Die toepassing van 'n nifedipien-2-hidroksiepropiel-β-siklodekstrien insluitingskompleks vir die ontwikkeling van parenterale doseervorme

Heindrich Pienaar, B.Pharm.

Verhandeling voorgelê vir gedeeltelike nakoming van die vereistes vir die graad Magister Scientiae in die Departement Farmaseutika aan die Potchefstroomse Universiteit vir Christelike Hoër Onderwys

Leier: Prof. C.J. van Wyk
Medeleier: Mnr. A.F. Kotzé

Potchefstroom

1994

MET LIEFDE OPGEDRA

AAN MY OUERS

KOOS EN DINA PIENAAR

DANKBETUIGINGS

Dit is vir my aangenaam om almal wat betrokke was by die voltooiing van hierdie studie, opreg te bedank vir al die hulp, ondersteuning en aanmoediging. Sonder hulle sou hierdie studie nie moontlik gewees het nie.

Aan my Skepper wat my die krag en wysheid gegee het, kom al die lof en eer toe. Uit my eie krag sou ek nie die studie kon aanpak en voltooi nie, maar "*...ek is tot alles in staat deur Christus wat my krag gee ...*"

Prof. C.J. van Wyk (hoofleier) en ***Mnr. A.F. Kotzé*** (medeleier), my dank en waardering. Prof. van Wyk, wat ten spyte van 'n druk werksprogram, geduldig hulp, aanmoediging en leiding in hierdie ondersoek gegee het en wie se bemoediging en bystand tydens die finale fase van hierdie ondersoek van onskatbare waarde was, en Mnr. Kotzé vir sy voortdurende ondersteuning, advies, geduld en leiding hierdie afgelope twee jaar. U was deurentyd 'n bron van inspirasie. Dankie vir die entoesiasme waarmee u my aangemoedig het.

My dank aan ***Dr. B. Boneschans*** vir die gebruik van die MBR-laboratorium en die hulp, raad en belangstelling in hierdie studie.

Dr. T.G. Dekker, vir u belangstelling en hulp met hierdie studie.

My opregte dank aan: Die Stigting vir Farmaseutiese Opleiding (SFO), Adcock Ingram, Noristan en South African Druggists, vir hul finansiële ondersteuning.

Mev. A. Pretorius van die Natuurwetenskappe-takbiblioteek vir haar vriendelikheid, moeite met die opspoor van literatuur en kontrollering van die bibliografie.

Mev. C. Postma vir die tik van tabelle en versorging van die teks.

Prof. J.G. van der Watt, vir u belangstelling in hierdie studie, en hulp met die statistiese analise en interpretering van die data. Dankie dat u altyd gewillig was om te help en raad te gee.

Dr. L. Fourie en ***Dr. M.M. de Villiers***, vir u hulp met onderskeidelik die trek van massaspektra en uitvoer van differensiële skanderingskaloriemetrie.

Madeleine en ***Francois***, my medestudente, vir julle belangstelling die afgelope twee jaar.

My opregte dank aan ***Johannes (J.P.)*** vir al jou hulp met die beskikbaarstel van rekenaarprogramme wat ek in hierdie studie gebruik het.

Aan almal werksaam by departement Farmaseutika (PU vir CHO) vir julle vriendelikheid en belangstelling. Julle is wonderlike mense om mee saam te werk.

My opregte dank aan my ***ouers***, aan wie hierdie verhandeling opgedra is, vir julle liefde, ondersteuning en belangstelling. Dankie dat julle my te alle tye bygestaan, gemotiveer en in julle gebede opgedra het. Ook aan ***Francois***, ***Lida***, ***Gretha*** en ***Ronél***, dankie vir julle belangstelling.

Aan my vriende ***Gert***, ***Juliana***, ***Diana***, ***Daniel***, ***Madelein*** en ***Lientjie***, vir julle vriendskap, belangstelling en ondersteuning.

INHOUDSOPGAWE

BLADSY

DANKBETUIGINGS i

INLEIDING xvii

HOOFSTUK EEN 1

SIKLODEKSTRIENE 1

1.1 INLEIDING 1

1.2 DIE OORSPRONG EN EIENSKAPPE VAN SIKLODEKSTRIENE 2

1.2.1 Inleiding 2

1.2.2 Fisiese en chemiese eienskappe van die siklodekstriene 3

1.2.3 Toksisiteit van die siklodekstriene 6

1.2.4 Absorpsie en metabolisme van die siklodekstriene 8

1.2.5 Derivate van die siklodekstriene 8

1.2.5.1 Hidrofiliese beta-siklodekstrienderivate 9

1.2.5.1.1 Metiel-beta-siklodekstrienderivate 9

1.2.5.1.2 Hidroksie-gealkileerde beta-siklodekstrienderivate 11

1.2.5.1.3 Vertakte beta-siklodekstrienderivate 13

1.2.5.2 Hidrofobiese beta-siklodekstrienderivate 13

1.2.5.2.1 Geëtileerde beta-siklodekstriene 13

1.2.5.3 Ioniseerbare beta-siklodekstrienderivate 14

1.2.6 Opsomming 14

1.3 DIE TOEPASSING VAN SIKLODEKSTRIENKOMPLEKSE 15

1.3.1 Inleiding 15

1.3.2 Wateroplosbaarheid 15

1.3.2.1 Verhoging in wateroplosbaarheid 16

1.3.2.2 Afname in wateroplosbaarheid 18
1.3.3 Biobeskikbaarheid 19
1.3.4 Stabiliteit 19
1.3.4.1 Hittestabiliteit 19
1.3.4.1.1 Vlugtige stowwe 19
1.3.4.1.2 Weerstand teen hitte 20
1.3.4.2 Weerstand teen oksidasie 20
1.3.4.3 Weerstand teen hidrolise 20
1.3.5 Opsomming 21

1.4 DIE MEGANISME EN METODE VAN KOMPLEKSVORMING 22
1.4.1 Inleiding 22
1.4.2 Kragte betrokke by kompleksvorming 23
1.4.3 Siklodekstrien : geneesmiddelverhoudings 23
1.4.4 Metodes om insluitingskomplekse te berei 24
1.4.4.1 Vloeistof-vloeistofmetode 24
1.4.4.2 Vloeistof-vastestofmetode 25
1.4.4.3 Gas-vloeistofmetode 25
1.4.5 Die isolering van geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse 25
1.4.6 Opsomming 26

1.5 IDENTIFISERING EN ANALISE VAN GENEESMIDDEL-SIKLODEKSTRIENKOMPLEKSE 26
1.5.1 Inleiding 26
1.5.2 Fase-oplosbaarheidstudies 27
1.5.3 Kernmagnetiese resonansspektroskopie (KMR) 29
1.5.4 Infrarooispektrofotometrie (IR) 29
1.5.5 Sirkulêre dichroïsmestudies 30
1.5.6 Fluoresensie 30

1.5.7 Chromatografie 30

1.5.8 X-straaldiffraktometrie 31

1.5.8.1 X-straalpoeierdiffraktometrie 31

1.5.8.2 X-straalkristallografie 32

1.5.9 Metodes wat gebruik maak van hitte 32

1.5.9.1 Termo-analitiese sisteem (TAS) 32

1.5.9.2 Termogravimetriese analise (TGA) 32

1.5.9.3 Termiese evolusie (bewegings)-analiseerder (TEA) 33

1.5.9.4 Differensiële termiese analise (DTA) 34

1.5.9.5 Differensiële skanderingskalorimetrie (DSC) 34

1.5.10 Opsomming 35

1.6 SAMEVATTING 35

HOOFSTUK TWEE 37

NIFEDIPIEN 37

2.1 INLEIDING 37

2.2 IDENTIFIKASIE EN ALGEMENE EIENSKAPPE 37

2.2.1 Struktuur, formule en molekulêre massa 37

2.2.2 Persentasieverdeling van die elemente 38

2.2.3 Voorkoms 38

2.3 FISIESE EN CHEMIESE EIENSKAPPE 38

2.3.1 Vastestofeienskappe 38

2.3.2 Oplosbaarheidseienskappe 39

2.3.2.1 Oplosbaarheid 39

2.3.2.2 Dissosiasiekonstante (pKa) 40

2.3.3 Stabiliteit 40

2.4 SPEKTRAALEIENSKAPPE VAN NIFEDIPIEN 43
2.4.1 Ultravioletspektrum 43
2.4.2 Infrarooispektrum 44
2.4.3 Kernmagnetiese resonansspektrum (KMR) 45

2.5 SINTESE VAN NIFEDIPIEN 46

2.6 FARMAKOKINETIESE EIENSKAPPE 47
2.6.1 Inleiding 47
2.6.2 Absorpsie 48
2.6.3 Verspreiding 51
2.6.4 Metabolisme en uitskeiding 51
2.6.5 Halfleeftyd 53

2.7 FARMAKOLOGIE VAN NIFEDIPIEN 53

2.8 KOMMERSIëLE PREPARATE 53

2.9 SAMEVATTING 54

HOOFSTUK DRIE 55

DIE INVLOED VAN 2-HIDROKSIEPROPIEL-BETA-SIKLODEKSTRIEN OP DIE OPLOSBAARHEID EN STABILITEIT VAN NIFEDIPIEN 55

3.1 INLEIDING 55

3.2 DOELSTELLING 55

3.3 DIE INVLOED VAN 2-HIDROKSIEPROPIEL-BETA-SIKLODEKSTRIEN OP DIE OPLOSBAARHEID VAN NIFEDIPIEN 56

3.3.1 Inleiding 56
3.3.2 Validering van die spektrofotometriese metode 56
3.3.2.1 Bepaling van die golflengte van die maksimumabsorpsie vir nifedipien 56
3.3.2.1.1 Metode 56
3.3.2.1.2 Resultate en gevolgtrekking 56
3.3.2.2 Standaardkrommes 57
3.3.2.2.1 Metode 57
3.3.2.2.2 Resultate en gevolgtrekking 58
3.3.2.3 Herhaalbaarheid 59
3.3.2.3.1 Metode 59
3.3.2.3.2 Resultate en gevolgtrekking 60
3.3.2.4 Akkuraatheid 60
3.3.2.4.1 Metode 60
3.3.2.4.2 Resultate en gevolgtrekking 61
3.3.3 Oplosbaarheidstudie 61
3.3.3.1 Metode 61
3.3.3.2 Resultate en bespreking 62
3.3.4 Gevolgtrekking 67

3.4 DIE INVLOED VAN 2-HIDROKSIEPROPIEL-BETA-SIKLODEKSTRIEN OP DIE STABILITEIT VAN NIFEDIPIEN IN OPLOSSING 68
3.4.1 Inleiding 68
3.4.2 Ontwikkeling van 'n hoë-verrigting-vloeistof-vloeistof-chromatografiese metode (HPLC-metode) 68
3.4.3 Validering van die HPLC-metode 69
3.4.3.1 Standaardkrommes 69
3.4.3.1.1 Metode 69
3.4.3.1.2 Resultate en gevolgtrekking 70
3.4.3.2 Herhaalbaarheid 71

3.4.3.2.1 Metode..71
3.4.3.2.2 Resultate en bespreking 72
3.4.3.3 Akkuraatheid 72
3.4.3.3.1 Metode..72
3.4.3.3.2 Resultate en bespreking 72
3.4.3.4 Sisteemgeskiktheid..73
3.4.3.4.1 Metode..73
3.4.3.4.2 Resultate en gevolgtrekking 73
3.4.4 Stabiliteitstudie 76
3.4.4.1 Metode..76
3.4.4.2 Resultate en bespreking 78
3.4.4.2.1 Stabiliteitstudie in deursigtige glasampulle..78
3.4.4.2.2 Stabiliteitstudie by hoër konsentrasies siklodekstrien 85
3.4.4.2.3 Stabiliteitstudie in amberglasampulle 88
3.4.5 Gevolgtrekking 93

3.5 SAMEVATTING 94

HOOFSTUK VIER..96

DIE FARMASEUTIESE TIPERING VAN 'N NIFEDIPIEN-2-HIDROKSIEPROPIEL-BETA-SIKLODEKSTRIENKOMPLEKS..96

4.1 INLEIDING 96

4.2 ULTRAVIOLETSPEKTROFOTOMETRIE 96
4.2.1 Inleiding..96
4.2.2 Doelstelling 97
4.2.3 Metode..97
4.2.4 Resultate en bespreking 98
4.2.5 Gevolgtrekking 100

4.3 MASSASPEKTROMETRIE 100
4.3.1 Inleiding 100
4.3.2 Doelstelling 100
4.3.3 Metode 101
4.3.4 Resultate en bespreking 102
4.3.5 Gevolgtrekking 105

4.4 INFRAROOISPEKTROFOTOMETRIE 106
4.4.1 Inleiding 106
4.4.2 Doelstelling 106
4.4.3 Metode 107
4.4.4 Resultate en bespreking 107
4.4.5 Gevolgtrekking 110

4.5 DIFFERENSIëLE SKANDERINGSKALORIMETRIE (DSC) 110
4.5.1 Inleiding 110
4.5.2 Doelstelling 111
4.5.3 Metode 111
4.5.4 Resultate en bespreking 111
4.5.5 Gevolgtrekking 117

4.6 X-STRAALPOEIERDIFFRAKTOMETRIE 118
4.6.1 Inleiding 118
4.6.2 Doelstelling 118
4.6.3 Metode 118
4.6.4 Resultate en bespreking 118
4.6.5 Gevolgtrekking 120

4.7 SAMEVATTING 120

OPSOMMING 122

SUMMARY 124

BYLAE A 126

BIBLIOGRAFIE 127

LYS VAN TABELLE

Tabel 1.1: Eienskappe van die siklodekstriene (*Brewster et al. 1989:231*). 5

Tabel 1.2: Die beta-siklodekstrienderivate (*Uekama & Irie, 1990:23*). 10

Tabel 1.3: 'n Opsomming van 'n aantal geneesmiddels waarvan die wateroplosbaarheid met behulp van die siklodekstriene verhoog is (*Duchéne & Wouessidjewe, 1990b:2492*). 17

Tabel 2.1: Die oplosbaarheidseienskappe van nifedipien (*Ali, 1989:229*). 39

Tabel 2.2: Die afbraakparameters (K, t_{50} en t_{90}) van nifedipien in 'n alkoholiese oplossing onder verskillende ligbronne (*Ali, 1989:248*). 42

Tabel 2.3: Die struktuuropklaring van nifedipien deur gebruik te maak van infrarooispektrofotometrie (*Ali, 1989:236*). 44

Tabel 2.4: Die chemiese verskuiwings van die 1H-KMR-spektrum van nifedipien (*Ali, 1989:239*). 45

Tabel 3.1: Die eksperimentele waardes en regressie-analise van die standaardkrommes vir dag 1 en dag 2. 59

Tabel 3.2: Bepaling van die herhaalbaarheid van die spektrofotometriese metode (n=5). 60

Tabel 3.3: Bepaling van die akkuraatheid van die spektrofotometriese metode. 61

Tabel 3.4: Tukey se toets vir die nifedipienkonsentrasie, met interdagvariasie as hoofeffek. 63

Tabel 3.5: Die gemiddelde konsentrasie nifedipien opgelos as funksie van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkonsentrasie oor 8 dae. 64

Tabel 3.6: Die konsentrasie nifedipien opgelos as funksie van beta-siklodekstrienkonsentrasie. 64

Tabel 3.7: Korrelasiekoëffisiënte van die standaardkrommes vir nifedipien wat in elke ondersoek verkry is. 71

Tabel 3.8: Bepaling van die herhaalbaarheid van die HPLC-metode (n=6). 72

Tabel 3.9: Bepaling van die akkuraatheid van die HPLC-metode. 73

Tabel 3.10: Spesifieke toestande waaraan monsters blootgestel is. 77

Tabel 3.11: Die afbraak van nifedipien as funksie van tyd onder ultravioletlig. 79

Tabel 3.12: Die afbraak van nifedipien as funksie van tyd onder lamplig. 80

Tabel 3.13: Die afbraak van nifedipien as funksie van tyd in daglig.......................... 81

Tabel 3.14: Die resultate van die eerste-orde afbraakkinetika van nifedipien onder ultravioletlig. 82

Tabel 3.15: Die resultate van die eerste-orde afbraakkinetika van nifedipien onder lamplig. 83

Tabel 3.16: Die resultate van die eerste-orde afbraakkinetika van nifedipien in daglig. 84

Tabel 3.17: Die afbraak van nifedipien as funksie van tyd onder ultravioletlig, by 'n hoër konsentrasie 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien. 86

Tabel 3.18: Die resultate van die eerste-orde afbraakkinetika van nifedipien onder ultravioletlig, by 'n hoër konsentrasie 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien. 87

Tabel 3.19: Die afbraak van nifedipien onder ultravioletlig.................................. 89

Tabel 3.20: Die afbraak van nifedipien onder normale laboratoriumlig. 90

Tabel 3.21: Die resultate van die eerste-orde afbraakkinetika van nifedipien onder ultravioletlig.. 91

Tabel 3.22: Die resultate van die eerste-orde afbraakkinetika van nifedipien onder normale laboratoriumlig. 92

Tabel 4.1: Absorpsiedata vir die ultravioletspektraalanalise van nifedipien met beide 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien by 'n golflengte van 236,8 nm. 99

Tabel 4.2: Samevatting van die DSC-resultate van die endotermiese pieke van nifedipien, 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien. .. 112

LYS VAN FIGURE

Figuur 1.1: Skematiese voorstelling van die afbraak van stysel deur die ensiem siklodekstrien-glukosiel-transferase (CGTase) (*Szejtli, 1990:11*). 2

Figuur 1.2: Skematiese voorstelling van die basiese kenmerke van siklodekstriene. 4

Figuur 1.3: Skematiese voorstelling van die struktuur van die drie natuurlike siklodekstriene en hulle geometriese dimensies (*Szejtli, 1990:12*). 4

Figuur 1.4: Die chemiese struktuur van dimetiel-beta-siklodekstrien (Me = CH3) (*Szejtli, 1982:136*). 11

Figuur 1.5: Skematiese voorstelling van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien (*Brewster et al., 1991:792*).. 12

Figuur 1.6: Die dissolusieprofiel van diltiasemtablette. (I) Diltiasem alleen, (II) Diltiasem-diëtiel-beta-siklodekstrienkompleks en (III) Diltiasem-triëtiel-beta-siklodekstrienkompleks (*Uekama et al., 1987:660*). 18

Figuur 1.7: Skematiese voorstelling van verskillende fase-oplosbaarheidsdiagramme (*Higuchi & Connors, 1965:134*).. 27

Figuur 1.8: X-straalpoeierdiffraksiepatrone van (I) digoksien, (II) digoksien-2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkompleks (spreidroog), (III) fisiese mengsel van digoksien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkompleks (1:5) (*Helm et al., 1991:202*). 31

Figuur 1.9: Termogravimetriese kurwes van sinaamsuurderivate en komplekse daarvan met beta-siklodekstrien.(a) Sinaamsuurderivaat alleen, (b) beta-siklodekstrienkompleks MC = metielsinnamaat, EC = Etielsinnamaat en CA = Sinnamaldehied (*Uekama et al., 1979:76*). 33

Figuur 1.10: Termogramme van beta-siklodekstrien, cholekalsiferol, hulle fisiese mengsel en die insluitingskompleks daarvan (*Szejtli et al., 1980:781*). 34

Figuur 1.11: Termogramme van beta-siklodekstrien, cholekalsiferol (vitamien-D3), 'n fisiese mengsel daarvan en vitamien-D3-beta-siklodekstrienkompleks (*Szejtli et al., 1980:781*). 35

Figuur 2.1: 'n Skematiese voorstelling van die chemiese struktuur van nifedipien (*Ali, 1989:225*). 38

Figuur 2.2: 'n Driedimensionele voorstelling van die chemiese struktuur van nifedipien (*Triggle et al., 1980:1443*). 39

Figuur 2.3: 'n Skematiese voorstelling van die in vitro afbraakproses van nifedipien (*Ebel et al., 1978:2188*). 41

Figuur 2.4: Die afbraak van nifedipien, opgelos in absolute etanol as funksie van die ligbron (I) daglig, Novembermaand en (II) lamplig 40 Watt, 11 cm afstand (*Ali, 1989:248*). 42

Figuur 2.5: Die ultravioletspektrum van nifedipien in verskillende oplosmiddels (*Dibbern, 1985:231*). 43

Figuur 2.6: Die infrarooispektrum van nifedipien met 'n Perkin-Elmer 1420 spektrofotometer (*Ali, 1989:235*). 44

Figuur 2.7: Die struktuurtoewysings van die ^{1}H-KMR-seine van nifedipien (*Ali, 1989:237*). 45

Figuur 2.8: Die ^{1}H-KMR-spektrum van nifedipien met 'n Bruker 250 MHz spektrofotometer (*Ali, 1989:238*). 46

Figuur 2.9: Skematiese voorstelling van die sintese van nifedipien (*Ali, 1989:228*). 47

Figuur 2.10: Log plasmakonsentrasies van nifedipien na verskeie roetes van toediening: (I) 20 mg kapsule, (II) 20 mg tablet en (III) 0,015 mg/kg inspuiting (*Kleinbloesem et al., 1984:742*). 49

Figuur 2.11: Die farmakokinetika van (I) nifedipientablette en (II) nifedipienkapsules as funksie van tyd (*Kleinbloesem et al., 1984:742*). 50

Figuur 2.12: 'n Skematiese voorstelling van die metabolisme van nifedipien (*Ali, 1989:272*). 52

Figuur 3.1: Die ultravioletspektrum van nifedipien. 57

Figuur 3.2: Die gemiddelde absorpsie van nifedipien as funksie van nifedipienkonsentrasie. 58

Figuur 3.3: Die fase-oplosbaarheidsdiagramme van nifedipien as funksie van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkonsentrasie en tyd. 65

Figuur 3.4: Die fase-oplosbaarheidsdiagram van nifedipien as funksie van beta-siklodekstrienkonsentrasie. 65

Figuur 3.5: 'n Tipiese standaardkromme vir nifedipien. 70

Figuur 3.6: Die hoëdrukvloeistofchromatogram wat gebruik is om die sisteemgeskiktheid te bepaal. 74

Figuur 3.7: Tipiese chromatogramme van die afbraak van nifedipien onder ultravioletlig met tyd. (I) 0 minute, (II) 30 minute en (III) 60 minute. (a) nifedipien, (b) nitrosofenielpiridienderivaat en (c) nitrofenielpiridienderivaat. 78

Figuur 3.8: Die gemiddelde afbraak van nifedipien onder ultravioletlig. 79

Figuur 3.9: Die gemiddelde afbraak van nifedipien onder lamplig. 80

Figuur 3.10: Die gemiddelde afbraak van nifedipien in daglig. 81

Figuur 3.11: Die eerste-orde kinetikapassing van nifedipien onder ultravioletlig. 82

Figuur 3.12: Die eerste-orde kinetikapassing van nifedipien onder lamplig. 83

Figuur 3.13: Die eerste-orde kinetikapassing van nifedipien in daglig. 84

Figuur 3.14: Die afbraak van nifedipien onder ultravioletlig, by 'n hoër konsentrasie 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien. 86

Figuur 3.15: Die eerste-orde kinetikapassing van nifedipien onder ultravioletlig. 87

Figuur 3.16: Die afbraak van nifedipien onder ultravioletlig. 89

Figuur 3.17: Die afbraak van nifedipien onder normale laboratoriumlig. 90

Figuur 3.18: Die eerste-orde kinetikapassing van nifedipien onder ultravioletlig. 91

Figuur 3.19: Die eerste-orde kinetikapassing van nifedipien onder normale laboratoriumlig. 92

Figuur 4.1: Die invloed van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien op die ultravioletabsorpsiespektrum van 'n 0,006% (m/v) nifedipienoplossing. 98

Figuur 4.2: Die invloed van beta-siklodekstrien op die ultravioletabsorpsiespektrum van 'n 0,006% (m/v) nifedipienoplossing. 98

Figuur 4.3: Massaspektrum van nifedipien. 102

Figuur 4.4: Massaspektrum van beta-siklodekstrien. 102

Figuur 4.5: Massaspektrum van die bereide nifedipien-beta-siklodekstrienkompleks. ... 103

Figuur 4.6: Elektronsproei-massaspektrum van nifedipien. 104

Figuur 4.7: Elektronsproei-massaspektrum van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien. 104

Figuur 4.8: Elektronsproei-massaspektrum van die bereide nifedipien-2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkompleks. 105

Figuur 4.9: Die infrarooispektrum van nifedipien 107

Figuur 4.10: Die infrarooispektrum van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien. 108

Figuur 4.11: Die infrarooispektrum van die bereide nifedipien-2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkompleks. 108

Figuur 4.12: Die infrarooispektrum van beta-siklodekstrien. 109

Figuur 4.13: Die infrarooispektrum van die bereide nifedipien-beta-siklodekstrienkompleks. 109

Figuur 4.14: Die DSC-termogram van nifedipien. 112

Figuur 4.15: Die DSC-termogram van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien. 113

Figuur 4.16: Die DSC-termogram van die fisiese mengsel van nifedipien met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien. 113

Figuur 4.17: Die DSC-termogram van die bereide nifedipien-2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkompleks. 114

Figuur 4.18: Die DSC-termogram van beta-siklodekstrien. 115

Figuur 4.19: Die DSC-termogram van 'n fisiese-mengsel van nifedipien en beta-siklodekstrien. 116

Figuur 4.20: Die DSC-termogram van 'n nifedipien-beta-siklodekstrienkompleks. 116

Figuur 4.21: Die X-straalpoeierdiffraktogramme van (I) nifedipien, (II) 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien (III) nifedipien-2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkompleks. 119

Figuur 4.22: Die X-straalpoeierdiffraktogramme van (I) nifedipien (gevriesdroog) en (II) 'n fisiese mengsel (1:1) van nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien. 119

INLEIDING

Die gebruik van die siklodekstriene om die fisiese en chemiese eienskappe van geneesmiddels te verander deur die vorming van insluitingskomplekse, is alom onder navorsers bekend. Die siklodekstriene word in die farmaseutiese industrie gebruik om veral die oplosbaarheid, biobeskikbaarheid en stabiliteit van geneesmiddels te verbeter *(Kata & Kedvessy, 1987:98)*. Talle studies is reeds ten opsigte van die insluitingskomplekse van die natuurlike siklodekstriene, veral beta-siklodekstrien onderneem *(Kurozumi et al., 1975; Otagiri et al., 1978; Uekama et al., 1979; Szejtli et al., 1980; Connors et al., 1982; Duchêne & Wouessidjewe, 1990b* en *Pedersen et al., 1993)*. Hedendaagse navorsing is egter veral op 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien, 'n derivaat van beta-siklodekstrien, gerig vanweë sy goeie wateroplosbaarheid en lae toksisiteit. 2-Hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien is ook die enigste siklodekstrien wat reeds deur die FDA vir parenterale gebruik goedgekeur is *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990b:2487)*.

Die belangrikheid van nifedipien as 'n kalsiumkanaal-antagonis vir die behandeling van chronies stabiele angina pectoris en ligte tot matige hipertensie, is goed in die literatuur gedokumenteer. Nifedipien is een van die bruikbaarste en bekendste kardiovaskulêre geneesmiddels in die wêreld en word vandag nog die meeste vir die behandeling van angina pectoris voorgeskryf *(Meyer et al., 1986:224)*.

Nifedipien word hoofsaaklik in tablette of kapsules geformuleer en toegedien. Ten spyte van die hoë gebruiksyfer en kliniese belangrikheid van nifedipien, is daar eers onlangs 'n inspuitbare doseervorm, wat in die koronêre gladdespier sélf ingespuit word, kommersieel beskikbaar gestel. Die rede hiervoor lê in die fisiese en chemiese eienskappe van die verbinding. Nifedipien is prakties onoplosbaar in water. Hierbenewens ondergaan nifedipien ook snelle fotochemiese afbraak in oplossing *(Ali, 1989:245)*. Daar bestaan 'n groot behoefte aan 'n intraveneuse doseervorm van nifedipien, veral vir gebruik by pasiënte wat hierdie geneesmiddel nie deur die orale roete kan inneem nie.

In die lig hiervan is die doelstelling van hierdie studie om ondersoek in te stel na die bruikbaarheid, al dan nie, van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien om die oplosbaarheid en stabiliteit van nifedipien tot 'n bruikbare vlak te verbeter.

Om hierdie doelstelling te bereik, is die volgende doelwitte geformuleer, naamlik:

1. die bestudering van die eienskappe van die siklodekstriene, veral 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien;

2. die bestudering van die fisiese en chemiese eienskappe van nifedipien;

3. 'n ondersoek na die invloed van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien ten opsigte van die oplosbaarheid en stabiliteit van nifedipien in oplossing, en

4. die farmaseutiese tipering van insluitingskomplekse van nifedipien met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien.

HOOFSTUK EEN

SIKLODEKSTRIENE

1.1 INLEIDING

Siklodekstriene is ringvormige verbindings wat 'n opening of holte aan die binnekant daarvan het en in staat is om met die meeste geneesmiddels te kombineer vir die vorming van insluitingskomplekse om sodoende die fisies-chemiese eienskappe van hierdie geneesmiddels te verander *(Jones et al., 1984:213)*. Siklodekstriene word in die farmaseutiese bedryf gebruik om veral die oplosbaarheid, biobeskikbaarheid en stabiliteit van geneesmiddels te verbeter *(Kata & Kedvessy, 1987:98)*.

Hierdie eienskappe van die siklodekstriene maak hulle geskik om bestaande doseervorme te verbeter, maar ook om nuwe geneesmiddels of ander geneesmiddels wat weens oplosbaarheids-, stabiliteits- of toksisiteitsprobleme nog nie voorheen in bruikbare doseervorme geformuleer kon word nie, in terapeuties effektiewe doseervorme te formuleer.

Alhoewel die bestaan van die drie natuurlike siklodekstriene, naamlik alfa-, beta- en gamma-siklodekstrien, reeds sedert 1891 bekend is, is die belangrikheid daarvan in die farmaseutiese wetenskappe eers heelwat later, naamlik in die laat-sewentigerjare besef *(Cramer, 1987:11)*. Hierdie verhoogde belangstelling in en navorsing ten opsigte van die siklodekstriene het dan ook aanleiding gegee tot die ontwikkeling van verskeie derivate daarvan. Hedendaagse navorsing is grootliks gerig op derivate van beta-siklodekstrien, veral 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien, wat dit, vanweë die unieke eienskappe daarvan, veral geskik maak vir die vorming van geneesmiddel-insluitingskomplekse vir parenterale toediening *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990b:2487)*.

Hierbenewens is verskeie metodes vir die bereiding en isolering van geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse in die literatuur opgeteken *(Cohen & Lach, 1963:132)*. Verskeie analitiese tegnieke vir die identifisering en bestudering van hierdie komplekse en hulle besonderse eienskappe is ontwikkel en word steeds ontwikkel.

In die lig hiervan, en vanweë die toenemende belangstelling in die siklodekstriene en hulle toepassing, is die doel van hierdie literatuuroorsig om:

1. die oorsprong en eienskappe van die siklodekstriene te bespreek;

2. kennis in te win aangaande die farmaseutiese toepassing van geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse;

3. insig aangaande die meganisme van kompleksvorming en die vorming en isolering van die komplekse te verkry, en

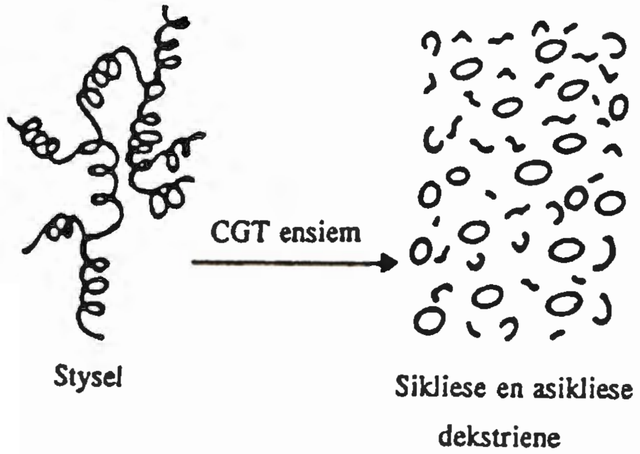
4. om die verskillende analitiese tegnieke wat gebruik word om komplekse te identifiseer en te beskryf, te ondersoek.

1.2 DIE OORSPRONG EN EIENSKAPPE VAN SIKLODEKSTRIENE

1.2.1 Inleiding

Siklodekstriene is die eerste keer in 1891 deur Villiers geïsoleer *(Kata & Kedvessy, 1987:98)*. Die bereiding, isolering en sommige eienskappe daarvan is van 1903 tot 1911 deur Shardinger beskryf. Daar word ook soms in die literatuur na die siklodekstriene as die Shardinger-dekstriene verwys *(Cohen & Lach, 1963:132)*.

Siklodekstriene is ensiembemiddelde afbraakprodukte van stysel. Gedeeltelik-gehidroliseerde stysel word deur 'n ensiem, siklodekstrien-glukosiel-transferase (CGTase), omgeskakel tot sikliese en asikliese dekstriene *(Szejtli, 1990:12)*. Hierdie ensiem word deur verskeie mikroörganismes, onder andere *Bacillus macerans*, *Bacillus megaterium*, *Micrococcus varians* en *Klebsiella pneumoniae*, geproduseer *(Sicard & Saniez, 1987:79)*. In figuur 1.1 word 'n skematiese voorstelling van die vorming van sikliese en asikliese dekstriene weergegee.



Figuur 1.1: Skematiese voorstelling van die afbraak van stysel deur die ensiem siklodekstrien-glukosiel-transferase (CGTase) *(Szejtli, 1990:11)*.

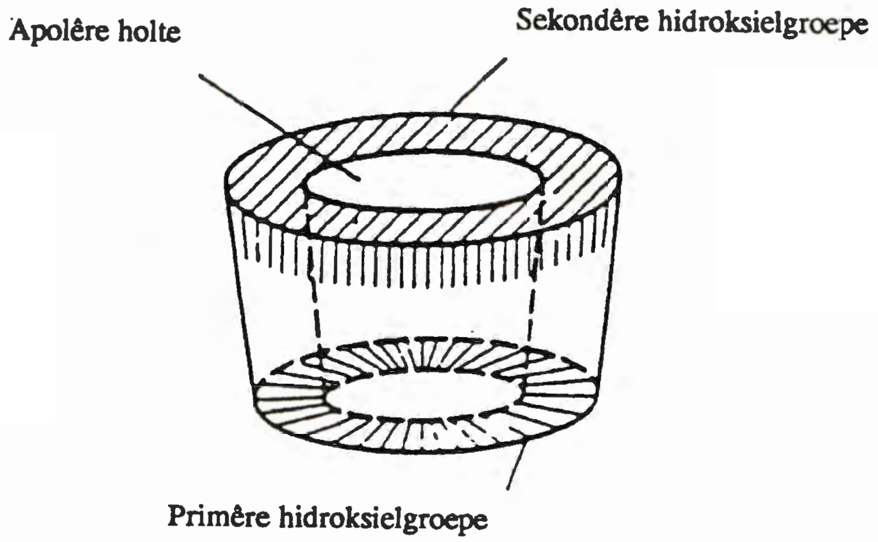
Uit die mengsel van sikliese en asikliese dekstriene word die suiwer, kristallyne siklodekstriene geïsoleer. Drie natuurlike siklodekstriene word deur bogenoemde proses gevorm, naamlik alfa-siklodekstrien (sikloheksamilose), beta-siklodekstrien (sikloheptamilose) en gamma-siklodekstrien (siklo-oktamilose).

'n Tipiese siklodekstrien-produksieproses behels die reaksie van vloeibare stysel met die suiwer ensiem (CGTase) om 'n gehidroliseerde oplossing met siklodekstriene te verkry. Die hidrolisestap word opgevolg deur die byvoeging van 'n organiese oplosmiddel soos trichloro-etileen, waaruit die siklodekstriene presipiteer. Suiwer siklodekstriene word hierna verkry deur verwydering van die oplosmiddel *(Sicard & Saniez, 1987:89).*

Alhoewel die bestaan van die siklodekstriene reeds 'n geruime tyd lank bekend is, is die toepassing daarvan in die farmasie eers in die vroeë sewentigerjare besef. Verskeie navorsers het sedertdien die vorming van insluitingskomplekse tussen die siklodekstriene en geneesmiddelmolekules aangetoon, bestudeer en beskryf *(Kurozumi et al., 1975; Otagiri et al., 1978; Uekama et al., 1979; Szejtli et al., 1980; Connors et al., 1982; Duchêne & Wouessidjewe, 1990b* en *Pedersen et al., 1993).* Dit is egter veral *Szejtli (1982), Jones et al. (1984), Duchêne et al. (1986), Pagington (1986)* en *Baeyens (1988)* wat waardevolle navorsing op hierdie gebied gedoen het. Hierdie hernude belangstelling in die siklodekstriene en hulle toepassing in die farmaseutiese bedryf het dan ook aanleiding gegee tot die ontwikkeling van verskeie derivate van die siklodekstriene. Hierdie derivate word onder 1.2.5 vollediger beskryf.

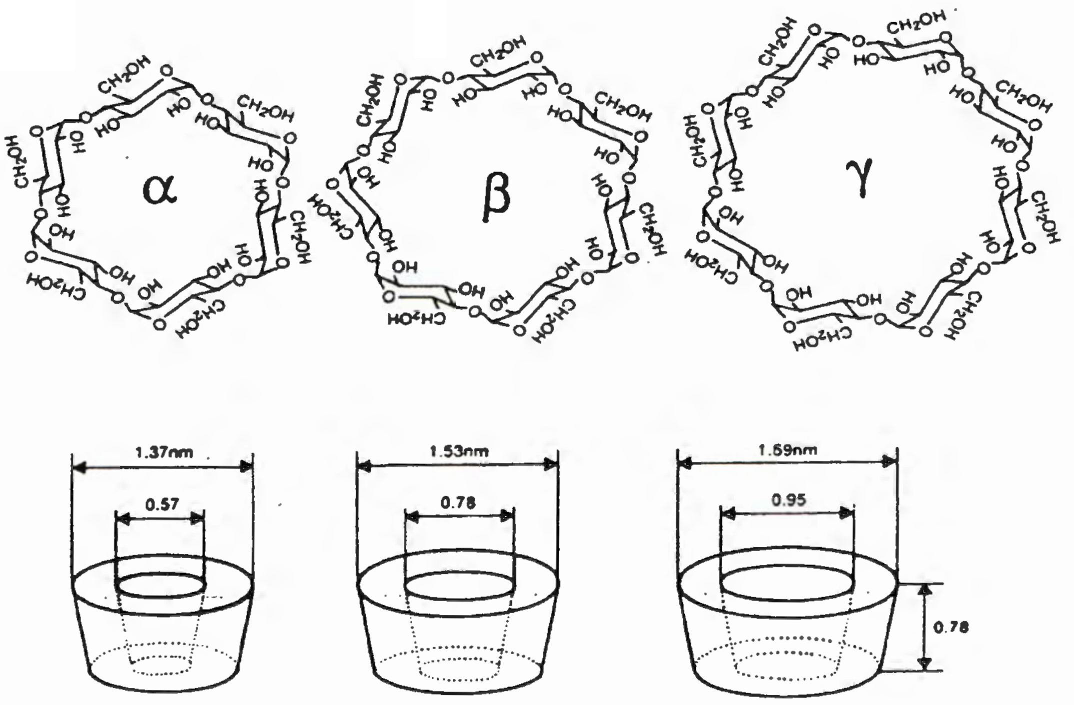
1.2.2 *Fisiese en chemiese eienskappe van die siklodekstriene*

Die natuurlike siklodekstriene, alfa-, beta- en gamma-siklodekstrien, bestaan onderskeidelik uit 6, 7 en 8 glukopiranose-eenhede *(Szejtli, 1990:12).* Die glukosemolekules is aan mekaar gebind deur alfa-(1,4-) bindings en vorm sodoende keëlvormige molekules met die primêre hidroksielgroepe aan die nouer kant van die ring, en die sekondêre hidroksielgroepe aan die wyer kant. In figuur 1.2 word 'n skematiese voorstelling hiervan weergegee.



Figuur 1.2: Skematiese voorstelling van die basiese kenmerke van siklodekstriene.

Die binnekant van die holte is hidrofobies, terwyl die buitekant hoogs hidrofilies is. Hierdie eienskappe veroorsaak dat die siklodekstriene verskeie molekules kan insluit *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990b:2488)*. In figuur 1.3 word 'n skematiese voorstelling van die drie natuurlike siklodekstriene met hulle geometriese dimensies weergegee, en in tabel 1.1 word 'n opsomming van die eienskappe van die natuurlike siklodekstriene weergegee.



Figuur 1.3: Skematiese voorstelling van die struktuur van die drie natuurlike siklodekstriene en hulle geometriese dimensies (in nanometer) *(Szejtli, 1990:12)*.

Tabel 1.1: Eienskappe van die siklodekstriene *(Brewster et al. 1989:231).*

	Alfa	Beta	Gamma
Eienskappe			
Aantal glukose-eenhede	6	7	8
Molekulêre massa	972	1135	1297
Smeltpunt (°C)	250-260	255-265	240-245
Wateroplosbaarheid			
(g/100 ml by 25°C)	14,5	1,85	23,2
$[a]^{25}_{D}$	150 ± 0,5	162,5 ± 0,5	177,4 ± 0,5
Kristalwater (Wt. %)	10,2	13,2 - 14,5	8,13 - 17,7
Aantal watermolekules in holte	6	11	17
Dimensies/Kapasiteite			
Deursnee van holte (Å)	4,7 - 5,3	6,0 - 6,5	7,5 - 8,3
Lengte van holte (Å)	7,9	7,9	7,9
Deursnee van buiterand (Å)	14,6 ± 0,4	15,4 ± 0,4	17,5 ± 0,4
Benaderde volume van holte			
per molekule ($Å^3$)	174	262	472
per gram (ml)	0,10	0,14	0,18
Gedeeltelike molêre volume			
in oplossing (ml/vol)	611,4	703,8	801,2

Die deursnee van die holte in alfa-siklodekstrien (5Å) is oor die algemeen te klein om die meeste geneesmiddelmolekules in te sluit. Die deursnee van die holte binne beta-siklodekstrien (6Å) en gamma-siklodekstrien (7Å) is aanvaarbaarder vir die insluiting van geneesmiddelmolekules. Aangesien die produksie en isolering van gamma-siklodekstrien baie duur is en die holte van alfa-siklodekstrien te klein is om die meeste geneesmiddelmolekules in te sluit, is die meeste navorsing ten opsigte van geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse met beta-siklodekstrien en sy derivate gedoen *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990b:2489).*

Die wateroplosbaarheid van beta-siklodekstrien (1,85 g/100 ml) is egter swakker in vergelyking met alfa-siklodekstrien (14,50 g/100 ml) en gamma-siklodekstrien (23,20 g/100 ml). Die relatief swak wateroplosbaarheid van beta-siklodekstrien in vergelyking met die wateroplosbaarheid van alfa- en gamma-siklodekstrien is 'n

belangrike beperking in die praktiese toepassing en gebruik van beta-siklodekstrien. Die derivate van beta-siklodekstrien beskik egter oor beter oplosbaarheidseienskappe as die natuurlike siklodekstriene. Hierdie eienskappe maak die derivate van beta-siklodekstrien veral geskik vir die vorming van geneesmiddel-insluitingskomplekse en die bestudering daarvan *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990b:2489)*. Hierdie aspek word onder 1.2.5 en 1.3.2 vollediger bespreek.

Volgens *Kata en Kedvessy (1987)* en *Loftsson et al. (1991)* is die siklodekstriene veral geskik vir die verbetering van die wateroplosbaarheid, biobeskikbaarheid en stabiliteit van verskeie geneesmiddelmolekules. Dit word onder 1.3 breedvoerig bespreek.

Volgens *Pagington (1986), Baeyens (1988)* en *Brewster et al. (1989)* het die siklodekstriene ook 'n aantal beperkings wat die gebruik daarvan en navorsing in dié verband bemoeilik. Die siklodekstriene is stabiel in alkaliese media (pH > 7,4) maar is vatbaar vir hidrolise in suurmedia. Hulle is higroskopies, met beta-siklodekstrien die minste higroskopies en die stabielste in lug. Die siklodekstriene moet om hierdie rede onder droë toestande bewaar word. In vogtige en waterige toestande word die siklodekstriene maklik deur bakterieë aangeval. Timol en fenol kan egter gebruik word om bakteriële groei te verhoed.

Hierbenewens is die siklodekstriene baie duur, veral alfa- en gamma-siklodekstrien; daarom word hulle gebruike in farmaseutiese formulerings beperk. Soos reeds genoem, besit die natuurlike siklodekstriene ook 'n laer wateroplosbaarheid as hulle derivate.

1.2.3 Toksisiteit van die siklodekstriene

Die gebruik van siklodekstriene in die farmaseutiese en voedselindustrie berus op die gevolge wat dit vir lewende organismes inhou. Die eerste inligting aangaande die toksisiteit van die natuurlike siklodekstriene is deur French in 1957 gepubliseer en was ontmoedigend. Rotte het geweier om voedsel wat gesuiwerde beta-siklodekstrien bevat het te eet, en indien hulle dit wél geëet het, het hulle binne 'n week gesterf. Dit is nou bekend dat die oorsaak hiervan 'n toksiese oplosmiddelresidu was *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990a:1)*. Die produksie en isolering van die siklodekstriene is egter nou baie meer gevorderd, en die suiwering daarvan word baie beter gekontroleer *(Jones et al., 1984:215)*.

Geen definitiewe akute orale toksisiteit van die siklodekstriene en hulle derivate is bekend nie. Langdurige orale toediening veroorsaak ook geen betekenisvolle

fisiologiese veranderinge in organe of biologiese waardes nie *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990b:2489)*. Volgens *Szejtli (1990:15)* is die akute LD_{50}-waarde van beta-siklodekstrien meer as 12,5 g/kg in muise, 18,8 g/kg in rotte en 5 g/kg in honde. Die akute LD_{50}-waarde van gamma-siklodekstrien is meer as 16 g/kg in muise en meer as 8 g/kg in rotte.

Alhoewel die natuurlike siklodekstriene baie veilig vir orale inname is, geld die teenoorgestelde vir parenterale toediening. Subkutaneuse en intramuskulêre toediening van beta-siklodekstrien veroorsaak lokale nekrose en ulserasie, terwyl daar met intraveneuse toediening 'n nefrotoksiese sowel as 'n hemolitiese effek ontstaan *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990a:1)*. Die hemolitiese en veral nefrotoksiese effekte van die natuurlike siklodekstriene word toegeskryf aan hulle relatief swak wateroplosbaarheidseienskappe. Gamma-siklodekstrien is nie so nefrotoksies nie en minder hemolities as beide alfa- en beta-siklodekstrien as gevolg van sy hoër wateroplosbaarheid *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990b:2489)*. Verskeie navorsers het ook gevind dat parenterale toediening van beta-siklodekstrien 'n verhoogde voorkoms van renale tumore kan veroorsaak indien hoë doserings voortdurend plaasvind *(Jones et al., 1984:214)* en *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990a:1)*.

Frank et al. (1975) het veranderinge in die niere van Sprague-Dawley rotte na 'n enkele subkutaneuse toediening van 0,67 g/kg beta-siklodekstrien ondersoek. Uit hierdie ondersoek het dit geblyk dat die toksiese effekte van die siklodekstriene in die niere gelokaliseer is in veranderinge in vakuolêre organelle in die proksimale tubuli. Die aantal apikale vakuole het vermeerder en groot lisosome het voorgekom. In die matriks van die groot lisosome het naaldvormige kristalle gevorm wat karakteristiek van siklodekstrien-nefrose is en wat die vorm van die lisosome verwring het. Dit moet egter in gedagte gehou word dat die doserings relatief hoog was.

