pseudo-trinarės fazių diagramos, kai S/KoS santykiai 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, gautos su leidimu, iš Robertos Šalčiūtės tiriamojo darbo).



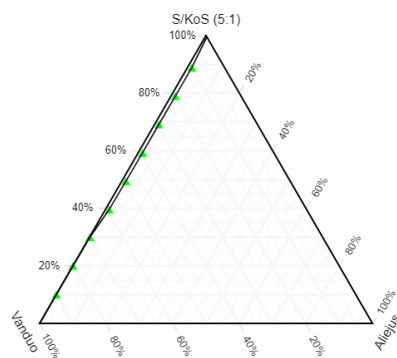
5 priedas. Pseudo-trinarės fazių diagramos esant S/KoS 1:1, 2:1,3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1 santykiams, KoS – PGI ir aliejinė fazė – alyvuogių aliejus



6 priedas. Pseudo-trinarės fazių diagramos esant S/KoS 1:1, 2:1,3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1 santykiams, KoS – PGI ir aliejinė fazė – linų sėmenų aliejus



7 priedas. Pseudo-trinarės fazių diagramos esant S/KoS 5:1 santykiui, KoS – ET ir aliejinė fazė – alyvuogių aliejus



8 priedas. Pseudo-trinarės fazių diagramos esant S/KoS 5:1 santykiui, KoS – ET ir aliejinė fazė – linų sėmenų aliejus