Sedert die ontwikkeling en bekendstelling van derivate van beta-siklodekstrien in die tagtigerjare, het daar 'n belangrike nuwe toepassingsveld vir veral die farmaseutiese bedryf oopgegaan. Vanweë hulle beter oplosbaarheidseienskappe is die nefrotoksiese en hemolitiese effekte, wat die natuurlike siklodekstriene na parenterale toediening gehad het, nie meer 'n wesenlike gevaar nie *(Jones et al., 1984:215)*. Dit is veral 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien wat groot potensiaal inhou vir die vorming van insluitingskomplekse met geneesmiddels wat voorheen nie parenteraal toegedien kon word vanweë oplosbaarheid, stabiliteit of toksiese oorwegings nie *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990c:23)*. Dit is ook die enigste siklodekstrien wat deur die FDA goedgekeur is vir gebruik in parenterale preparate.

1.2.4 Absorpsie en metabolisme van die siklodekstriene

Baie min inligting aangaande die absorpsie en metabolisme van die siklodekstriene is in die literatuur beskikbaar. Die siklodekstrienmolekule is 'n relatief groot molekule met 'n hoogs hidrofiele buite-oppervlak. Dit is 'n ware geneesmiddeldraer aangesien dit die hidrofobe geneesmiddelmolekule in oplossing bring en dit in die opgeloste toestand hou, terwyl dit die geneesmiddel na die lipofiele selmembraan vervoer. Na aflewering van die geneesmiddelmolekule aan die sel (weens die geneesmiddel se hoër affiniteit vir die sel as vir die siklodekstrienmolekule) bly die siklodekstrien in oplossing *(Szjetli, 1987:187)*.

Slegs baie klein hoeveelhede van die siklodekstrien word vanuit die spysverteringskanaal na orale toediening geabsorbeer. Die grootste deel van die oraal-toegediende siklodekstrien word in die kolon deur die kolonmikroflora gemetaboliseer. Die primêre metaboliete word dan verder soos stysel geabsorbeer en gemetaboliseer en finaal as CO_2 en water uitgeskei *(Szjetli, 1987:187)*.

Die fundamentele verskil in die metabolisme van stysel en die siklodekstriene, is dat stysel in die dunderm en die siklodekstriene in die kolon gemetaboliseer word. Alfa-siklodekstrien word stadiger en gamma-siklodekstrien vinniger as beta-siklodekstrien gemetaboliseer *(Szjetli, 1987:187)*.

1.2.5 Derivate van die siklodekstriene

Vanweë die beperkte wateroplosbaarheid van beta-siklodekstrien, is verskeie beta-siklodekstrienderivate gesintetiseer. Baie min inligting aangaande alfa- of gamma-siklodekstrienderivate word in die literatuur aangetref, moontlik omdat gamma-siklodekstrien baie duur is en die holte van alfa-siklodekstrien te klein is vir kompleksering met die meeste geneesmiddels.

Die wateroplosbaarheid van beta-siklodekstrien kan drasties verhoog word deur gedeeltelike esterifikasie met alkiel- of hidroksie-alkielgroepe *(Albers & Müller, 1992:756)*. Beta-siklodekstrienderivate besit verskillende metaboliese en toksiese profiele, maar oor die algemeen is hulle grootste waarde die potensiële gebruik daarvan, veral 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien, in parenterale doseervorme *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990c:23)*.

Beta-siklodekstrienderivate word hoofsaaklik in drie groepe geklassifiseer, naamlik hidrofiliese, hidrofobiese en ioniseerbare beta-siklodekstrienderivate. In tabel 1.2 word 'n opsomming van die beta-siklodekstrienderivate weergegee.

1.2.5.1 Hidrofiliese beta-siklodekstrienderivate

Die beperkte wateroplosbaarheid van beta-siklodekstrien kan toegeskryf word aan 'n stabiele kristalrooster as gevolg van 'n waterstofbindingsnetwerk tussen die hidroksielgroepe van die siklodekstrien en watermolekules. Verskeie chemiese modifikasies is op beta-siklodekstrien uitgevoer om die hidrofiliese aktiwiteit en sodoende die bruikbaarheid daarvan te verhoog *(Uekama & Irie, 1990:22)*. 'n Bespreking hiervan asook enkele voordele daarvan volg.

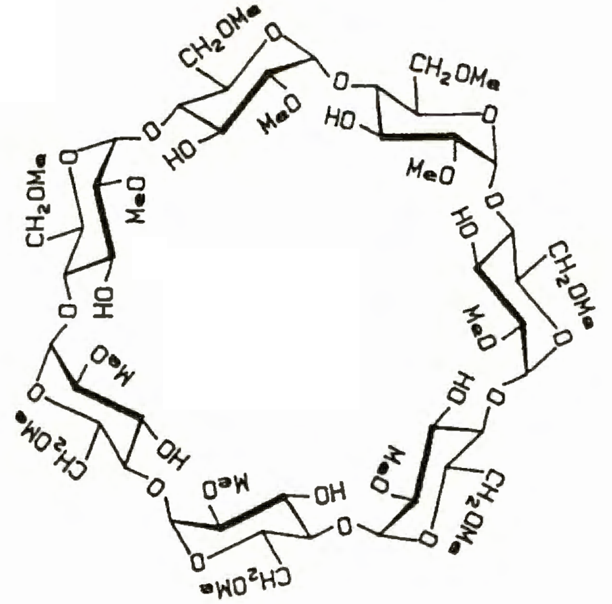
1.2.5.1.1 Metiel-beta-siklodekstrienderivate

Die metiel-beta-siklodekstriene is die eerste goed wateroplosbare siklodekstrienderivate wat gesintetiseer is. Dimetiel-beta-siklodekstrien is gesintetiseer deur die selektiewe metilering van alle C_2 sekondêre hidroksiel- en C_6 primêre hidroksielgroepe. Trimetiel-beta-siklodekstrien is berei deur die metilering van al drie die hidroksielgroepe, naamlik C_2, C_3 en C_6. Die wateroplosbaarheid van die metiel-beta-siklodekstrienderivate is baie hoër as dié van beta-siklodekstrien. Die wateroplosbaarheid verminder egter met 'n verhoging in temperatuur *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990b:2494)*.

Wanneer metiel-beta-siklodekstriene oraal toegedien word, beskik hulle oor 'n werking soortgelyk aan die xenobiotika. Hulle is weerstandig teen bakteriële hidrolases en word in die faeces uitgeskei. Tydens parenterale toediening van die natuurlike siklodekstriene vind akkumulering daarvan in die niere plaas. Dimetiel-beta-siklodekstrien word byna volledig deur die niere geëlimineer, terwyl die eliminering van trimetiel-beta-siklodekstrien deur die niere minimaal is *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990c:22)*. Dimetiel-beta-siklodekstrien verhoog die biobeskikbaarheid van 1-heksielkarbamoïel-5-fluorourasil, 'n sitotoksiese geneesmiddel, na orale toediening deur 'n verhoging in die dissolusietempo daarvan tesame met die inhibering van die presistemiese afbraak daarvan in die spysverteringskanaal *(Uekama & Irie, 1990:22)*. In figuur 1.4 word 'n voorstelling van die chemiese struktuur van dimetiel-beta-siklodekstrien weergegee.

Tabel 1.2: Die beta-siklodekstrienderivate *(Uekama & Irie, 1990:23)*.

Derivaat	**Oplosbaarheid in water by 25 °C (g/100 ml)**	**Eienskappe**	**Moontlike doseervorme**
Beta-siklodekstrien	1,8	Kristallyn, relatief lae wateroplosbaarheid	Oraal, rektaal, dermaal
HIDROFILIESE DERIVATE			
Gemetileerde beta-siklodekstrienderivate			
Dimetiel-beta-siklodekstrien	> 50	Oplosbaar in koue water en organiese oplosmiddels	Oraal, rektaal, dermaal
Trimetiel-beta-siklodekstrien	> 30	Oplosbaar in koue water en organiese oplosmiddels, oppervlakaktief, hemolities	Oraal, rektaal, dermaal
Hidroksie-gealkileerde-beta-siklodekstrien-derivate			
2-Hidroksie-etiel-beta-siklodekstrien	> 50	Oneweredig gesubstitueerde mengsel amorf, hoogs wateroplosbaar, lae hemolities	Oraal, mukosaal (rektaal, nasaal, sublinguaal, ophtalmies), parenteraal
2-Hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien	> 50		
3-Hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien	> 50		
2,3-Dihidroksiepropiel-beta-siklodekstrien	> 50		
Vertakte beta-siklodekstrienderivate			
Glukosiel-beta-siklodekstrien	> 50	Homogene verbinding, hoogs wateroplosbaar	Oraal, mukosaal (rektaal, nasaal, sublinguaal, ophtalmies), parenteraal
Maltosiel-beta-siklodekstrien	> 50		
Dimaltosiel-beta-siklodekstrien	> 50		
HIDROFOBIESE DERIVATE			
Geëtileerde-beta-siklodekstrienderivate			
Diëtiel-beta-siklodekstrien	0,005	Oppervlakaktief, min higroskopies	Oraal, subkutaneus (stadig vrystellend)
Triëtiel-beta-siklodekstrien	< 0,005		
IONISEERBARE DERIVATE			
Karboksimetieletiel-beta-siklodekstrien	Hoogs oplosbaar by pH > 4	Anionies (pKa = 3-4), oppervlakaktief	Oraal (stadig vrystellend), dermaal



Figuur 1.4: Die chemiese struktuur van dimetiel-beta-siklodekstrien (Me = CH_3) *(Szejtli, 1982:136)*.

1.2.5.1.2 Hidroksie-gealkileerde beta-siklodekstrienderivate

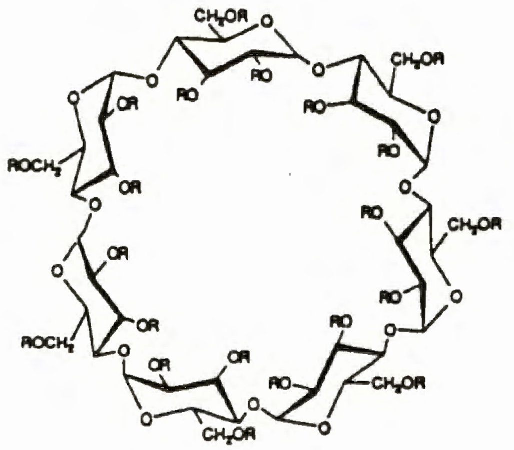
2-Hidroksie-etiel- (2-HE-), 2-hidroksiepropiel- (2-HP-), 3-hidroksiepropiel- (3-HP-), en 2,3-dihidroksiepropiel- (2,3-DHP-) beta-siklodekstrienderivate word berei deur kondensasie met hidroksie-gealkileerde stowwe in alkaliese toestande *(Uekama & Irie, 1990:23)*.

Hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienderivate is hoogs wateroplosbaar, nie net as gevolg van hulle chemiese struktuur nie, maar ook vanweë hulle amorfe karakter. Hulle wateroplosbaarheid by 25°C is meer as 50 g/100 ml *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990b:2495)*. Die hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienderivate is veral bruikbaar as draers van geneesmiddels vir inspuitings *(Brewster et al., 1988:981)* weens die feit dat hulle minder hemolities en nefrotoksies as die natuurlike siklodekstriene is *(Duchêne & Woudessidjewe, 1990b:2495)*. *Yoshida et al. (1989:1059)* het ook gevind dat die wateroplosbaarheid van 3-hidroksiepropiel- en 2,3-dihidroksiepropiel-beta-siklodekstrienderivate baie hoër as die wateroplosbaarheid van beta-siklodekstrien is.

2-Hidroksie-etiel-beta-siklodekstrien is, net soos die hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienderivate, baie goed in water oplosbaar (meer as 50 g/100 ml by 25°C) en beskik volgens *Duchêne & Wouessidjewe (1990b:2494)* oor 'n laer hemolitiese aktiwiteit as die hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienderivate.

Hedendaagse navorsing is veral op 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien gerig vanweë sy goeie wateroplosbaarheid, lae hemolitiese en nefrotoksiese aktiwiteite,

beskikbaarheid en bruikbaarheid vir die vorming van insluitingskomplekse met 'n groot verskeidenheid geneesmiddels. In figuur 1.5 word 'n skematiese voorstelling van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien weergegee.



$R = [(CH_2CH(CH_3)O)]_nH$
$n = 0,1,2...$

Figuur 1.5: Skematiese voorstelling van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien *(Brewster et al., 1991:792).*

2-Hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien is baie goed oplosbaar in water, naamlik meer as 50 g/100 ml by 25°C. Dit kan toegeskryf word aan die chemiese struktuur en amorfe karakter daarvan. Daar vind geen afname in oplosbaarheid tydens 'n verhoging in temperatuur plaas nie, aangesien die dissolusie daarvan endotermies verloop *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990b:2494).*

2-Hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien is 'n sikliese oligosaggaried wat gevorm word deur beta-siklodekstrien met propileenoksied te behandel. 'n Metode vir die bereiding van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien is deur *Pitha et al. (1986)* beskryf. Dit besit, net soos die natuurlike siklodekstriene, 'n hidrofiele buite-oppervlak en 'n lipofiele holte aan die binnekant waarin lipofiele geneesmiddels ingesluit kan word *(Loftsson et al., 1991:215).* Die komplekse wat tussen swak wateroplosbare geneesmiddels en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien gevorm word, beskik oor 'n beter wateroplosbaarheid, 'n vinniger dissolusietempo en 'n vinniger absorpsie tydens orale en sublinguale toediening. Relatief min inligting aangaande 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien is in die literatuur beskikbaar en min eksperimentele werk is ten opsigte daarvan gedoen. 'n Moontlike rede hiervoor is dat patentreg reeds ten opsigte van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien aan die maatskappy Janssen toegeken is.

Die meeste navorsing ten opsigte van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien het maar onlangs in die laat-tagtigerjare 'n aanvang geneem.

1.2.5.1.3 Vertakte beta-siklodekstrienderivate

Verskeie vertakte beta-siklodekstrienderivate is reeds berei en beskryf, byvoorbeeld glukosiel- maltosiel- en glukopiranosiel-beta-siklodekstrien, en diglukosiel-, dimaltosiel- en dipiranosiel-beta-siklodekstrien *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990b:2495)*. Hulle is almal meer wateroplosbaar as gamma-siklodekstrien. Diglukosiel-beta-siklodekstrien is die beste in water oplosbaar, naamlik 140 g/100 ml by 25°C. Dit is byna drie keer beter wateroplosbaar as 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien.

Die hemolitiese aktiwiteit teen eritrosiete verminder in die orde van beta-siklodekstrien > glukosiel-beta-siklodekstrien > maltosiel-beta-siklodekstrien > dimaltosiel-beta-siklodekstrien. Die eienskappe van die vertakte siklodekstrienderivate leen hulle ook uitsluitlik as geneesmiddeldraers tot parenterale gebruik weens hulle goeie wateroplosbaarheid *(Uekama & Irie, 1990:24)*. Aangesien daar geen definitiewe toksisiteitsdata aangaande die vertakte siklodekstrienderivate bestaan nie, is hulle nog nie deur die FDA vir gebruik in parenterale preparate goedgekeur nie.

1.2.5.2 Hidrofobiese beta-siklodekstrienderivate

Baie min inligting aangaande die hidrofobiese beta-siklodekstrienderivate is beskikbaar. Daar bestaan egter twee tipes, naamlik diëtiel-beta-siklodekstrien en triëtiel-beta-siklodekstrien.

1.2.5.2.1 Geëtileerde beta-siklodekstriene

Wanneer etielgroepe aan die hidroksielgroepe van beta-siklodekstrien verbind word, is daar 'n betekenisvolle verandering in die fisies-chemiese eienskappe daarvan afhangende van die graad van substitusie. Heptakis (2,6-di-O-etiel)-beta-siklodekstrien en heptakis (2,3,6-tri-O-etiel)-beta-siklodekstrien is baie swak oplosbaar in water, min higroskopies en beskik oor oppervlakaktiewe eienskappe *(Uekama et al., 1987:660)*. Hierdie derivate leen hulle dus uitsluitlik tot gebruik by die formulering van langwerkende preperate. Die *in vivo* dissolusie en vrystelling van wateroplosbare geneesmiddels met kort halfleeftye soos diltiasemhidrochloried, isosorbied-dinitraat, 5-fluorourasil, simetidien en teofillien word vertraag deur kompleksering met geëtileerde-beta-siklodekstriene *(Uekama & Irie, 1990:25)*.

1.2.5.3 Ioniseerbare beta-siklodekstrienderivate

Sommige kationiese en anioniese beta-siklodekstrienderivate besit unieke biologiese aktiwiteite soos anti-bakteriële en heparien-mimetiese effekte *(Uekama & Irie, 1990:27)*. Die bekendste voorbeeld van hierdie tipe siklodekstrienderivate is karboksiemetieletiel-beta-siklodekstrien.

Karboksiemetieletiel-beta-siklodekstrien word gekarakteriseer deur 'n pH-afhanklike oplosbaarheid. By 'n pH laer as 2,5 is die oplosbaarheid daarvan konstant (1 tot 1,5 g/100 ml), dit verhoog egter drasties by 'n pH hoër as 4 (10 g/100 ml) en by 'n pH hoër as 6 is dit vrylik wateroplosbaar *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990b:2496)*. Hierdie eienskap veroorsaak dat dit in die maag, by 'n pH van ongeveer 1,2 geneesmiddels baie stadig vrystel, terwyl dit in die dunderm by 'n pH van ongeveer 6,8 geneesmiddels vinnig vrystel. Teofillien, 5-fluorourasil, simetidien en propranolol-hidrochloried is reeds met karboksiemetieletiel-beta-siklodekstrien gekomplekseer *(Uekama & Irie, 1990:27)*.

1.2.6 Opsomming

Die siklodekstriene is deur Villiers in 1891 geïsoleer. Shardinger het die bereiding, isolering en sommige eienskappe daarvan van 1903 tot 1911 bestudeer en beskryf. Die natuurlike siklodekstriene, alfa-, beta- en gamma-siklodekstrien, bestaan onderskeidelik uit 6, 7 en 8 glukopiranose-eenhede en is aan mekaar deur alfa-(1,4-) bindings gebind en vorm sodoende ringvormige strukture. Die binnekant van die holte is hidrofobies, terwyl die buitekant hoogs hidrofilies is. Hierdie unieke eienskappe van die siklodekstriene maak hulle geskik vir die vorming van insluitingskomplekse met veral swak wateroplosbare verbindings.

Vanweë die beperkte wateroplosbaarheid van beta-siklodekstrien, in vergelyking met alfa- en gamma-siklodekstrien, is verskeie hoogs oplosbare beta-siklodekstrienderivate gesintetiseer. Hierdie derivate word hoofsaaklik in drie groepe geklassifiseer, naamlik hidrofiliese, hidrofobiese en ioniseerbare beta-siklodekstrienderivate en beskik oor dié unieke eienskap dat hulle, anders as die natuurlike siklodekstriene, nie oor toksiese effekte beskik wanneer hulle parenteraal toegedien word nie. Hierdie derivate hou groot potensiaal in vir gebruik in parenterale doseervorme.

1.3 *DIE TOEPASSING VAN SIKLODEKSTRIENKOMPLEKSE*

1.3.1 *Inleiding*

Volgens *Kata en Kedvessy (1987:98)* is die siklodekstriene reeds suksesvol in die chemiese, voedsel en farmaseutiese bedrywe gebruik. In die chemiese bedryf word die siklodekstriene hoofsaaklik gebruik om die tempo van sekere chemiese reaksies te modifiseer, terwyl die voedselindustrie die siklodekstriene gebruik om verliese tydens berging te beperk.

Die siklodekstriene word ook gebruik om vlugtige verbindings te stabiliseer sonder enige verlies daarvan deur verdamping, vloeibare verbindings om te skakel na 'n kristallyne en saampersbare vorm (byvoorbeeld nitrogliserien), slegte smake en reuke te maskeer, ongewenste newe-effekte te beperk of selfs uit te skakel, onverenigbare verbindings te vermeng en saam te formuleer indien een van die verbindings beskerm word in die vorm van 'n insluitingskompleks en geneesmiddels te beskerm teen atmosferiese oksidasie en hidrolise in waterige oplossings *(Kata & Kedvessy, 1987:98)*.

1.3.2 *Wateroplosbaarheid*

Die belangrikste toepassing van die siklodekstriene lê in hulle vermoë om die wateroplosbaarheid van swak wateroplosbare geneesmiddels te verhoog *(Duchêne et al., 1986:2193)*. Die oplosbaarheid van die natuurlike siklodekstriene bepaal grootliks, tesame met die passing van die geneesmiddelmolekule in die siklodekstrienholte, die toename in die oplosbaarheid van 'n swak wateroplosbare geneesmiddel. Wanneer kompleksering ewe geredelik met alfa-, beta- en gamma-siklodekstrien moontlik is, word die beste oplosbaarheid verkry met die mees oplosbare siklodekstrien, naamlik gamma-siklodekstrien *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990b:2492)*. Soos reeds genoem, is gamma-siklodekstrien hoofsaaklik te duur vir roetinegebruik en alfa-siklodekstrien se holte te klein om die meeste geneesmiddels in te sluit. Beta-siklodekstrien, waarop die meeste navorsing tot dusver gedoen is vanweë die redelike beskikbaarheid daarvan, is egter swakker oplosbaar as beide alfa- en gamma-siklodekstrien.

Soos die natuurlike siklodekstriene, is die siklodekstrienderivate ook in staat om geneesmiddelmolekules in hulle strukture in te sluit en sodoende hulle fisies-chemiese eienskappe te verander *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990c:24)*. Die klem by hedendaagse navorsing val daarom grootliks op die derivate van beta-siklodekstrien, veral 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien, hoofsaaklik vanweë die goeie oplosbaarheid ($>$ 50 g/100 ml) en lae toksisiteit daarvan.

1.3.2.1 Verhoging in wateroplosbaarheid

In tabel 1.3 word 'n opsomming van 'n aantal geneesmiddels waarvan die wateroplosbaarheid met behulp van die siklodekstriene verhoog is, weergegee.

Becirevic en Senjkovic (1992) het bevind dat die oplosbaarheid van meklosienhidrochloried drasties verbeter word wanneer dit met die natuurlike siklodekstriene (alfa, beta en gamma) gekomplekseer word, en wel in die orde alfa- < beta- < gamma-sikodekstrien. Hulle verklaring hiervoor was dat hoe groter die holte binne 'n spesifieke siklodekstrien is, hoe makliker is dit vir die geneesmiddel om ingesluit te word. Die invloed van beta-siklodekstrien op die wateroplosbaarheid van bendrofluasied, chloortiasied, hidrochloortiasied en hidroflumetiasied is deur *Corrigan en Stanley (1982)* ondersoek. Die oplosbaarheid van al hierdie geneesmiddels is verhoog in die teenwoordigheid van beta-siklodekstrien. Die grootste verhoging in oplosbaarheid is met bendrofluasied verkry.

Die meeste siklodekstrienderivate is hoogs wateroplosbaar en dit kan verwag word dat 'n beter wateroplosbaarheid verkry sal word wanneer geneesmiddelmolekules met hierdie derivate gekomplekseer word teenoor kompleksering met die natuurlike siklodekstriene.

Die verhoging in oplosbaarheid is afhanklik van die tipe derivaat wat gebruik word. 'n Vergelyking van die oplosbaarheidsvermoë van dimetiel-beta-siklodekstrien met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien is uiters moeilik, aangesien die oplosbaarheidsvermoë afhanklik is van die konsentrasie van die geneesmiddel waarmee die siklodekstrien gekomplekseer word en veral van die graad van substitusie van die hidroksiepropielgroepe. Lae gesubstitueerde 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien het beter oplosbaarheidseienkappe as die hoër gesubstitueerde derivate *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990c:24)*.

2-Hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien is reeds suksesvol aangewend om die oplosbaarheid van verskeie geneesmiddels te verhoog, byvoorbeeld nie-steroïed anti-inflammatoriese middels *(Kurozumi et al., 1975:3062)*, steroïed hormone *(Albers & Müller, 1992:757)*, bensodiasepiene, retinoësuur en stikstof-mosterts *(Kurozumi et al., 1975:3062)*. *Krenn et al. (1992)* het aangetoon dat die oplosbaarheid van talidomied drasties verhoog word deur kompleksering met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien. Die oplosbaarheid is van 50 μg/ml tot 1,7 mg/ml verhoog.

Tabel 1.3: 'n Opsomming van 'n aantal geneesmiddels waarvan die wateroplosbaarheid met behulp van die siklodekstriene verhoog is *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990b:2492)*.

		Oplosbaarheid in verskillende siklodekstriene (μg/ml)					
Produk	**Wateroplos-baarheid (mg/ml)**	**β-SD**	**Verhoging**	**DM-β-SD**	**Verhoging**	**2-HP-β-SD**	**Verhoging**
Karmoful	90,0	437,0	4,9	1420	16,0	611,0	6,80
Diasepam	55,2	199,0	3,6	498	9,0	154,0	2,79
Digitoksien	15,5	422,0	27,0	6000	390,0	2330,0	150,00
Digoksien	66,5	5970,0	90,0	6140	92,0	3090,0	57,00
Flurbiprofen	44,0	108,0	2,4	1920	44,0	1250,0	28,00
Indometasien	22,9	56,6	2,5	102	4,5	38,7	1,70
Isosorbied-dinitraat	826,0	590,0	0,7	2130	2,6	1620,0	2,00
Fenitoïen	28,0	282,0	10,0	350	13,0	403,0	14,00
Prednisoloon	145,0	3440,0	14,0	3300	13,0	2210,0	9,00
Progesteroon	13,2	41,5	3,1	2020	150,0	1160,0	88,00
Testosteroon	31,4	86,0	2,7	2220	71,0	1580,0	50,00

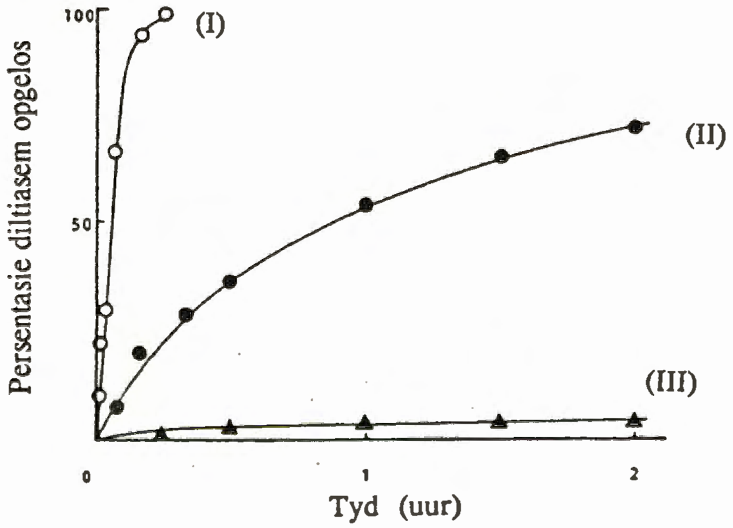
β-SD = beta-siklodekstrien
DM-β-SD = dimetiel-beta-siklodekstrien
2-HP-β-SD = 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien

Brewster et al. (1991) het die invloed wat 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien op die oplosbaarheid van skaap groeihormone, interleukin-2 en insulien het ondersoek, en gevind dat die oplosbaarheid van skaap groeihormone by 'n pH van 7,4 drasties verhoog het. 2-Hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien het ook die vorming van aggregate van insulien beperk. Hieruit is afgelei dat 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien gebruik kan word as 'n bruikbare bindstof vir proteïen-geneesmiddels, veral vir parenterale gebruik.

Die verandering in oplosbaarheid van fenitoïen, diasepam, hidrochloortiasied, ibuprofen, digoksien en indometasien met hidroksie-etiel-beta-siklodekstrien is deur *Duchêne en Wouessidjewe (1990c:24)* ondersoek. In hierdie ondersoek is gevind dat al dié geneesmiddels se wateroplosbaarheid merkwaardig verhoog is.

1.3.2.2 Afname in wateroplosbaarheid

Volgens *Uekama et al. (1987)* kan etiel-beta-siklodekstrien gebruik word om die oplosbaarheid van goed oplosbare geneesmiddels soos diltiazemhidrochloried en isosorbied-dinitraat te verlaag. Kompleksering met etiel-beta-siklodekstrien kan dus gebruik word om 'n stadig vrystellende doseervorm te ontwerp. In figuur 1.6 word die dissolusieprofiel van diltiasemtablette na kompleksering met diëtiel-beta-siklodekstrien en triëtiel-beta-siklodekstrien weergegee.



Figuur 1.6: Die dissolusieprofiel van diltiasemtablette. (I) Diltiasem alleen, (II) Diltiasem-diëtiel-beta-siklodekstrienkompleks en (III) Diltiasem-triëtiel-beta-siklodekstrienkompleks *(Uekama et al., 1987:660)*.

1.3.3 Biobeskikbaarheid

Wanneer swak wateroplosbaarheid by 'n geneesmiddel die oorsaak van swak biobeskikbaarheid is, kan 'n verhoging van die oplosbaarheid van die geneesmiddel die probleem oplos. In sulke gevalle kan kompleksering met die siklodekstriene van groot waarde wees *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990b:2492)*. Volgens *Imai et al. (1988:354)* word die biobeskikbaarheid (area onder die kurwe [AUC]) van flurbiprofen verdubbel en dié van ketoprofen verdriedubbel wanneer dit met trimetiel-beta-siklodekstrien gekomplekseer word. 2-Hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien, op sy beurt, is 'n effektiewe transdermale permeabiliteitsverhoger *(Nakai et al., 1983:3745)*.

1.3.4 Stabiliteit

Benewens die dramatiese effek wat die siklodekstriene op die oplosbaarheid van geneesmiddels het, is die effek daarvan op die stabiliteit van sommige geneesmiddels net so uitgesproke. Die verbetering in stabiliteit kan hoofsaaklik in drie groepe verdeel word, naamlik 'n verbetering in hittestabiliteit, weerstand teen oksidasie en weerstand teen hidrolise *(Duchêne et al., 1990:11)*.

Hierdie eienskappe van die siklodekstriene maak dit moontlik dat geneesmiddels wat vroeër vanweë stabiliteitsprobleme nie toegedien kon word nie, sodanig deur kompleksvorming gestabiliseer kan word dat hulle nou in bepaalde doseervorme geformuleer kan word.

1.3.4.1 Hittestabiliteit

1.3.4.1.1 Vlugtige stowwe

Szejtli et al. (1982) het insluitingskomplekse met verskeie vlugtige stowwe, onder andere bloekom-, pepperment- en kamferolie berei en gevind dat die vlugtigheid van dié stowwe dramaties afgeneem het. Die afname van die vlugtigheid van hierdie stowwe kon gesien word in die verhoging in die kookpunt of verdampingskondisies van vloeistowwe, of in die sublimasie van vaste stowwe.

Die waarde van hierdie komplekse lê hoofsaaklik daarin om 'n verbetering van bestaande doseervorme, byvoorbeeld setpille en aërosole, teweeg te bring. Die smeltpunt en hardheid van setpille word gewoonlik verlaag deur die byvoeging van vlugtige verbindings. Hierdie tendens word grootliks uitgeskakel of verminder wanneer komplekse met siklodekstriene gevorm word *(Duchêne et al., 1990:11)*.

Wanneer beta-siklodekstrien met isosorbied-5-monohidraat gekomplekseer word, word 'n baie interessante stabiliseringseffek verkry. Isosorbied-5-monohidraat is 'n besonder vlugtige stof wat gedurende die bewaring van tablette daarvan, spelde op die oppervlakte van die tablette vorm, veral by sekere temperature en humiditeite. Kompleksering verhoed dié proses en verminder ook die afbraak van die produk *(Duchêne et al., 1990:11)*.

1.3.4.1.2 Weerstand teen hitte

Kompleksvorming met die siklodekstriene is ook in staat om die smeltpunt van sekere geneesmiddels, byvoorbeeld prostaglandien F_2-alfa, te verhoog. Hierdie eienskap van die siklodekstriene is deur *Uekama et al. (1984:382)* waargeneem tydens die kompleksering van prostaglandien F_2-alfa met gamma-siklodekstrien. Met differensiële skanderingskalorimetrie is aangetoon dat prostaglandien F_2-alfa en 'n fisiese mengsel daarvan met gamma-siklodekstrien 'n endotermiese piek by ongeveer 30°C toon, terwyl die kompleks daarvan geen endotermiese piek vertoon nie. Dit beteken dat die kompleks veel meer stabiel is in vergelyking met prostaglandien F_2-alfa alleen *(Uekama, et al., 1984:384)*.

1.3.4.2 Weerstand teen oksidasie

Die beskermde effek van kompleksering met siklodekstriene teen suurtof kan bepaal word deur die produk in 'n Warburg-apparaat, onder suurstof by 37°C, te plaas. Die absorpsie van suurstof word dan met gereelde tydsintervalle bepaal *(Duchêne et al., 1990:12)*. Deur gebruik te maak van bogenoemde metode het *Szejtli et al. (1980:779)* aangetoon dat daar 'n verbetering in die stabiliteit van vitamien D_3 voorkom na kompleksering met beta-siklodekstrien.

Szejtli et al. (1980:779) het gevind dat hitte, lig en sommige metaalsoute (byvoorbeeld kopersulfaat) deur middel van oksidasie die afbraak van vitamien D_3 verhoog. Wanneer vitamien D_3 egter met beta-siklodekstrien gekomplekseer word, word hierdie afbraak merkbaar verlaag.

Die siklodekstriene is ook bruikbaar om geneesmiddels teen fotochemiese afbraak te beskerm. *Uekama et al. (1983:341)* het bevind dat die sensitiwiteit van klofibraat teenoor lig merkwaardig afneem tydens kompleksering met beta-siklodekstrien.

1.3.4.3 Weerstand teen hidrolise

Uit die voorafgaande bespreking blyk dit dat die insluiting van 'n geneesmiddelmolekule in 'n siklodekstrienring meestal 'n verbetering in die stabiliteit

van die geneesmiddel tot gevolg het. Dit is egter nie altyd die geval nie, veral in waterige oplossings. Die invloed van siklodekstriene op die hidrolise van verskeie geneesmiddels is al bestudeer. Die resultate van hierdie ondersoeke varieer betekenisvol, afhangende van die eienskappe van die geneesmiddel, die tipe siklodekstrien en die pH van die medium wat gebruik word *(Duchêne et al., 1990:13)*.

Nakai et al. (1984:685) het die hidrolise van aspirien by 'n pH van 1,0 in die teenwoordigheid van die natuurlike siklodekstriene ondersoek. Hulle het gevind dat die afbraakkonstante (K_C) in die teenwoordigheid van alfa-siklodekstrien varieer en afneem in die teenwoordigheid van beta- en gamma-siklodekstrien, met die grootste afname by die beta-siklodekstrienkompleks. Die rede vir die variasie in die waarde van die afbraakkonstante tydens kompleksering met alfa-siklodekstrien, is dat die aspirienmolekule te groot is om in die siklodekstrienring geïnkorpereer te kan word en afbraak (hidrolise) vind dan plaas, aangesien die aspirienmolekule net gedeeltelik teen die water beskerm kan word. Die los rangskikking in die gamma-siklodekstrienring veroorsaak dat 'n proton of watermolekule die kompleks kan binnedring. 'n Goeie insluitingskompleks word egter met beta-siklodekstrien verkry vanweë die goeie passing van aspirien in die holte daarvan. Die weerstand van ander geneesmiddels, onder andere ampisillien, metisillien, p-hidroksiebensoësuur *(Nakai et al., 1984)* en indometasien *(Szenté et al., 1985)* teen hidrolise, is ook ondersoek. Die tempo van hidrolise is verlaag tydens kompleksering met beta-siklodekstrien.

1.3.5 Opsomming

Die siklodekstriene besit 'n wye toepassingsveld, nie net in die farmasie nie, maar ook in die chemiese en voedselbedryf. In die farmasie word die siklodekstriene, veral beta-siklodekstrien en sy derivate, hoofsaaklik gebruik vir die verbetering van die oplosbaarheid, biobeskikbaarheid en stabiliteit van geneesmiddels.

Afhangende van die tipe siklodekstrien en sy besondere eienskappe, is dit moontlik om die wateroplosbaarheid van swak wateroplosbare geneesmiddels te verhoog om sodoende beter verspreiding en biobeskikbaarheid daarvan te bewerkstellig. Hierteenoor is daar ook derivate wat gebruik kan word om stadig vrystellende doseervorme van goed wateroplosbare geneesmiddels te formuleer. 2-Hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien hou ook groot potensiaal in vir die formulering van geneesmiddels in parenterale doseervorme.

Hierbenewens word die stabiliteit van geneesmiddels, byvoorbeeld teenoor hidrolise, oksidasie, fotochemiese afbraak en hitte, ook verbeter vanweë die beskerming wat insluiting in die siklodekstrienmolekule daaraan verleen.

1.4 *DIE MEGANISME EN METODE VAN KOMPLEKSVORMING*

1.4.1 *Inleiding*

Volgens *Duchêne en Wouessidjewe (1990a:2)* is die enigste vereiste vir geneesmiddels om komplekse met siklodekstriene te vorm dit dat die geneesmiddelmolekule minstens gedeeltelik binne die holte van die siklodekstrienmolekule moet pas.

Volgens *Kata en Kedvessy (1987:99)* is daar vier optimale vereistes vir kompleksvorming, naamlik:

* Die geneesmiddelmolekule mag nie polêr wees nie.
* Die chemiese struktuur van die geneesmiddelmolekule moet so georganiseer wees dat dit insluitingskompleksering met die siklodekstriene bevoordeel.
* Die geneesmiddelmolekule se molekulêre massa moet verkieslik tussen 100 en 500 wees.
* 'n Enkele dosis van die geneesmiddel mag nie 30-50 mg oorskry nie.

Volgens *Szejtli (1990:19)* is die belangrikste gevolge van die interaksie tussen 'n geneesmiddelmolekule van lae oplosbaarheid en 'n siklodekstrien in oplossing, dat die konsentrasie van die geneesmiddelmolekule in die opgeloste fase betekenisvol verhoog, terwyl die konsentrasie van die siklodekstrien verlaag. Geïoniseerde verbindings, soos fenole wat in staat is tot waterstofbindings, mag egter wél die oplosbaarheid van die siklodekstriene verhoog.

Verder vind daar 'n verandering in die spektraaleienskappe van die geneesmiddelmolekule plaas as gevolg van chemiese verskuiwings van anisotropies beskermde atome wat mag plaasvind. Wanneer achirale geneesmiddelmolekules binne 'n chirale siklodekstrienmolekule geplaas word, word hulle opties-aktief en beskik oor sterk effekte in die spektra. Die golflengte van die maksimum absorpsie in die ultravioletspektrum kan ook verskuif word met verskeie nanometers. Die fluorisensie van die geneesmiddelmolekule kan ook verhoog word omdat die fluoriserende

molekule vanaf 'n waterige omgewing in 'n apolêre omgewing geplaas word *(Szejtli, 1990:19)*.

Hierbenewens word die reaktiwiteit van die geneesmiddelmolekule gemodifiseer. In die meeste gevalle verlaag die reaktiwiteit en die molekule word gestabiliseer, byvoorbeeld die diffusie, vlugtigheid, oksidasie en hidrolise van geneesmiddelmolekules neem af. In sommige gevalle tree die siklodekstriene op as kunsmatige ensieme wat verskeie reaksies versnel en reaksiestappe modifiseer. Verder word 'n hidrofobiese geneesmiddelmolekule hidrofilies met kompleksering, en die chromatografiese mobiliteit daarvan word ook verander *(Szejtli, 1990:19)*.

1.4.2 *Kragte betrokke by kompleksvorming*

Verskeie kragte is betrokke by kompleksvorming met die siklodekstriene, maar is nog nie akkuraat gedefinieer nie. Hierdie kragte mag hidrofobiese interaksies of Van der Waalskragte wees. Buiten die kragte wat nodig is om die geneesmiddelmolekule in die siklodekstrienholte in te trek, is verplasing van die watermolekules wat binne die holte teenwoordig is, ook nodig. Aangesien die watermolekules in 'n ongunstige hidrofobiese omgewing binne die holte voorkom en nie voorkeur verleen aan potensiële waterstofbindings nie, neig die water binne die holte dus om uit die holte te beweeg, en sodoende kan 'n meer hidrofobe molekule in die holte ingetrek word *(Duchêne & Wouessidjewe, 1990a:2)*.

1.4.3 *Siklodekstrien : geneesmiddelverhoudings*

Oor die algemeen vind kompleksvorming met die siklodekstriene in die verhouding van **1:1** plaas, maar verhoudings van **1:2** en **2:1** (siklodekstrien:geneesmiddel) is ook al beskryf. Progesteroon is 'n voorbeeld van 'n geneesmiddel wat aan twee beta-siklodekstrienmolekules gebind word. *Uekama et al. (1979)* het soliede komplekse van alfa- en beta-siklodekstrien met metiel-sinnamaat, etiel-sinnamaat en sinnamaldehied berei en gevind dat die molêre verhouding 2:1 (alfa-siklodekstrien:geneesmiddel) en 1:1 (beta-siklodekstrien:geneesmiddel) is. Volgens *Duchêne & Wouessidjewe (1990a:2)* is die verhoudings tydens kompleksvorming afhanklik van die grootte van die geneesmiddelmolekule wat volledig of gedeeltelik binne-in die siklodekstrienring moet pas.

1.4.4 Metodes om insluitingskomplekse te berei

Volgens *Pagington (1986:50)* bestaan daar drie algemene metodes vir die bereiding van geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse, naamlik 'n vloeistof-vloeistof-, vloeistof-vastestof- en vloeistof-gasmetode. Dit is veral die vloeistof-vloeistof- en vloeistof-vastestofmetodes wat meestal gebruik word vanweë die praktiese uitvoerbaarheid en goeie opbrengs daarvan.

1.4.4.1 Vloeistof-vloeistofmetode

'n Vinnige en maklik uitvoerbare metode om geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse te berei, berus daarop dat beide die siklodekstrien en geneesmiddel in 'n spesifieke verhouding in 'n geskikte oplosmiddel of mengsel geroer word vir 'n vasgestelde tydperk by 'n spesifieke temperatuur, totdat ekwilibrium bereik is. Die spesifieke toestande sal hoofsaaklik afhang van die eienskappe van die geneesmiddel. Hierna word die soliede kompleks verkry deur van óf vries- óf spreidroging gebruik te maak. Verskeie komplekse tussen siklodekstriene en geneesmiddels is al hiervolgens berei, byvoorbeeld p-aminobensoësuur-beta-siklodekstrienkompleks, ketoprofen-beta-siklodekstrien-kompleks en fenielbutasoon-alfa-siklodekstrienkompleks *(Kurozumi et al., 1975:3063)*.

Twee spesifieke metodes vir die bereiding van soliede komplekse word in die literatuur beskryf, naamlik die ko-presipitasie- en neutraliseringsmetode.

By die ko-presipitasiemetode word 'n oplossing van beta-siklodekstrien (warm, koud, suur of alkalies) geroer of geskud met 'n oplossing van die geneesmiddel. Indien die geneesmiddel onoplosbaar is, word dit in 'n oplosmiddel waarin dit oplosbaar is, opgelos. Hierdie oplossing word dan geroer by 'n konstante temperatuur vir 'n spesifieke tydperk. Die kompleks wat presipiteer, as 'n mikrokristallyne wit poeier, word gefiltreer onder vakuum, gewas met 'n organiese oplosmiddel of water en gedroog onder vakuum in 'n oond by 48 tot 50°C vir 24 tot 48 ure *(Pagington, 1986:50)*. Verskeie komplekse is reeds volgens hierdie metode berei, byvoorbeeld bropirimien-beta-siklodekstrienkompleks *(Ahmed et al., 1993:5)*, naproksen-beta-siklodekstrien-kompleks en ketoprofen-beta-siklodekstrienkompleks *(Castelli et al., 1992:2)*.

Erden en Celebi (1988) het gebruik gemaak van 'n neutraliseringsmetode om 'n insluitingskompleks van naproksen met beta-siklodekstrien te berei. Volgens hierdie metode is 1 g naproksen en 5 g beta-siklodekstrien in 'n gepaste hoeveelheid 1 N NaOH opgelos. Dié mengsel is geroer totdat die oplossing kleurloos was, waarna 1 N

HCl-oplossing bygevoeg en verder geroer is totdat presipitasie van die kompleks plaasgevind het. Die presipitaat is gefiltreer en onder vakuum by kamertemperatuur vir 48 ure gedroog.

1.4.4.2 Vloeistof-vastestofmetode

Volgens *Pagington (1986)* berus hierdie metode op die vermenging van beta-siklodekstrien met die geneesmiddel, in die vastetoestand, in 'n kragtige vermenger in. Voldoende water moet bygevoeg word sodat 'n pasta verkry kan word. Hierna word granules gemaak deur die pasta deur 'n sif te druk en in 'n oond by 'n spesifieke temperatuur en vir 'n vasgestelde tydperk te droog. Hierdie metode maak nie gebruik van oplosmiddels nie en ewewig kan dus nie bereik word nie.

1.4.4.3 Gas-vloeistofmetode

Pagington (1986) het gevind dat geneesmiddeldampe wat deur 'n warm of koue beta-siklodekstrienoplossing gestuur word, komplekse daarmee kan vorm. Komplekse wat op hierdie manier gevorm word, word geskei deur filtrasie, byvoorbeeld metanol-alfa-siklodekstrienkompleks *(Smolkova-Keulemansova, 1987:284)*.

1.4.5 Die isolering van geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse

Soos reeds onder 1.4.4.1 genoem, is vries- en spreidroging twee metodes wat gebruik kan word om geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse (in oplossing) in 'n vastestoftoestand te isoleer vir identifikasie, analise en heroplossing. Dit is egter veral vriesdroging wat vanweë die eenvoud van die metode dikwels gebruik word. Verskeie navorsers het soliede komplekse met behulp van vriesdroging berei, byvoorbeeld metiel-salisilaat-beta-siklodekstrienkompleks *(Kurozumi et al., 1975)*, ibuprofen-, ketoprofen-, indometasien-beta-siklodekstrienkompleks *(Nambu et al., 1978)* en naproksen-beta-siklodekstrienkompleks *(Otero-Espinar et al., 1991)*.

Die metode berus daarop dat die geneesmiddel en siklodekstrien opgelos word in water of 'n ander geskikte oplosmiddel en dan geroer word totdat ewewig bereik is. Hierna word enige onopgeloste geneesmiddel of siklodekstrien verwyder deur die oplossing deur 'n membraanfilter te filtreer, waarna hierdie oplossing gevriesdroog word onder bepaalde toestande, afhangende van die eienskappe van die geneesmiddel of geneesmiddel-siklodekstrienkompleks.

Kurozumi et al. (1975) het gebruik gemaak van vriesdroging vir beide die bereiding en isolering van 'n p-aminobensoësuur-beta-siklodekstrienkompleks. Volgens dié metode

is p-aminobensoësuur en beta-siklodekstrien opgelos in 'n 28 % ammoniak-oplossing. Hierdie oplossing is gevriesdroog en die produk is verder gedroog by 50°C. Die presipitaat is daarna gewas met diëtieleter en *in vacuo* gedroog by kamertemperatuur.

Die gebruik van sproeidroging vir die bereiding en isolering van soliede komplekse is deur *Lin et al. (1988)* beskryf. Hierdie tegniek berus op die vermenging van die geneesmiddel en beta-siklodekstrien in gedistilleerde water. Indometasien, piroksikam en warfarin is vooraf opgelos in 'n waterige alkaliese media, waarna hulle pH's verander is van alkalies na suur (pH 3) met 0,1 N HCl en daarna geneutraliseer is deur gebruik te maak van 0,1 N NaOH, afhangende van die eienskappe van die geneesmiddel. Hierdie oplossings is daarna geatomiseer in 'n drogingskamer. *Kata en Kedvessy (1987)* het ook gebruik gemaak van sproeidroging om soliede komplekse van twaalf verskillende geneesmiddels, onder andere sinnarasien, furosemied, griseofulvien hidrochloortiasied en mebendasool te berei met beta-siklodekstrien.

1.4.6 Opsomming

Die kragte betrokke by kompleksvorming tussen geneesmiddels en siklodekstriene is hoofsaaklik hidrofobiese interaksies of Van der Waalskragte. Hierdie kragte is nog nie akkuraat gedefinieer nie. Hierdie aspek verdien verdere navorsing, byvoorbeeld die beskrywing van die molekulêre dimensies en ruimtelike oriëntasies van geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse met behulp van onder andere molekulêre grafika.

Verskeie metodes vir die bereiding van geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse word in die literatuur beskryf waaronder die vloeistof-vloeistofmetode die mees geskikte metode blyk te wees. Vries- en sproeidroging word algemeen gebruik om geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse te isoleer vir identifikasie, analise en heroplossing. Hierdie metodes werk vinnig en is maklik uitvoerbaar en lewer 'n goeie opbrengs van soliede komplekse.

1.5 IDENTIFISERING EN ANALISE VAN GENEESMIDDEL-SIKLODEKSTRIEN-KOMPLEKSE

1.5.1 Inleiding

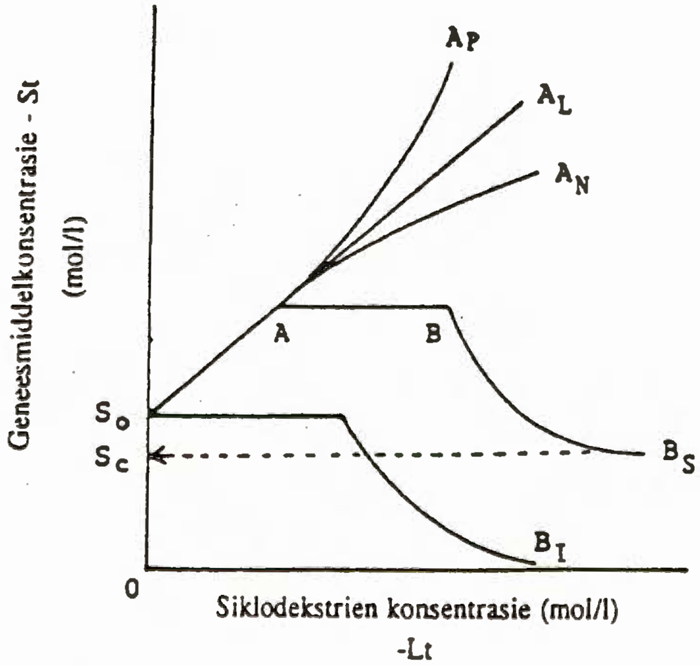
Die identifikasie van die siklodekstriene is deur *Szejtli (1982)* beskryf. Daar word hoofsaaklik van papier- en dunlaagchromatografie, kolomchromatografie en verskeie fotometriese metodes soos fluorisensie deur middel van die metieloranje-indikator-

metode, gebruik gemaak. 'n Hoëdrukvloeistofchromatografiese metode vir die bepaling van siklodekstriene in biologiese vloeistowwe is deur *Frijlink et al. (1987:325)* ontwikkel.

Vir die bestudering van geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse word daar van 'n verskeidenheid analitiese metodes gebruik gemaak. Fase-oplosbaarheidstudies, chromatografiese metodes, X-straalpoeierdiffraktometriese en differensiële skanderingskalorimetriese (DSC) metodes word veral gebruik. Ander metodes wat ook gebruik word sluit onder andere kernmagnetieseresonansspektroskopie (KMR), infrarooispektrofotometrie (IR) en massaspektrometrie (MS) in. 'n Bespreking van hierdie metodes en die bruikbaarheid daarvan word vervolgens gebied.

1.5.2 Fase-oplosbaarheidstudies

Fase-oplosbaarheidstudies is 'n belangrike komponent van die bestudering van kompleksvorming tussen geneesmiddels en siklodekstriene in waterige oplossings. Die oorspronklike metode is gebaseer op die werk van *Higuchi en Lach (1954)* en behels die byvoeging van 'n oormaat geneesmiddel by 'n reeks siklodekstrienoplossings met verskillende konsentrasies. Die oplossings word vir minstens 24 uur geroer en 'n grafiek van die konsentrasie geneesmiddel opgelos teenoor die siklodekstrien-konsentrasie word getrek. In figuur 1.7 word 'n skematiese voorstelling van verskillende fase-oplosbaarheidsdiagramme weergegee.



Figuur 1.7: Skematiese voorstelling van verskillende fase-oplosbaarheidsdiagramme *(Higuchi & Connors, 1965:134)*.

Tipe A-diagramme

Die simbool S_t verteenwoordig die totale molêre konsentrasie van opgeloste substraat (S) en L_t is die totale konsentrasie van die ligand (L). Die oplosbaarheid van S, die substraat wat swak oplosbaar is, word verhoog in die teenwoordigheid van L, die ligand. S_0 is die oplosbaarheid van S in die afwesigheid van L.

'n Lineêre toename in oplosbaarheid word voorgestel deur lyn A_L, terwyl 'n positiewe of negatiewe kromming van die lyn onderskeidelik deur A_P en A_N aangetoon word. Indien alle komplekse wat gevorm word, van 'n eerste-orde in L is, met ander woorde SL, S_2L, S_3L,...,S_mL, word 'n tipe A_L-diagram verkry. Wanneer komplekse wat gevorm word, van 'n hoër orde as een in L is, met ander woorde SL_2, SL_3,...,SL_n, word 'n tipe A_P-diagram verkry. Die oorsprong van die tipe A_N-diagram is onseker *(Higuchi & Connors, 1965:134).*

Die meeste geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse wat gevorm word, vertoon 'n tipe A-fase-oplosbaarheidsdiagram, byvoorbeeld fenitoïen-beta-siklodekstrienkompleks (A_L-tipe) *(Vromans et al., 1989:251)*, prostaglandien-E_1-beta-siklodekstrienkompleks (A_L-tipe) *(Yamamoto et al., 1992:748)*, prostasiklien-alfa-siklodekstrienkompleks (A_P-tipe) en indometasien-gamma-siklodekstrienkompleks (A_N-tipe) *(Hirayama & Uekama, 1987:142).*

Tipe B-diagramme

Tipe B-fase-oplosbaarheidsdiagramme kom nie so dikwels voor soos die tipe A-diagramme nie. Hierdie diagramme word verkry wanneer onoplosbare komplekse gevorm word.

Tipe B_S-kurwe

Vanaf S_0 tot A is die sisteem dieselfde as die tipe A-diagramme wat reeds bespreek is, naamlik die aanvanklike oplosbaarheid van S word verhoog as gevolg van 'n oplosbare kompleks wat gevorm word tussen S en L. By punt A word daar egter 'n oplosbaarheidslimiet bereik. Verdere byvoeging van L veroorsaak dat meer kompleks gevorm word wat egter presipiteer. Die konsentrasie van ongekomplekseerde S word konstant gehou deur die dissolusie van die soliede substraat (S). By punt B is alle soliede S op bogenoemde manier verbruik en verdere byvoeging van S veroorsaak 'n vermindering van S in die oplossing deur middel van presipitasie van die onoplosbare kompleks. Die gestippelde gedeelte van B_S tot S_C dui op oorversadiging van die oplossing met betrekking tot die aanvanklik gevormde kompleks *(Higuchi & Connors,*

1965:137). Voorbeelde van geneesmiddels wat tipe B_S-kurwes met siklodekstriene vorm, is salisielsuur-beta-siklodekstrienkompleks, ibuprofen-beta-siklodekstrienkompleks en prednisoloon-beta-siklodekstrienkompleks *(Vromans et al., 1989:251).*

Tipe B_I-kurwe

Kurwe B_I word op dieselfde wyse as kurwe B_S geïnterpreteer, behalwe dat die kompleks wat gevorm word so onoplosbaar is dat die aanvanklike verhoging in konsentrasie nie voorkom nie *(Higuchi & Connors, 1965:138).* Geen voorbeeld van hierdie tipe fase-oplosbaarheidskurwe met siklodekstriene as ligand kon in die literatuur gevind word nie.

1.5.3 Kernmagnetiese resonansspektroskopie (KMR)

Kernmagnetiese resonansstudies van insluitingskomplekse tussen beta-siklodekstrien en 'n verskeidenheid van geneesmiddels is deur verskeie navorsers uitgevoer, byvoorbeeld bropirimien-beta-siklodekstrienkompleks *(Ahmed et al., 1993:5),* naproksen-beta-siklodekstrienkompleks *(Bettinetti et al., 1991:1163)* en bensaldehied-beta-siklodekstrienkompleks *(Choi et al., 1992:690).* Hierdie studies het getoon dat groot geneesmiddelmolekules insluitingskomplekse met beta-siklodekstrien kan vorm, mits groepe aan die geneesmiddelmolekules klein genoeg is om in die holte van beta-siklodekstrien te pas. Oor die algemeen is proton-KMR (^{1}H-KMR)-studies van siklodekstriene tegnies moeilik as gevolg van die lae oplosbaarheid van die komplekse in D_2O *(Jones et al., 1984:218).* Koolstof-13-KMR-spektroskopie (C_{13}-KMR) gee genoegsame informasie aangaande die ruimtelike oriëntasie van individuele koolstofatome en intermolekulêre interaksies. Hierdie metode is een van die mees bruikbare metodes in die analise van die struktuur en molekulêre dinamika van siklodekstrienkomplekse in beide vloeibare en vaste toestand *(Bettinetti et al., 1991:1162).* 'n Belangrike probleem by, of tekortkoming van hierdie metode is dat swak komplekse wat gevorm word, baie klein chemiese verskuiwings toon wat veroorsaak dat die struktuur van die kompleks nie akkuraat beskryf kan word nie.

1.5.4 Infrarooispektrofotometrie (IR)

Kompleksvorming kan in sommige gevalle aangetoon word deur infrarooi (IR)-studies, maar dié metode besit enkele beperkings omdat die bande van siklodekstriene baie min deur kompleksformasie beïnvloed word *(Jones et al., 1984:219). Chow en Karara (1986)* het definitiewe verskuiwings in die karbonielband van 'n ibuprofen-beta-siklodekstrienkompleks gevind in vergelyking met 'n fisiese mengsel van ibuprofen en

beta-siklodekstrien. Die karbonielband is verskuif van 1709 cm^{-1} tot 1736 cm^{-1}. 'n Probleem wat mag voorkom by die gebruik van infrarooispektrofotometrie is dat sommige bande van die siklodekstrien en geneesmiddel mag oorvleuel sodat bande van die geneesmiddel deur die siklodekstrien gemaskeer word. Dit veroorsaak dat geen verskuiwings in die geneesmiddel se bande waargeneem kan word nie.

1.5.5 Sirkulêre dichroïsmestudies

Interaksies van molekules, soos azo-kleurstowwe, metiel-oranje, bensoësuur en barbiturate induseer nuwe pieke en ander veranderinge in die sirkulêre dichroïsmespektrum van alfa- en beta-siklodekstriene *(Jones et al, 1984:219)*. Sirkulêre dichroïsmestudies word selde gebruik en geen verdere inligting kon in die literatuur gevind word nie.

1.5.6 Fluoresensie

Otagiri et al. (1978:241) het van fluoresensie gebruik gemaak om geneesmiddel-beta-siklodekstrienkomplekse te bestudeer. Met hierdie tegniek is beta-siklodekstrienkomplekse van 4-hidroksie-koumarien, fenpro-koumarien en warfarin, wat elk 'n enkele koumarienring besit, bestudeer na aanleiding van 'n verhoogde fluoresensie wat deur hierdie verbindings veroorsaak word.

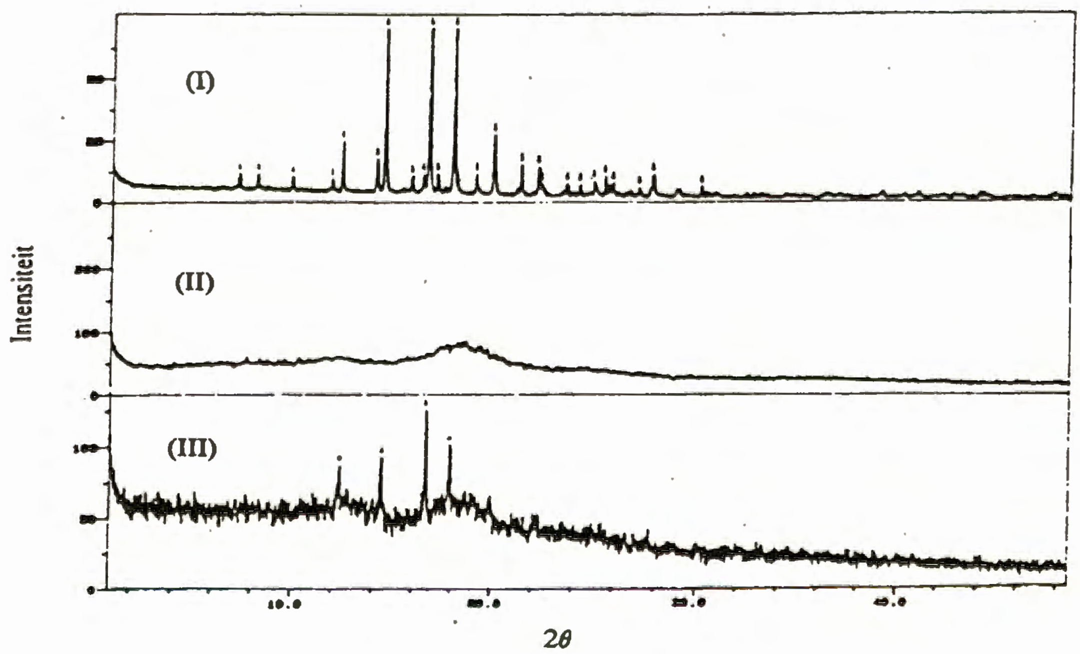
1.5.7 Chromatografie

Dunlaagchromatografie is 'n baie bruikbare metode vir die identifisering van 'n kompleks, aangesien komplekse gewoonlik die R_f-waardes betekenisvol verlaag *(Jones et al., 1984:219)*. Dunlaagchromatografie kan ook gebruik word vir die aantoon en identifiseer van die siklodekstriene sélf. *Sicard en Saniez (1987:97)* het die volgende oplosmiddelsisteem voorgestel, naamlik n-propanol + water + etielasetaat + ammoniumhidroksied (6:3:1:1). Hoëdrukvloeistofchromatografie is nog 'n baie populêre chromatografiese metode om geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse te ondersoek of te analiseer, veral in die bestudering van die effek wat siklodekstriene op die fisiese en chemiese eienskappe van 'n geneesmiddel het, byvoorbeeld in stabiliteitstudies. Baie navorsers het reeds van hoëdrukvloeistofchromatografie gebruik gemaak om geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse te ondersoek, byvoorbeeld *Albers & Müller (1992)*; *Andersen & Bundgaard (1984)*; *Arima et al. (1992)* en andere.

1.5.8 *X-straaldiffraktometrie*

1.5.8.1 X-straalpoeierdiffraktometrie

Aangesien waterige oplossings van geneesmiddelmolekules nie diffraksiepatrone besit nie, moet die geneesmiddelkompleks in poeiervorm beskikbaar wees. Wanneer die diffraktogram van die kompleks verskil van die diffraktogram van ongekomplekseerde geneesmiddel of siklodekstrien, kan aanvaar word dat kompleksvorming plaasgevind het *(Jones et al., 1984:219)*. *Kurozumi et al. (1975:3062)* het met X-straalpoeierdiffraksie aangetoon dat insluitingskomplekse van metielsalisilaat en p-aminosalisielsuur met beta-siklodekstrien, wat verkry is deur vriesdroging, amorf is. *Szejtli et al. (1980:781)* het ook van X-straalpoeierdiffraksie gebruik gemaak om aan te toon dat vitamien D_3 (cholekalsiferol) 'n insluitingskompleks met beta-siklodekstrien vorm. In die literatuur is daar talle voorbeelde waar X-straalpoeierdiffraksie gebruik is om die vorming van insluitingskomplekse aan te toon, byvoorbeeld bensoësuur-beta-siklodekstrienkompleks *(Nakai et al., 1987:4611)*, klobasam-trimetiel-beta-siklodekstrienkompleks, flunitrasepam-trimetiel-beta-siklodekstrienkompleks *(Rahman et al., 1993:84)* en lorasepam-beta-siklodekstrienkompleks *(Sanghavi et al., 1993:709)*. In figuur 1.8 word 'n voorstelling van die X-straalpoeierdiffraksiepatrone van digoksien en digoksien-2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien weergegee.



Figuur 1.8: X-straalpoeierdiffraksiepatrone van (I) digoksien, (II) digoksien-2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkompleks (spreidroog), (III) fisiese mengsel van digoksien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkompleks (1:5) *(Helm et al., 1991:202)*.

Uit die bogenoemde bespreking is dit duidelik dat X-straalpoeierdiffraksie 'n baie bruikbare en populêre metode vir die identifisering van insluitingskomplekse is.

1.5.8.2 X-straalkristallografie

Alhoewel enkelkristallografie seker die beste metode is om struktuuropklaring van komplekse ten opsigte van die geometrie en ruimtelike oriëntasie van spesifieke atome of groepe te ondersoek, is daar slegs enkele studies in die literatuur opgeteken, byvoorbeeld *Hamilton & Chen (1988)* en *Nishioka et al. (1984)*. Hierdie tegniek vereis egter besonderse vaardighede, byvoorbeeld die groei van kristalle van die geneesmiddel-siklodekstrienkompleks. Apparaat wat vir hierdie tipe studies gebruik word is ook baie gespesialiseerd, duur en nie geredelik beskikbaar nie.

2-Hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien is amorf en om kristalle van komplekse hiermee te groei is onmoontlik. Geen inligting kon in die literatuur gevind word waar kristalle wél met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien gegroei is nie.

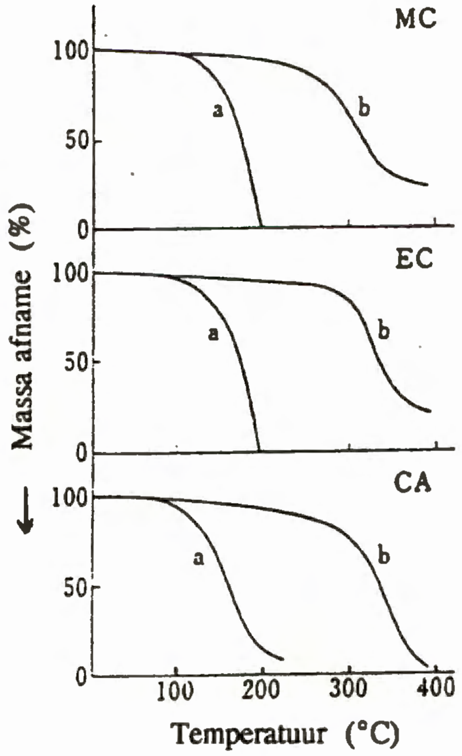
1.5.9 Metodes wat gebruik maak van hitte

1.5.9.1 Termo-analitiese sisteem (TAS)

Die termo-analitiese sisteem berus op die verhitting van 'n monster van die kompleks in 'n geslote glasbuis met 'n kapillêre uitlaat. Dit is belangrik dat waterdamp teenwoordig moet wees, aangesien die prosedure op die distillasie van stoom berus. Die water afkomstig van kristallisasie van die siklodekstrienkompleks is voldoende vir hierdie doel. Hierdie metode is bruikbaar vir vlugtige olies wat insluitingskomplekse met siklodekstriene mag vorm *(Jones et al., 1984:220)*.

1.5.9.2 Termogravimetriese analise (TGA)

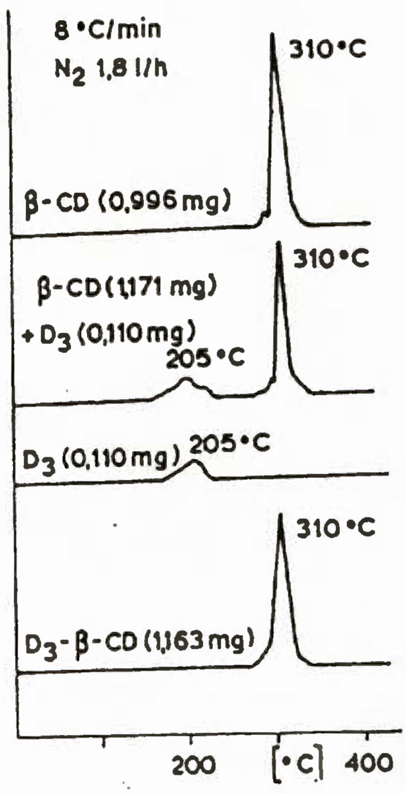
Uekama et al. (1979:76) het gebruik gemaak van termogravimetrie om aan te toon dat die vlugtigheid van verskeie sinaamsuurderivate verlaag is deur die vorming van beta-siklodekstrienkomplekse. In figuur 1.9 word 'n skematiese voorstelling van hierdie kurwes weergegee. Geen ander voorbeeld kon in die literatuur gevind word nie.



Figuur 1.9: Termogravimetriese kurwes van sinaamsuurderivate en komplekse daarvan met beta-siklodekstrien.(a) Sinaamsuurderivaat alleen, (b) beta-siklodekstrienkompleks MC = metielsinnamaat, EC = Etielsinnamaat en CA = Sinnamaldehied *(Uekama et al., 1979:76).*

1.5.9.3 Termiese evolusie (bewegings)-analiseerder (TEA)

Szejtli et al. (1980:781) het van die termiese evolusieanaliseerdertegniek gebruik gemaak om aan te toon dat vitamien D_3 wél 'n insluitingskompleks met beta-siklodekstrien vorm. Hierdie metode word baie selde gebruik. In figuur 1.10 word 'n skematiese voorstelling van die termogramme weergegee.



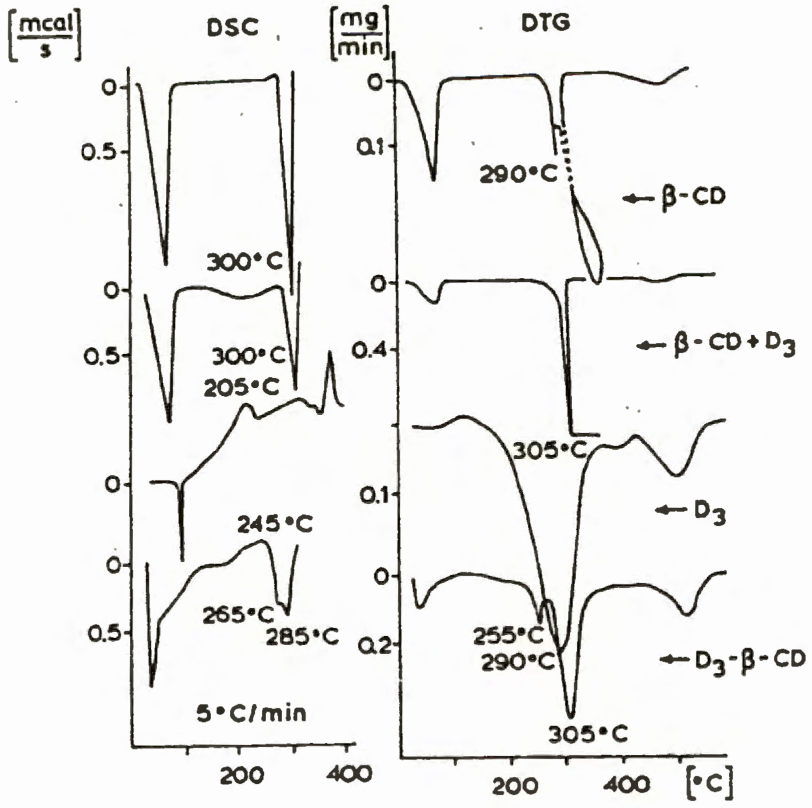
Figuur 1.10: Termogramme van beta-siklodekstrien, cholekalsiferol, hulle fisiese mengsel en die insluitingskompleks daarvan *(Szejtli et al., 1980:781)*.

1.5.9.4 Differensiële termiese analise (DTA)

Weens die hoë sensitiwiteit van dié tegniek, kan differensiële termiese analise veranderinge in die kristallyne toestand van 'n vastestof aantoon *(Jones et al., 1984:220)*. Hierdie metode kan dus gebruik word vir die aantoning van insluitingskomplekse waar daar 'n verandering in die kristallyne eienskappe van die geneesmiddel plaasvind. *Sanghavi et al. (1993:708)* het die bestaan van 'n lorasepam-beta-siklodekstrienkompleks hiermee aangetoon.

1.5.9.5 Differensiële skanderingskalorimetrie (DSC)

DSC-metings van insluitingskomplekse toon 'n weglating van die endotermiese pieke van die gekomplekseerde geneesmiddelmolekule. DSC is, soos DTA, 'n baie bruikbare metode vir die aantoning van kompleksvorming. In figuur 1.11 kan duidelik gesien word hoe die twee metodes met mekaar ooreenstem. Daar is talle voorbeelde in die literatuur waar gebruik gemaak is van DSC en DTA om kompleksvorming aan te toon, byvoorbeeld lorasepam-beta-siklodekstrienkompleks *(Sanghavi et al., 1993:708)*, klobasam-trimetiel-beta-siklodekstrienkompleks *(Rahman et al., 1993:84)*, bensoësuur-alfa-siklodekstrien en bensoësuur-beta-siklodekstrien *(Nakai et al., 1987:4612)*.



Figuur 1.11: Termogramme van beta-siklodekstrien, cholekalsiferol (vitamien-D_3), 'n fisiese mengsel daarvan en vitamien-D_3-beta-siklodekstrienkompleks *(Szejtli et al., 1980:781).*

1.5.10 Opsomming

Vir die bestudering en beskrywing van die eienskappe van geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse word daar hoofsaaklik van fase-oplosbaarheidstudies, X-straalpoeierdiffraksie, KMR en DSC gebruik gemaak. Alhoewel die apparaat vir hierdie ondersoeke duur is en nie altyd geredelik beskikbaar is nie, blyk dit die metodes van voorkeur te wees by die meeste ondersoeke van geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse. Dit blyk verder uit die literatuur dat navorsers dit eens is dat hierdie metodes genoegsame bewys lewer dat komplekse tussen geneesmiddels en siklodekstriene gevorm word. Ander metodes soos sirkulêre dichroïsmestudies, fluorisensie, dunlaagchromatografie en enkelkristallografie is ook bruikbaar, maar word egter minder dikwels as bogenoemde metodes gebruik.

1.6 SAMEVATTING

Die siklodekstriene en hulle derivate het unieke ringvormige strukture wat hulle geskik maak vir die vorming van insluitingskomplekse met 'n verskeidenheid geneesmiddels.

Die hidrofobe binnekant, tesame met die hoogs hidrofiele karakter aan die buitekant van die ringstruktuur, maak van hulle effektiewe verbindings om die oplosbaarheid van swak wateroplosbare (lipofiele) geneesmiddels te verbeter. Hierbenewens word die stabiliteit van geneesmiddels, byvoorbeeld teenoor hidrolise, oksidasie, fotochemiese afbraak en hitte ook verbeter vanweë die beskerming wat die geneesmiddel geniet deur insluiting in die holte van die siklodekstrien.

Dit is veral beta-siklodekstrien wat, vanweë die goeie passing van die meeste geneesmiddelmolekules in die holte daarvan, uiters geskik is vir die vorming van geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse. Verskeie derivate van beta-siklodekstrien, byvoorbeeld 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien, beskik oor beter oplosbaarheids-eienskappe as die natuurlike siklodekstriene. Die nefrotoksiese en hemolitiese effekte wat die natuurlike siklodekstriene na parenterale toediening besit, is ook nie teenwoordig by die meeste derivate van beta-siklodekstrien nie. Hierdie derivate hou groot potensiaal in vir die formulering van geneesmiddels in parenterale doseervorme.

Verskeie metodes vir die bereiding van geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse word in die literatuur beskryf, waaronder die vloeistof-vloeistofmetode die geskikste metode blyk te wees. Vries- en sproeidroging word algemeen gebruik om geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse te isoleer vir identifikasie, analise en heroplossing.

Vir die bestudering en beskrywing van die eienskappe van geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse word daar veral van fase-oplosbaarheidsdiagramme, X-straalpoeierdiffraktogramme, KMR- en DSC-studies gebruik gemaak. KMR en enkelkristallografie verskaf nuttige inligting aangaande die molekulêre dimensies en ruimtelike oriëntasie van die komplekse. Ander metodes, byvoorbeeld sirkulêre dichroïsmestudies en DTA-studies is egter ook bruikbaar.

Vanweë die unieke eienskappe van die siklodekstriene en hulle toepassing in die farmaseutiese wetenskap, is daar 'n toename in belangstelling hierin en navorsing hieroor. Die siklodekstriene, en veral die derivate van beta-siklodekstrien, hou groot potensiaal vir parenterale gebruik in. Dit word voorsien dat doseervorme, wat siklodekstriene as hulpstof in die formule insluit, eersdaags die kommersiële mark sal betree.

HOOFSTUK TWEE

NIFEDIPIEN

2.1 INLEIDING

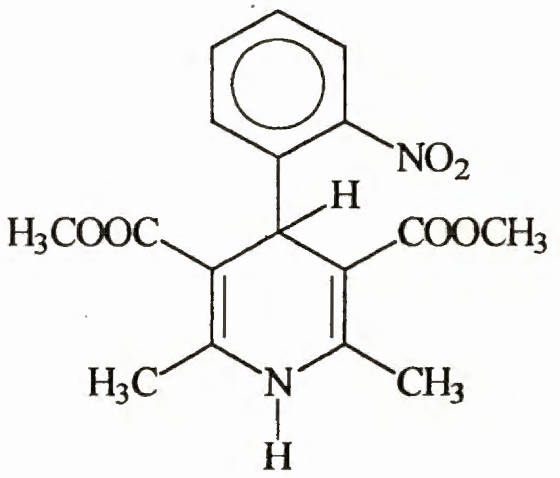
Die dihidropiridien-chemie het in 1882 'n aanvang geneem toe Hantzsch hierdie verbindings as stabiele tussenlopers in piridiensintese geklassifiseer het. In die daaropvolgende vyftig jaar is modifikasies aan die oorspronklike sintese gemaak en is sommige reaksies en eienskappe van die dihidropiridiene bestudeer *(Ali, 1989:224)*. Tydens die soeke na 'n oraal-aktiewe geneesmiddel vir die behandeling van koronêre ontoereikendheid, het Bossert in 1966 'n verbinding, nifedipien, gesintetiseer wat deur die maatskappy Bayer gepatenteer en kommersieel beskikbaar gestel is. Nifedipien (3,5-piridiendikarboksielsuur, 1,4-dihidro-2,6-dimetiel-4-[2-nitrofeniel]-, dimetiel-ester), is 'n dihidropiridienderivaat *(Bammi et al., 1991:2239)* wat die transmembraaninfluks van ekstrasellulêre kalsium in miokardiale en vaskulêre gladdespierselle blokkeer sonder om die serumkalsiumkonsentrasie te verander *(AHFS, 1988:833)*.

Vanweë die koronêre vasodilatoriese en antihipertensiewe eienskappe van nifedipien, word dit hoofsaaklik gebruik in die behandeling van chronies stabiele angina pectoris en ligte tot matige hipertensie *(Ali, 1989:224)*. *Meyer et al. (1986:224)* beskryf nifedipien as een van die bruikbaarste en bekendste kardiovaskulêre geneesmiddels in die wêreld en volgens dié outeurs is nifedipien op daardie stadium nog die meeste vir die behandeling van angina pectoris voorgeskryf.

2.2 IDENTIFIKASIE EN ALGEMENE EIENSKAPPE

2.2.1 Struktuur, formule en molekulêre massa

In figuur 2.1 word 'n skematiese voorstelling van die chemiese struktuur van nifedipien weergegee.



Figuur 2.1: 'n Skematiese voorstelling van die chemiese struktuur van nifedipien *(Ali, 1989:225)*.

Empiriese formule	$C_{17}H_{18}N_2O_6$
Molekulêre massa	346,30 g/mol *(USP XXII, 1990:945)*

2.2.2 *Persentasieverdeling van die elemente*

Die verdeling van die elemente in die formule van nifedipien is soos volg *(Merck Index, 1989:1031)*:

C = 58,95 %
H = 5,24 %
N = 8,09 %
O = 27,72 %

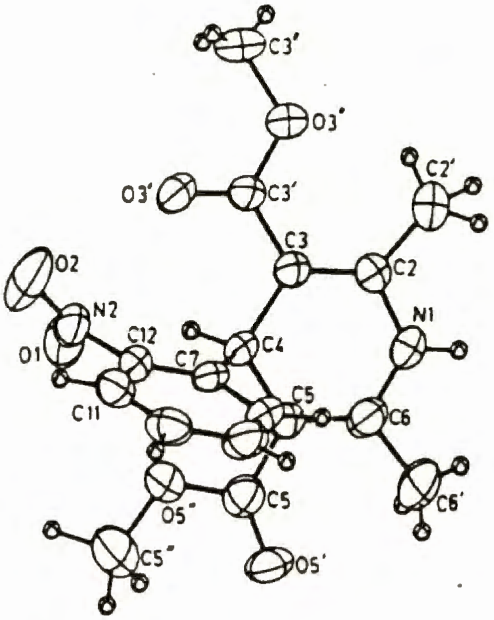
2.2.3 *Voorkoms*

Nifedipien is 'n higroskopiese geel kristallyne poeier wat geen reuk of smaak besit nie *(Ali, 1989:231)*.

2.3 *FISIESE EN CHEMIESE EIENSKAPPE*

2.3.1 *Vastestofeienskappe*

Nifedipien is 'n kristallyne vastestof. In die kristalrooster van nifedipien lê die byna plat dihidropiridienring loodreg op die nitrofenielgroep terwyl die orto-nitrogroep weg van die dihidropiridienring wys *(Triggle et al., 1980:1442)*. In figuur 2.2 word dit skematies geïllustreer.



Figuur 2.2: 'n Driedimensionele voorstelling van die chemiese struktuur van nifedipien *(Triggle et al., 1980:1443)*.

2.3.2 Oplosbaarheidseienskappe

2.3.2.1 Oplosbaarheid

In tabel 2.1 word die oplosbaarheidseienskappe van nifedipien in verskillende oplosmiddels as funksie van temperatuur weergegee.

Tabel 2.1: Die oplosbaarheidseienskappe van nifedipien *(Ali, 1989:229)*.

Oplosmiddel	Temperatuur (°C)	Oplosbaarheid (g/l)	Klassifikasie
Asetoon	20	250	Vrylik oplosbaar
Metileenchloried	20	160	Vrylik oplosbaar
Chloroform	20	140	Vrylik oplosbaar
Etielasetaat	20	50	Vrylik oplosbaar
Metanol	20	26	Min oplosbaar
Etanol	20	17	Min oplosbaar
Water	20	-	Prakties onoplosbaar
Buffer pH 4	37	0,0058	Prakties onoplosbaar
Buffer pH 7	37	0,0056	Prakties onoplosbaar
Buffer pH 9	37	0,0078	Prakties onoplosbaar
Buffer pH 13	37	0,006	Prakties onoplosbaar

Soos uit tabel 2.1 afgelei kan word, is nifedipien prakties onoplosbaar in water. Hierdie eienskap van nifedipien maak dit onmoontlik om 'n waterige oplossing van nifedipien vir inspuiting te berei.

In 'n studie deur *Jain et al. (1988)* is gepoog om 'n stabiele, vloeibare inspuiting van nifedipien te formuleer. Hierdie outeurs het van 'n hidrotropiese solubiliseringstegniek gebruik gemaak. Natriumbensoaat (30% m/v) en natriumsalisilaat (30% m/v) is as hidrotropiese stowwe gebruik. Die resultate van hierdie studie het aangetoon dat hidrotropiese solubilisering die oplosbaarheid van nifedipien aansienlik verhoog (135 keer). Die stabiliteit van nifedipien het egter nie verbeter nie alhoewel amberglasampules die tempo van afbraak effens vertraag het.

2.3.2.2 Dissosiasiekonstante (pKa)

Die pKa-waarde van nifedipien is deur *Mannhold et al. (1984)* bepaal deur gebruik te maak van 'n mengsel van tetrabutiel-ammoniumhidroksied in dimetielformamied as oplosmiddel. Die metode wat gewoonlik gebruik word vir die bepaling van pKa-waardes vir kalsium-antagoniste is potensiometriese mikrotitrasies. Die pKa-waarde *(suur)* van nifedipien is groter as 13 terwyl die pKa-waarde *(basis)* ongeveer -0,9 is. Nifedipien is nie geprotoneer by 'n pH van 7,4 nie en veroorsaak 'n negatiewe inotropiese effek via die ongeïoniseerde molekule. Weens die lae basisiteit van die dihidropiridien-stikstof is dit onmoontlik om soute met sure te vorm. Die graad van ionisasie kan met behulp van die volgende formule bereken word *(Mannhold et al., 1984:407)*:

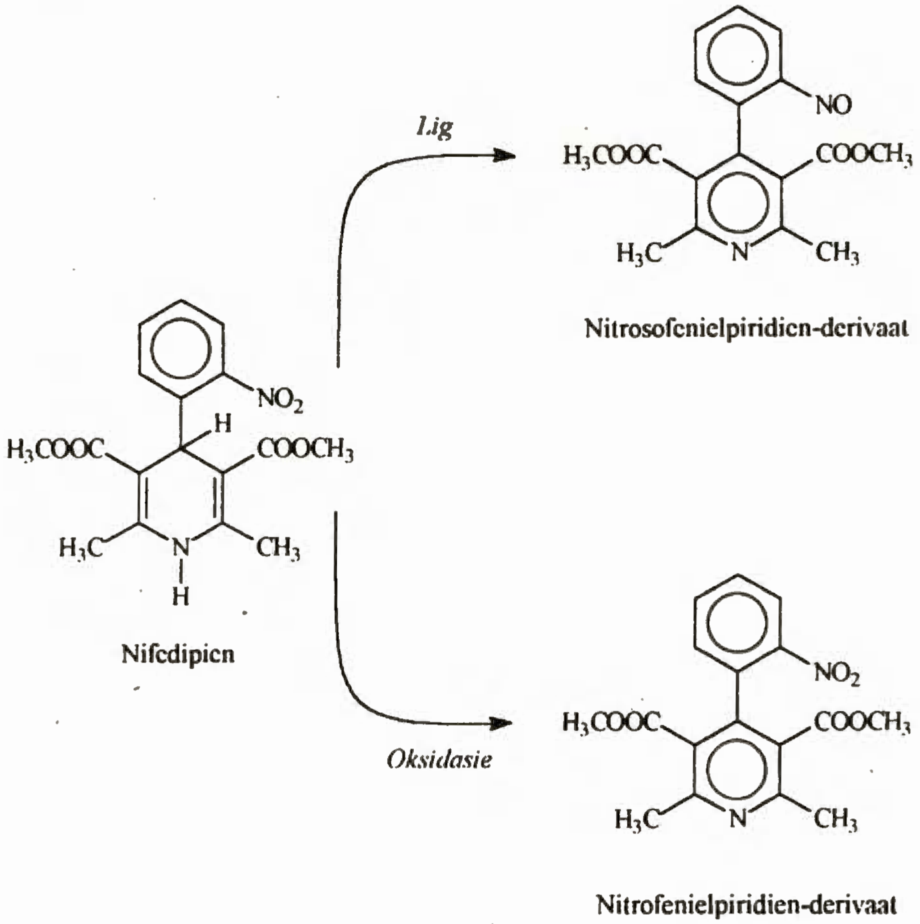
$$\text{Graad van ionisasie (\%)} = \frac{100}{1 + \text{antilog (pH - pKa)}} \qquad 2.1$$

2.3.3 Stabiliteit

Nifedipien is 'n baie sensitiewe geneesmiddel deurdat dit vinnige fotochemiese afbraak in oplossing ondergaan. Blootstelling aan lig en die teenwoordigheid van oksideermiddels gee aanleiding tot die vorming van twee afbraakprodukte, naamlik: dimetiel-4-(2-**nitroso**feniel)2,6-dimetiel-piridien-3,5-dikarboksielsuur en dimetiel-4-(2-**nitro**feniel) 2,6-dimetiel-piridien-3,5-dikarboksielsuur. Die fotochemiese afbraakproses van nifedipien is egter oppervlak-afhanklik, daarom vind afbraak in die vastestoftoestand baie stadiger as in oplossing plaas *(Ali, 1989:245)*.

In die teenwoordigheid van sigbare en ultravioletlig word nifedipien in oplossing vinnig (ongeveer 5 tot 30 minute) omgeskakel na hoofsaaklik die nitrosofenielpiridienderivaat

(Ebel et al., 1978:2188). In figuur 2.3 word 'n skematiese voorstelling van die *in vitro* afbraakproses van nifedipien weergegee. Hierdie eienskap van nifedipien, tesame met sy lae oplosbaarheid in oplosmiddels wat nie-toksies is vir parenterale gebruik, is 'n verdere nadeel vir die formulering van 'n aanvaarbare, effektiewe parenterale doseervorm van nifedipien.



Figuur 2.3: 'n Skematiese voorstelling van die *in vitro* afbraakproses van nifedipien *(Ebel et al., 1978:2188).*

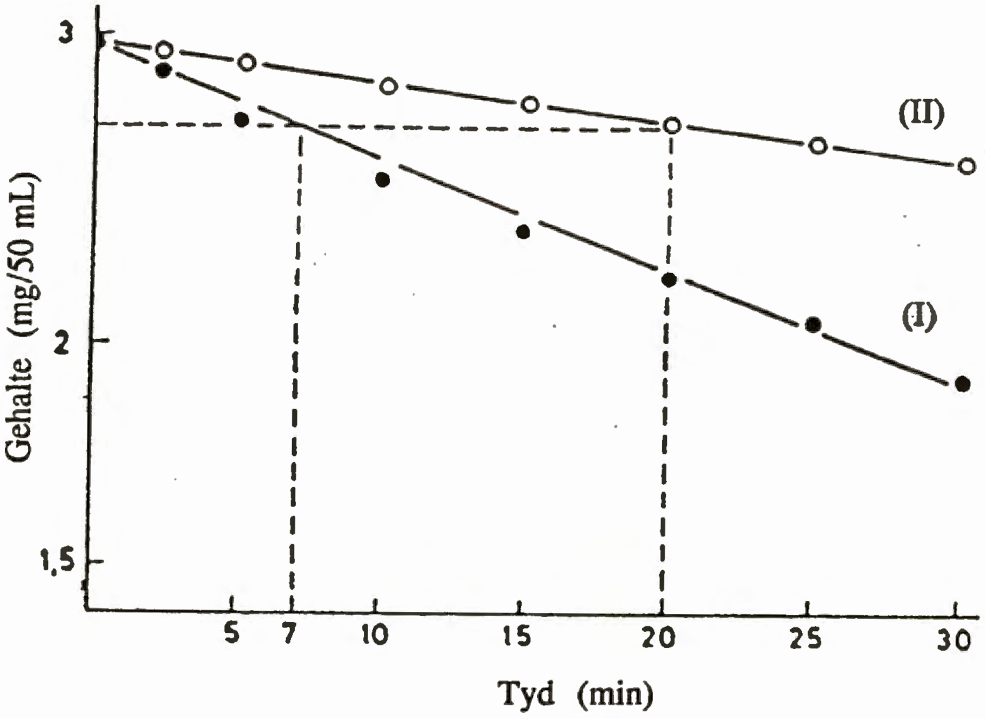
Thoma en Klimek (1985a:207) het die invloed van verskillende ligbronne op die stabiliteit van nifedipien ondersoek om te bewys dat nifedipien slegs deur lig met 'n golflengte kleiner as 450 nm beïnvloed word. Hierdie resultate word in tabel 2.2 kortliks saamgevat, terwyl figuur 2.4 hierdie verskynsel verder uitbeeld.

Daar bestaan kontroversie in die literatuur oor die invloed van temperatuur op die stabiliteit van nifedipien. Volgens *Thoma en Klimek (1985b:319)* het temperatuur, pH en ioniese sterkte geen invloed op die stabiliteit van nifedipien in oplossing nie, terwyl *Kuhlmann et al. (1986)* wél temperatuur as 'n bydraende faktor tot die verlaging in stabiliteit van nifedipien insluit.

Tabel 2.2: Die afbraakparameters (K, t_{50} en t_{90}) van nifedipien in 'n alkoholiese oplossing onder verskillende ligbronne *(Ali, 1989:248)*.

Ligbron	K (min^{-1})	t_{50} (min)	t_{90} (min)
Spectrotest (Xenon lamp) 700 - 372 nm	0,198	3,5	0,5
Spectrotest (Xenon lamp) 700 - 417 nm	0,040	17,0	2,5
Daglig, November	0,015	45,0	7,0
Lamplig, 40W	0,005	135,0	20,0

K = kinetikakonstante
t_{50} = tyd waarby 50% nifedipien afgebreek het
t_{90} = tyd waarby 10% nifedipien afgebreek het



Figuur 2.4: Die afbraak van nifedipien, opgelos in absolute etanol as funksie van die ligbron (I) daglig, Novembermaand en (II) lamplig 40 Watt, 11 cm afstand *(Ali, 1989:248)*.

Vanweë nifedipien se vinnige fotochemiese afbraak, spesifiseer die American Hospital Formulary Service *(AHFS, 1988:833)* dat alle eksperimentele werk op nifedipien in die totale afsluiting van sigbare of ultravioletlig uitgevoer moet word. Hierbenewens

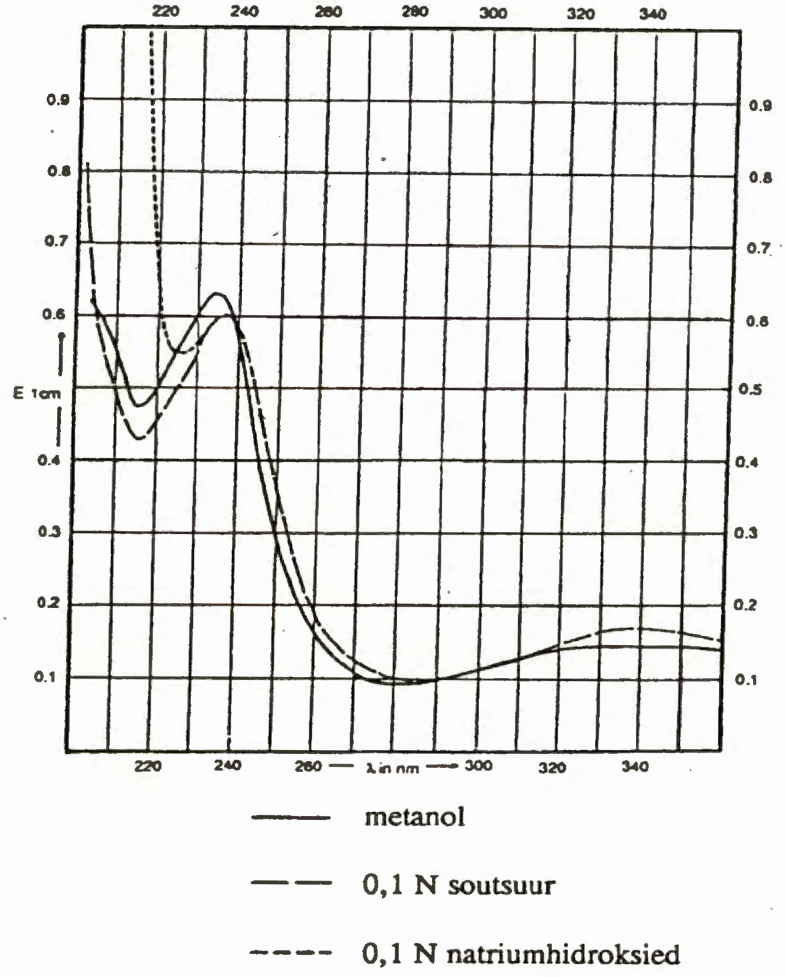
spesifiseer die *USP XXII (1990:946)* dat slegs 0,2% van beide die afbraakprodukte in nifedipienformulerings teenwoordig mag wees.

Weens bogenoemde fisiese en chemiese eienskappe van nifedipien, moet nifedipien en doseervorme wat nifedipien as aktiewe bestanddeel bevat, in digsluitende, ligdigte houers verpak word *(USP XXII, 1990:945)* en moet dit by temperature tussen 15 en 25°C gestoor word *(AHFS, 1988:833)*.

2.4 *SPEKTRAALEIENSKAPPE VAN NIFEDIPIEN*

2.4.1 *Ultravioletspektrum*

Nifedipien toon 'n maksimum absorpsie by 235 en 340 nm in 'n oplossing van metanol. In alkaliese oplossings toon dit 'n maksimum absorpsie by 238 nm, en in suur-oplossings by 340 nm *(Ali, 1989:232)*. In figuur 2.5 word die ultravioletspektrum van nifedipien in verskillende oplosmiddels weergegee.



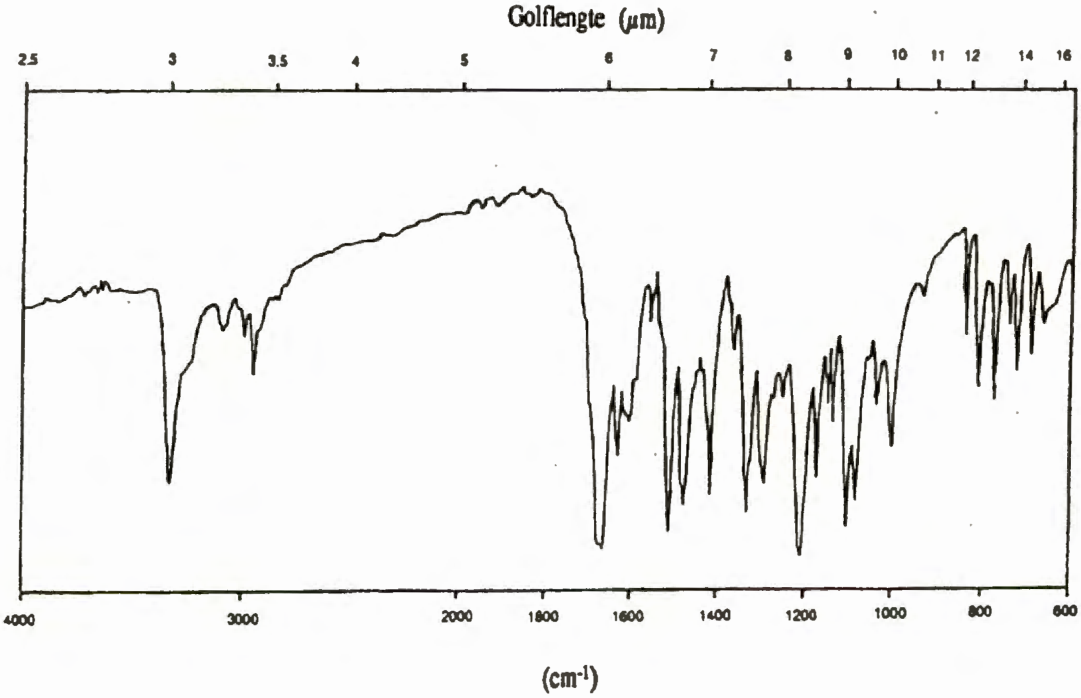
Figuur 2.5: Die ultravioletspektrum van nifedipien in verskillende oplosmiddels *(Dibbern, 1985:231)*.

2.4.2 *Infrarooispektrum*

Die infrarooispektrum van nifedipien word in figuur 2.6 weergegee. Die struktuurtoewysigings kan gekorrigeer word met die bandfrekwensies in tabel 2.3.

Tabel 2.3: Die struktuuropklaring van nifedipien deur gebruik te maak van infrarooispektrofotometrie *(Ali, 1989:236)*.

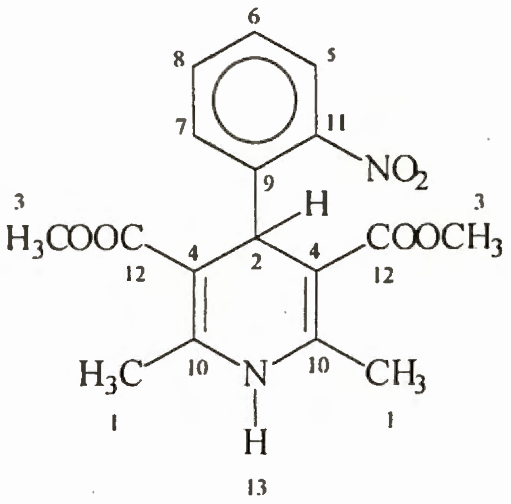
Frekwensie (cm^{-1})	Toewysing
3331	NH-strekvibrasies
3102	CH-aromaties
2931, 2842	CH-alifaties
1689	C=O-ester
1679	
1625	-C=C-aromaties
1574	
1530	NO_2
1433	
1380	-C-CH_3
1227	
1121	-C-O-ester



Figuur 2.6: Die infrarooispektrum van nifedipien met 'n Perkin-Elmer 1420 spektrofotometer *(Ali, 1989:235)*.

2.4.3 *Kernmagnetiese resonansspektrum (KMR)*

In figuur 2.7 word die struktuurtoewysings van ^{1}H-KMR-seine van nifedipien weergegee en in tabel 2.4 word die chemiese verskuiwings van die ^{1}H-KMR-spektrum van nifedipien weergegee.

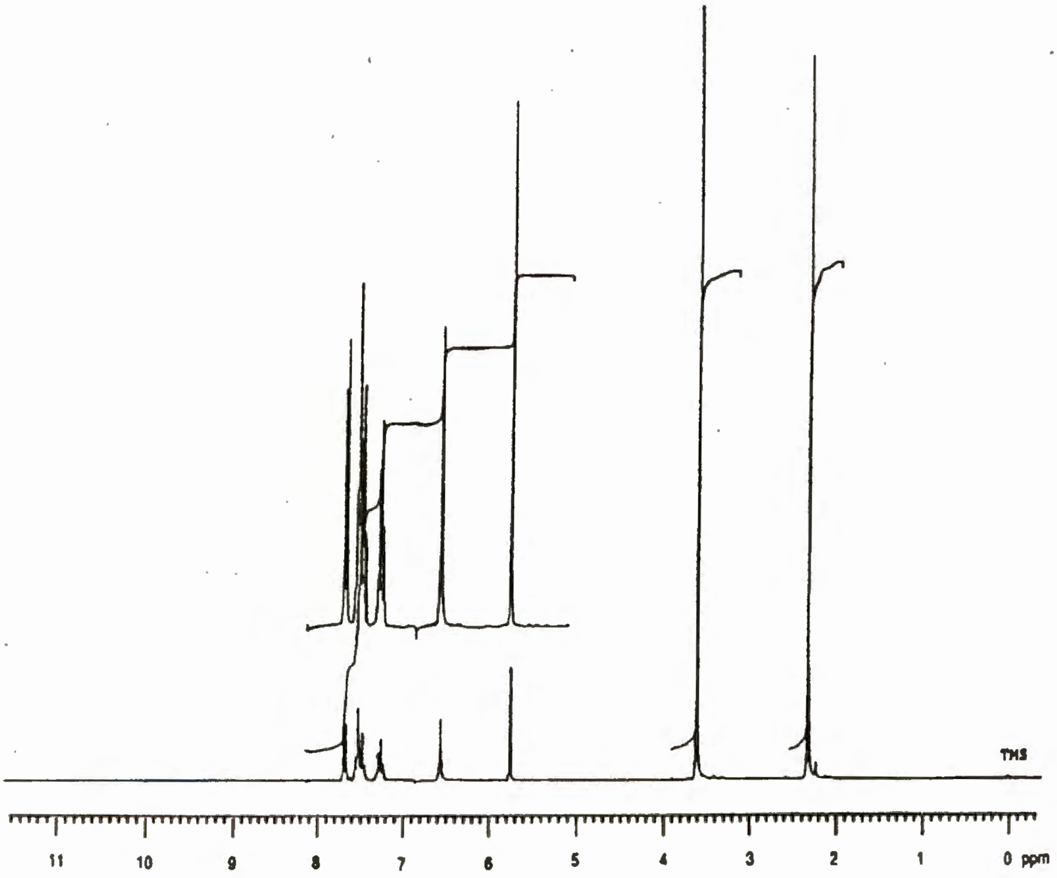


Figuur 2.7: Die struktuurtoewysings van die ^{1}H-KMR-seine van nifedipien *(Ali, 1989:237)*.

Tabel 2.4: Die chemiese verskuiwings van die ^{1}H-KMR-spektrum van nifedipien *(Ali, 1989:239)*.

H-atoom in figuur 2.7	Chemiese verskuiwings	Veelvuldigheid van pieke	Nommer van H-atoom
H-1	2,31	Singulett	6
H-2	5,74	Singulett	1
H-3	3,60	Singulett	6
H-5	7,68	Doublett	1
H-6	7,26	Multiplett	1
H-7	7,50	Doublett	1
H-8	7,51	Multiplett	1
H-13	6,56	Breë singulett	1

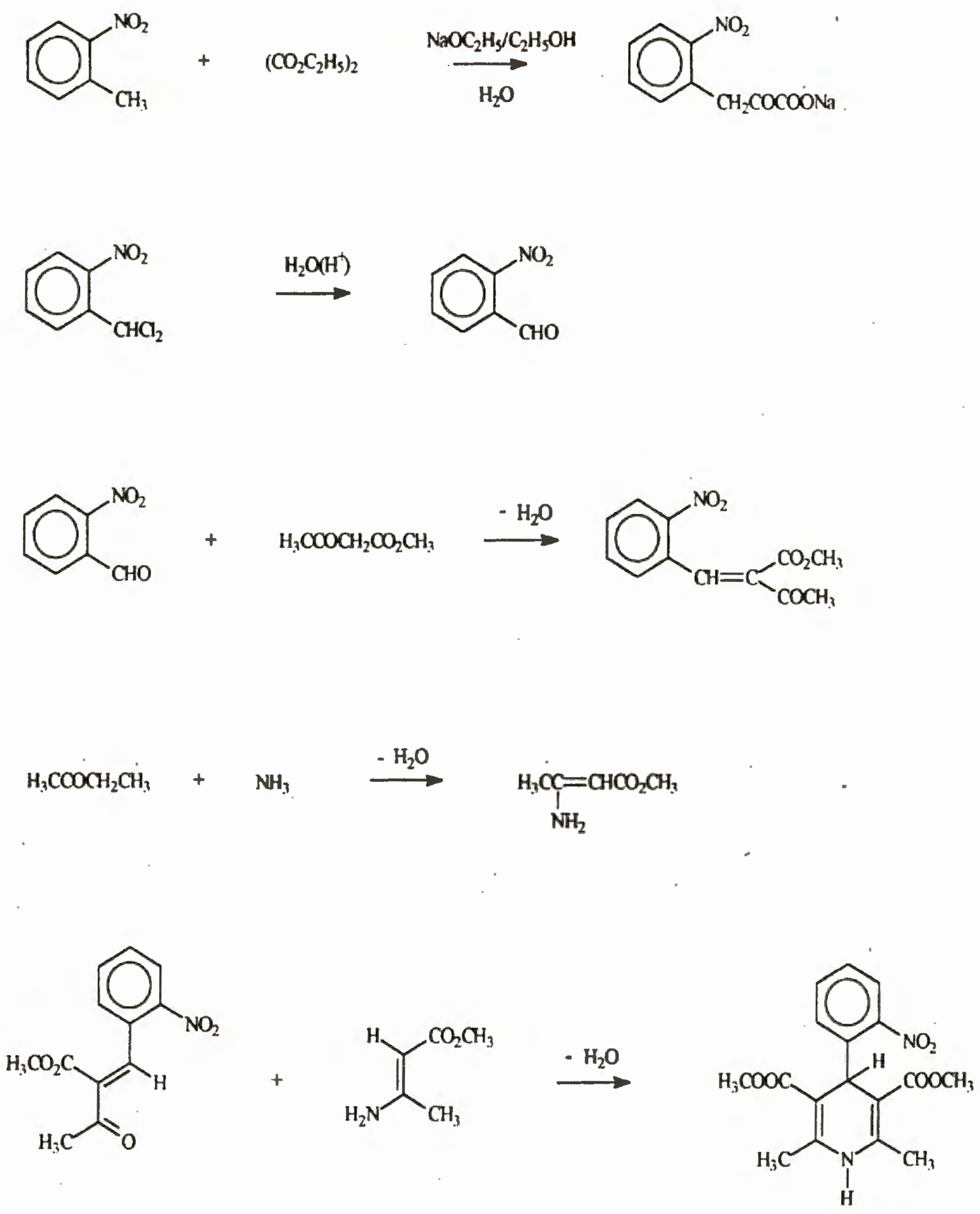
In figuur 2.8 word die ^{1}H-KMR-spektrum van nifedipien weergegee.



Figuur 2.8: Die ^{1}H-KMR-spektrum van nifedipien met 'n Bruker 250 MHz spektrofotometer *(Ali, 1989:238)*.

2.5 *SINTESE VAN NIFEDIPIEN*

Die bereiding van nifedipien is gebaseer op die klassieke Hantzsch 1,4-dihidropiridiensintese. In kort bestaan die sinteseproses uit die reaksie van 1 mol 2-nitro-bensaldehied met 2 mol metiel-asetoasetaat en 1 mol gekonsentreerde ammonia in refluks met metanol. Dit lei tot die vorming van nifedipien. In figuur 2.9 word 'n skematiese voorstelling van die sintese van nifedipien weergegee.



Figuur 2.9: Skematiese voorstelling van die sintese van nifedipien *(Ali, 1989:228)*.

2.6 FARMAKOKINETIESE EIENSKAPPE

2.6.1 Inleiding

Min inligting aangaande die farmakokinetiese eienskappe van nifedipien is in die literatuur beskikbaar. Volgens *Sorkin et al. (1985:214)* kan dit hoofsaaklik aan twee

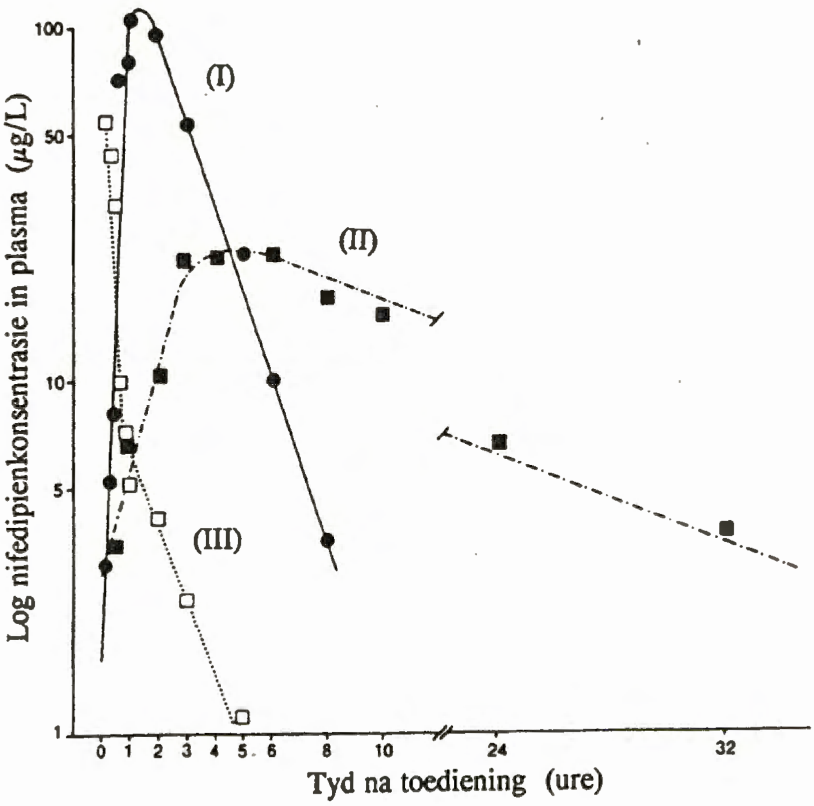
faktore toegeskryf word, naamlik die gebrek aan 'n kommersieel beskikbare parenterale doseervorm van nifedipien terwyl die laboratoriumformulering van 'n oplossing vir intraveneuse toediening vir farmakokinetiese studies baie moeilik is aangesien nifedipien swak wateroplosbaar en baie fotosensitief is.

Tweedens is daar probleme ondervind in die ontwikkeling van 'n sensitiewe en spesifieke metode vir die analisering van nifedipienplasmakonsentrasies na terapeutiese doserings. Die konsentrasie van nifedipien in liggaamsvloeistowwe word wél deur radio-isotope *(Duhm et al., 1972; Horster et al., 1972; Medenwald et al., 1972)*, hoëdrukvloeistofchromatografie *(Pietta et al., 1981; Santos, 1980; Snedden et al., 1984)*, fluorimetrie *(Lederballe Pedersen et al., 1978; Schlossmann, 1972)*, massaspektrofotometrie *(Higuchi & Shiobara, 1978)* en gas-vloeistofchromatografie *(Dokladalova et al. 1982; Higuchi et al., 1975; Jakobsen et al., 1979; Kondo et al., 1980; Lesko et al., 1983; Rosseel & Bogaert, 1983)* bepaal. Die verskeie teenstrydighede wat vir nifedipien se farmakokinetiese parameters gerapporteer is, is moontlik die gevolg van die onvermoë van sommige van hierdie analisemetodes om te kan onderskei tussen die aktiewe geneesmiddel (nifedipien) en sy onaktiewe metaboliete en fotochemiese afbraakprodukte. Die metaboliete van nifedipien word gewoonlik deur dunlaag- en gasvloeistofchromatografie sowel as ioonpaar-hoëdrukvloeistofchromatografie bepaal *(Sorkin et al., 1985:214)*.

Gepubliseerde farmakokinetiese studies van nifedipien tot op datum het normale vrywilligers, pasiënte met hipertensie en angina pectoris, en pasiënte met chroniese renale ontoereikendheid of op dialise ingesluit.

2.6.2 *Absorpsie*

Alhoewel nifedipien oor die hele lengte van die spysverteringskanaal geabsorbeer word, word byna 99% van 'n orale dosering grootliks in die dunderm geabsorbeer. Verskeie studies waarin die plasmakonsentrasie van nifedipien na orale toediening van tablette en kapsules, sublinguale toediening van kapsules, en intraveneuse toediening gemeet is, is in die literatuur opgeteken deur *Jain et al. (1988); Save et al. (1994); Seth & Seth (1994)* en *Kleinbloesem et al. (1984)*. In figuur 2.10 word die log plasmakonsentrasies van nifedipien as funksie van tyd na orale toediening van 'n 20 mg kapsule, 'n 20 mg tablet en na intraveneuse toediening van 'n 0,015 mg/kg inspuiting skematies voorgestel *(Kleinbloesem et al., 1984:742)*.



Figuur 2.10: Log plasmakonsentrasies van nifedipien na verskeie roetes van toediening: (I) 20 mg kapsule, (II) 20 mg tablet en (III) 0,015 mg/kg inspuiting *(Kleinbloesem et al., 1984:742)*.

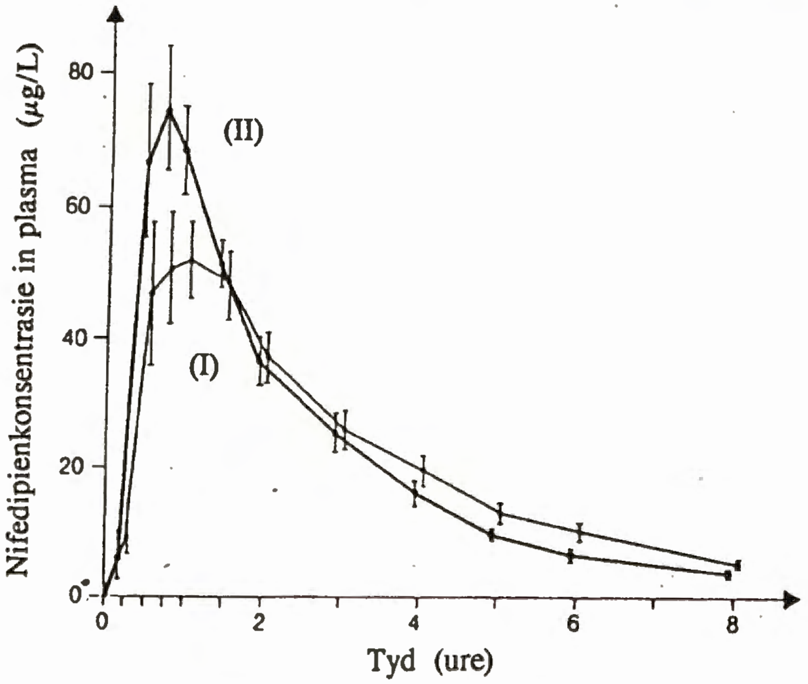
Na orale toediening van kapsules word piekplasmakonsentrasies binne 0,5 tot 2,2 ure verkry en is slegs 45 tot 68 % biobeskikbaar *(Foster et al., 1983:161)*. Hierteenoor het *Horster et al. (1972:330)* aangetoon dat tot 90 % nifedipien geabsorbeer word na 'n enkele orale dosering. *Kleinbloesem et al. (1984:742)* het aangetoon dat metabolisme deur die lewer verantwoordelik is vir die laer biobeskikbaarheid van nifedipien.

Daar is min data oor die farmakokinetika van nifedipien na sublinguale toediening in die literatuur beskikbaar. *Horster et al. (1975:124)* het ook aangetoon dat daar binne 10 minute na sublinguale toediening aan gehospitaliseerde pasiënte, nifedipien in die bloedplasma waargeneem kon word. Piekplasmakonsentrasies is binne 30 tot 120 minute waargeneem.

Die tempo van absorpsie van beide orale en sublinguale kapsules varieer baie tussen individue. Verskeie navorsers gebruik die terme "vinnige" en "stadige" absorbeerders van nifedipien, afhangende van die tyd wat benodig word om die maksimum plasmakonsentrasie te bereik, wat varieer tussen 30 minute tot 1 uur in die "vinnige" groep, en van 2 tot 4 ure in die "stadige" groep. *Nakashima et al. (1984:73)* het

voorgestel dat nifedipien in "vinnige" absorbeerders hoofsaaklik vanuit die maag geabsorbeer word, terwyl dit by "stadige" absorbeerders vanuit die dunderm geabsorbeer word. Daar is ook aangetoon dat hoër plasmakonsentrasies vinniger bereik kan word deur die kapsule eers stukkend te byt voor dit ingesluk of onder die tong geplaas word *(Love et al., 1985:209)*.

In figuur 2.11 word die grafiek van nifedipienkonsentrasie in die plasma as funksie van tyd vir Adalat T 10® 10mg tablette en Adalat® 10 mg kapsules weergegee.



Figuur 2.11: Die farmakokinetika van (I) nifedipientablette en (II) nifedipienkapsules as funksie van tyd *(Kleinbloesem et al., 1984:742)*.

Die absorpsie van nifedipien na orale toediening van tablette is stadiger (t_{maks} = 1,6 tot 4,2 ure) teenoor kapsules (t_{maks} = 0,5 tot 2,17 ure), maar in beide doseervorme is die biobeskikbaarheid ongeveer 52 %. Die grafiek van nifedipienkonsentrasie in plasma as funksie van tyd (figuur 2.11) na toediening van nifedipientablette is meer afgeplat en langer as dié van kapsules met piekplasmakonsentrasies laer, en halfleeftye langer. Nifedipien word dus stadig geabsorbeer en vinnig geëlimineer na toediening van tablette. Tussen 24 en 32 ure nadat die tablet toegedien is, kan nifedipien nog steeds in die absorpsiefase wees as gevolg van presipitasie daarvan in die spysverteringskanaalmukosa *(Kleinbloesem et al., 1984:742)*. Die inname van voedsel tesame met nifedipientablette verlaag die piekplasmakonsentrasie.

Studies van die kinetika van nifedipien na intraveneuse toediening het getoon dat 'n 1 mg dosering 'n maksimum plasmakonsentrasie van 19 tot 41 μg/L lewer *(Ali, 1989:245)*. *Foster et al. (1983:161)* het gevind dat piekplasmakonsentrasies binne 5 minute na intraveneuse toediening verkry word.

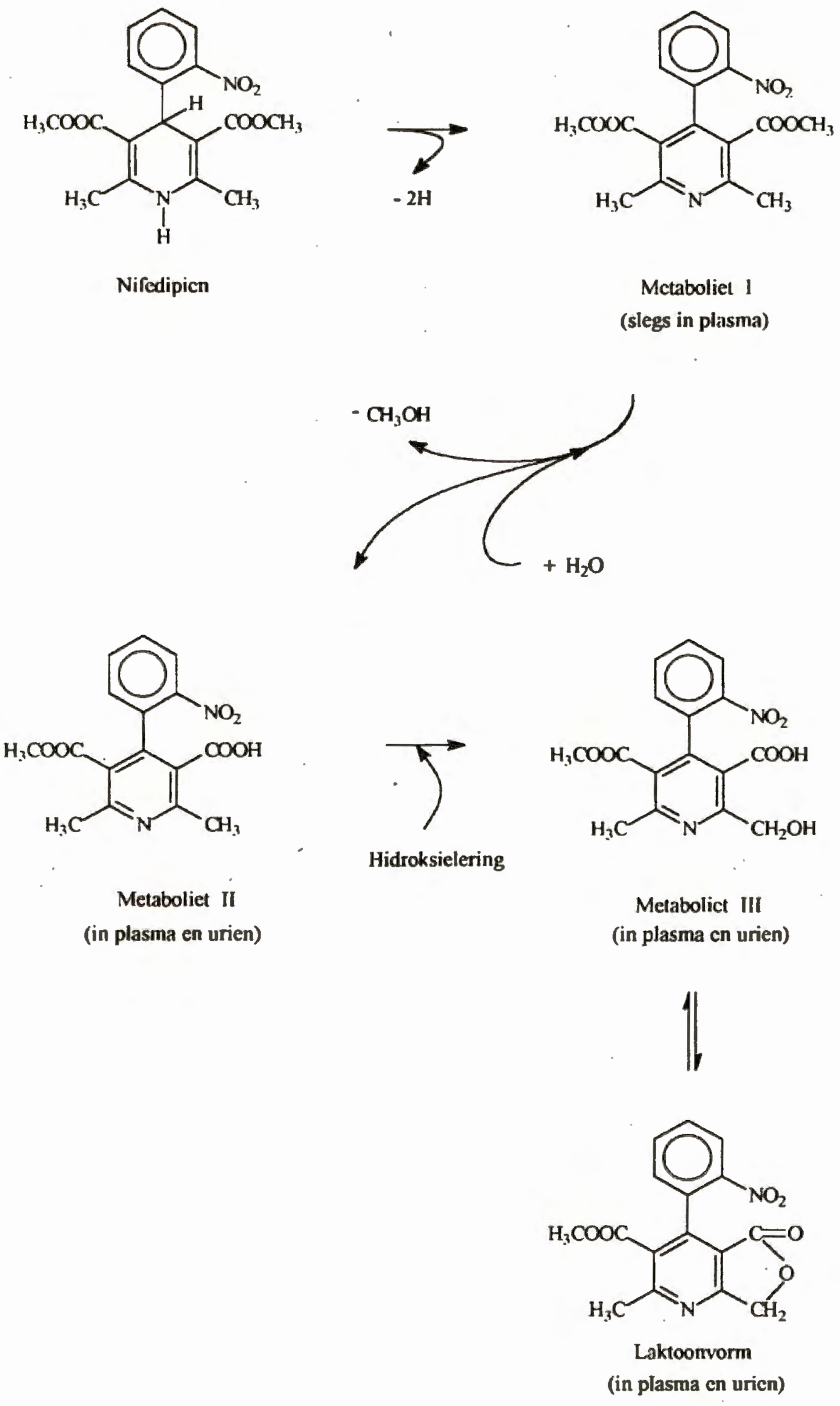
2.6.3 Verspreiding

Duhm et al. (1972:42) het gevind dat nifedipien in doserings van 0,03 tot 3 mg/kg intraveneus of oraal aan rotte toegedien, geen betekenisvolle verskil in die verspreidingspatroon toon nie. Hierdie outeurs het gevind dat nifedipien hoofsaaklik aktiwiteit in die plasma besit, met konsentrasies 3 tot 5 keer hoër as in die eritrosiete van die bloed van rotte.

Na intraveneuse toediening van nifedipien aan mense, het *Kleinbloesem et al. (1984:742)* gevind dat die verspreidingshalfleeftyd tussen 0,09 en 0,17 ure varieer. Die volume van verspreiding by gelykvlakke na intraveneuse toediening van nifedipien is tussen 0,62 en 1,12 l/kg *(Foster et al., 1983:161)*. Die binding van nifedipien aan albumien is konsentrasie-afhanklik. Daar is gevind dat nifedipien-proteïenbinding van 92 tot 98 % in bloedplasma verhoog wanneer die totale nifedipienkonsentrasie verlaag word van 20 tot 0,2 mg/l *(Sorkin et al., 1985:219)*.

2.6.4 Metabolisme en uitskeiding

Nifedipien word volledig in die liggaam gemetaboliseer *(Duhm et al., 1972:42)*. Klein hoeveelhede onveranderde nifedipien word deur die renale roete uitgeskei. In figuur 2.12 word 'n skematiese voorstelling van die metabolisme van nifedipien weergegee. Metaboliet II en III is teenwoordig in beide die urien en plasma, terwyl metaboliet I slegs in die plasma teenwoordig is. Al die metaboliete van nifedipien is farmakologies onaktief *(Ali, 1989:271)*.



Figuur 2.12: 'n Skematiese voorstelling van die metabolisme van nifedipien *(Ali, 1989:272).*

Die totale sistemiese eliminering van nifedipien na intraveneuse toediening vanuit die plasma varieer tussen 27 en ongeveer 66 l/uur *(Sorkin et al., 1985:220).*

2.6.5 *Halfleeftyd*

Die eliminasiehalfleeftyd van nifedipien na orale toediening van tablette varieer tussen 6 en 11 ure, en is ongeveer twee ure langer as vir kapsules. Die eliminasiehalfleeftye na intraveneuse toediening en rektale infusies varieer tussen 1,3 en 2 ure, en is korter as vir orale kapsules *(Sorkin et al., 1985:220)*.

2.7 *FARMAKOLOGIE VAN NIFEDIPIEN*

Die primêre fisiologiese werking van nifedipien is om transmembraaninfluks van ekstrasellulêre kalsium in miokardiale selle en vaskulêre gladdespierselle te blokkeer sonder om die serum kalsiumkonsentrasie te verander. Hierdeur word die kontraktiele proses van kardiale en vaskulêre gladdespiere geïnhibeer en veroorsaak sodoende dilatering van die koronêre en sistemiese arteries *(AHFS, 1988:833)*.

Nifedipien word hoofsaaklik gebruik in die behandeling van Prinz-Metal variant angina. In die behandeling van chronies stabiele angina pectoris, is nifedipien net so effektief as beta-adrenergiese antagoniste, byvoorbeeld propranolol en/of orale nitrate *(AHFS, 1988:834)*.

Die gebruik van nifedipien is nie net beperk tot die behandeling van angina pectoris nie, maar kan ook gebruik word vir die behandeling van ligte tot matige hipertensie. Wanneer nifedipien sublinguaal of intrabukaal toegedien word, kan dit selfs vir die behandeling van 'n hipertensiewe krisis gebruik word *(AHFS, 1988:834)*.

2.8 *KOMMERSIëLE PREPARATE*

Nifedipien is kommersieel beskikbaar as tablette en kapsules, vir orale, bukkale en sublinguale toediening, gewoonlik in sterktes van 5, 10 en 20 mg. Verskeie langwerkende tablette wat 10 tot 60 mg nifedipien bevat, is ook beskikbaar. Uit die literatuur kon daar slegs een inspuitbare doseervorm van nifedipien gevind word naamlik 'n koronêre inspuiting van 2 ml in 'n voorafgevulde spuit wat 100 μg/ml nifedipien bevat.

Aangesien 'n parenterale doseervorm van nifedipien vir intraveneuse toediening of vermenging in groot volume parenterale oplossings nie beskikbaar is nie, veral vir pasiënte wat nifedipien nie oraal kan inneem nie en ook vir die behandeling van hipertensiewe krisisse, is dit geïdentifiseer as 'n leemte in die kommersieel beskikbare

reeks doseervorme van nifedipien. 'n Verdere voordeel van 'n inspuiting van nifedipien lê in die snelheid van die aanvang van werking daarvan.

2.9 *SAMEVATTING*

Nifedipien, 'n kalsiumkanaal-antagonis, is 'n dihidropiridienderivaat wat die transmembraaninfluks van ekstrasellulêre kalsium in miokardiale en vaskulêre gladdespierselle blokkeer. Vandat nifedipien die eerste keer beskikbaar gestel is, is dit deur verskeie navorsers beskryf as een van die bruikbaarste en bekendste kardiovaskulêre geneesmiddels in die wêreld en word dit vandag nog die meeste vir die behandeling van angina pectoris voorgeskryf.

Nifedipien besit unieke fisies-chemiese eienskappe, waaronder die swak wateroplosbaarheid en swak stabiliteit daarvan moontlik die bekendste is. Nifedipien is prakties onoplosbaar in water en ondergaan vinnige fotochemiese afbraak in oplossing tydens blootstelling aan lig met 'n golflengte kleiner as 450 nm. Hierdie eienskappe van nifedipien maak dit prakties onmoontlik om 'n stabiele waterige oplossing van nifedipien vir inspuiting te formuleer. Die voordele wat 'n parenterale doseervorm kan inhou, is van groot waarde veral ten opsigte van die biobeskikbaarheid en tempo van werking en die verspreiding daarvan in gehospitaliseerde pasiënte.

HOOFSTUK DRIE

DIE INVLOED VAN 2-HIDROKSIEPROPIEL-BETA-SIKLODEKSTRIEN OP DIE OPLOSBAARHEID EN STABILITEIT VAN NIFEDIPIEN

3.1 INLEIDING

Nifedipien is, soos reeds in hoofstuk 2 aangetoon, prakties onoplosbaar in water en ondergaan hierbenewens ook vinnige fotochemiese afbraak in oplossing. In hoofstuk 1 is daar aangetoon dat die siklodekstriene die vermoë besit om met geneesmiddels insluitingskomplekse te vorm om sodoende onder andere die wateroplosbaarheid, stabiliteit en biobeskikbaarheid van hierdie geneesmiddels te verbeter. In die lig hiervan, en ook vanweë die feit dat geen verwysings in die literatuur opgeteken is van kompleksvorming tussen nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien in oplossing nie, is daar besluit dat kompleksvorming tussen nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien die moontlikheid inhou vir die verhoging van die wateroplosbaarheid en stabiliteit van nifedipien in oplossing en dat dit verder ondersoek moet word. Hierbenewens is 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien ook die enigste siklodekstrien wat reeds deur die FDA goedgekeur is vir die gebruik in parenterale preparate en kan 'n verbetering in die oplosbaarheid en stabiliteit van nifedipien groot potensiaal inhou vir die ontwikkeling van 'n inspuitbare doseervorm van nifedipien.

3.2 DOELSTELLING

Die doel van die studie was om:

1. ondersoek in te stel na die invloed van kompleksering met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien op die *oplosbaarheid* van nifedipien, en

2. te bepaal of nifedipien in oplossing, teen oksidatiewe fotolise *gestabiliseer* word wanneer dit met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien gekompleksee word.

3.3 *DIE INVLOED VAN 2-HIDROKSIEPROPIEL-BETA-SIKLODEKSTRIEN OP DIE OPLOSBAARHEID VAN NIFEDIPIEN*

3.3.1 *Inleiding*

Soos reeds in hoofstuk 1 (1.5.2) aangetoon, is fase-oplosbaarheidstudies 'n baie belangrike komponent van die bestudering van kompleksvorming tussen geneesmiddels en siklodekstriene in waterige oplossings. Die metode is op die bekende werk van *Higuchi en Lach (1954)* gebaseer en behels die byvoeg van 'n oormaat geneesmiddel by 'n reeks siklodekstrienoplossings met verskillende konsentrasies, wat geroer word totdat ewewig ingetree het en daarna gefiltreer en vir geneesmiddelinhoud, met behulp van ultravioletspektrofotometrie, geanaliseer word. Die fase-oplosbaarheidsdiagramme verskaf belangrike inligting aangaande die orde van kompleksvorming.

3.3.2 *Validering van die spektrofotometriese metode*

Die ultravioletspektrofotometriese metode wat vir die analise van nifedipien gebruik is, is gevalideer vir herhaalbaarheid, akkuraatheid en lineariteit ten einde te verseker dat herhaalbare en akkurate lesings verkry is.

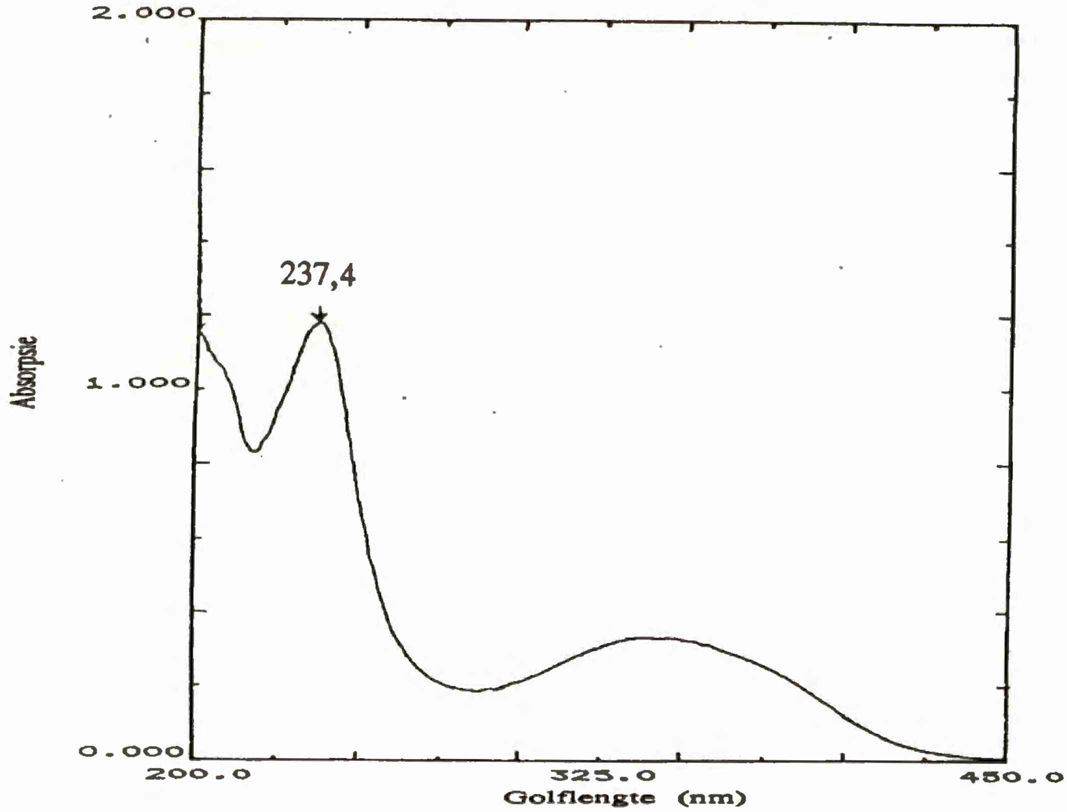
3.3.2.1 Bepaling van die golflengte van die maksimumabsorpsie vir nifedipien

3.3.2.1.1 Metode

Die golflengte van maksimumabsorpsie van nifedipien *(Rolab, Johannesburg)* is bepaal deur 'n ultravioletabsorpsiespektrum van 'n 20 μg/ml nifedipienoplossing in die golflengtegebied van 200 tot 450 nm te trek. 4 mg nifedipiengrondstof is afgeweeg en opgemaak tot 20 ml met 'n 1:1 mengsel van metanol *(Romil chemicals, Microsep, Johannesburg)* en gesuiwerde water *(Millipore, Milford, MA)*. 10 ml hiervan is onttrek en verdun tot 100 ml met gesuiwerde water. Gesuiwerde water is ook as blanko-oplossing gebruik.

3.3.2.1.2 Resultate en gevolgtrekking

In figuur 3.1 word die ultravioletspektrum van nifedipien weergegee. Hieruit kan gesien word dat nifedipien 'n maksimumabsorpsie by 237,4 nm gee. Alle spektrofotometriese analises vir die oplosbaarheidstudie is by hierdie golflengte uitgevoer.



Figuur 3.1: Die ultravioletspektrum van nifedipien.

3.3.2.2 Standaardkrommes

3.3.2.2.1 Metode

Twee moederoplossings wat 200 μg/ml nifedipien bevat het, is in 'n 1:1 mengsel van metanol en gesuiwerde water berei. 40 mg nifedipiengrondstof is afgeweeg en opgemaak tot 200 ml met 'n 1:1 mengsel van metanol en gesuiwerde water. Daarna is 2, 7, 12, 20, 30 en 40 ml van die een moederoplossing en 5, 10, 15, 25 en 32 ml van die ander moederoplossing met behulp van pipette onttrek en met gesuiwerde water verdun sodat 'n enkele standaardkromme in die konsentrasiegebied van 2 tot 40 μg/ml (0,0002 tot 0,0040% m/v), met behulp van 'n Shimadzu (model: UV-2100)-spektrofotometer opgestel kon word. Hierdie oplossings se ultravioletabsorpsies is by die golflengte van maksimumabsorpsie vir nifedipien (237,4 nm) gemeet. Elke bepaling is in duplikaat uitgevoer. 'n Grafiek van gemiddelde absorpsie as funksie van nifedipienkonsentrasie is gestip en die verband was lineêr. Deur lineêre regressie is die beste passing van die eksperimentele data verkry. Die nifedipienkonsentrasies van die onbekende monsters is met behulp van vergelyking 3.2 bereken.

Die vergelyking van 'n reguit lyn word gegee deur:

$$y = mx + c \qquad 3.1$$

waar y die ultravioletabsorpsie, m die helling, x die konsentrasie en c die y-afsnit is.

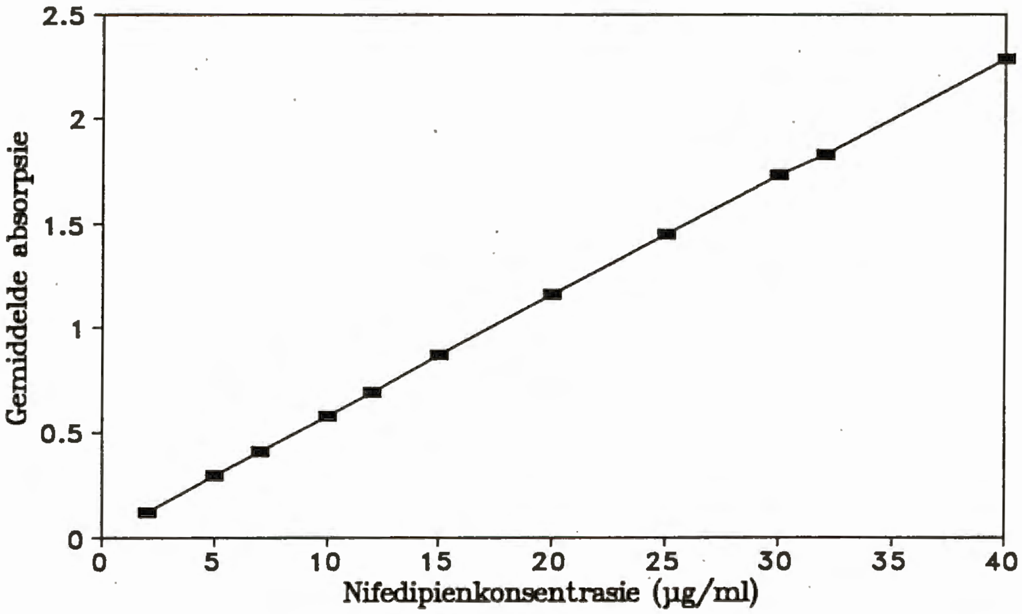
Die onbekende konsentrasie (x) kan dus bepaal word deur:

$$x = (y - c)/m \qquad 3.2$$

Die opstel van die standaardkromme is op 'n volgende dag onafhanklik herhaal.

3.3.2.2.2 Resultate en gevolgtrekking

In figuur 3.2 word 'n tipiese standaardkromme van die gemiddelde absorpsie as funksie van nifedipienkonsentrasie in μg/ml weergegee, en in tabel 3.1 word die gemiddelde eksperimentele waardes en regressie-analise van die standaardkrommes van twee opeenvolgende dae weergegee.



Figuur 3.2: Die gemiddelde absorpsie van nifedipien as funksie van nifedipienkonsentrasie.

Tabel 3.1: Die eksperimentele waardes en regressie-analise van die standaardkrommes vir dag 1 en dag 2.

Nommer	Nifedipienkonsentrasie (μg/ml)	Gemiddelde absorpsie	
		Dag 1	Dag 2
1	2	0,1210	0,1170
2	5	0,2945	0,2910
3	7	0,4095	0,4060
4	10	0,5785	0,5880
5	12	0,6935	0,7050
6	15	0,8685	0,8795
7	20	1,1610	1,1755
8	25	1,4510	1,4690
9	30	1,7340	1,7600
10	32	1,8306	1,8860
11	40	2,2857	2,3000
Regressiepassing			
		Dag 1	Dag 2
Afsnit (c)		-0,1788	0,0058
Korrelasiekoëffisiënt (r^2)		0,9999	0,9997
Gradiënt		0,0582	0,0582

Uit tabel 3.1 blyk dit dat die verband tussen ultravioletabsorpsie en nifedipienkonsentrasie lineêr is, aangesien die korrelasiekoëffisiënte van beide standaardkrommes groter as 0,990 is.

3.3.2.3 Herhaalbaarheid

Die herhaalbaarheid van 'n metode beskryf die ooreenstemming in replikaatmetings.

3.3.2.3.1 Metode

Vir die bepaling van die herhaalbaarheid van die metode is 'n nifedipienoplossing met 'n konsentrasie van 20 μg/ml, soos onder 3.3.2.1.1 bespreek is, op elk van vier afsonderlike dae berei. Elke bepaling is vyf keer herhaal en die gemiddelde

nifedipienkonsentrasie is bereken. Die variasiekoëffisiënt (VK) is met behulp van vergelyking 3.3 bereken:

$$\% \text{ VK} = \frac{\text{Standaardafwyking}}{\text{Gemiddelde nifedipienkonsentrasie}} \times \frac{100}{1} \qquad 3.3$$

3.3.2.3.2 Resultate en gevolgtrekking

In tabel 3.2 word die resultate van die toets vir herhaalbaarheid weergegee.

Tabel 3.2: Bepaling van die herhaalbaarheid van die spektrofotometriese metode (n=5).

Dag	Gemiddelde nifedipienkonsentrasie (μg/ml)	SA	VK (%)
1	20,24	0,005	0,0247
3	20,21	0,005	0,0248
5	20,20	0,040	0,1980
8	20,25	0,005	0,0247
Interdag-variasie	20,22	0,022	0,1094

SA = standaardafwyking
VK = variasiekoëffisiënt

Uit tabel 3.2 blyk dit dat die metode herhaalbaar was, aangesien die variasiekoëffisiënte vir die intradagvariasie sowel as vir die interdagvariasie telkens kleiner as 1% was, wat aanvaar is vir die doeleindes van die ondersoek.

3.3.2.4 Akkuraatheid

Akkuraatheid is 'n maatstaf van die ooreenkoms tussen eksperimentele waardes en teoretiese waardes.

3.3.2.4.1 Metode

Monstervoorbereiding en die verwerking van die resultate is uitgevoer soos onder 3.3.2.3.1 beskryf.

3.3.2.4.2 Resultate en gevolgtrekking

In tabel 3.3 word die resultate van die toets vir akkuraatheid weergee.

Tabel 3.3: Bepaling van die akkuraatheid van die spektrofotometriese metode.

Dag	Nifedipienkonsentrasie (μg/ml)		Nifedipienherwinning (%)
	Teoreties	Prakties	
1	20,00	20,24	101,18
3	20,00	20,21	101,03
5	20,00	20,20	101,00
8	20,00	20,25	101,23
Gemiddeld			101,110
Standaardafwyking			0,112
VK (%)			0,111

VK = variasiekoëffisiënt

Uit tabel 3.3 kan gesien word dat die variasiekoëffisiënt kleiner as 1% is, daarom kan aanvaar word dat die akkuraatheid van die metode voldoende is vir die doeleindes van die studie.

3.3.3 Oplosbaarheidstudie

3.3.3.1 Metode

'n Moederoplossing wat 0,3846 M van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien *(Janssen, Biotech N.V., Belgium, Lot:O3B-191)* bevat het, is in gesuiwerde water berei. 50 g 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstriengrondstof is afgeweeg en opgemaak tot 100 ml met gesuiwerde water. Daarna is geskikte volumes van die moederoplossing met behulp van pipette onttrek en met gesuiwerde water verdun sodat agtien oplossings van verskillende siklodekstrienkonsentrasies tussen 0,0154 M en 0,3846 M verkry is. 10 ml van elk van die resulterende oplossings is na 'n Pyrex-flessie oorgedra, 'n oormaat nifedipiengrondstof (± 5 mg) is daarby gevoeg en in 'n roterende bottelapparaat *(Souder & Ellenbogen, 1985:77)* teen 'n konstante tempo van 300

omwentelings per minuut by 'n konstante temperatuur van 25 ± 1°C met die uitsluiting van lig (in 'n donker kamer) geroteer.

Ten einde vas te stel wanneer ewewig bereik is, is duplikaatmonsters na 1, 3, 5 en 8 dae onttrek. Die monsters is deur 'n 0,22 μm membraanfilter *(Milipore, Milford, MA)* gefiltreer om alle onopgeloste nifedipien te verwyder. Hierna is die monsters vir nifedipieninhoud teenoor 'n standaardkromme van nifedipien, wat vooraf opgestel is, soos onder 3.3.2.2.1 beskryf, by die golflengte van maksimumabsorpsie geanaliseer.

Ten einde vas te stel wanneer ewewig bereik is, is 'n variansie-analise op die resultate van die oplosbaarheidstudie met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien uitgevoer en Tukey se toets *(CSS: Statistica, 1986)* vir variansie is daarna gedoen.

Uit die resultate is 'n fase-oplosbaarheidsdiagram geteken en 'n stabiliteitskonstante (K_C) met behulp van vergelyking 3.4 bereken. Ten einde betekenis aan die waarde van die stabiliteitskonstante te verleen, is dieselfde eksperiment met beta-siklodekstrien in die konsentrasiegebied van 0,0065 M tot 0,0163 M herhaal. 'n Moederoplossing met 'n konsentrasie van 0,0163 M beta-siklodekstrien *(Roquette, Lestrem, Lot:450333)* is berei deur 1,85 g beta-siklodekstriengrondstof op te los in gesuiwerde water en die volume aan te vul tot 100 ml met gesuiwerde water. Daarna is geskikte volumes van die moederoplossing met behulp van pipette onttrek en met gesuiwerde water verdun sodat ses oplossings met siklodekstrienkonsentrasies van 0,0065 M tot 0,0163 M verkry kon word. Die eksperiment is verder, net soos met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien beskryf is, uitgevoer alhoewel die monsters slegs na drie dae vir nifedipieninhoud geanaliseer is.

3.3.3.2 Resultate en bespreking

<u>Bereiking van ewewig</u>

'n Analise van die nifedipienkonsentrasies in die teenwoordigheid van toenemende konsentrasies 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien na behandeling vir 1, 3, 5 en 8 dae het aangetoon dat kompleksvorming reeds na 24 uur ewewig bereik het. Die konsentrasies nifedipien wat opgelos het na behandeling vir verskillende tydsintervalle word in bylae A aangetoon. Die resultate is onderwerp aan Tukey se toets vir variansie *(CSS: Statsoft, 1986)* waarvan die resultate in tabel 3.4 weergegee word. Die toets het getoon dat daar geen statisties betekenisvolle verskil ($p > 0,05$) in geneesmiddelinhoud (nifedipien) tydens kompleksering met 2-hidroksiepropiel-beta-

siklodekstrien tussen die verskillende dae is nie. Dit is duidelik dat die kompleksenngsreaksie reeds na 24 uur ewewig bereik het. Vir die doeleindes van verdere bespreking word die gemiddelde waardes wat oor 8 dae vir 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien verkry is, gebruik, slegs aangesien die groter aantal bepalings groter betroubaarheid aan die ondersoek verleen.

Tabel 3.4: Tukey se toets vir die nifedipienkonsentrasie, met interdagvariasie as hoofeffek.

DAG	TUKEY SE HSD-TOETS Waarskynlikhede vir Post-Hoc-toetse Hoofeffek: DAG			
	[1]	[2]	[3]	[4]
1 [1]		0,999843	0,999989	0,999450
3 [2]	0,999843		0,999987	0,997233
5 [3]	0,999989	0,999987		0,998809
8 [4]	0,999450	0,997233	0,998809	

Fase-oplosbaarheidstudie

In tabelle 3.5 en 3.6 word die resultate van die fase-oplosbaarheidstudie vir nifedipien met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien onderskeidelik saamgevat, en in figuur 3.3 en 3.4 word die fase-oplosbaarheidsdiagramme van nifedipien met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien (2-HP-β-SD) en beta-siklodekstrien (β-SD) onderskeidelik weergegee.

Tabel 3.5: Die gemiddelde konsentrasie nifedipien opgelos as funksie van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkonsentrasie oor 8 dae.

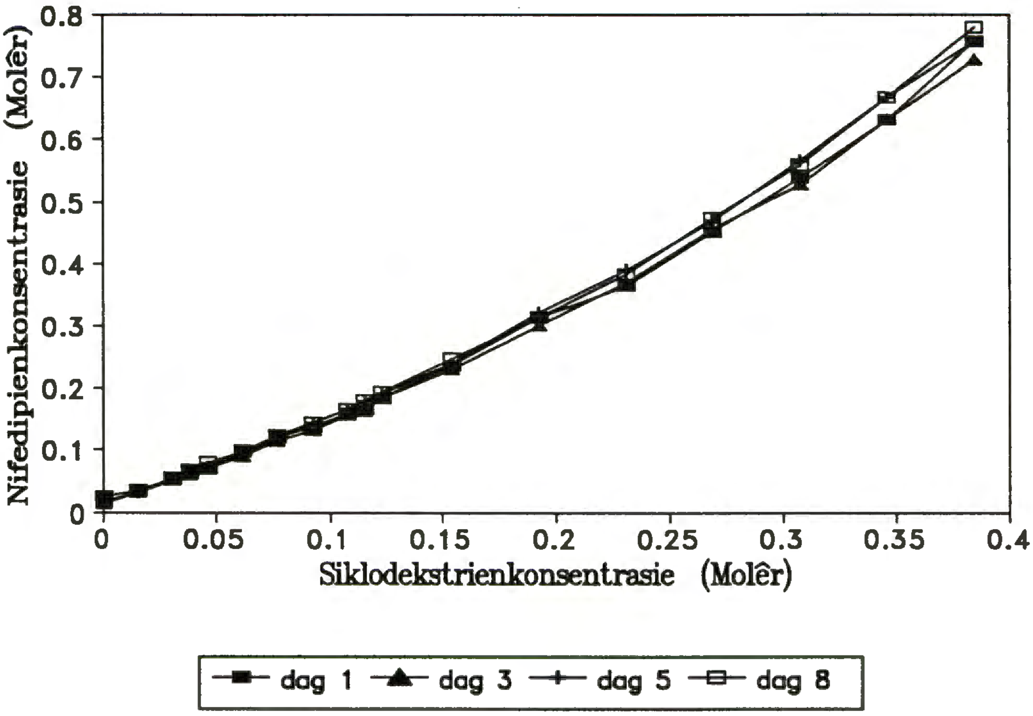
2-HP-β-SD konsentrasie (M)	Gemiddelde nifedipienkonsentrasie (M)	Gemiddelde nifedipienkonsentrasie (μg/ml)
0,0000	0,0176	6,11
0,0154	0,0333	11,53
0,0308	0,0532	18,44
0,0385	0,0629	21,79
0,0462	0,0730	25,26
0,0615	0,0945	32,73
0,0769	0,1184	41,01
0,0923	0,1384	47,93
0,1077	0,1614	55,88
0,1154	0,1723	59,50
0,1231	0,1877	65,00
0,1538	0,2377	82,31
0,1923	0,3123	108,16
0,2308	0,3770	130,07
0,2692	0,4632	160,41
0,3077	0,5479	189,73
0,3461	0,6492	224,82
0,3846	0,7548	261,37

2-HP-β-SD = 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien

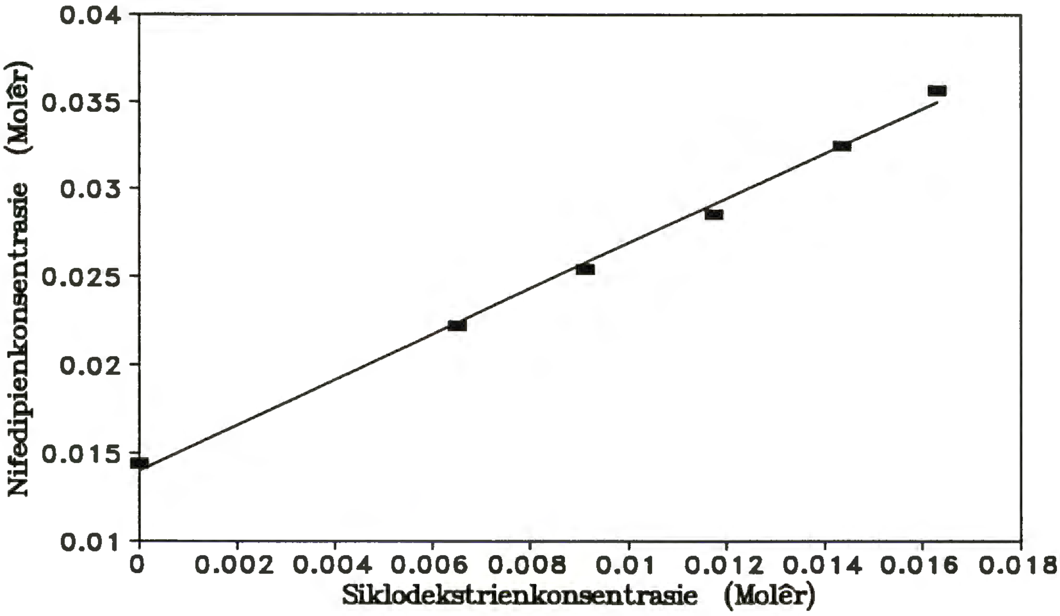
Tabel 3.6: Die konsentrasie nifedipien opgelos as funksie van beta-siklodekstrienkonsentrasie.

β-SD konsentrasie (M)	Gemiddelde nifedipienkonsentrasie (M)	Gemiddelde nifedipienkonsentrasie (μg/ml)
0,0000	0,0144	5,00
0,0065	0,0222	7,69
0,0091	0,0254	8,80
0,0117	0,0286	9,89
0,0143	0,0325	11,25
0,0163	0,0357	12,35

β-SD = beta-siklodekstrien



Figuur 3.3: Die fase-oplosbaarheidsdiagramme van nifedipien as funksie van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkonsentrasie en tyd.



Figuur 3.4: Die fase-oplosbaarheidsdiagram van nifedipien as funksie van beta-siklodekstrienkonsentrasie.

Uit tabel 3.5 en figuur 3.3 is dit duidelik dat 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien die oplosbaarheid van nifedipien dramaties van 6,106 tot 261,369 μg/ml (0,01763 M tot 0,75475 M) by 'n 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkonsentrasie van 0,3847 M verhoog het. Die fase-oplosbaarheidsdiagram van nifedipien met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien kan geklassifiseer word as 'n tipe A_P-diagram *(Higuchi & Connors, 1965:136)* (kyk 1.5.2). Dit blyk ook verder dat die oplosbaarheid van nifedipien by lae siklodekstrienkonsentrasies (0,0154 M tot 0,1231 M) lineêr verhoog. Die regressiepassing van die lyn deur hierdie punte het 'n korrelasiekoëffisiënt van 0,99804 gegee. By hoër siklodekstrienkonsentrasies (0,1538 M tot 0,3846 M) toon die fase-oplosbaarheidsdiagram egter 'n positiewe kromming. Daar kan dus aanvaar word dat 'n 1:1 kompleks by lae siklodekstrienkonsentrasies gevorm word en 'n hoër orde van kompleksering (1:2) (dit is een molekule nifedipien met twee molekules 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien) by hoër siklodekstrienkonsentrasies. Hierdie resultate stem ooreen met resultate wat *Jain et al. (1988)* in 'n ondersoek van kompleksering tussen nifedipien en hidrotrope (natriumbensoaat en natriumsalisilaat) verkry het. Hulle het gevind dat komplekse by lae natriumbensoaat- en natriumsalisilaatkonsentrasies in 'n 1:1 verhouding gevorm word, terwyl daar 'n hoër orde van kompleksering (1:2) by hoër konsentrasies van die hidrotrope voorkom.

Die stabiliteitskonstante (K_C) wat as 'n tentatiewe maatstaf vir insluitingskompleksering beskou word, is uit die aanvanklike lineêre verwantskap, 0,0000 M tot 0,1154 M 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien, van die fase-oplosbaarheidsdiagram met behulp van die volgende formule bereken *(Higuchi & Connors, 1965:146)*:

$$K_C = \frac{\text{helling}}{S_o(1\text{-helling})} \qquad 3.4$$

waar S_o die ewewigsoplosbaarheid van nifedipien in die afwesigheid van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien is. 'n Waarde van 297,02 l/mol is vir K_C bepaal.

Die verhoging in die wateroplosbaarheid van nifedipien, wanneer dit met beta-siklodekstrien gekomplekseer word, is nie so dramaties soos met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien nie, soos uitgebeeld in figuur 3.4 en tabel 3.6. Nifedipien se wateroplosbaarheid het van 5 tot 12,350 μg/ml (0,0144 M tot 0,0357 M) by 'n 0,0163 M beta-siklodekstrienkonsentrasie verhoog. Dit kan toegeskryf word aan die swakker wateroplosbaarheid van beta-siklodekstrien (1,85 g/100 ml) in vergelyking met dié van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien (50 g/100 ml). Die fase-oplosbaarheidsdiagram van nifedipien met beta-siklodekstrien (figuur 3.4) toon 'n lineêre verwantskap met 'n

korrelasiekoëffisiënt van 0,99618 en is dus 'n tipe A_L-diagram *(Higuchi & Connors, 1965:146)*. Die stabiliteitskonstante is ook vir hiérdie kompleks, oor die totale gebied van beta-siklodekstrienkonsentrasies uit die fase-oplosbaarheidsdiagram, bepaal. 'n Waarde van 310,55 l/mol is vir K_C bepaal. Die hoër waarde van K_C wat verkry is tydens kompleksering met beta-siklodekstrien dui op 'n sterker interaksie as met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien. 'n Moontlike rede hiervoor is dat die hidroksiepropielgroepe aan die 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienmolekule 'n steriese hindernis vir die nifedipienmolekule veroorsaak. Soortgelyke resultate is ook vir indometasien en piroksikam *(Backensfeld et al., 1991:85)* sowel as dekametasoon *(Dietzel et al., 1990:225)* verkry.

3.3.4 Gevolgtrekking

Die fase-oplosbaarheidstudie toon 'n dramatiese verbetering in die wateroplosbaarheid van nifedipien as funksie van die konsentrasie 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien. Die wateroplosbaarheid van nifedipien is van 6,106 tot 261,369 μg/ml (0,01763 M tot 0,75475 M) by 'n 0,3846 M 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkonsentrasie verhoog. Hierdie verhoging in die wateroplosbaarheid van nifedipien is sodanig dat dit wél moontlik is om 'n intraveneuse inspuiting met 'n dosis van 1 mg/5 ml te formuleer. Weens die swak wateroplosbaarheid van nifedipien was dit nie voorheen moontlik nie.

Die fase-oplosbaarheidsdiagram toon verder aan dat daar by lae 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkonsentrasies 'n 1:1 kompleks gevorm word, terwyl daar by hoër 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkonsentrasies 'n 1:2 kompleks gevorm word. Hierdie resultate mag op sigself al 'n aanduiding van 'n verbetering in die stabiliteit van nifedipien in oplossing wees, veral by hoër 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkonsentrasies waar beide die aromatiese en alifatiese ringe van die nifedipienmolekule moontlik in die holtes van twee siklodekstrienmolekules ingesluit kan word. Hierdie aspek moet egter verder ondersoek word. 'n Vergelyking met kompleksvorming met beta-siklodekstrien dui daarop dat 'n swakker kompleks met eersgenoemde gevorm word, maar dat die oplosbaarheid van nifedipien meer dramaties verhoog word.

3.4 *DIE INVLOED VAN 2-HIDROKSIEPROPIEL-BETA-SIKLODEKSTRIEN OP DIE STABILITEIT VAN NIFEDIPIEN IN OPLOSSING*

3.4.1 *Inleiding*

Die resultate van die oplosbaarheidstudie het aangetoon dat die oplosbaarheid van nifedipien dramaties deur 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien verhoog word. Hierdie resultate is 'n aanduiding dat 'n insluitingskompleks tussen nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien in oplossing gevorm word. Dit is reeds in hoofstuk 2 aangetoon dat nifedipien vinnige fotochemiese afbraak ondergaan. Blootstelling aan lig en die teenwoordigheid van oksideermiddels gee aanleiding tot die vorming van hoofsaaklik twee afbraakprodukte, naamlik dimetiel-4-(2-nitrosofeniel)2,6-dimetiel-piridien-3,5-dikarboksielsuur en dimetiel-4-(2-nitrofeniel)2,6-dimetiel,-piridien-3,5-dikarboksielsuur *(Ali, 1989:245)*. In die teenwoordigheid van sigbare en ultravioletlig word nifedipien in oplossing baie vinnig (± 5 tot 30 minute) na hoofsaaklik die nitrosoderivaat omgeskakel *(Ebel et al., 1978:2188)*.

Aangesien die afbraak van nifedipien hoofsaaklik in die nitro-groep van die aromatiese ring geleë is, kan insluiting van dié aromatiese ring moontlik die stabiliteit van nifedipien verhoog. Dit is egter nie bekend of die struktuur van nifedipien volkome of slegs gedeeltelik in die siklodekstrienholte pas nie.

In die verdere studie is daar ondersoek ingestel na die vermoë van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien om nifedipien te beskerm teen fotochemiese afbraak. As eerste fase van die ondersoek was dit nodig om 'n stabiliteitsaanduidende bepalingsmetode vir nifedipien te ontwikkel en te valideer.

3.4.2 *Ontwikkeling van 'n hoë-verrigting-vloeistof-vloeistof-chromatografiese metode (HPLC-metode)*

Die metode wat ontwikkel is, is op die metode van die *USP XXII (1990:945)* gebaseer. Benewens die feit dat hierdie metode waardevol is vir die identifikasie en kwantifisering van lae konsentrasies afbraakprodukte van nifedipien, kan dit ook gebruik word vir die kwantitatiewe bepaling van nifedipien in die teenwoordigheid van sy oksidatiewe afbraakprodukte.

Die apparaat wat gebruik is, het bestaan uit 'n Spectra-Physics model SP8810 isokratiese pomp, Spectra-Physics model SP8780 outomatiese monsternemer, Spectra-Physics model SP8490 UV-detektor en 'n Spectra-Physics model SP4290 integreerder

(Biolab, Anatech, Johannesburg). Alle analises is op 'n Nova Pak C_{18} kolom, 4 μm, 150 mm x 3,9 mm *(Millipore, Milford, MA)* uitgevoer.

Alle oplosmiddels en reagense was van analitiese graad en is van E. Merck *(E. Merck S.A. (Pty.) Ltd., Johannesburg)* verkry.

Tydens die ontwikkeling van die metode is die verhoudings van die komponente van die mobielefase van die *USP XXII (1990:945)*, naamlik 50% water, 25% metanol en 25% asetonitriel, effens gewysig ten einde die beste skeiding van die komponente te verkry. Die mobielefase wat hier gebruik is het uit 50% water *(Millipore, Milford, MA)*, 40% metanol *(Romil chemicals, Microsep, Johannesburg)* en 10% asetonitriel *(Biolab, Anatech, Johannesburg)* bestaan.

Geen interne standaard is in hierdie ondersoek gebruik nie, aangesien slegs nifedipien in hierdie ondersoek kwantitatief bepaal word, en nie die afbraakprodukte daarvan nie. Analises is by 'n golflengte van 235 nm *(USP XXII, 1990:946)* gedoen. Kwantifisering van die resultate is deur piekoppervlak-integrasie uitgevoer. 'n Standaardkromme is vir elke dag waarop análises gedoen is, opgestel. By alle analises is die nifedipien goed van die afbraakprodukte geskei, soos uit die resultate van die validering van die metode afgelei kon word.

3.4.3 Validering van die HPLC-metode

Die HPLC-metode wat in 3.4.2 beskryf is, is gevalideer vir herhaalbaarheid, akkuraatheid, lineariteit en sisteemgeskiktheid ten einde te verseker dat herhaalbare en akkurate lesings verkry is.

3.4.3.1 Standaardkrommes

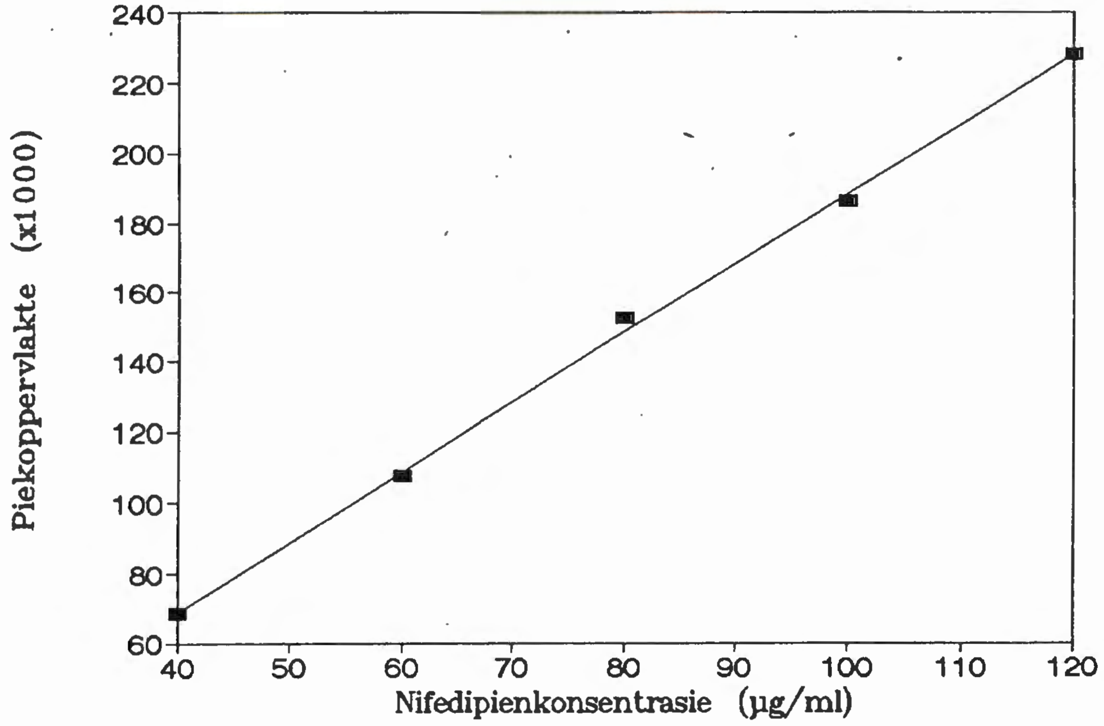
3.4.3.1.1 Metode

Vyf moederoplossings van nifedipien is in 'n mengsel (1:4) van metanol en water berei. 2, 3, 4, 5 en 6 mg nifedipiengrondstof is onderskeidelik daarvoor afgeweeg. Elke moederoplossing is opgemaak tot 50 ml met 'n mengsel (1:4) van metanol en water. Hierdie monsters is nie verder verdun nie. Die konsentrasies van die oplossings was onderskeidelik 40, 60, 80, 100 en 120 μg/ml nifedipien. 'n Standaardkromme is vir elke dag waarop bepalings gedoen is, opgestel voordat die monsters geanaliseer is.

Daar is telkens noukeurig daarop gelet om in die afwesigheid van lig (donker kamer) te werk wanneer nifedipienoplossings berei is vir die opstel van standaardkrommes, asook vir die bereiding van enige ander nifedipienoplossing wat vir analises gebruik is, totdat dit aan spesifieke ligtoestande blootgestel is, vir die ondersoek na die stabiliteit daarvan.

3.4.3.1.2 Resultate en gevolgtrekking

In figuur 3.5 word 'n tipiese standaardkromme vir nifedipien wat telkens op elke dag van 'n analise verkry is weergegee, en in tabel 3.7 word die korrelasiekoëffisiënte van die regressiekromme wat in elke ondersoek gepas is, volgens vergelyking 3.1 weergegee.



Figuur 3.5: 'n Tipiese standaardkromme vir nifedipien.

Tabel 3.7: Korrelasiekoëffisiënte van die standaardkrommes vir nifedipien wat in elke ondersoek verkry is.

Standaardkromme	Korrelasiekoëffisiënt (r^2)	Helling (m)	Afsnit (c)
1	0,9996	0,00053	1,9244
2	0,9981	0,00055	-1,8578
3	0,9989	0,00056	-0,3306
4	0,9933	0,00056	-2,3742
5	0,9987	0,00048	8,9630
6	0,9987	0,00050	5,3400
7	0,9947	0,00057	-4,5247
8	0,9952	0,00059	-3,9890
9	0,9964	0,00047	9,2523
10	0,9933	0,00056	-2,3742

Uit die resultate van die standaardkrommes is die lineariteit bepaal. Uit tabel 3.7 spreek dit duidelik dat die verband tussen piekrespons en nifedipienkonsentrasie lineêr is, aangesien die korrelasiekoëffisiënte van die standaardkrommes telkens groter as 0,990 is.

3.4.3.2 Herhaalbaarheid

3.4.3.2.1 Metode

Vir die bepaling van die herhaalbaarheid van die metode is vyf nifedipienoplossings met konsentrasies van 40 tot 120 μg/ml, soos onder 3.4.3.1.1 bespreek, berei. 'n Monsternemerflessie is vir elke nifedipienkonsentrasie gevul en in die outomatiese monsternemer geplaas. Ses bepalings is op elke flessie uitgevoer. Die gemiddelde piekoppervlakte, standaardafwyking en variasiekoëffisiënt is vir elke nifedipienkonsentrasie bereken. Die variasiekoëffisiënt is telkens volgens vergelyking 3.5 bereken:

$$\%\ VK = \frac{\text{Standaardafwyking}}{\text{Gemiddelde nifedipienpiekoppervlakte}} \times \frac{100}{1} \qquad 3.5$$

Bogenoemde is vir elke dag waarop monsters geanaliseer is, uitgevoer.

3.4.3.2.2 Resultate en bespreking

In tabel 3.8 word die tipiese resultate van die toets vir herhaalbaarheid, wat oor twee dae uitgevoer is, weergegee.

Tabel 3.8: Bepaling van die herhaalbaarheid van die HPLC-metode (n=6).

Nifedipien-konsentrasie	Dag 1			Dag 2		
	Gemiddelde piekoppervlak	SA	% VK	Gemiddelde piekoppervlak	SA	% VK
40	79250	955	1,21	74499	259	0,35
60	115029	936	0,81	114260	336	0,29
80	148655	846	0,57	148605	1023	0,69
100	184559	1033	0,56	182050	983	0,54
120	224095	2404	1,07	222740	2189	0,98

SA = standaardafwyking
VK = variasiekoëffisiënt

Uit die resultate van die toets vir herhaalbaarheid is dit duidelik dat die metode herhaalbaar was, aangesien die variasiekoëffisiënte kleiner as 2% is, wat as aanvaarbaar beskou is vir die doeleindes van die ondersoek.

3.4.3.3 Akkuraatheid

3.4.3.3.1 Metode

Monstervoorbereiding en verwerking van die resultate is gedoen soos onder 3.4.3.2.1 beskryf.

3.4.3.3.2 Resultate en bespreking

In tabel 3.9 word die resultate van die toets vir akkuraatheid weergegee.

Tabel 3.9: Bepaling van die akkuraatheid van die HPLC-metode.

Dag 1			Dag 2		
Nifedipienkonsentrasie (μg/ml)		Nifedipien-herwinning (%)	Nifedipienkonsentrasie (μg/ml)		Nifedipien-herwinning (%)
Teoreties	Prakties		Teoreties	Prakties	
40	40,46	101,16	40	39,46	98,65
60	60,37	100,61	60	61,26	102,10
80	79,08	101,17	80	80,10	100,12
100	99,05	99,05	100	98,44	98,44
120	121,04	100,87	120	120,75	100,62
Gemiddeld		100,572			99,986
Standaardafwyking		0,882			1,505
VK (%)		0,877			1,506

VK = variasiekoëffisiënt

Uit tabel 3.9 kan ook gesien word dat die variasiekoëffisiënte van die opeenvolgende dae telkens kleiner as 2% was, wat aanvaarbaar vir die doeleindes van die ondersoek is.

3.4.3.4 Sisteemgeskiktheid

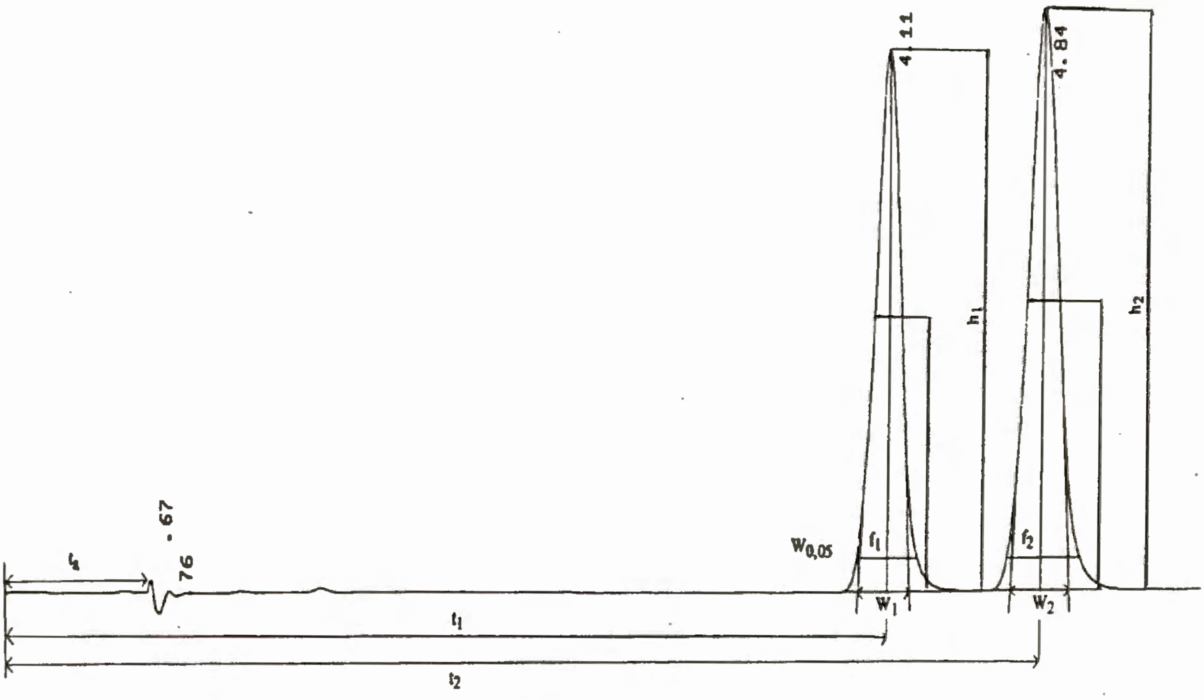
3.4.3.4.1 Metode

Die standaarde van die *USP XXII (1990:946)* is gebruik om die sisteemgeskiktheid te valideer. Die resolusie, stert- en frontvorming, relatiewe retensie en die aantal teoretiese plate is bepaal. 'n Nifedipienmonster (100 μg/ml) wat die nitrosofenielpiridienderivaat bevat het, is soos volg berei:

5 mg nifedipiengrondstof is afgeweeg en opgemaak tot 50 ml met 'n mengsel (1:4) van metanol en gesuiwerde water. Die oplossing is vir 60 minute onder lamplig geplaas, en daarna in die chromatografiese sisteem ingespuit. Chromatogramme van hierdie monster is getrek en die sisteemgeskiktheid is daaruit bepaal.

3.4.3.4.2 Resultate en gevolgtrekking

In figuur 3.6 word die chromatogram, wat gebruik is om die sisteemgeskiktheid te bepaal, weergegee.



Figuur 3.6: Die hoëdrukvloeistofchromatogram wat gebruik is om die sisteemgeskiktheid te bepaal.

Resolusie

Resolusie is 'n maatstaf van die skeidingseffektiwiteit tussen twee komponente in 'n mengsel. In hierdie geval is dit tussen nifedipien en die nitrosofenielpiridienderivaat. Die resolusie tussen nifedipien en die nitrosofenielpiridienderivaat is met behulp van vergelyking 3.6 bepaal:

$$R = \frac{2(t_2 - t_1)}{W_2 + W_1} \qquad 3.6$$

Die resolusie tussen die nifedipienpiek en nitrosofenielpiridienderivaatpiek was 2,8. Volgens die *USP XXII (1990:946)* moet die resolusie tussen twee pieke op 'n chromatogram ten minste 1,0 wees. Dit voldoen dus aan die vereiste van die USP.

Stert- en frontvorming

Nie-simmetriese pieke kan stertvorming of frontvorming vertoon. Wanneer stert- of frontvorming te groot word, word die kwantifisering van die pieke onakkuraat.

Vir simmetriese pieke is die stertvorming (T) = 1,0 en die waarde verhoog namate stertvorming toeneem *(USP XXII, 1990:1566)*. Stertvorming vir beide die nifedipien- en nitrosofenielpiridienderivaatpieke is met behulp van vergelyking 3.7 bereken:

$$T = \frac{W_{0,05}}{2f} \qquad 3.7$$

Vir beide die analitiese pieke was T = 1,1. Alhoewel effense stertvorming teenwoordig was, was dit egter nog steeds binne die normale grense wat deur *USP XXII (1990:946)* aangegee word.

Relatiewe retensie (α)

Geneesmiddels kan chromatografies geïdentifiseer word deur middel van hulle relatiewe retensies. Die relatiewe retensie vir beide die nifedipien- en nitrosofenielpiridienderivaatpieke is met behulp van vergelyking 3.8 bereken:

$$\alpha = \frac{t_2 - t_a}{t_1 - t_a} \qquad 3.8$$

Die relatiewe retensie van die nifedipienpiek is bereken as 1,21 en vir die nitrosofenielpiridienderivaatpiek as 0,82. Hierdie waardes stem ooreen met die spesifikasies van die *USP XXII (1990:946)*, naamlik ongeveer 1 vir die nifedipienpiek en ongeveer 0,85 vir die nitrosofenielpiridienderivaatpiek.

Aantal teoretiese plate (N)

Die aantal teoretiese plate is 'n term wat gebruik word om kolomeffektiwiteit te illustreer. Die aantal teoretiese plate van die kolom wat gebruik is, is soos volg bereken:

$$N = 16 \left\{ \frac{t}{W} \right\}^2 \qquad 3.9$$

Die aantal teoretiese plate is bereken as 47807,3 per meter, en voldoen aan die vereistes van die *USP XXII (1990:946)* van minstens 16000 teoretiese plate per meter.

Hierdie resultate toon duidelik aan dat die HPLC-metode wat gebruik is, betroubare resultate ten opsigte van die opstel van standaardkrommes, herhaalbaarheid, akkuraatheid, en sisteemgeskiktheid gelewer het.

3.4.4 Stabiliteitstudie

3.4.4.1 Metode

'n Ondersoek na die afbraak van 'n suiwer nifedipienoplossing is soos volg uitgevoer:

<u>Bereiding van die oplossings</u>

'n Nifedipienoplossing van 100 µg/ml is telkens in die afwesigheid van lig (in 'n donker kamer), soos onder 3.4.3.4.1 bespreek, berei en na vyf 10 ml deursigtige glasampulle oorgedra en verseël. Daarna is dit aan drie ligtoestande, naamlik *ultravioletlig*, *lamplig* en *daglig* (kyk tabel 3.10) blootgestel, waartydens die afbraak na bepaalde tydsintervalle, afhangende van die tempo van afbraak, met behulp van HPLC gevolg is. Duplikaatbepalings van elke monster is op twee agtereenvolgende dae uitgevoer.

Vir die bepaling van die afbraak van die insluitingskomplekse van nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien, is 'n moederoplossing wat 0,1923 M 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien bevat het, in gesuiwerde water berei. 25 g 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstriengrondstof is afgeweeg en opgemaak tot 100 ml met gesuiwerde water. 10 ml hiervan is na 10 Pyrex-flessies oorgedra, en 'n oormaat nifedipien (± 5 mg) is daarby gevoeg en in 'n roterende bottelapparaat teen 'n konstante tempo by 'n konstante temperatuur van 25 ± 1 °C, met die uitsluiting van lig (in 'n donkerkamer) vir 24 uur geroteer. Die monsters is deur 'n 0,22 µm membraanfilter gefiltreer om alle onopgeloste nifedipien te verwyder. Daarna is die monsters aan dieselfde toestande en prosedures as die suiwer nifedipienoplossings onderwerp.

<u>Ligblootstelling</u>

Monsters is tydens blootstelling aan ultravioletlig en lamplig in 'n lae-temperatuurinkubator *(Bie & Berntsen, Denmark)* op 'n afstand van 17 cm van die bepaalde ligbron af, wat binne-in die inkubator geïnstalleer is, geplaas. In tabel 3.10 word die spesifieke toestande verder aangetoon. Vir die bepaling van die monsters in daglig is dit aan direkte sonlig teen 'n venster in 'n oop vertrek blootgestel, die temperatuur is voortdurend met behulp van 'n termometer gekontroleer. Daar is noukeurig daarop gelet om monsters, in die tydsverloop tussen bestraling en analise op die HPLC-sisteem, teen lig te beskerm, deur die monsters in aluminium-foelie toe te draai. Monsters is deurgaans in duplikaat bepaal en elke ondersoek is ook in duplikaat op agtereenvolgende dae uitgevoer.

'n Stabiliteitsondersoek op 'n suiwer nifedipienoplossing en gekomplekseerde nifedipien is ook in amberglasampulle onder ultravioletlig en normale laboratoriumlig uitgevoer. Die voorbereiding van monsters, metodes en prosedures, soos reeds by die ondersoek in deursigtige glasampulle beskryf, is deurgaans gevolg.

Tabel 3.10: Spesifieke toestande waaraan monsters blootgestel is.

Ligtoestande	Ligbron	Afstand tussen monsters en ligbron	Temperatuur (°C)
Ultravioletlig	Philips UV 15W/ 450 mm T8	17 cm	20 ± 2°C
Lamplig	Tesla 60W 240V Clear B22 Ballotini fused	17 cm	20 ± 2°C
Daglig	Mei-maand 1994	-	20 ± 2°C
Laboratoriumlig	Philips fluoressent 66W/SS33 buislig	± 5 m	20 ± 2°C

Bepaling van die afbraak van nifedipien

Die orde van die kinetiese afbraak van nifedipien en die insluitingskompleks daarvan, is rekenaarmatig op die resultate, wat met hierdie stabiliteitsondersoeke verkry is, bepaal *(Irwin, 1990)*.

In alle gevalle was die orde van afbraak, eerste-orde, en is dit met behulp van vergelyking 3.10 bereken:

$$\mathrm{Ln}\ (At) = \mathrm{Ln}\ (A_0) - k.t \qquad 3.10$$

waar A_0 die aanvangskonsentrasie van nifedipien en At die verskil in konsentrasie by tyd (t) is.

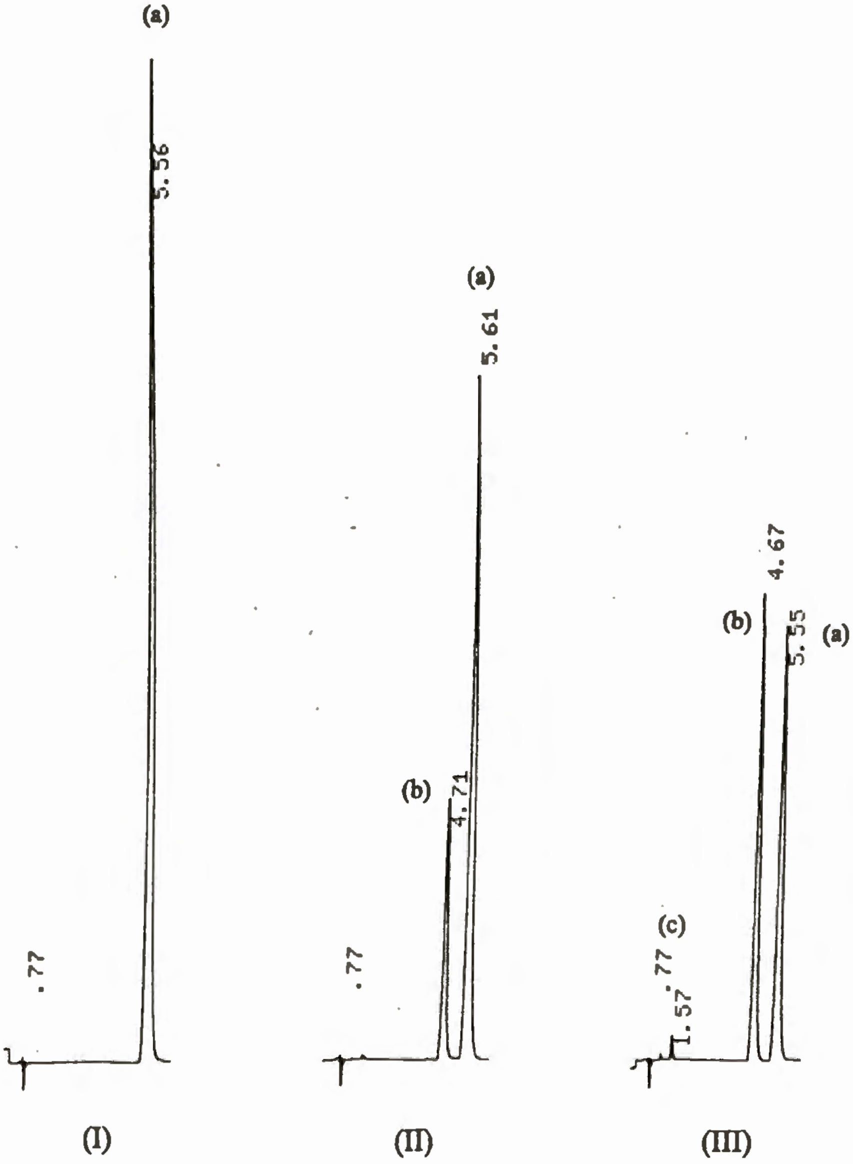
'n Variansie-analise is op die kinetikakonstantes (K) wat uit die kinetikapassings verkry is, uitgevoer. Die resultate is met behulp van *CSS: Statsoft (1986-1991)* verwerk en p-

waardes van ≤ 0,10 is as statisties betekenisvol beskou, terwyl p-waardes van ≥ 0,10 as nie-statisties betekenisvol, beskou is.

3.4.4.2 Resultate en bespreking

3.4.4.2.1 Stabiliteitstudie in deursigtige glasampulle

In figuur 3.7 word tipiese chromatogramme weergegee waaruit die afbraak van nifedipien met tyd duidelik blyk.



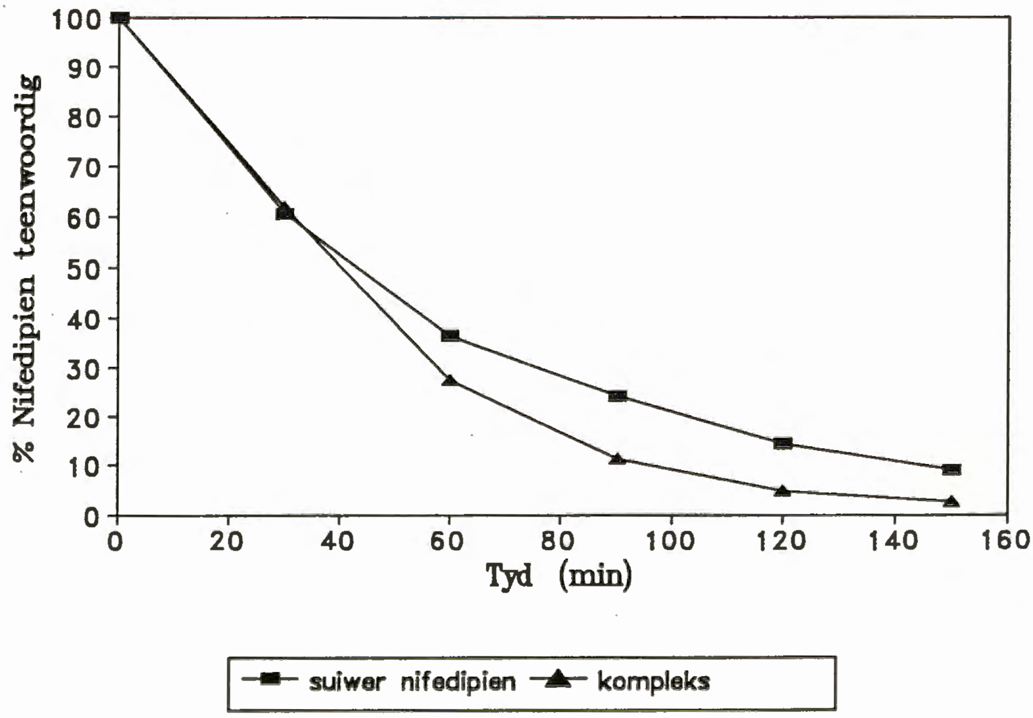
Figuur 3.7: Tipiese chromatogramme van die afbraak van nifedipien onder ultravioletlig met tyd. (I) 0 minute, (II) 30 minute en (III) 60 minute. (a) nifedipien, (b) nitrosofenielpiridienderivaat en (c) nitrofenielpiridienderivaat.

In tabelle 3.11 tot 3.13 en figure 3.8 tot 3.10 word die resultate van die gemiddelde afbraak van nifedipien in die afwesigheid en teenwoordigheid van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien, in deursigtige glasampulle, onderskeidelik onder *ultravioletlig*, *lamplig* en *daglig* weergegee.

Tabel 3.11: Die afbraak van nifedipien as funksie van tyd onder ultravioletlig.

Tyd (min)	Suiwer nifedipien			2-HP-β-SD-kompleks		
	% Nifedipien teenwoordig			% Nifedipien teenwoordig		
	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld
0	100	100	100	100	100	100
30	60,76	60,57	60,67	60,48	63,09	61,79
60	34,72	38,02	36,37	27,08	27,74	27,41
90	24,17	23,98	24,08	8,06	14,46	11,26
120	17,06	11,68	14,37	2,81	6,87	4,84
150	8,49	9,73	9,11	1,27	3,98	2,63

2-HP-β-SD = 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien

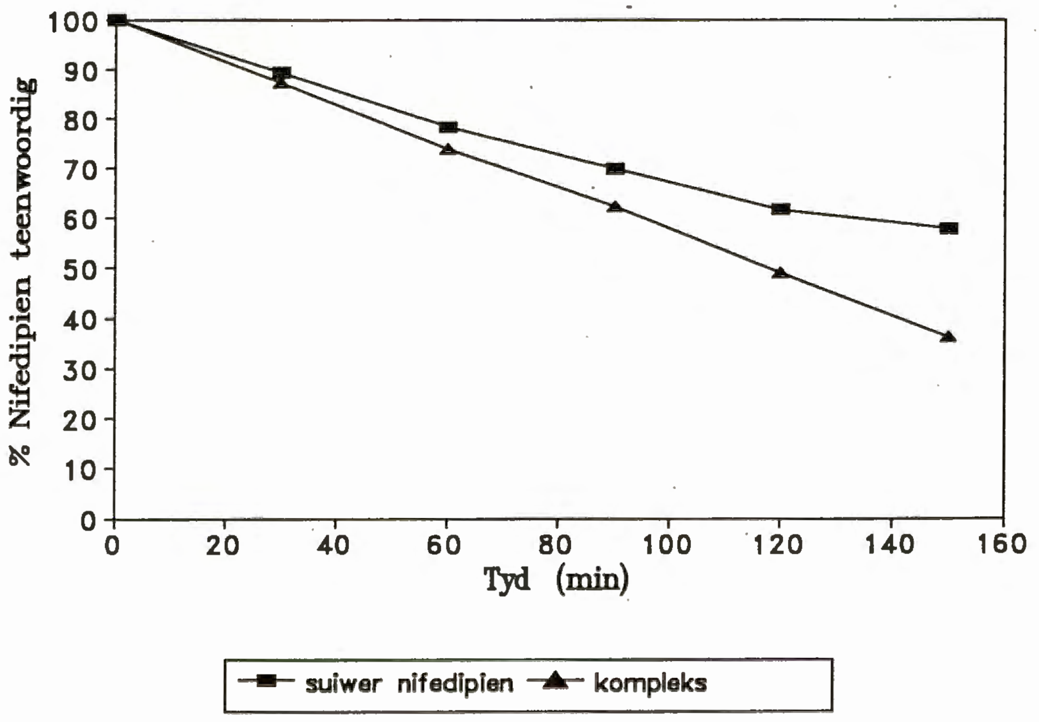


Figuur 3.8: Die gemiddelde afbraak van nifedipien onder ultravioletlig.

Tabel 3.12: Die afbraak van nifedipien as funksie van tyd onder lamplig.

Tyd (min)	Suiwer nifedipien			2-HP-β-SD-kompleks		
	% Nifedipien teenwoordig			% Nifedipien teenwoordig		
	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld
0	100	100	100	100	100	100
30	92,47	86,46	89,47	87,76	86,94	87,35
60	81,11	75,51	78,31	74,66	73,02	73,84
90	72,44	67,08	69,76	63,40	61,02	62,21
120	64,09	59,39	61,74	50,57	47,37	48,97
150	59,23	56,19	57,71	38,03	34,01	36,02

2-HP-β-SD = 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien

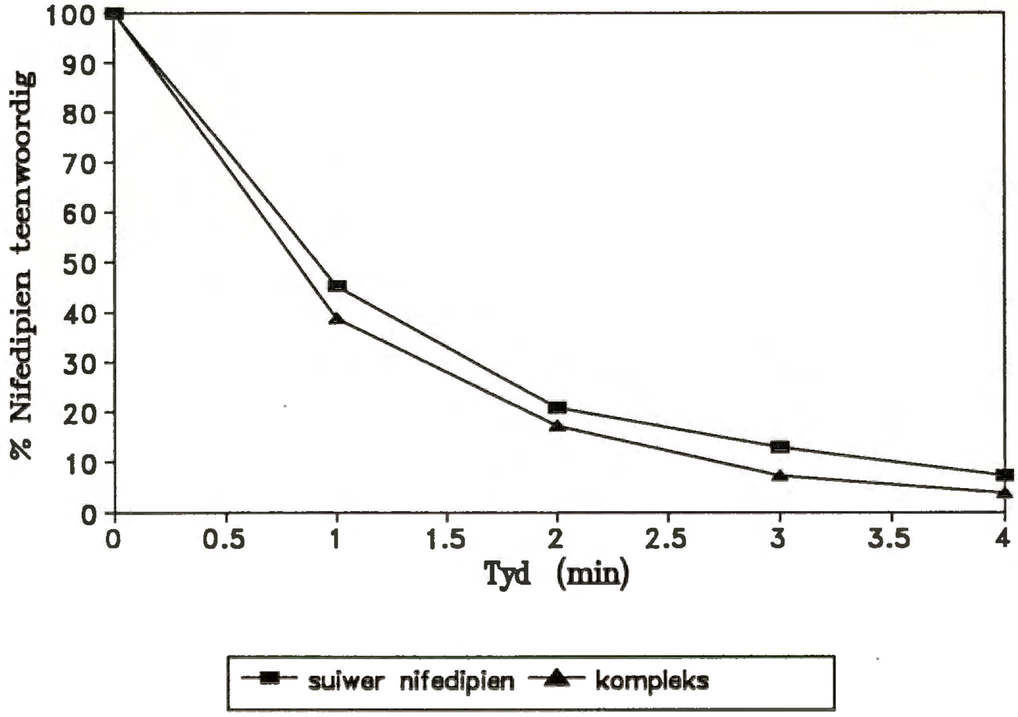


Figuur 3.9: Die gemiddelde afbraak van nifedipien onder lamplig.

Tabel 3.13: Die afbraak van nifedipien as funksie van tyd in daglig.

Tyd (min)	Suiwer nifedipien			2-HP-β-SD-kompleks		
	% Nifedipien teenwoordig			% Nifedipien teenwoordig		
	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld
0	100	100	100	100	100	100
1	47,93	43,04	45,49	54,14	21,38	37,76
2	28,06	14,28	21,17	26,70	6,44	16,57
3	19,34	6,95	13,15	10,63	3,40	7,02
4	12,56	2,19	7,38	5,81	1,28	3,55

2-HP-β-SD = 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien



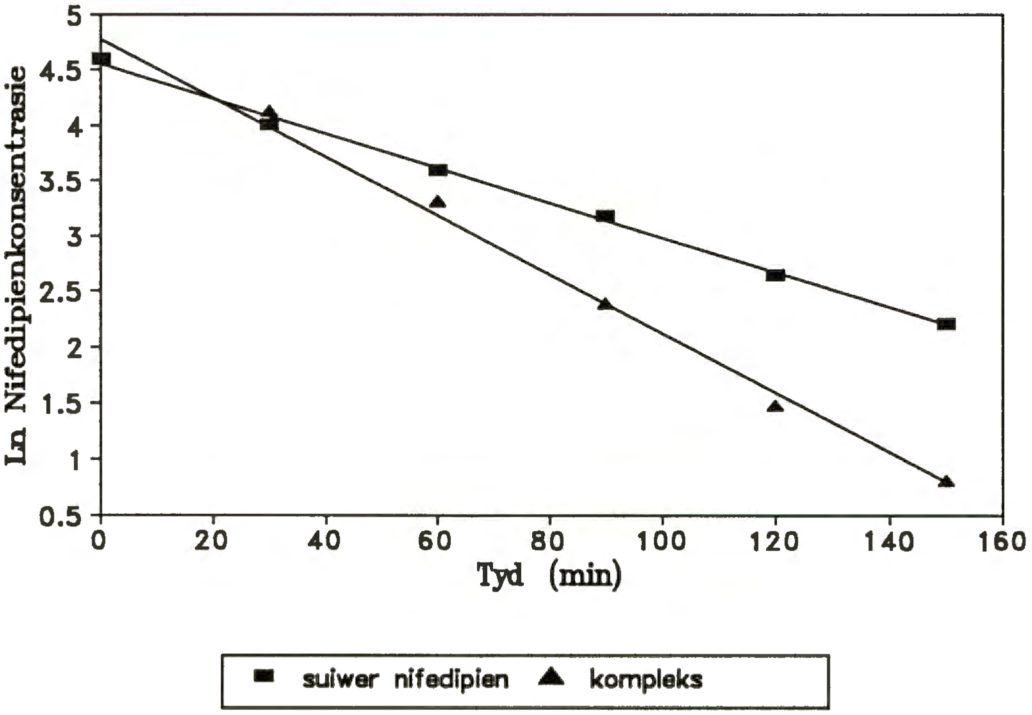
Figuur 3.10: Die gemiddelde afbraak van nifedipien in daglig.

In tabelle 3.14 tot 3.16 en figure 3.11 tot 3.13 word die resultate van die bepaling vir die orde van die afbraakkinetika weergegee.

Tabel 3.14: Die resultate van die eerste-orde afbraakkinetika van nifedipien onder ultravioletlig.

Tyd (min)	Suiwer nifedipien			2-HP-β-SD-kompleks		
	Ln Nifedipienkonsentrasie			Ln Nifedipienkonsentrasie		
	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld
0	4,6052	4,6052	4,6052	4,6052	4,6052	4,6052
30	3,9132	4,1038	4,0085	4,1023	4,1446	4,1234
60	3,5473	3,6381	3,5927	3,2988	3,3229	3,3108
90	3,1851	3,1772	3,1812	2,0869	2,6714	2,3792
120	2,8367	2,4579	2,6473	1,0332	1,9272	1,4802
150	2,1389	2,2752	2,2071	0,2390	1,3813	0,8101
(K)	0,01517	0,01624	0,01570	0,03071	0,02231	0,02651

2-HP-β-SD = 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien
(K) = kinetikakonstante (konsentrasie/minuut)

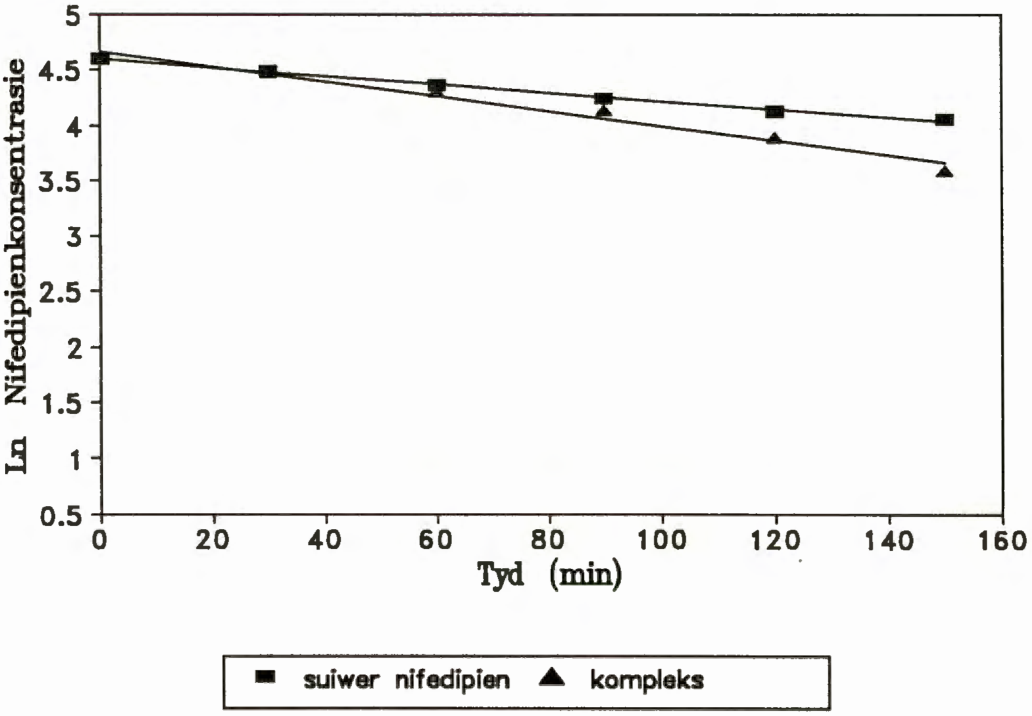


Figuur 3.11: Die eerste-orde kinetikapassing van nifedipien onder ultravioletlig.

Tabel 3.15: Die resultate van die eerste-orde afbraakkinetika van nifedipien onder lamplig.

Tyd (min)	Suiwer nifedipien			2-HP-β-SD-kompleks		
	Ln Nifedipienkonsentrasie			Ln Nifedipienkonsentrasie		
	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld
0	4,6052	4,6052	4,6052	4,6052	4,6052	4,6052
30	4,5269	4,4597	4,4933	4,4744	4,4652	4,4698
60	4,3958	4,3243	4,3600	4,3129	4,2907	4,3018
90	4,2828	4,2059	4,2443	4,1495	4,1112	4,1303
120	4,1603	4,0841	4,1222	3,9233	3,8580	3,8907
150	4,0814	4,0287	4,0551	3,6384	3,5267	3,5825
(K)	0,00365	0,00393	0,00379	0,00633	0,00704	0,00669

2-HP-β-SD = 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien
(K) = kinetikakonstante (konsentrasie/minuut)

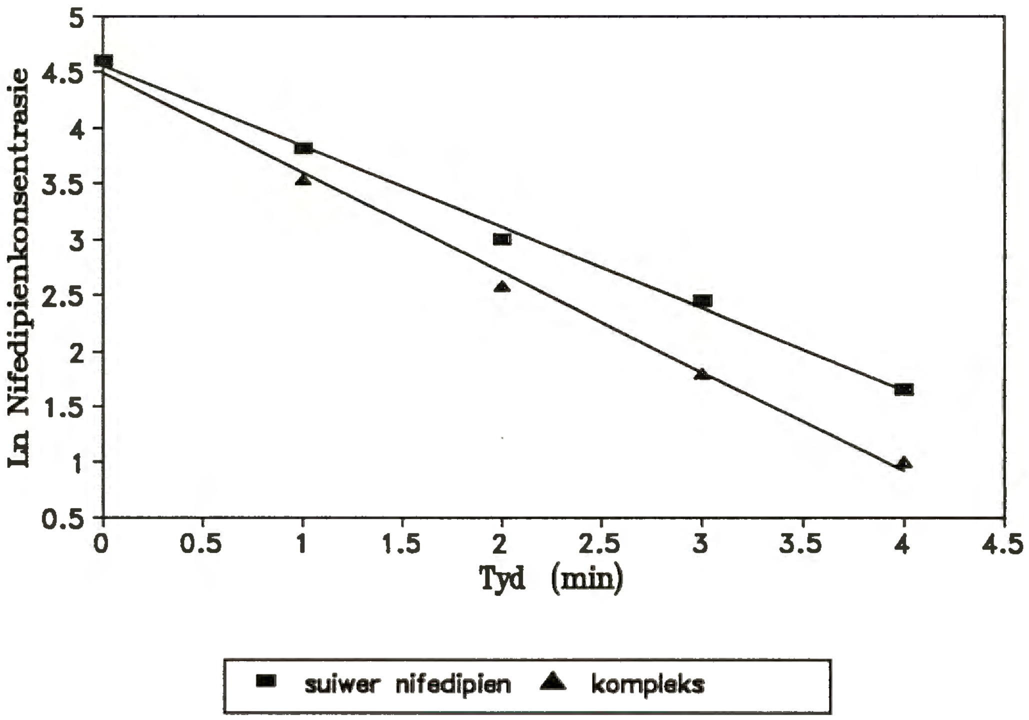


Figuur 3.12: Die eerste-orde kinetikapassing van nifedipien onder lamplig.

Tabel 3.16: Die resultate van die eerste-orde afbraakkinetika van nifedipien in daglig.

Tyd (min)	Suiwer nifedipien			2-HP-β-SD-kompleks		
	Ln Nifedipienkonsentrasie			Ln Nifedipienkonsentrasie		
	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld
0	4,6052	4,6052	4,6052	4,6052	4,6052	4,6052
30	3,8697	3,7621	3,8159	3,0625	3,9916	3,5270
60	3,3343	2,6589	2,9966	1,8625	3,2847	2,5736
90	2,9622	1,9387	2,4505	1,2238	2,3637	1,7937
120	2,5305	0,7839	1,6572	0,2469	1,7596	1,0032
(K)	0,50569	0,94659	0,72614	0,73191	1,05553	0,89372

2-HP-β-SD = 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien
(K) = kinetikakonstante (konsentrasie/minuut)



Figuur 3.13: Die eerste-orde kinetikapassing van nifedipien in daglig.

Uit bogenoemde resultate blyk dit dat nifedipien nie deur 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien teen oksidatiewe fotolise gestabiliseer word nie. Alhoewel dit wil voorkom asof die kompleks onder alle ligtoestande vinniger fotochemiese afbraak as die suiwer nifedipienoplossings ondergaan, dui statistiese verwerkings (variansie-analise) *(CSS: Statsoft, 1986-1991)* van die resultate op die kinetikakonstantes daarop dat geen statisties betekenisvolle verskil tussen die suiwer nifedipien en die kompleks onder enige spesifieke ligtoestand bestaan nie ($p = 0{,}213448$). Daar is egter 'n statisties betekenisvolle verskil tussen die onderskeie ligbronne ($p = 0{,}054832$). Die tempo van afbraak van nifedipien en gekomplekseerde nifedipien, onder die verskillende ligtoestande neem in die volgende orde af: *daglig* > *ultravioletlig* > *lamplig*.

Beide nifedipien en gekomplekseerde nifedipien vertoon eerste-orde afbraakkinetika. Uit bogenoemde resultate kan geen verskille in die tempo van fotochemiese afbraak of orde van afbraakkinetika tussen nifedipien en gekomplekseerde nifedipien aangetoon word in deursigtige ampulle vir enige ligbron nie.

3.4.4.2.2 Stabiliteitstudie by hoër konsentrasies siklodekstrien

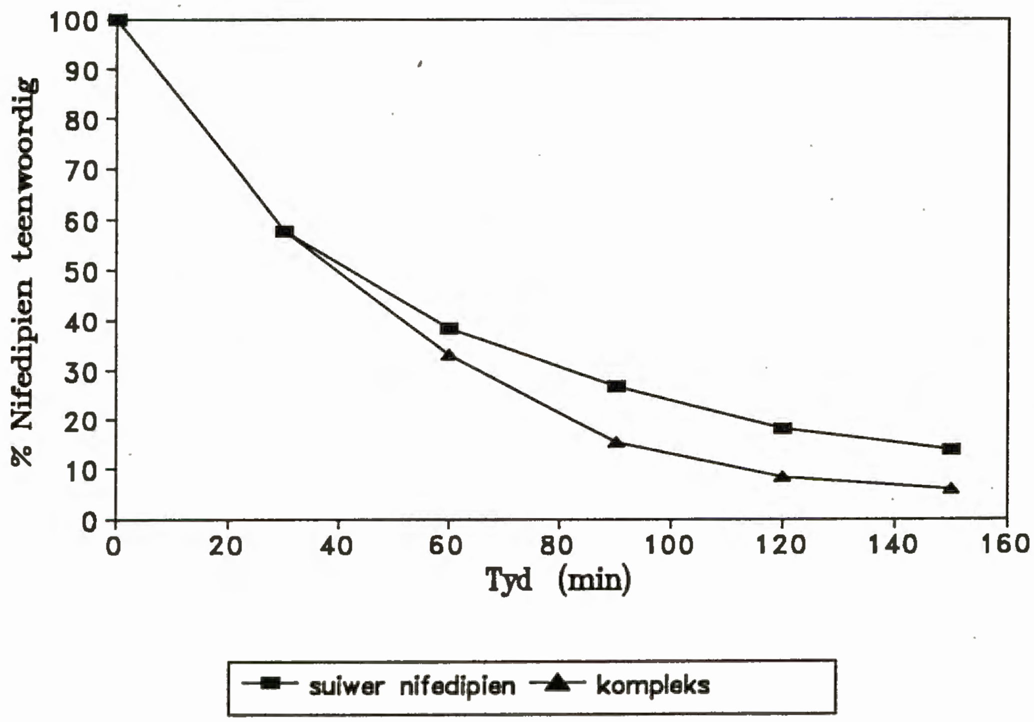
Aangesien bogenoemde resultate verkry is by 'n lae konsentrasie 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien (0,1923 M), en dit uit die oplosbaarheidstudie geblyk het dat daar by hoër 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkonsentrasies 'n hoër orde van kompleksering (1:2) plaasvind, is daar besluit om die stabiliteit van nifedipien by 'n hoër konsentrasie 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien (0,3461 M) uit te voer. 50 g 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstriengrondstof is afgeweeg en opgemaak tot 100 ml met gesuiwerde water. Daarna is dieselfde metode, soos onder 3.4.4.1 bespreek, gevolg.

Die stabiliteitsondersoek is egter hierdie keer slegs onder ultravioletlig uitgevoer. In tabelle 3.17 en 3.18 en figure 3.14 en 3.15 word die resultate hiervan weergegee.

Tabel 3.17: Die afbraak van nifedipien as funksie van tyd onder ultravioletlig, by 'n hoër konsentrasie 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien.

Tyd (min)	Suiwer nifedipien			2-HP-β-SD-kompleks		
	% Nifedipien teenwoordig			% Nifedipien teenwoordig		
	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld
0	100	100	100	100	100	100
30	56,68	58,84	57,76	58,65	57,04	57,79
60	38,33	38,32	38,33	32,55	33,45	33,03
90	26,37	27,22	26,80	14,60	15,86	15,23
120	17,05	19,49	18,27	6,39	10,40	8,40
150	12,02	15,87	13,96	4,48	7,19	5,84

2-HP-β-SD = 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien

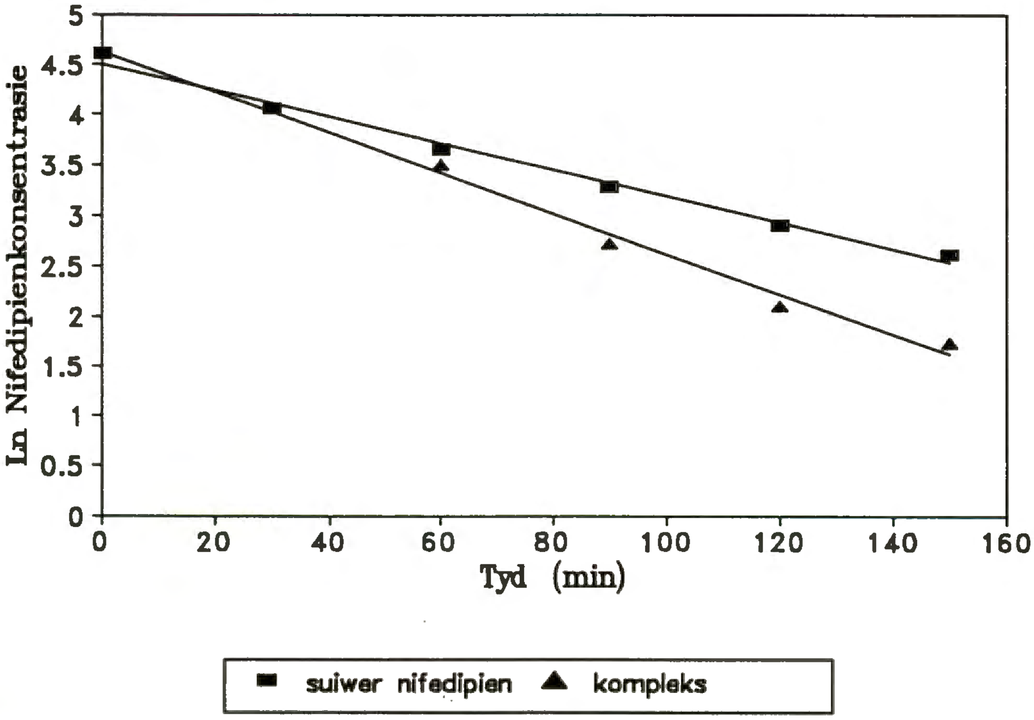


Figuur 3.14: Die afbraak van nifedipien onder ultravioletlig, by 'n hoër konsentrasie 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien.

Tabel 3.18: Die resultate van die eerste-orde afbraakkinetika van nifedipien onder ultravioletlig, by 'n hoër konsentrasie 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien.

Tyd (min)	Suiwer nifedipien			2-HP-β-SD-kompleks		
	Ln Nifedipienkonsentrasie			Ln Nifedipienkonsentrasie		
	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld
0	4,6052	4,6052	4,6052	4,6052	4,6052	4,6052
30	4,0374	4,0748	4,0561	4,0716	4,0438	4,0577
60	3,6462	3,6460	3,6461	3,4828	3,5101	3,4964
90	3,2722	3,3040	3,2881	2,6810	2,7638	2,7224
120	2,8362	2,9699	2,9030	1,8547	2,3418	2,0983
150	2,4866	2,7644	2,6255	1,4996	1,9727	1,7362
(K)	0,01388	0,01225	0,01306	0,02189	0,01811	0,01910

2-HP-β-SD = 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien
(K) = kinetikakonstante (konsentrasie/minuut)



Figuur 3.15: Die eerste-orde kinetikapassing van nifedipien onder ultravioletlig.

Variansie-analise op die kinetikakonstantes wat uit die resultate van die kinetikapassing verkry is, toon geen statisties betekenisvolle verskil in die tempo van afbraak van nifedipien onder ultravioletlig, indien nifedipien met 'n hoër konsentrasie 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien gekomplekseer word nie (p = 0,55188). Daar bestaan ook geen statisties betekenisvolle verskil in die tempo van afbraak tussen die suiwer nifedipien en gekomplekseerde nifedipien onder ultravioletlig nie (p = 0,201577).

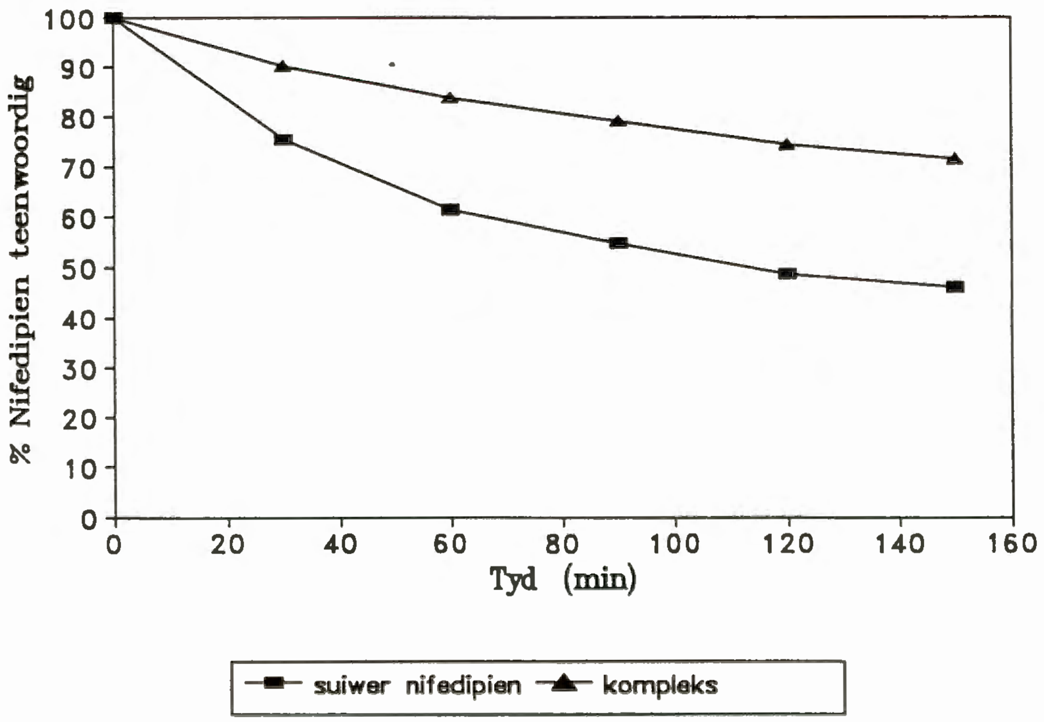
3.4.4.2.3 Stabiliteitstudie in amberglasampulle

In tabelle 3.19 en 3.20 en figure 3.16 en 3.17 word die resultate van die gemiddelde afbraak van nifedipien in die afwesigheid en teenwoordigheid van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien in amberglasampulle onderskeidelik onder *ultravioletlig* en *normale laboratoriumlig* weergegee. Die stabiliteitstudie in amberglasampulle is weereens by 'n konsentrasie van 0,1923 M 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien uitgevoer.

Tabel 3.19: Die afbraak van nifedipien onder ultravioletlig.

Tyd (min)	Suiwer nifedipien			2-HP-β-SD-kompleks		
	% Nifedipien teenwoordig			% Nifedipien teenwoordig		
	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld
0	100	100	100	100	100	100
30	76,61	74,27	75,44	90,14	90,10	90,12
60	63,10	59,61	61,36	84,95	82,74	83,85
90	56,81	52,84	54,83	79,55	78,60	79,08
120	50,51	46,95	48,73	75,45	73,47	74,46
150	47,03	45,08	46,06	71,78	71,54	71,66

2-HP-β-SD = 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien

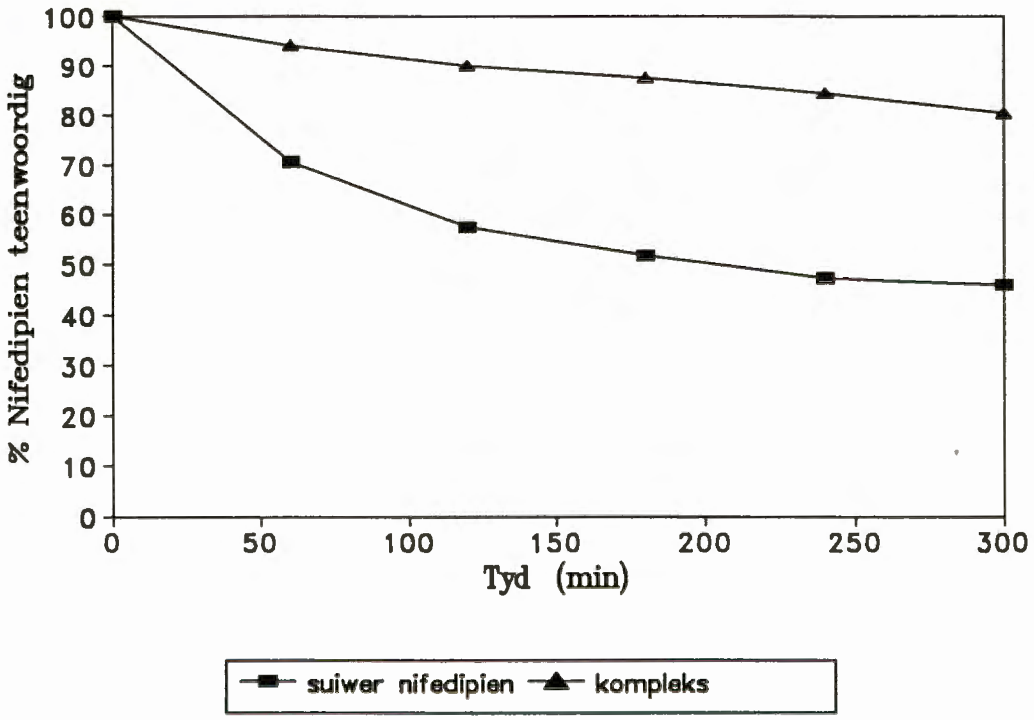


Figuur 3.16: Die afbraak van nifedipien onder ultravioletlig.

Tabel 3.20: Die afbraak van nifedipien onder normale laboratoriumlig.

Tyd (min)	Suiwer nifedipien			2-HP-β-SD-kompleks		
	% Nifedipien teenwoordig			% Nifedipien teenwoordig		
	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld
0	100	100	100	100	100	100
60	69,82	71,21	70,52	95,19	92,73	93,96
120	58,84	56,32	57,58	91,30	88,64	89,97
180	52,57	51,06	51,82	88,22	86,57	87,40
240	47,76	47,08	47,42	85,32	83,54	84,43
300	46,08	45,78	45,93	81,04	79,59	80,32

2-HP-β-SD = 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien



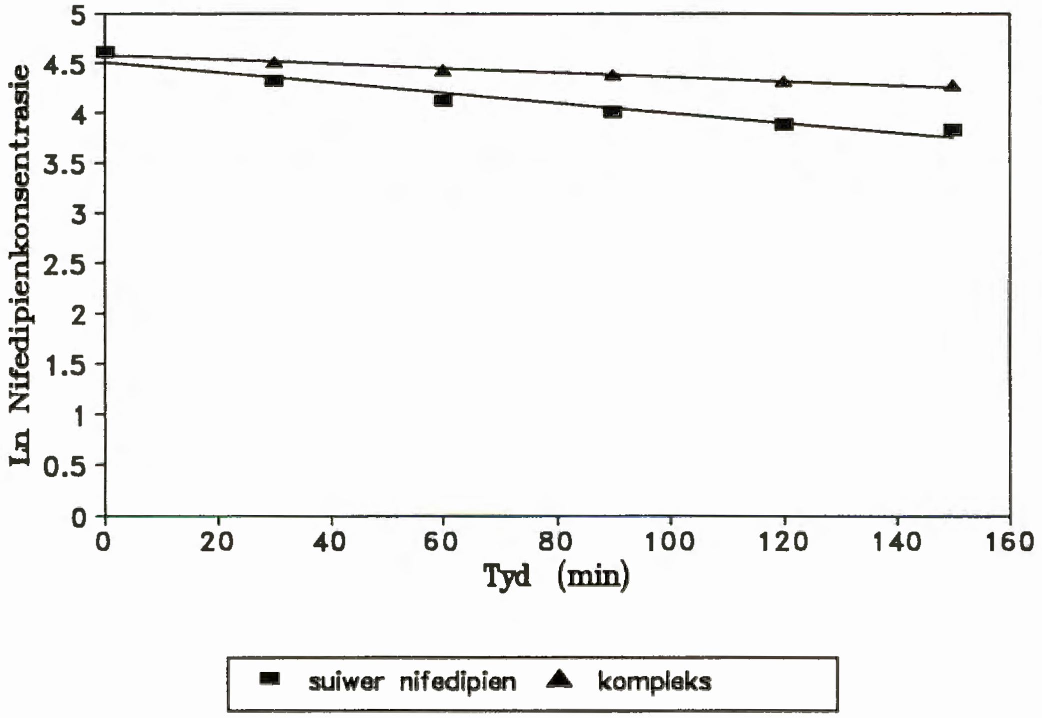
Figuur 3.17: Die afbraak van nifedipien onder normale laboratoriumlig.

In tabelle 3.21 en 3.22 en figure 3.18 en 3.19 word die resultate van die bepaling vir die orde van die afbraakkinetika weergegee.

Tabel 3.21: Die resultate van die eerste-orde afbraakkinetika van nifedipien onder ultravioletlig.

Tyd (min)	Suiwer nifedipien			2-HP-β-SD-kompleks		
	Ln Nifedipienkonsentrasie			Ln Nifedipienkonsentrasie		
	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld
0	4,6052	4,6052	4,6052	4,6052	4,6052	4,6052
30	4,3387	4,3077	4,3232	4,5014	4,5009	4,5011
60	4,1447	4,0878	4,1163	4,4421	4,4157	4,4289
90	4,0397	3,9673	4,0035	4,3764	4,3644	4,3704
120	3,9222	3,8491	3,8856	4,3235	4,2969	4,3102
150	3,8508	3,8084	3,8296	4,2736	4,2703	4,2719
(K)	0,00488	0,00522	0,00505	0,00215	0,00223	0,00219

2-HP-β-SD = 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien
(K) = kinetikakonstante (konsentrasie/minuut)

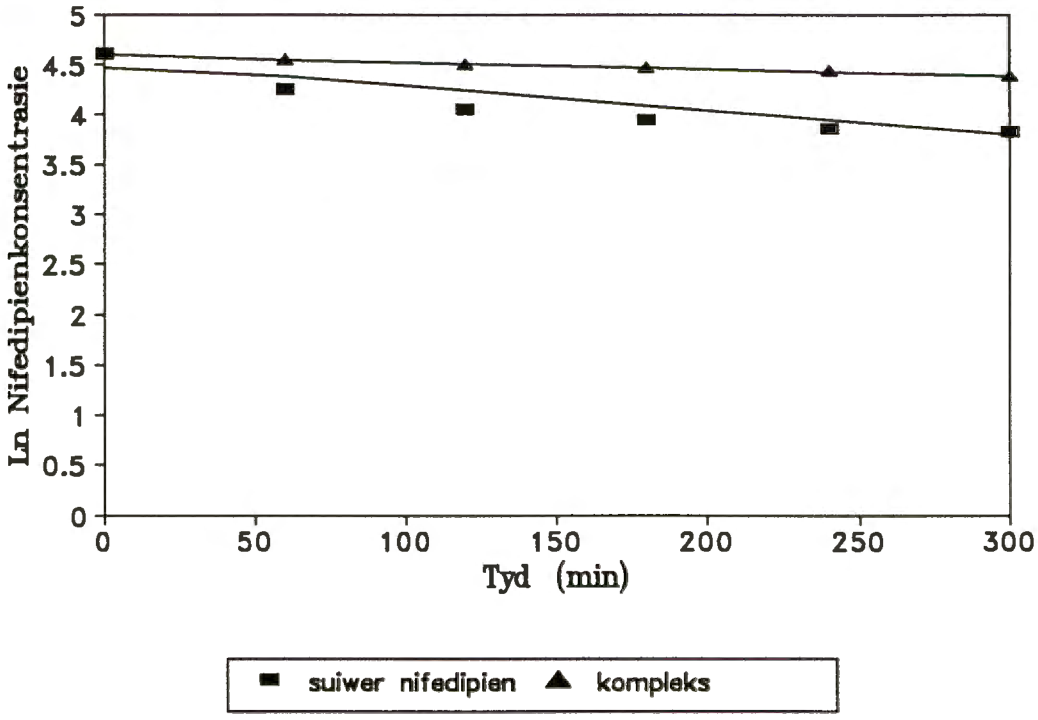


Figuur 3.18: Die eerste-orde kinetikapassing van nifedipien onder ultravioletlig.

Tabel 3.22: Die resultate van die eerste-orde afbraakkinetika van nifedipien onder normale laboratoriumlig.

Tyd (min)	Suiwer nifedipien			2-HP-β-SD-kompleks		
	Ln Nifedipienkonsentrasie			Ln Nifedipienkonsentrasie		
	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld	Dag 1	Dag 2	Gemiddeld
0	4,6052	4,6052	4,6052	4,6052	4,6052	4,6052
60	4,2459	4,2656	4,2558	4,5559	4,5296	4,5428
120	4,0748	4,0311	4,0529	4,5142	4,4846	4,4994
180	3,9621	3,9330	3,9476	4,4798	4,4610	4,4704
240	3,8662	3,8518	3,8590	4,4464	4,4253	4,4359
300	3,8304	3,8238	3,8271	4,3949	4,3769	4,3859
(K)	0,00244	0,00250	0,00247	0,00067	0,00070	0,00069

2-HP-β-SD = 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien
(K) = kinetikakonstante (konsentrasie/minuut)



Figuur 3.19: Die eerste-orde kinetikapassing van nifedipien onder normale laboratoriumlig.

Uit figure 3.16 en 3.17 blyk dit duidelik dat nifedipien in 'n mate teen fotochemiese afbraak deur 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien beskerm word, wanneer dit in amberglashouers bewaar word. Statistiese verwerking (variansie-analise) van die resultate op die kinetikakonstantes dui op 'n statisties betekenisvolle verskil in die tempo van afbraak tussen die suiwer nifedipien en die gekomplekseerde nifedipien onder die spesifieke ligtoestande ($p = 0{,}00200$).

Daar is ook 'n statisties betekenisvolle verskil in die tempo van afbraak van nifedipien onder die verskillende ligtoestande naamlik ultravioletlig en laboratoriumlig ($p = 0{,}02557$). Die afbraak van nifedipien onder laboratoriumlig vind stadiger as die afbraak daarvan onder ultravioletlig, in amberglasampulle, plaas. Indien die tipe glasampulle (deursigtige en amberglas) as hoofeffek onder ultravioletlig beskou word, word 'n p-waarde van 0,07024 verkry, en dui op 'n statisties betekenisvolle verskil. Die afbraak van nifedipien in deursigtige glasampulle vind vinniger as die afbraak daarvan in amberglasampulle plaas.

Hierdie resultate is tiperend van die onstabiliteit van nifedipien en beklemtoon die sterk en vinnige fotochemiese afbraak daarvan. Kompleksvorming met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien op sigself blyk nie voldoende te wees om enigsins 'n stabiliserende effek op nifedipien uit te oefen nie. Die kombinasie van kompleksvorming en die uitsluiting van lig (amberglas) bied egter 'n mate van beskerming teen fotochemiese afbraak.

3.4.5 Gevolgtrekking

Uit die resultate van die stabiliteitstudie is dit duidelik dat nifedipien nie meer stabiel is tydens kompleksering met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien wanneer dit in deursigtige glasampulle bewaar word nie. Dit word wel in 'n mate teen fotochemiese afbraak in amberglasampulle beskerm. Die tempo van afbraak in amberglasampulle vind ook stadiger plaas as in deursigtige glasampulle. Stabilisering vind dus tog tot so 'n mate plaas dat verhoging in stabiliteit wel by minder drastiese bewaringstoestande teenwoordig is. Eerste-orde afbraakkinetika is deurgaans op beide nifedipien en gekomplekseerde nifedipien van toepassing. Die tempo van afbraak van nifedipien en gekomplekseerde nifedipien onder verskillende ligtoestande neem in die volgende orde af: *daglig > ultravioletlig > lamplig*.

Die ondersoek het verder aangetoon dat die konsentrasie van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien geen invloed uitoefen op die afbraak van nifedipien nie, deurdat dieselfde tempo van afbraak by beide 'n lae en hoë konsentrasie 2-hidroksiepropiel-

beta-siklodekstrien verkry is. Alhoewel daar geen voor die hand liggende redes aangevoer kan word vir hierdie resultate wat verkry is met die stabiliteitsondersoeke nie, mag dit moontlik verband hou met die spesifieke passing van die nifedipienmolekule binne-in die siklodekstrienholte en moet daar op molekulêre-vlak redes hiervoor gesoek word. Dit mag moontlik wees dat 'n siklodekstrien soos alfa-siklodekstrien, wat 'n kleiner holte besit, meer geskik sal wees vir sterker interaksies en beter passing. Alfa-siklodekstrien is egter nie geskik vir parenterale toediening nie, en is daarom nie verder ondersoek nie.

Alhoewel die resultate van die stabiliteitsondersoek daarop dui dat nifedipien, in oplossing, nie gestabiliseer word deur kompleksvorming met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien in deursigtige glasampulle nie, en die mate van stabilisering wat wél verkry word deur kompleksvorming in amberglasampulle nie genoegsaam is om 'n inspuitbare doseervorm te formuleer nie, beteken dit egter nie dat 'n intraveneuse doseervorm nie geformuleer kan word nie. Die afbraak van nifedipien in die vastestoftoestand is oppervlak-afhanklik *(Ali, 1989:247)* en vind dus baie stadig plaas. 'n Logiese opvolg van hierdie studie sal wees om die afbraak van gekompklekseerde nifedipien in die vastestoftoestand te ondersoek. Dit mag dus moontlik wees om 'n gevriesdroogde produk in geskikte houers te stoor en net voor toediening daarvan in water vir inspuiting op te los. Die stabiliteit van gekompklekseerde nifedipien in amberglasampulle is voldoende om heroplossing voor gebruik daarvan moontlik te maak. Hierdie aspek is egter nie verder ondersoek binne die bakens van hierdie studie nie.

3.5 *SAMEVATTING*

'n Ondersoek na die effek van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien op die oplosbaarheid van nifedipien is volgens die metode van *Higuchi & Connors (1965)* met 'n gevalideerde spektrofotometriese analitiese metode uitgevoer. Nifedipien se wateroplosbaarheid is dramaties verhoog, naamlik van 6,106 tot 261,369 µg/ml (0,01763 M tot 0,75475 M) by 'n 0,3846 M 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkonsentrasie. Op grond van hierdie resultate is dit wél moontlik om 'n waterige inspuiting met 'n dosis van 1 mg/5 ml te formuleer indien dit teen fotochemiese afbraak gestabiliseer kan word.

Stabiliteitsondersoeke na die effek van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien op die stabiliteit van nifedipien, in oplossing, is met 'n gevalideerde HPLC-metode in deursigtige en amberglasampulle, onder verskillende ligtoestande, uitgevoer. 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien het nie die stabiliteit van nifedipien in deursigtige

glasampulle verbeter nie. Daar is wél gevind dat 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien die stabiliteit van nifedipien in 'n mate in amberglasampulle verbeter.

Hierdie resultate dui egter nie daarop dat 'n intraveneuse doseervorm nie geformuleer kan word nie, aangesien 'n produk in die vastetoestand geberg kan word, en net voor bereiding in water vir inspuiting opgelos kan word. Die volgende voorstelle kan, op grond van hierdie resultate, as 'n logiese opvolg vir hierdie studie gemaak word:

1. Die bestudering van die afbraak van 'n nifedipien-2-hidroksiepropiel-beta-siklodesktrienkompleks in die vastetoestand en

2. die opklaring van die molekulêre struktuur van die kompleks tussen nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien.

HOOFSTUK VIER

DIE FARMASEUTIESE TIPERING VAN 'N NIFEDIPIEN-2-HIDROKSIEPROPIEL-BETA-SIKLODEKSTRIENKOMPLEKS

4.1 INLEIDING

Vir die bestudering en tipering van geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse word daar van 'n verskeidenheid analitiese metodes gebruik gemaak. Chromatografiese metodes, X-straalpoeierdiffraksie en differensiële skanderingskalorimetrie (DSC) is van die bekendste metodes wat in die literatuur opgeteken is (kyk 1.5). Verskeie navorsers het ook van kernmagnetiese resonans- *(Ahmed et al., 1993; Bettinetti et al., 1991; Choi et al., 1992)*, infrarooi- *(Jones et al., 1984; Chow & Karara, 1986)* en massaspektrometrie *(Baca & Kent, 1992; Camilleri et al., 1993)* gebruik gemaak, alhoewel hierdie metodes baie selde gebruik word.

Vir die doeleindes van hierdie studie is daar besluit om van ultravioletspektrofotometrie, massaspektrometrie (MS), infrarooispektrofotometrie (IR), differensiële skanderingskalorimetrie (DSC) en X-straalpoeierdiffraksie gebruik te maak, aangesien hierdie metodes maklik uitvoerbaar is, en dikwels, soos dit uit die literatuur blyk, gebruik word om kompleksvorming aan te toon. Bogenoemde metodes is geëvalueer ten opsigte van die bruikbaarheid daarvan om aanduidend te wees vir kompleksvorming van nifedipien met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien.

4.2 ULTRAVIOLETSPEKTROFOTOMETRIE

4.2.1 Inleiding

Die ultravioletspektraalveranderinge in die absorpsiespektra van 'n geneesmiddel wat waargeneem word in die teenwoordigheid van siklodekstriene, mag 'n indikasie wees van molekulêre interaksies wat toegeskryf kan word aan veranderinge van die normale elektroniese transmissie van die verskillende komponente, byvoorbeeld funksionele groepe, elektrone en protone waaruit die geneesmiddelmolekules bestaan *(Al-Meshal et al., 1993:1130)*.

Talle organiese molekules toon veranderinge in hulle ultravioletspektra tydens kompleksvorming met die siklodekstriene *(Cramer et al, 1967)*. Volgens dié outeurs is

die spektraalveranderinge wat waargeneem word dieselfde as dié wat voorkom wanneer die oplosmiddel verander word. Hierdie veranderinge kan volgens bogenoemde outeurs toegeskryf word aan versteurings van die elektron-energievlakke van die geneesmiddelmolekule wat veroorsaak word deur direkte interaksies met die siklodekstrienmolekules; die verwydering van watermolekules uit die siklodekstrienholtes of deur 'n kombinasie van beide bogenoemde effekte.

4.2.2 Doelstelling

Die doel van hierdie ondersoek was om ondersoek in te stel na veranderinge, indien enige, in die ultravioletspektrum van nifedipien in die teenwoordigheid van siklodekstriene. Beide 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien is in hierdie ondersoek gebruik.

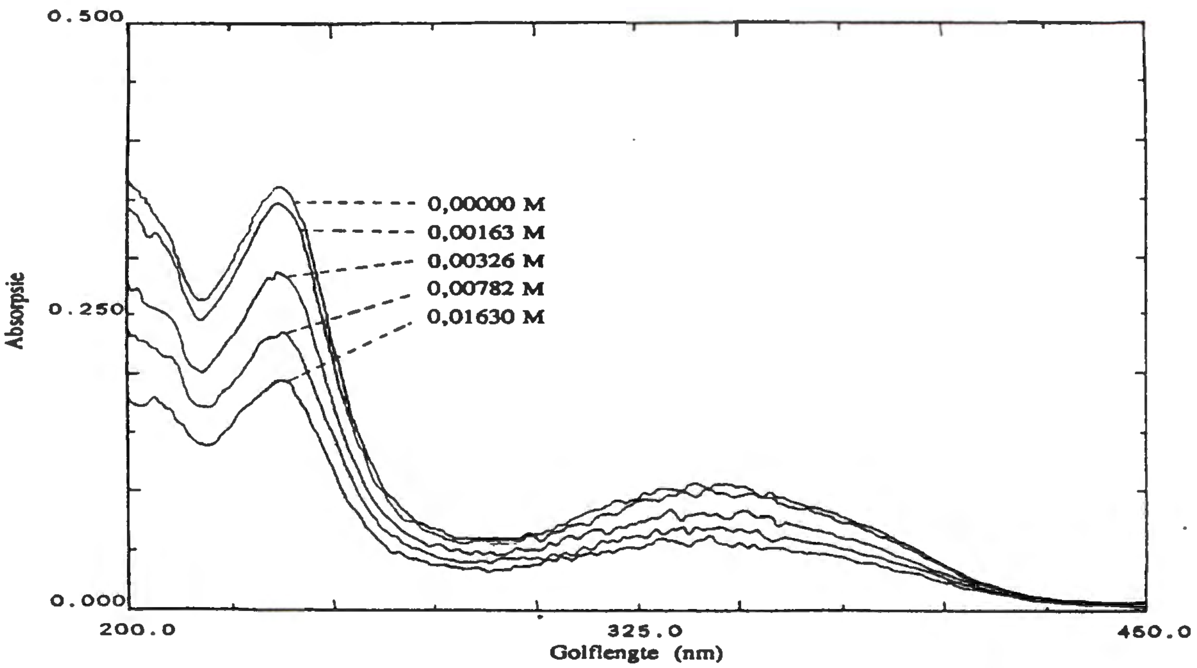
4.2.3 Metode

Moederoplossings wat 0,0163 M van beide 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien bevat het, is in gesuiwerde water berei. 2,119 g 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstriengrondstof en 0,03 g beta-siklodekstriengrondstof is afgeweeg en afsonderlik opgemaak tot 100 ml met gesuiwerde water. Geskikte volumes van elke moederoplossing is met behulp van pipette onttrek en met gesuiwerde water verdun sodat oplossings van verskillende siklodekstrienkonsentrasies tussen 0,00163 M en 0,0163 M verkry is. 9 ml van elk van die resulterende oplossings is na verskillende Pyrex-flessies oorgedra, en 1 ml van 'n 0,006% (m/v) nifedipienoplossing is by elkeen gevoeg. 0,03 g nifedipiengrondstof is afgeweeg en opgemaak tot 100 ml met 'n mengsel van metanol en gesuiwerde water (1:4). 5 ml hiervan is onttrek en opgemaak tot 25 ml met gesuiwerde water.

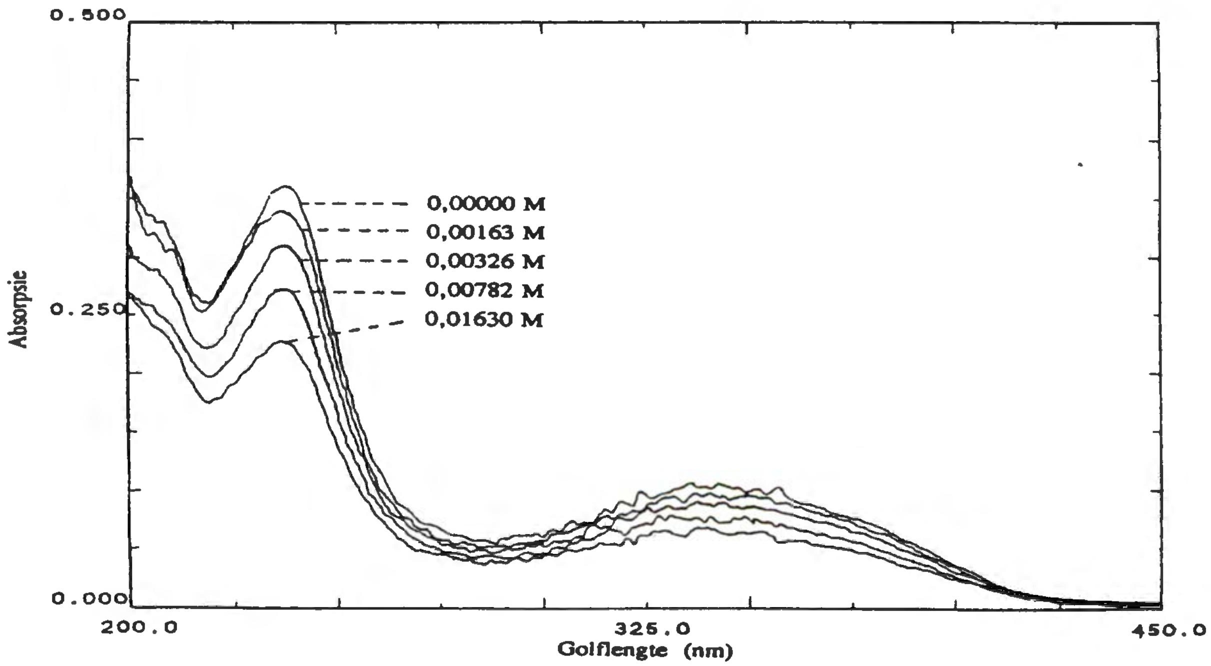
Die oplossings is vir 5 minute in 'n ultrasoniese bad geplaas. Aangesien nifedipien in 'n vloeibare toestand by die siklodekstrienoplossings gevoeg is, was dit nie nodig om die oplossings vir 24 uur in 'n roterende bottelapparaat te roteer nie. Die ultravioletabsorpsiespektra van nifedipien in hierdie oplossings is met 'n Shimadzu (model: UV-2100)-spektrofotometer in die golflengtegebied van 200 tot 450 nm bepaal. Elke oplossing is teenoor 'n blanko-oplossing, wat telkens dieselfde siklodekstrienkonsentrasie as die geneesmiddel-siklodekstrienoplossing bevat het, geanaliseer. Die ultravioletabsorpsie van elke oplossing is telkens by die golflengte van maksimumabsorpsie (236,8 nm) bepaal.

4.2.4 *Resultate en bespreking*

Die ultravioletabsorpsiespektra van nifedipien in die teenwoordigheid van toenemende konsentrasies 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien word onderskeidelik in figure 4.1 en 4.2 aangedui.



Figuur 4.1: Die invloed van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien op die ultravioletabsorpsiespektrum van 'n 0,006% (m/v) nifedipienoplossing.



Figuur 4.2: Die invloed van beta-siklodekstrien op die ultravioletabsorpsiespektrum van 'n 0,006% (m/v) nifedipienoplossing.

Uit hierdie spektra is dit duidelik dat die intensiteit van die ultravioletabsorpsie van nifedipien afneem namate die konsentrasies 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien toeneem. Hierdie effek is veral uitgesproke by die golflengte van maksimumabsorpsie (236,8 nm). Aangesien elke oplossing telkens teenoor 'n blanko-oplossing, wat dieselfde konsentrasie siklodekstrien bevat het, bepaal is, kan hierdie veranderinge in die ultravioletspektraaleienskappe van nifedipien aan direkte interaksie tussen die siklodekstrienmolekule en nifedipienmolekule toegeskryf word.

Hierdie afname in die intensiteit van die ultravioletabsorpsie van nifedipien stem ooreen met bevindings wat in soortgelyke ondersoeke verkry is. *Chow & Karara (1986)* het die invloed van beta-siklodekstrien op die ultravioletspektrum van ibuprofen ondersoek en die veranderinge wat voorgekom het toegeskryf aan kompleksvorming. Soortgelyke resultate is ook met komplekse van beta-siklodekstrien en mefenaamsuur *(Ikeda et al., 1975:201)*, salisielsuur, vitamien K en vitamien D_3 *(Szejtli, 1982)* waargeneem en word toegeskryf aan molekulêre interaksies of kompleksvorming tussen die siklodekstrien- en geneesmiddelmolekules.

In tabel 4.1 word die absorpsiedata vir die ultravioletspektraalanalise van nifedipien met beide 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien aangedui.

Tabel 4.1: Absorpsiedata vir die ultravioletspektraalanalise van nifedipien met beide 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien by 'n golflengte van 236,8 nm.

Siklodekstrien-konsentrasie (m)	Absorpsie 2-HP-β-SD	Absorpsie β-SD
0,0000	0,363	0,362
0,0016	0,348	0,340
0,0033	0,289	0,311
0,0078	0,234	0,273
0,0163	0,195	0,229

2-HP-β-SD = 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien

β-SD = beta-siklodekstrien

4.2.5 *Gevolgtrekking*

Dit is duidelik dat veranderinge in die ultravioletspektrum van nifedipien voorkom namate die konsentrasie van die spesifieke siklodekstrien verander word. Hierdie veranderinge kan aan die gedeeltelike afskerming van spesifieke elektrone in die nifedipienmolekule binne die siklodekstrienholte toegeskryf word, en is ook in ooreenstemming met resultate van soortgelyke ondersoeke wat in die literatuur gepubliseer is, en dien as definitiewe bewys van molekulêre interaksies tussen die nifedipien- en beide 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien- en beta-siklodekstrien-molekules.

4.3 *MASSASPEKTROMETRIE*

4.3.1 *Inleiding*

Geen voorbeelde, waar massaspektometrie aangewend is vir die bevestiging van kompleksvorming tussen 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en geneesmiddels, kon in die literatuur gevind word nie.

Dit is eers sedert onlangs bekend dat nuwere metodes soos ioonsproei- of elektronsproei-massaspektrometrie gebruik kan word om nie-kovalente reseptor-ligand, ensiem-substraat- en hemoglobien-proteïenkomplekse waar te neem *(Baca & Kent, 1992:3992)*. Hierdie nuwe metodes word gebruik om die molekulêre massa van komplekse te bepaal en dien hierbenewens as 'n bewys vir kompleksvorming. *Camilleri et al. (1993:949)* het ondersoek ingestel na die aanwending van elektronsproei-massaspektrometrie in die studie van die interaksies tussen beta-siklodekstrien met fenielalanien, tirosien en triptofaan. Hierdie outeurs het gevind dat elektronsproei-massaspektrometrie as bewys van kompleksvorming kan dien. Die bruikbaarheid van hierdie relatief "sagte" ionisasiemetode vir die bestudering van nie-kovalente bindingskomplekse is ook deur *Ganem et al. (1991)* en *Baca & Kent (1992)* aangetoon.

4.3.2 *Doelstelling*

Die doel van hierdie ondersoek was om ondersoek in te stel na die moontlike aanwending van VAB (vinnige atoombombardering)-massaspektrometrie en elektronsproei-massaspektrometrie as bevestiging van kompleksvorming tussen nifedipien met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien.

4.3.3 Metode

Soliede komplekse is soos volg berei: 19,5 g 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstriengrondstof en 1,85 g beta-siklodekstriengrondstof is afgeweeg en afsonderlik tot 100 ml met gesuiwerde water opgemaak. 'n Oormaat nifedipiengrondstof is hierby gevoeg en in 'n roterende bottelapparaat by 25 ± 1 °C roteer. Na 24 uur is die oplossings uit die roterende bottelapparaat verwyder, en deur 'n 0,22 μm membraanfilter gefiltreer om alle onopgeloste nifedipien te verwyder. Die filtrate is in vloeibare stiktof gevries en onder vakuum vir 24 uur gedroog.

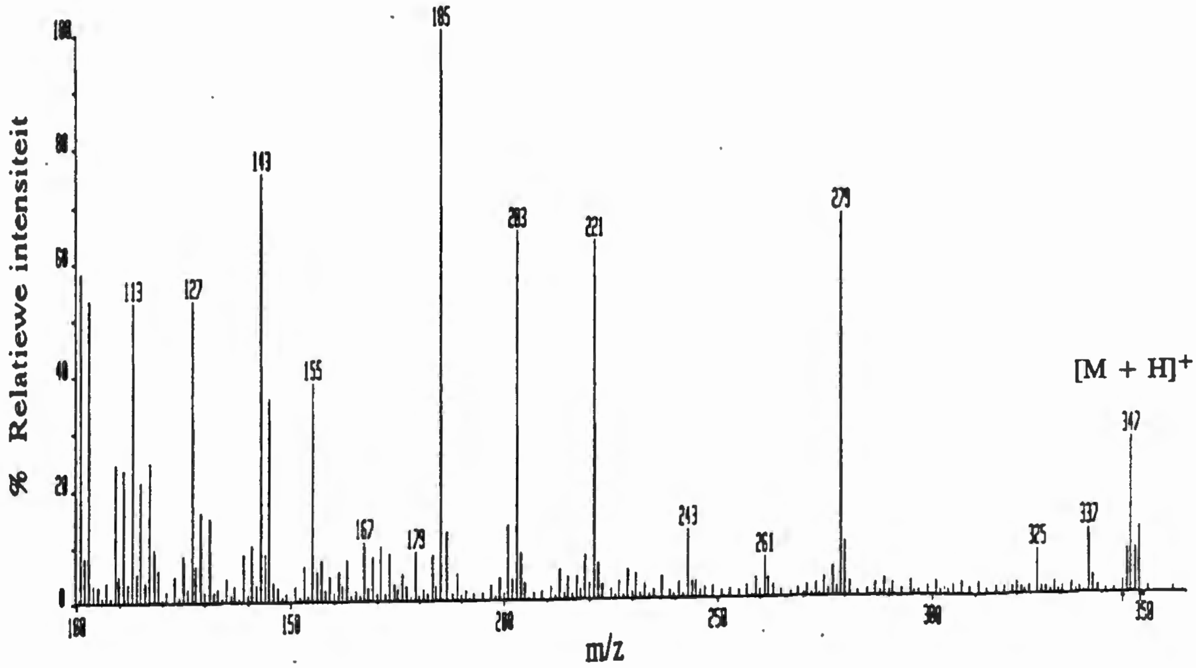
Die massaspektra is opgeneem deur gebruik te maak van 'n VG70-70E-massaspektrometer, toegerus met 'n Ion Tech B11N-saalveld VAB-geweer *(Ion Tech Limited, Teddington, UK)*. Die data is opgeneem en verwerk met 'n VG11-250J-data-sisteem. Xenon *(Martin et al., 1982:2362)* is as bombarderingsgas (8 kV, 1 mA) gebruik. Die massaspektrometer is op 6 kV ingestel en die magnetiese analiseerder is teen 'n tempo van 5 s per dekade oor 'n massagebied van 1500-50 Da geskandeer. Monsters is direk in die matriks (gliserol) opgelos en op staalteikens by kamertemperatuur (25 ± 0,5 °C) geïoniseer. Hierdie metode is gebruik vir die bestudering van komplekse met beta-siklodekstrien.

VAB-massaspektrometrie kon egter nie suksesvol vir die bereide komplekse van nifedipien met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien gebruik word nie, aangesien dit geblyk het dat 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien 'n baie "sagter" ioniseringsmetode vereis. Daar is besluit om van elektonsproei-massaspektrometrie gebruik te maak aangesien dit 'n baie "sagter" ioniseringsmetode as VAB-massaspektrometrie is, en hierbenewens ook geskik is vir baie groot molekules, soos 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien.

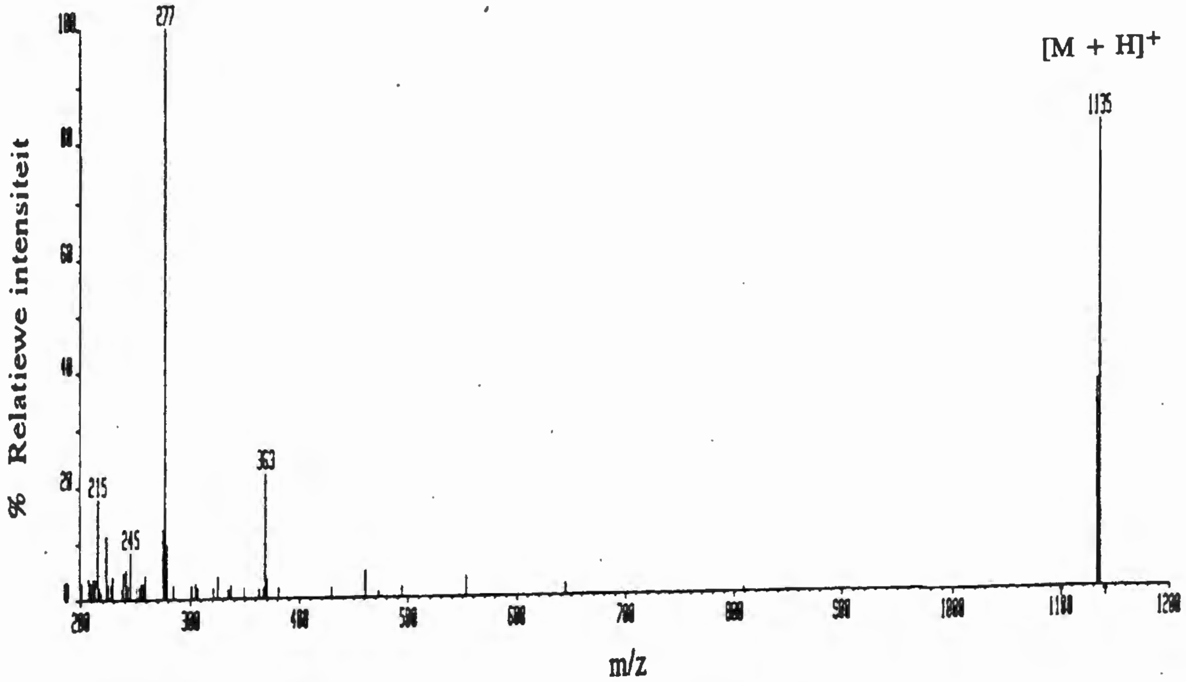
Hierdie massaspektra is opgeneem met 'n Perkin-Elmer Sciex API III™-triple quadrupole, bestaande uit 'n ioonsproei-koppelstuk (IS) wat ingestel is by kamertemperatuur. Die monsters van suiwer 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien, nifedipien en die kompleks daarvan, is in 'n mengsel van water en asetonitriel (50:50 v/v) opgelos en verdun na konsentrasies van 5 tot 20 ppm, waarna dit aan die ioon-bron blootgestel is deur gebruik te maak van 'n infusiepomp met 'n vloeitempo van 2 μl/min. Argon is as bombarderingsgas gebruik.

4.3.4 *Resultate en bespreking*

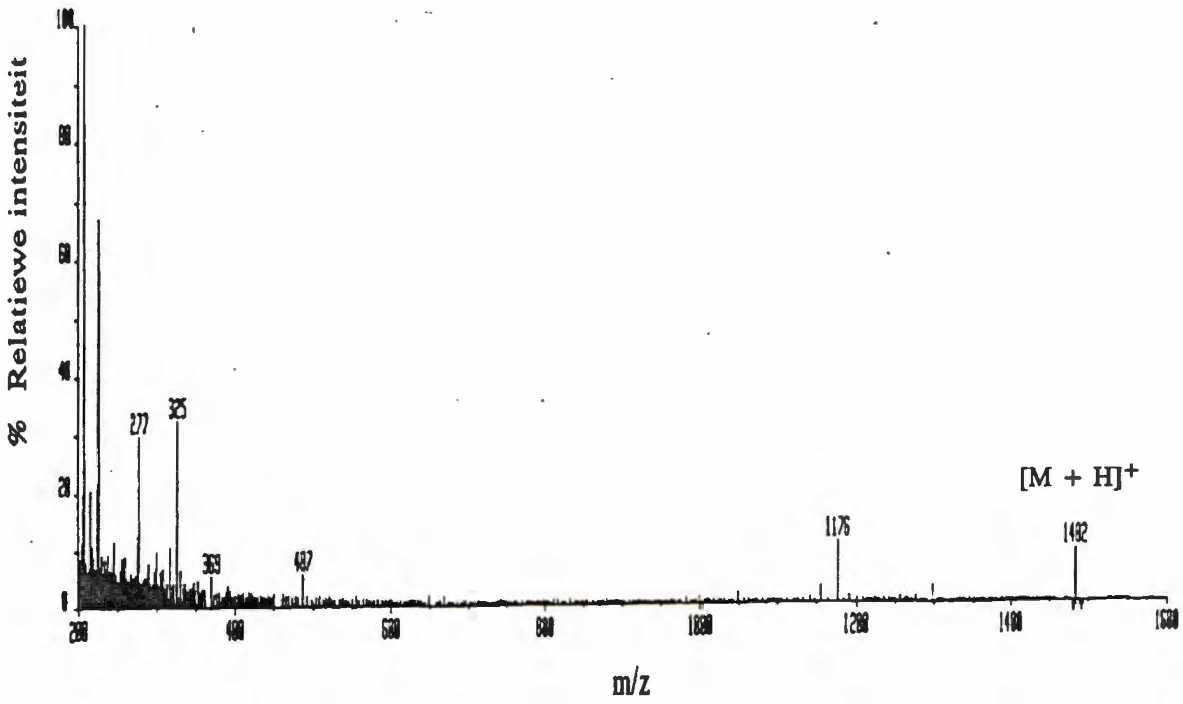
In figure 4.3 tot 4.5 word die VAB-massaspektra van beta-siklodekstrien, nifedipien en die bereide nifedipien-beta-siklodekstrienkompleks weergegee.



Figuur 4.3: Massaspektrum van nifedipien.



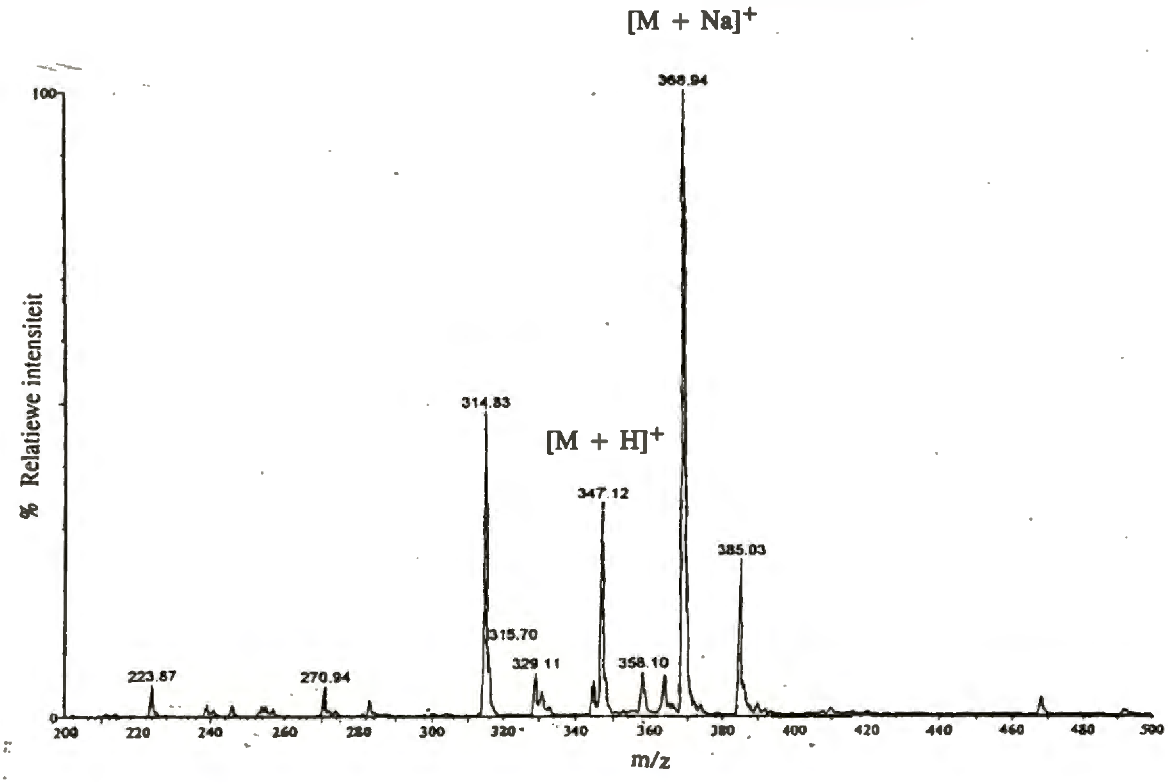
Figuur 4.4: Massaspektrum van beta-siklodekstrien.



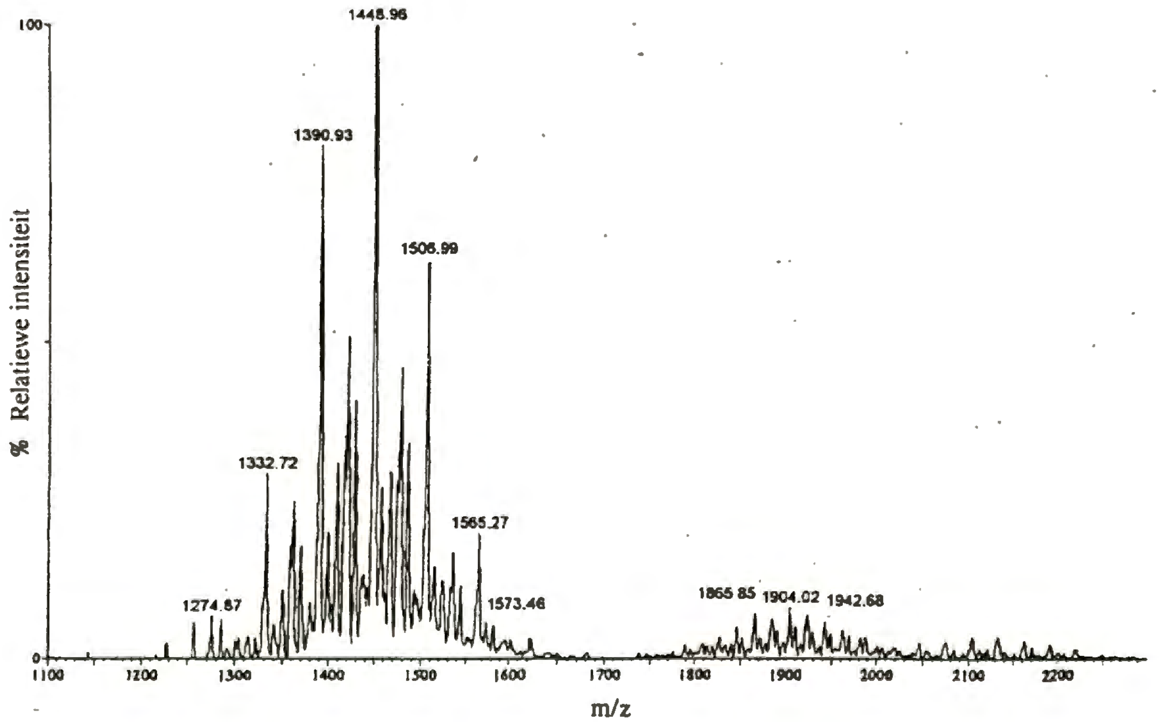
Figuur 4.5: Massaspektrum van die bereide nifedipien-beta-siklodekstrienkompleks.

Die massaspektrum van nifedipien toon 'n piek by 'n massa m/z 347 $[M + H]^+$ wat ooreenstem met die molekulêre massa van nifedipien wat in die literatuur aangegee word. Beta-siklodekstrien se massaspektrum toon 'n piek by 'n massa m/z 1135 $[M + H]^+$ wat ook met die molekulêre massa daarvan, wat in die literatuur opgeteken is, ooreenstem. Indien kompleksvorming tussen nifedipien en beta-siklodekstrien plaasvind, behoort die molekulêre massa van die kompleks die som van die afsonderlike molekulêre massas van nifedipien en beta-siklodekstrien te wees. Uit figuur 4.5 blyk dit duidelik dat die piek by 'n massa m/z 1482 $[M + H]^+$ die molekulêre massa van die kompleks aantoon. Dit is dus 'n eenduidige bewys dat kompleksvorming wél tussen nifedipien en beta-siklodekstrien plaasgevind het.

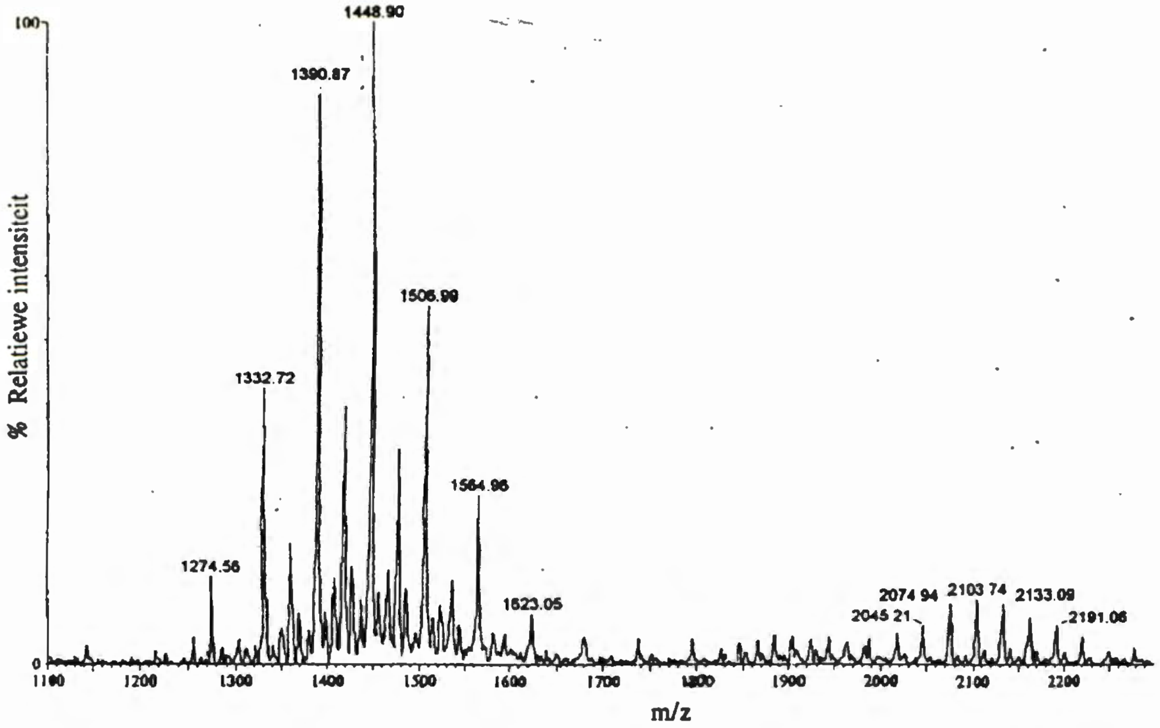
In figure 4.6 tot 4.8 word die elektronsproei-massaspektra van nifedipien, 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en die bereide nifedipien-2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkompleks weergegee.



Figuur 4.6: Elektronsproei-massaspektrum van nifedipien.



Figuur 4.7: Elektronsproei-massaspektrum van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien.



Figuur 4.8: Elektronsproei-massaspektrum van die bereide nifedipien-2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkompleks.

Die elektronsproei-massaspektrum van nifedipien toon 'n piek by 'n massa m/z 347,12 $[M + H]^+$ wat ooreenstem met sy molekulêre massa. Die massaspektrum van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien toon 'n simmetriese verspreiding van pieke tussen 'n massa m/z 1200 en 1600. Hierdie verspreiding is 'n algemene verskynsel wat gewoonlik verkry word by hierdie tipe derivatisering, aangesien dit 'n mengsel van duisende mono-, bi-, tri- en tetra- gealkileerde hidroksiepropielgroepe bevat *(Brewster et al., 1989:235)*. Dit is dus nie moontlik om die werklike molekulêre massa van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien te bepaal nie, en 'n gemiddelde of benaderde molekulêre massa ($\approx$1300) word gewoonlik daaraan toegeken, en word ook so in die literatuur aangegee *(Brewster et al., 1989:231)*. Weens bogenoemde probleem was dit dus nie moontlik om 'n definitiewe m/z-waarde vir 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en die insluitingskompleks daarvan met nifedipien te gee nie.

4.3.5 Gevolgtrekking

Vinnige atoombombardering (VAB)-massaspektrometrie is 'n baie nuttige metode om die vorming van komplekse tussen nifedipien en beta-siklodekstrien te bevestig. Aangesien 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien uit letterlik duisende siklodekstrien isomere bestaan, kon massaspektrometrie nie gebruik word om die molekulêre massa

van die suiwer grondstof en komplekse daarvan eenduidig aan te toon nie. Nuwere metodes soos elektronsproei-massaspektrometrie kon ook nie gebruik word om kompleksvorming tussen nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien aan te toon nie. Daar kan egter aanvaar word dat 'n kompleks tussen nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien gevorm behoort te word aangesien dit wel tussen nifedipien en beta-siklodekstrien aangetoon kon word, en daar geen strukturele verskille tussen die holtes van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien bestaan nie. Kompleksvorming tussen nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien kan egter nie met die bestaande apparate en metodes beskikbaar, aangetoon word nie, aangesien massaspektrometrie as sulks nie 'n definitiewe waarde vir die molekulêre massa van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien kan bepaal nie.

4.4 INFRAROOISPEKTROFOTOMETRIE

4.4.1 Inleiding

Infrarooispektrofotometrie is, soos reeds in hoofstuk 1 (1.5.4) aangetoon, ook 'n bruikbare metode wat in sommige gevalle aangewend kan word om kompleksvorming tussen geneesmiddels en siklodekstriene te bevestig. Die beperking van hierdie metode is egter dat die bande van die siklodekstriene baie min deur kompleksvorming beïnvloed word *(Jones et al., 1984:219)*. Verskeie navorsers het egter van hierdie metode gebruik gemaak en definitiewe verskuiwings van sekere bande van die geneesmiddel tydens kompleksvorming waargeneem *(Chow & Karara, 1986:98; Corrigan & Stanley, 1982:623; El-Gendi et al., 1993:126; Ventura et al., 1994:2250)*. Hierdie metode is gebruik om die bruikbaarheid daarvan ten opsigte van kompleksvorming tussen nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien asook beta-siklodekstrien te evalueer.

4.4.2 Doelstelling

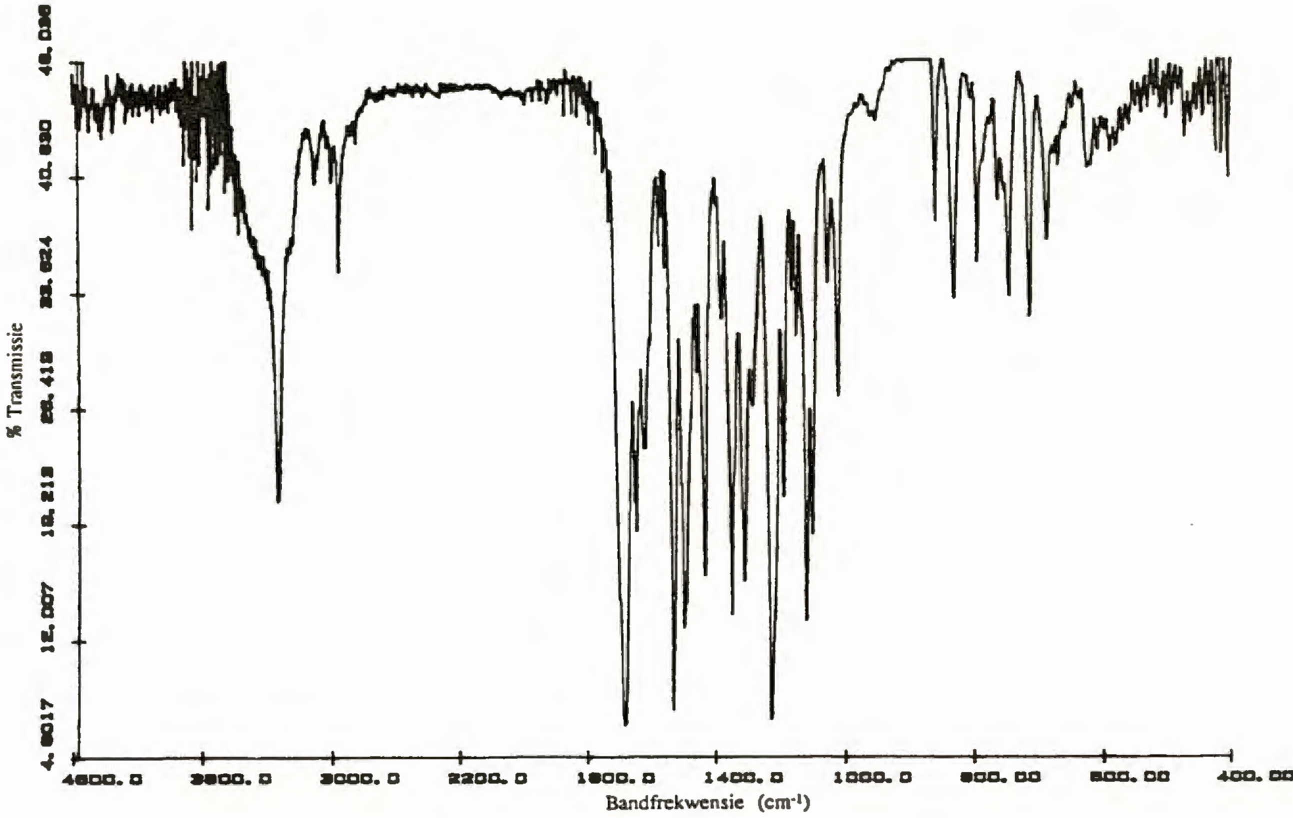
Die doel van hierdie ondersoek was om ondersoek in te stel na veranderinge, indien enige, in die infrarooispektrum van nifedipien na kompleksering met siklodekstriene. Beide 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien is in hierdie ondersoek gebruik.

4.4.3 Metode

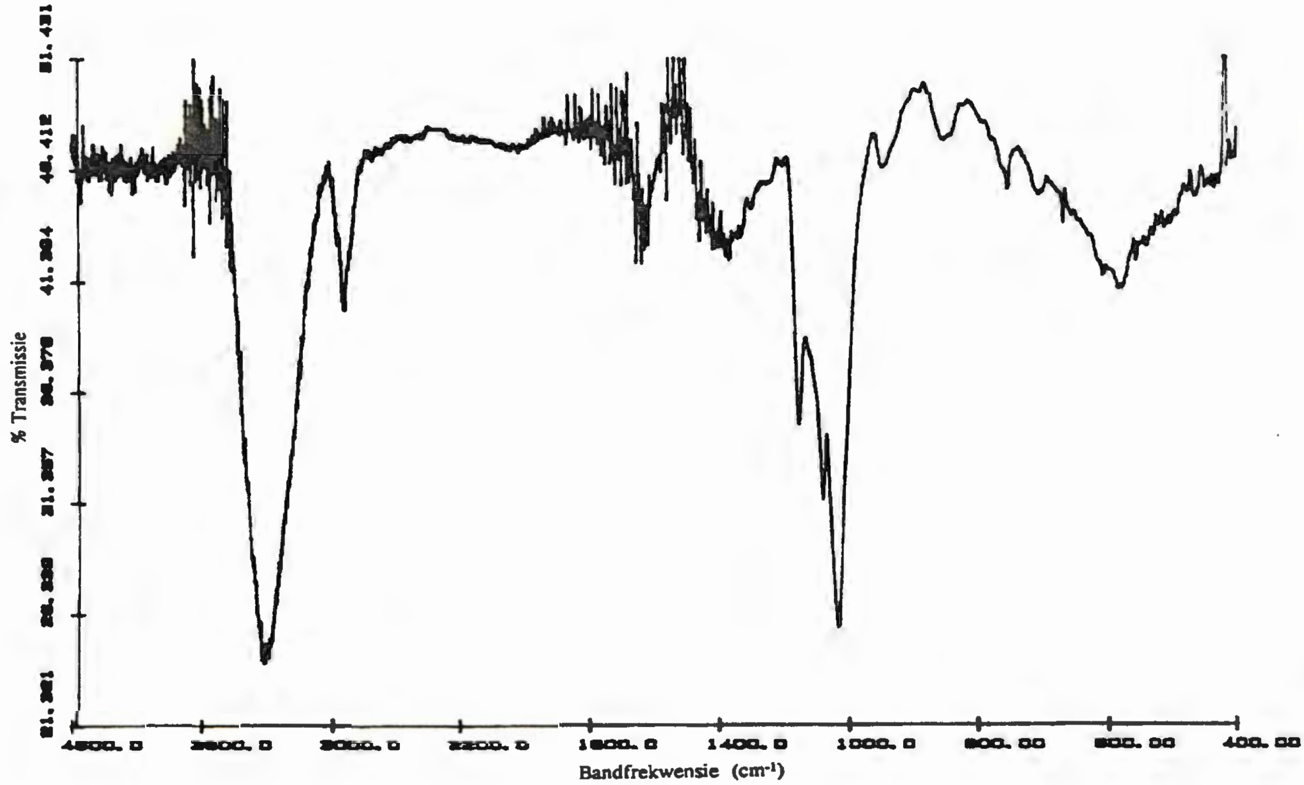
Soliede komplekse van nifedipien met beide 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien is berei soos onder 4.3.3 beskryf. Monsters van nifedipien, beta-siklodekstrien, 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en die bereide komplekse van nifedipien met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien is in 'n kaluimbromiedtablet saamgepers. Infrarooispektra is met 'n Perkin Elmer IR (model: 281)-spekrofotometer by 'n druk van 400 kg cm^{-2} getrek.

4.4.4 Resultate en bespreking

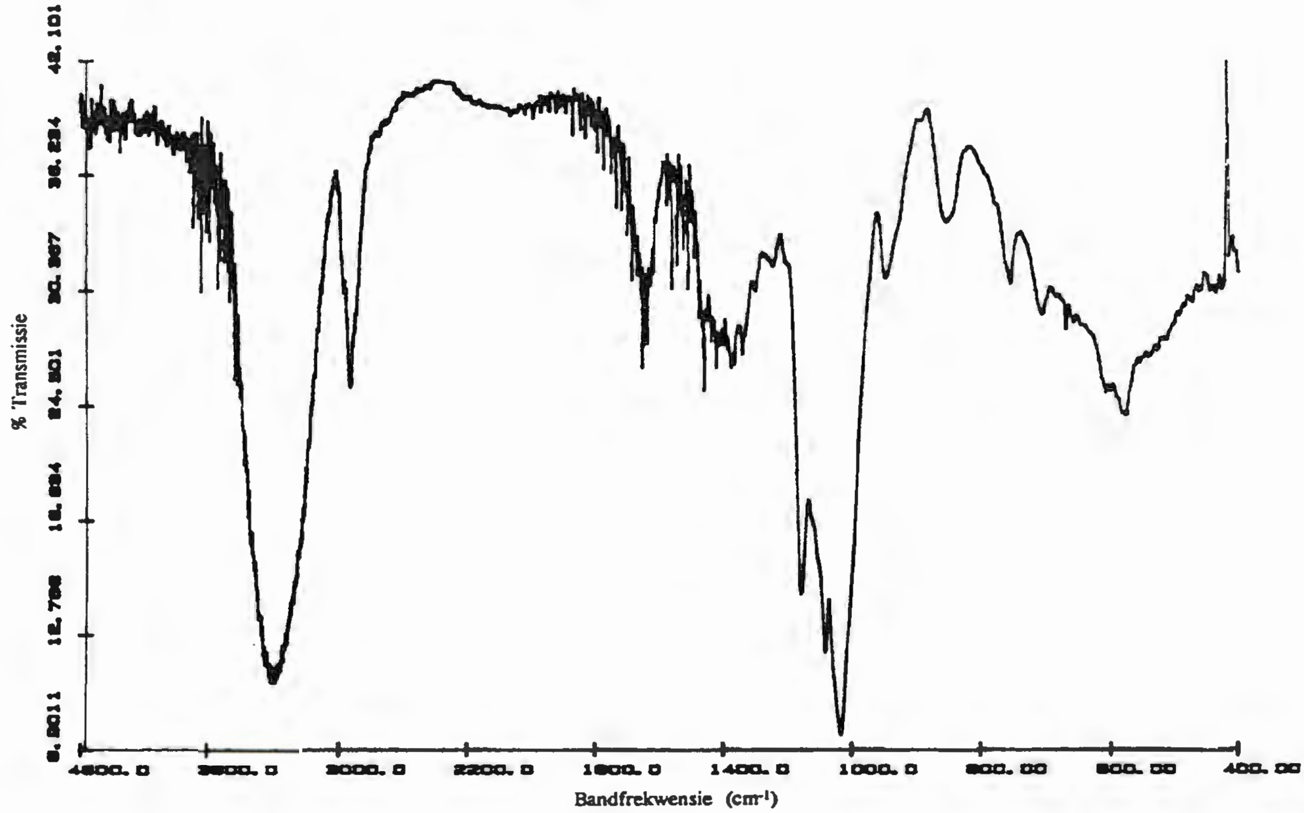
In figure 4.9 tot 4.11 word die infrarooispektra van nifedipien, 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en die bereide insluitingskompleks daarvan weergegee.



Figuur 4.9: Die infrarooispektrum van nifedipien

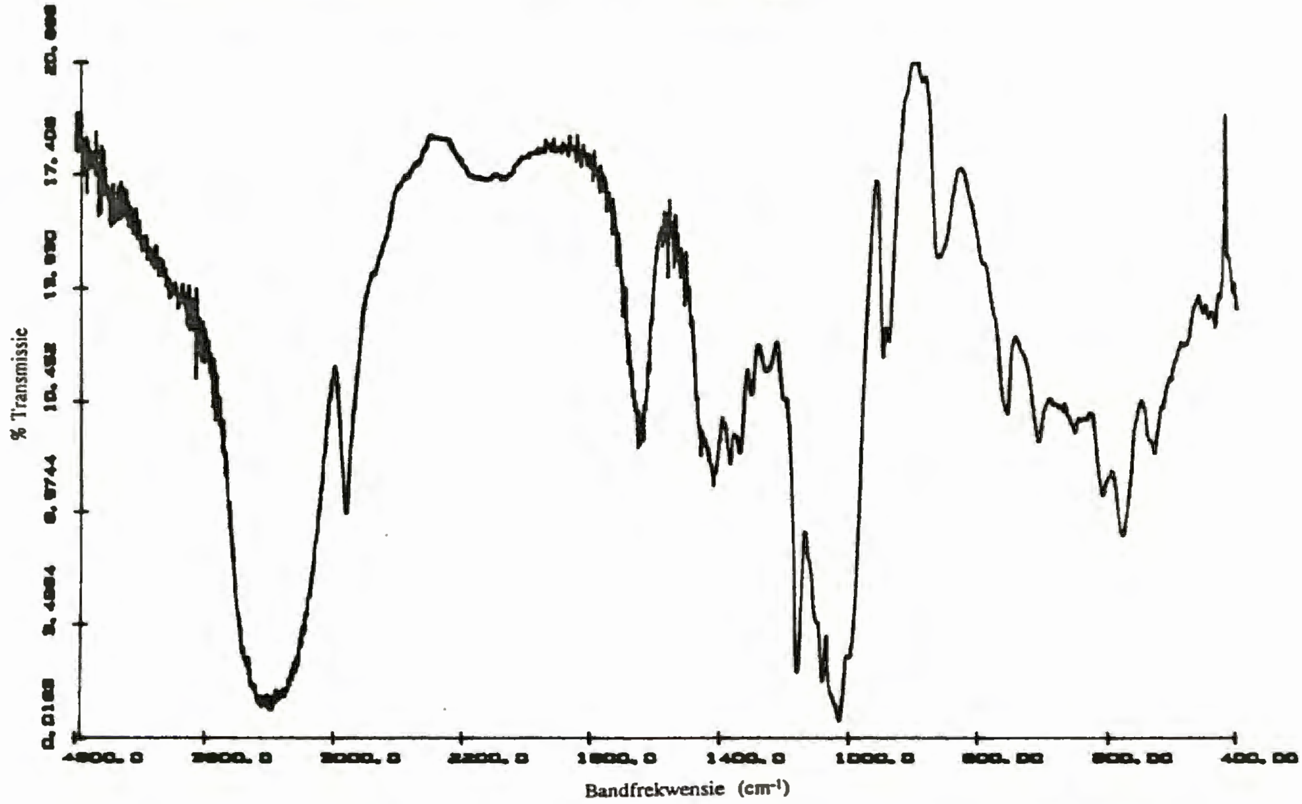


Figuur 4.10: Die infrarooispektrum van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien.

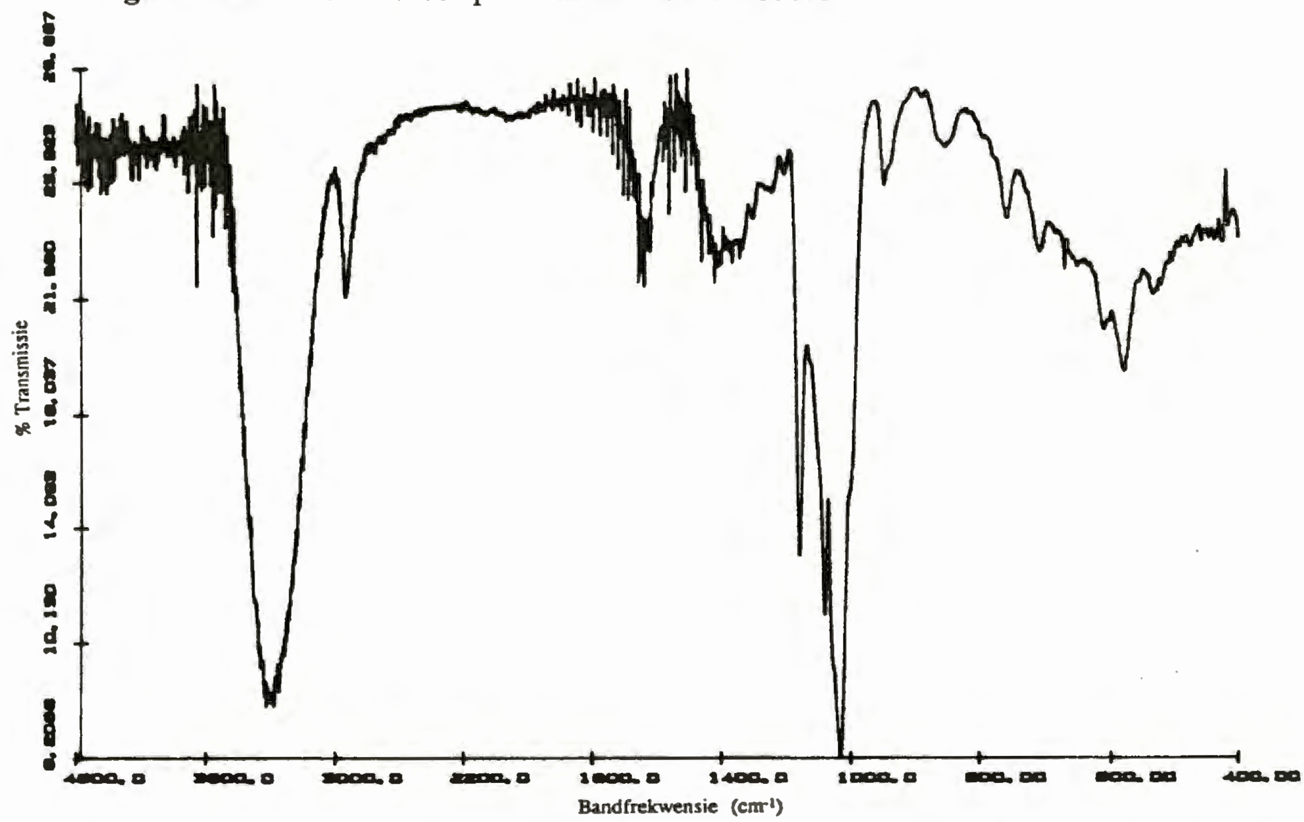


Figuur 4.11: Die infrarooispektrum van die bereide nifedipien-2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkompleks.

In figure 4.12 en 4.13 word die infrarooispektra van beta-siklodekstrien en die bereide insluitingskompleks daarvan met nifedipien weergegee.



Figuur 4.12: Die infrarooispektrum van beta-siklodekstrien.



Figuur 4.13: Die infrarooispektrum van die bereide nifedipien-beta-siklodekstrienkompleks.

Die infrarooispektra van nifedipien, 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien stem ooreen met spektra wat in die literatuur daarvoor aangegee word (kyk figuur 2.6). Die NH-groep van nifedipien toon 'n kenmerkende band tussen frekwensies van 3000 en 3400 cm^{-1}. Beide 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien toon in dieselfde gebied breë bande. Dieselfde tendens word ook waargeneem by die bandfrekwensies tussen 1000 en 1800 wat die NO_2-, C=O-ester, -C=C-aromaties, -C-CH_3 en -C-O-estergroepe van nifedipien insluit, waar daar telkens by beide 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien breë bande in dieselfde area voorkom. Aangesien die bande van die siklodekstriene baie min deur kompleksvorming beïnvloed word, is dit belangrik om op enige bandverskuiwings van die geneesmiddel (nifedipien) te let. In al bogenoemde gevalle word die band van die kenmerkende NH-groep en die groepe soos bo aangetoon, van nifedipien deur die breë en uiters sterk bande van beide 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien verskans. Daar kon dus geen verskuiwings van die bande van nifedipien waargeneem word nie. Hierdie metode is dus nie geskik vir die aantoon van bandverskuiwings by nifedipien en die spesifieke siklodekstriene nie, aangesien 'n oorvleueling en verdwerging van die bande van nifedipien voorkom.

4.4.5 Gevolgtrekking

Alhoewel infrarooispektrofotometrie in sommige gevalle baie goeie aanduidings van kompleksvorming tussen geneesmiddels en siklodekstriene gee, is hierdie metode nie geskik om kompleksvorming tussen nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien of beta-siklodekstrien aan te toon nie. Die rede hiervoor is dat die bande van nifedipien deur bande van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien verskans word. Uit hierdie resultate kan dus geen afleiding ten opsigte van kompleksvorming gemaak word nie.

4.5 DIFFERENSIëLE SKANDERINGSKALORIMETRIE (DSC)

4.5.1 Inleiding

DSC-metings van insluitingskomplekse toon 'n verdwyning of verskuiwing van die endotermiese pieke van die gekomplekseerde geneesmiddelmolekules *(Otagiri et al. 1978)*. Suiwer naproksen gee 'n endotermiese piek by 156 °C. *Erden & Celebi (1988)* het gevind dat 'n fisiese mengsel van naproksen en beta-siklodekstrien 'n endotermiese piek by 180 °C gee as gevolg van swak interaksie tussen naproksen en beta-siklodekstrien. Die termogram van die insluitingskompleks het egter 'n

verdwyning van die endotermiese piek getoon. Hierdie veranderinge in die termogramme is volgens bogenoemde outeurs 'n aanduiding van kompleksvorming in die soliede toestand.

4.5.2 Doelstelling

Die doel van hierdie ondersoek was om ondersoek in te stel na die moontlike aanwending van differensiële skanderingskalorimetrie as bevestiging van kompleksvorming tussen nifedipien en onderskeidelik 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien.

4.5.3 Metode

Soliede komplekse van nifedipien met beide 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien is berei soos onder 4.3.3 bespreek is. Fisiese mengsels van nifedipien met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien is berei deur 'n akkurate hoeveelheid nifedipien en siklodekstrien in 'n 1:1 mol-verhouding af te weeg. Die bestanddele is eers in 'n agaatvysel en daarna in 'n turbula-vermenger vir 'n verdere 3 minute vermeng. Die DSC-metings is in verseëlde aluminiumpannetjies uitgevoer.

Termogramme van suiwer nifedipien, 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien, beta-siklodekstrien, fisiese mengsels van beide nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien, en nifedipien en beta-siklodekstrien, sowel as die gevriesdroogde komplekse daarvan is met 'n Shimadzu DSC-50 termiese analise-sisteem, met stikstof as suiweringsgas (vloeitempo = 20 ml/min) getrek. Die skanderingstempo is teen 10 °C/min ingestel en termogramme is van kamertemperatuur tot 380 °C opgeneem.

4.5.4 Resultate en bespreking

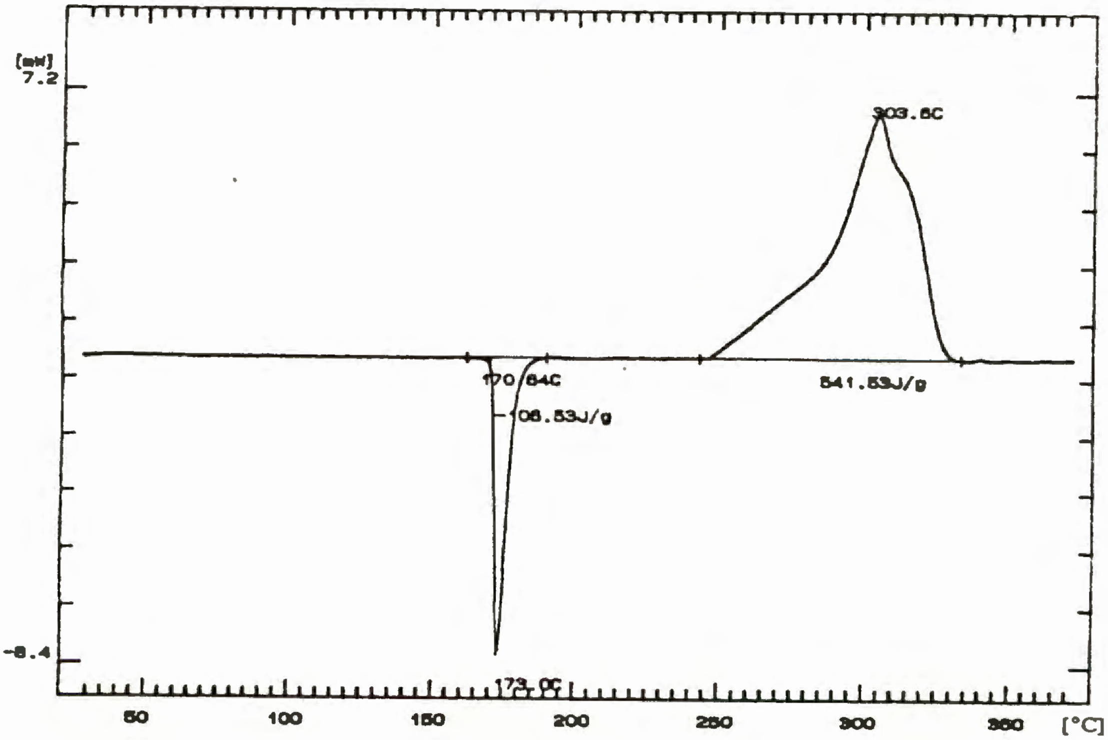
In figure 4.14 tot 4.17 word die DSC-termogramme van nifedipien, 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien, die fisiese mengsel van nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en die insluitingskompleks daarvan weergegee. In tabel 4.2 word die DSC-resultate van die endotermiese pieke van nifedipien, 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien saamgevat.

Tabel 4.2: Samevatting van die DSC-resultate van die endotermiese pieke van nifedipien, 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien.

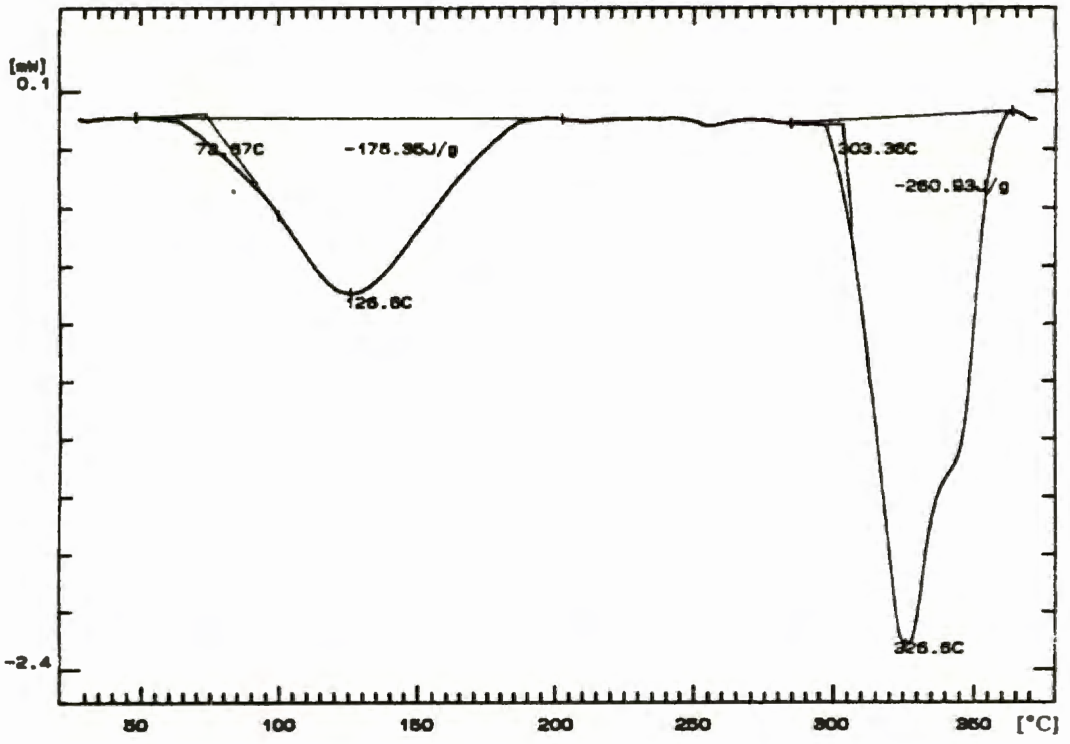
	Endotermiese piek (°C)
Nifedipien	173,0
β-SD	132,7 en 323,9
2-HP-β-SD	126,6 en 326,6
fisiese mengsel β-SD	165,7 en 331,8
fisiese mengsel 2-HP-β-SD	109,3 en 355,8
kompleks β-SD	155,7 en 314,3
kompleks 2-HP-β-SD	63,1 en 344,3

2-HP-β-SD = 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien

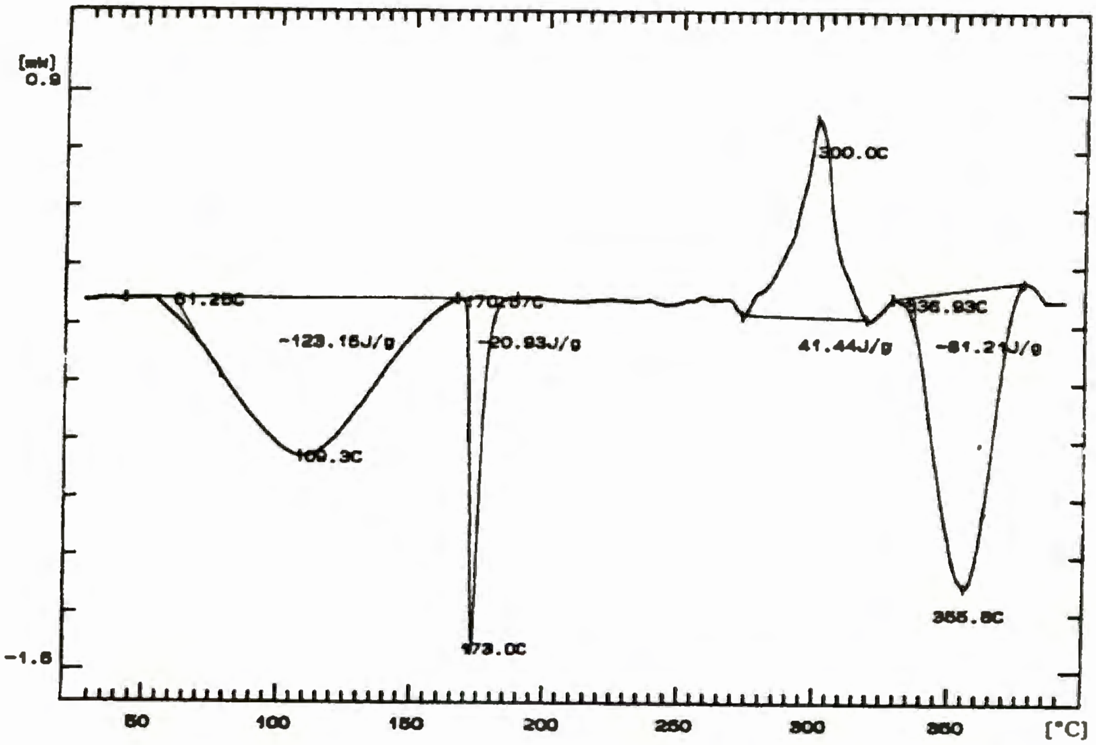
β-SD = beta-siklodekstrien



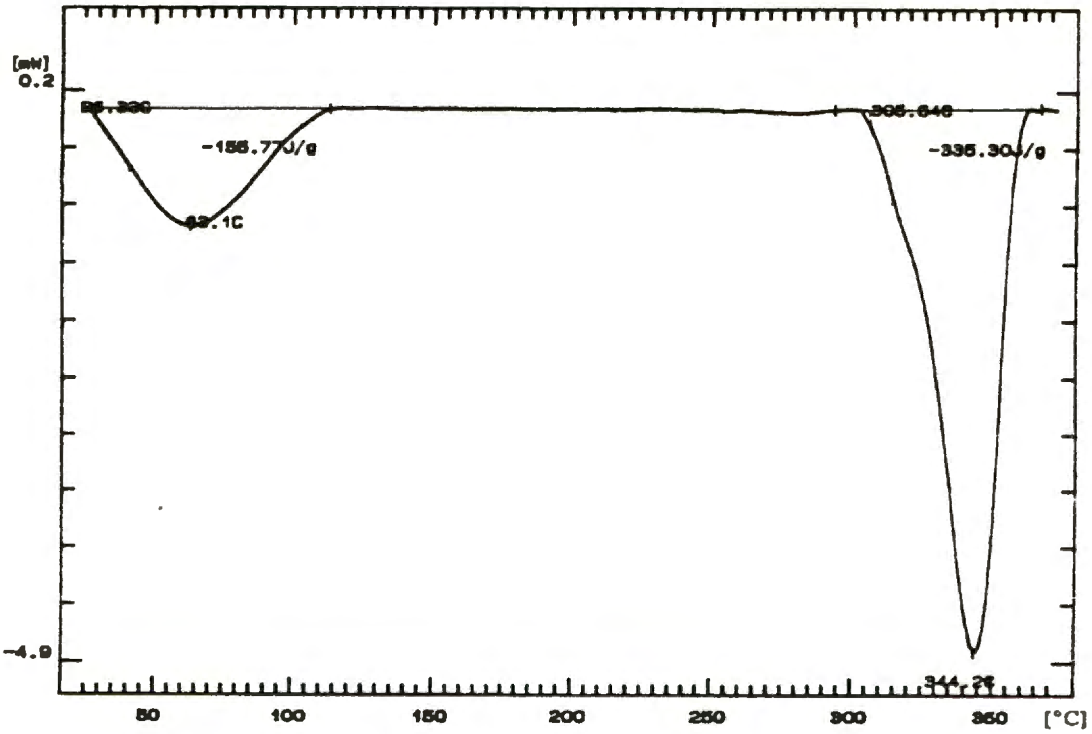
Figuur 4.14: Die DSC-termogram van nifedipien.



Figuur 4.15: Die DSC-termogram van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien.



Figuur 4.16: Die DSC-termogram van die fisiese mengsel van nifedipien met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien.



Figuur 4.17: Die DSC-termogram van die bereide nifedipien-2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkompleks.

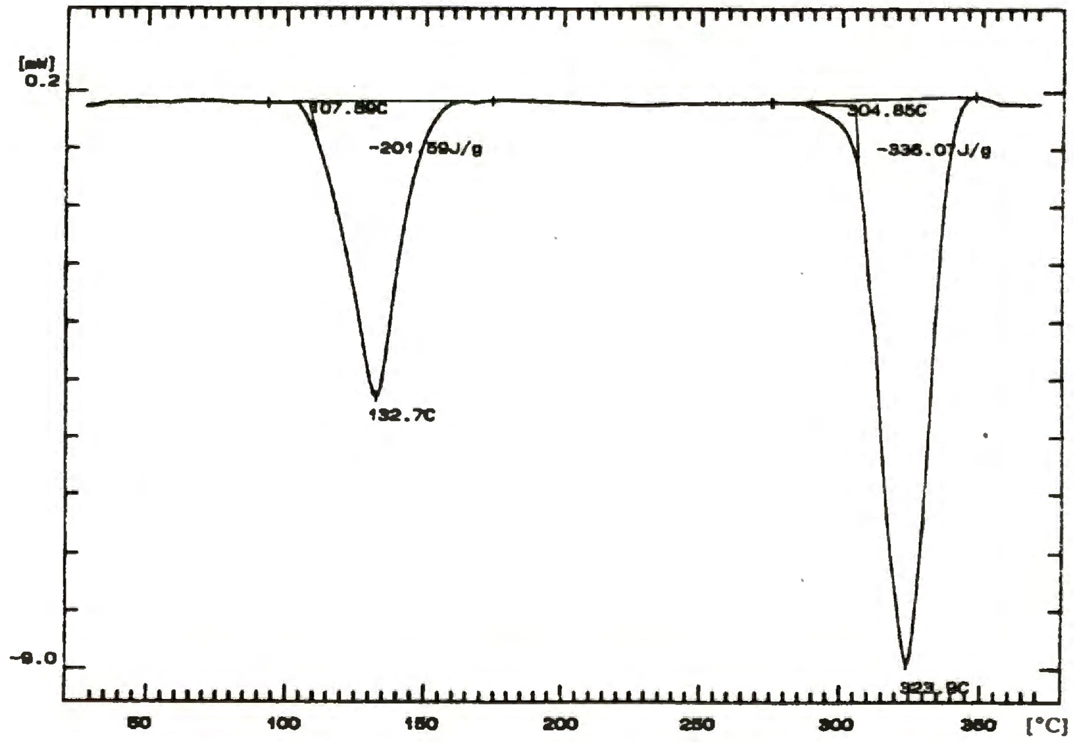
Kompleksvorming word op DSC-termogramme aangedui deur 'n verdwyning of verskuiwing van die endotermiese piek van die geneesmiddel en/of siklodekstrien. Die endotermiese piek van suiwer nifedipien (figuur 4.14) word duidelik by 173,0 °C geïdentifiseer en besit 'n eksotermiese piek by 303,6 °C, terwyl 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien (figuur 4.15) 'n breë endotermiese piek toon oor die gebied van 55 tot 200 °C met 'n piek-waarde van 126,6 °C en oor die gebied van 300 tot 360 °C met 'n piek-waarde van 326,6 °C. 2-Hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien kan as gevolg van sy amorfe karakter nie goed gedefinieer word nie.

Figuur 4.16 toon aan dat die fisiese mengsel van nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien beide die nifedipienpiek (173,0 °C) en die 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienpiek (50 tot 150 °C) bevat. Nifedipien se piek by 173,0 °C dui op die teenwoordigheid van ongekomplekseerde nifedipien. Die endotermiese gebied (50 tot 150 °C) en endotermiese piek (109,3 °C) van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien is egter nie dieselfde as die suiwer monster van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien nie, en dit dui op 'n moontlike interaksie tussen nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien in die vastestoftoestand. Hierdie resultate is in ooreenstemming met dié

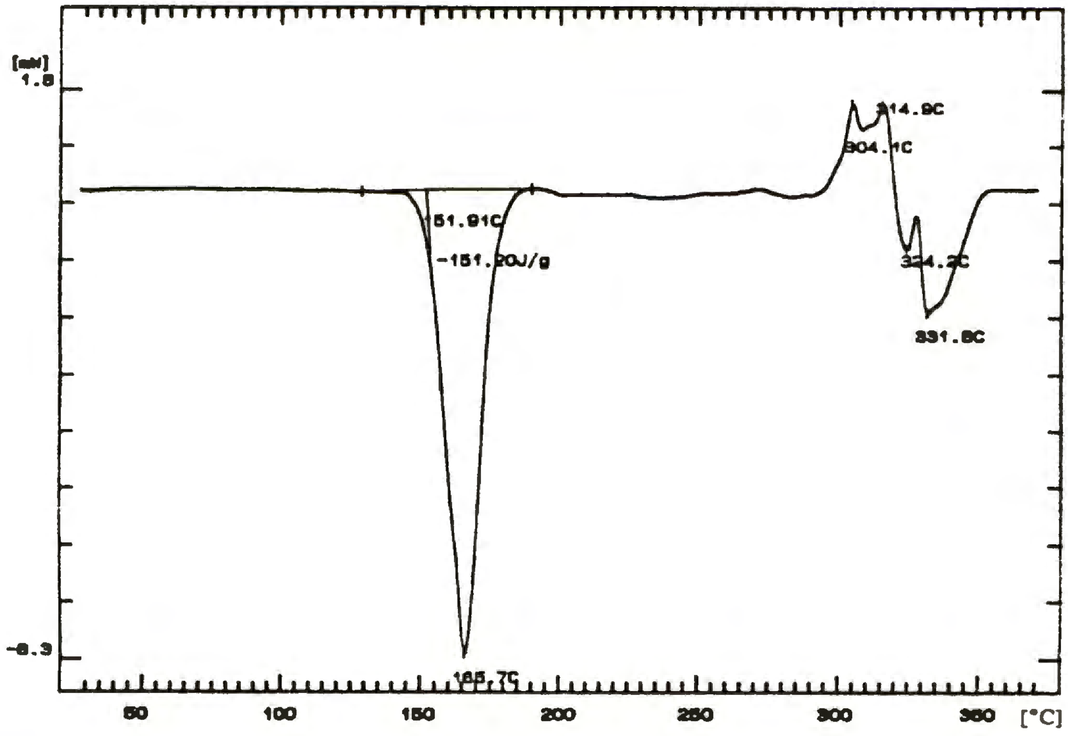
uit die literatuur wat telkens swak interaksies in fisiese mengsels van geneesmiddels en siklodekstriene aantoon *(Otagiri et al., 1978; Erden & Celebi, 1988).*

Die termogram van die bereide kompleks (figuur 4.17) toon dat die endotermiese piek van nifedipien verdwyn het terwyl die endotermiese gebied (40 tot 115 °C) en endotermiese piek (63,10 °C) van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien geskuif het. Hieruit is dit duidelik dat interaksie of kompleksvorming tussen nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien wel plaasgevind het.

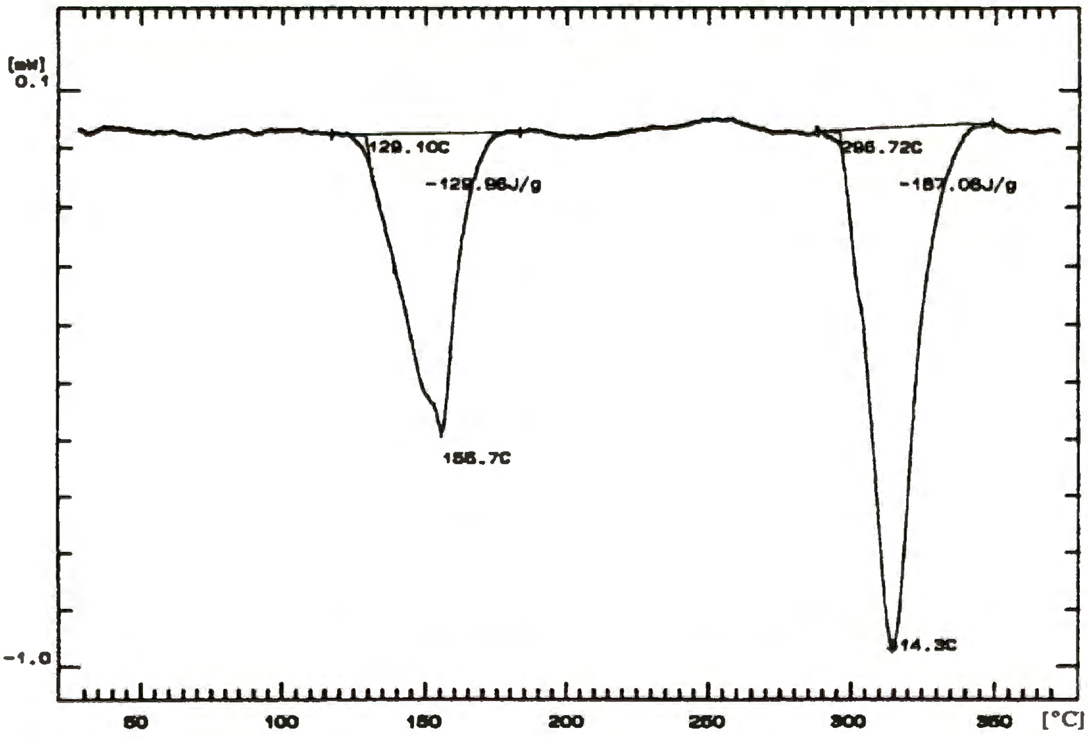
In figure 4.18 tot 4.20 word die DSC-termogramme van beta-siklodekstrien, 'n fisiese mengsel van nifedipien en beta-siklodekstrien en die insluitingskompleks daarvan weergegee.



Figuur 4.18: Die DSC-termogram van beta-siklodekstrien.



Figuur 4.19: Die DSC-termogram van 'n fisiese-mengsel van nifedipien en beta-siklodekstrien.



Figuur 4.20: Die DSC-termogram van 'n nifedipien-beta-siklodekstrienkompleks.

Uit figuur 4.18 kan afgelei word dat die termogram van beta-siklodekstrien duidelike endotermiese pieke by 132,7 en 323,9 °C toon. By die termogram van die fisiese mengsel (figuur 4.19) van nifedipien en beta-siklodekstrien het die endotermiese piek van beta-siklodekstrien verskuif na 165,7 en 331,8 °C terwyl daar ook eksotermiese pieke by 304,1 en 314,9 °C voorkom wat moontlike afbraakprodukte van onderskeidelik nifedipien en beta-siklodekstrien verteenwoordig. Geen endotermiese piek van nifedipien word waargeneem nie, maar dit word waarskynlik verskans deur die endotermiese piek van beta-siklodekstrien in die gebied van 145 tot 190 °C. Die eksotermiese piek by 304,1 °C is egter aanduidend van die afbraakproduk van nifedipien by hierdie temperatuur, en stem ooreen met die eksotermiese piek (303,6 °C) wat volgens figuur 4.14 verkry is.

By figuur 4.20 val dit op dat die kenmerkende piek van nifedipien by 173,0 °C verdwyn het terwyl die endotermiese pieke van beta-siklodekstrien verskuif het na 155,7 en 314,3 °C. Hierdie resultate is, net soos in die geval van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien, sterk aanduidend van assosiasie of kompleksvorming tussen nifedipien en beta-siklodekstrien.

Alhoewel daar geen kwantitatiewe resultate uit bogenoemde termogramme verkry kan word nie, is dit egter duidelik uit die verskuiwings van die endotermiese pieke van beide 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien dat daar wel interaksie met nifedipien in beide fisiese mengsels en gevriesdroogde komplekse voorgekom het.

4.5.5 Gevolgtrekking

Die resultate van hierdie ondersoek met differensiële skanderingskalorimetrie het aangetoon dat daar verskuiwings in die endotermiese pieke van beide 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien voorkom wanneer dit in kombinasie met nifedipien, óf in 'n fisiese mengsel óf in 'n gevriesdroogde produk termies geanaliseer word. Die endotermiese piek van nifedipien het telkens by die gevriesdroogde produk met beide 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien verdwyn. Hierdie resultate gee sterk steun aan kompleksvorming tussen nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien maar verskaf geen kwantitatiewe gegewens ten opsigte van kompleksvorming nie.

4.6 X-STRAALPOEIERDIFFRAKTOMETRIE

4.6.1 Inleiding

X-straalpoeierdiffraktometrie is 'n metode wat dikwels, soos in die literatuur aangetoon word, gebruik word om as bevestiging van kompleksvorming tussen 'n verskeidenheid geneesmiddels en siklodekstriene te dien. Wanneer die diffraktogram van die kompleks verskil van die diffraktogram van ongekomplekseerde geneesmiddel of siklodekstrien, kan aanvaar word dat kompleksvorming plaasgevind het *(Jones et al., 1984:219)*. In hoofstuk 1 (1.5.8.1) is hierdie metode reeds meer volledig bespreek.

4.6.2 Doelstelling

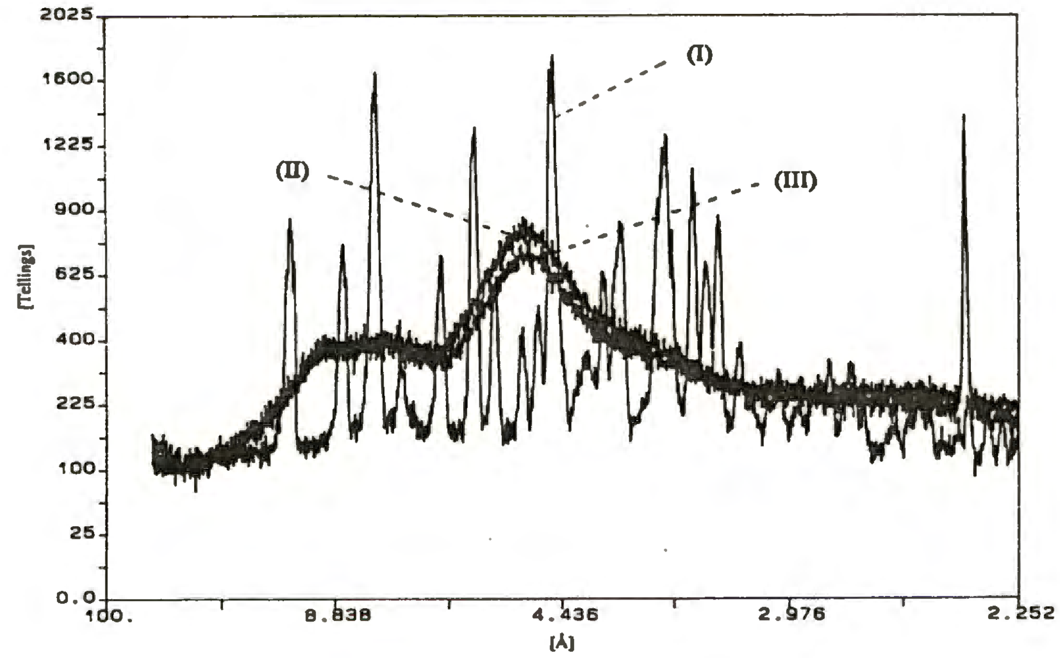
Die doel van hierdie ondersoek was om ondersoek in te stel na die moontlike aanwending van X-straalpoeierdiffraktometrie as bevestiging van kompleksvorming tussen nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien.

4.6.3 Metode

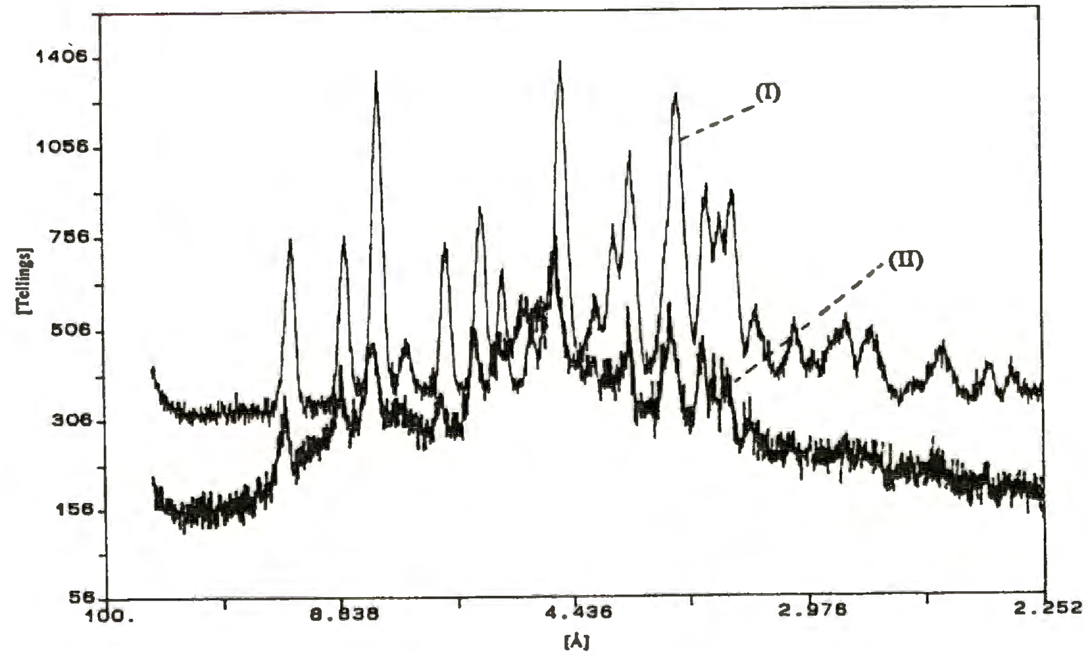
Soliede komplekse van nifedipien met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien is berei soos onder 4.3.3 beskryf, terwyl die fisiese mengsels berei is soos onder 4.5.3 beskryf. Diffraktogramme is getrek met 'n Phillips PW 3710-X-straalpoeierdiffraktometer teen 'n skanderingstempo van 2° 2 θ/min.

4.6.4 Resultate en bespreking

In figuur 4.21 word die X-straalpoeierdiffraktogramme van nifedipien, 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien, en die insluitingskompleks daarvan weergegee, en in figuur 4.22 die X-straalpoeierdiffraktogramme van nifedipien (gevriesdroog) en 'n fisiese mengsel (1:1) van nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien.



Figuur 4.21: Die X-straalpoeierdiffraktogramme van (I) nifedipien, (II) 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien (III) nifedipien-2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkompleks.



Figuur 4.22: Die X-straalpoeierdiffraktogramme van (I) nifedipien (gevriesdroog) en (II) 'n fisiese mengsel (1:1) van nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien.

Uit figuur 4.21 blyk die amorfe karakter van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien duidelik. Dit is ook duidelik dat daar totale veranderinge in die diffraksiepatroon van

nifedipien tydens kompleksvorming voorkom. Daar is 'n groot ooreenstemming tussen die diffraktogram van die kompleks en dié van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien deurdat die diffraksiepatrone van nifedipien verdwyn het. Verskeie navorsers *(Helm et al., 1991:202; Jones et al., 1984:219; Kurozumi et al., 1975:3062)* het aangetoon dat 'n verdwyning van die geneesmiddelpieke op die X-straalpoeierdiffraksiepatrone van die kompleks aandui dat volledige kompleksering plaasgevind het.

Figuur 4.22 toon aan dat nifedipien se kristalstruktuur nie beïnvloed word deur vriesdroging nie. Dit is ook duidelik uit die diffraktogram van die fisiese mengsel dat beide nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien teenwoordig is.

4.6.5 Gevolgtrekking

Die resultate van hierdie ondersoek toon aan dat die diffraksiepatroon van nifedipien verdwyn na kompleksering met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien. Op grond van soortgelyke resultate wat in die literatuur opgeteken is kan daar aanvaar word dat kompleksvorming tussen nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien wél plaasgevind het.

4.7 SAMEVATTING

Veranderinge in die ultravioletspektraaleienskappe, massaspektra, infrarooispektra, DSC-termogramme en X-straalpoeierdiffraksiepatrone van nifedipien is gebruik om die insluitingskompleks van nifedipien met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien te beskryf en aan te toon. Beta-siklodekstrien is ook in sommige van hierdie ondersoeke gebruik en 'n vergelykende studie met betrekking tot 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien is daaruit gemaak.

Ultravioletspektrofotometrie, massaspektrometrie, infrarooispektrofotometrie, differensiële skanderingskalorimetrie en X-straal poeierdiffraktometrie is van die bekendste metodes wat gebruik word om kompleksvorming tussen geneesmiddels en siklodekstriene aan te toon. Na evaluering van hierdie metodes ten opsigte van bruikbaarheid om aanduidend te wees vir kompleksvorming van nifedipien met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien kan die volgende gevolgtrekkings gemaak word:

In 'n ondersoek na die invloed van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien op die spektraaleienskappe van nifedipien met ultraviolet-spektrofotometrie, is veranderinge in die absorpsiespektra van nifedipien waargeneem wat afhanklik was van die konsentrasie spesifieke siklodekstrien. Hierdie veranderinge

is aanduidend van kompleksvorming tussen nifedipien en die spesifieke siklodekstrien wat gebruik is, en kan aan die gedeeltelike afskerming van spesifieke elektrone in die nifedipienmolekule binne die siklodekstrienholte toegeskryf word.

Massaspektrometrie is 'n baie bruikbare metode om komplekse tussen nifedipien en beta-siklodekstrien aan te toon. Aangesien 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien uit duisende verskillende gesubstitueerde beta-siklodekstrienmolekules bestaan, en dit nie moontlik is om die werklike molekulêre massa van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en komplekse daarvan te bepaal nie, is hierdie metode en nuwere metodes soos elektronsproei-massaspektrometrie nie geskik vir aantoning van kompleksvorming tussen nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien nie.

Infrarooispektrofotometrie is nie 'n bruikbare metode om kompleksvorming tussen nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien of beta-siklodekstrien aan te toon nie, alhoewel die metode in baie gevalle kompleksvorming tussen ander geneesmiddels en die siklodekstriene kan aantoon. Die rede hiervoor is dat die kenmerkende bande van nifedipien deur bande van beide 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien verskans word.

Differensiële skanderingskalorimetrie (DSC) het verskuiwings in die endotermiese pieke van beide 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en beta-siklodekstrien, wanneer dit met nifedipien gekomplekseer is, aangetoon. Hierdie verskuiwings dui op kompleksvorming en hierdie metode is, soos ook telkens in die literatuur na vore kom, geskik om kompleksvorming aan te toon.

X-straalpoeierdiffraktometrie is ook 'n bruikbare metode om kompleksvorming tussen nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien aan te toon. Die diffraksiepatroon van nifedipien het verdwyn tydens kompleksvorming met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien en dui op insluiting van die nifedipienmolekule in die holte van 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien.

Die resultate van hierdie ondersoek, tesame met die dramatiese verhoging in die wateroplosbaarheid van nifedipien na kompleksering met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien toon duidelik aan dat molekulêre interaksie tussen nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien bestaan.

'n Logiese opvolg van hierdie ondersoek sou wees om met behulp van byvoorbeeld KMR en rekenaargesteunde modellering, hierdie molekulêre interaksie te kwantifiseer en visueel voor te stel. Hierdie aspek is nie verder ondersoek nie vanweë die omvang van sodanige ondersoeke.

OPSOMMING

Die siklodekstriene en hulle derivate het unieke ringvormige strukture wat hulle geskik maak vir die vorming van insluitingskomplekse met 'n verskeidenheid geneesmiddels. Hulle word veral in die farmasie gebruik om die biobeskikbaarheid, oplosbaarheid en stabiliteit van geneesmiddels te verhoog. Die derivate van beta-siklodekstrien, veral 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien, beskik oor beter oplosbaarheids-eienskappe as die natuurlike siklodekstriene en is hierbenewens ook minder nefrotoksies en hemolities. Hulle hou dus groot potensiaal in vir die formulering van geneesmiddels in parenterale doseervorme. Verskeie metodes vir die bereiding van geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse word in die literatuur beskryf, waaronder die vloeistof-vloeistofmetode die geskikste metode blyk te wees. Vries- en sproeidroging word algemeen gebruik om geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse te isoleer vir identifikasie, analise en heroplossing. Verskeie metodes word ook gebruik vir die bestudering en beskrywing van die eienskappe van geneesmiddel-siklodekstrienkomplekse waaronder X-straalpoeierdiffraksie, fase-oplosbaarheidsdiagramme, kernmagnetiese resonansspektrometrie, en differensiële skanderingskalorimetrie die bekendste is.

Nifedipien, 'n kalsiumkanaal-antagonis, is 'n tipiese geneesmiddel wat swak wateroplosbaar is, en vinnige fotochemiese afbraak ondergaan. Hierdie eienskappe van nifedipien maak dit prakties onmoontlik om 'n stabiele waterige oplossing van nifedipien vir inspuiting te formuleer. Die voordele wat 'n parenterale doseervorm kan inhou, is van groot waarde veral ten opsigte van die biobeskikbaarheid en tempo van werking en die verspreiding daarvan in gehospitaliseerde pasiënte.

In hierdie ondersoek is daar 'n insluitingskompleks van nifedipien met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien berei, en die invloed daarvan op die oplosbaarheid en stabiliteit van nifedipien ondersoek. Uit die ondersoek blyk dit dat die wateroplosbaarheid van nifedipien dramaties verhoog is, naamlik van ongeveer 6,1 tot 261,4 μg/ml (0,0176 M tot 0,7548 M) by 'n 0,3846 M 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrienkonsentrasie. Op grond van hierdie resultate is dit wél moontlik om 'n waterige inspuiting met 'n dosis van 1 mg/5 ml te formuleer indien dit teen fotochemiese afbraak gestabiliseer kan word.

'n Stabiliteitsondersoek in deursigtige en amberglasampulle, onder verskillende ligtoestande is uitgevoer. Daar is gevind dat 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien nie die stabiliteit van nifedipien in deursigtige glasampulle verhoog nie, maar dat daar wél 'n mate van verhoogde stabiliteit van nifedipien in amberglasampulle voorkom.

Veranderinge in die ultravioletspektraaleienskappe, massaspektra, infrarooispektra, DSC-termogramme en X-straal poeierdiffraksiepatrone van nifedipien is gebruik om die insluitingskompleks van nifedipien met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien te beskryf en aan te toon. Die resultate van hierdie ondersoek, tesame met die dramatiese verhoging in die wateroplosbaarheid van nifedipien na kompleksering met 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien toon duidelik aan dat molekulêre interaksie tussen nifedipien en 2-hidroksiepropiel-beta-siklodekstrien bestaan.

SUMMARY

Cyclodextrins and their derivatives have unique circular structures which renders them suitable for the formation of inclusion complexes with a variety of drugs. They are especially used in pharmaceutics to increase the bioavailability, aqueous solubility and stability of drugs. Chemically modified beta-cyclodextrins are molecular encapsulation agents with considerably increased water solubility compared to the parent (natural) cyclodextrin. The pharmaceutical acceptance and application of cyclodextrin derivatives as new parenteral drug carriers are decisively focussed on 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin owing to its biological compatibility and lack of toxicity. Various ways for the preparation of cyclodextrin complexes are described in literature of which the liquid-liquid complexation seems to be the most suitable complexation method. Freeze and spray drying are the two main methods used to isolate cyclodextrin complexes in powder form for analytical purposes. Various methods are also employed to study and describe some of the characteristics of cyclodextrin complexes, of which X-ray powder diffraction, phase-solubility studies, NMR and DSC's are the most renowned.

Nifedipine is a calcium antagonist having the familiar negative inotropic and vasodilative effects. It's extreme lipophilicity leads to a number of undesirable physicochemical properties, such as very poor solubility in water. Difficulty also results from the sensitivity of dilute solutions to photooxidation. In this respect, nifedipine appears to be an ideal model drug for the investigation of the influence and usefulness of 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin within the preclinical development of a parenteral formulation.

In this study an inclusion complex of nifedipine with 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin was prepared and the influence of complexation on the water solubility and stability of nifedipine was investigated. It seemed that the water solubility of nifedipine was dramatically increased from 6,1 to 261,4 μg/ml (0,01763 M to 0,75475 M) at a 0,3846 M 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin concentration. Judging from these results, it is possible to formulate an aqueous injection of nifedipine with a concentration of 1 mg/5 ml if it is protected against photochemical degradation.

A stability test in transparent and amber glassampules was conducted in different light conditions. It was noted that 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin did not improve the stability of nifedipine in transparent glassampules, but to a certain extent it was improved in amber glass ampoules.

Changes in the ultraviolet absorption spectra, mass spectra, infrared spectra, DSC-thermograms and X-ray powder diffraction patterns of nifedipine were utilized to describe the inclusion complexation of nifedipine with 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. The results of this investigation, together with the dramatic increase in water solubility of nifedipine, indicates clearly that molecular interaction with 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin exists.

OPLOSBAARHEID STUDIE	Data na 24 uur (DAG 1)		Data na 72 uur (DAG 3)		Data na 120 uur (DAG 5)		Data na 192 uur (DAG 8)	
Molêre kons. Siklodekstrien	Kons. Nifedipien (μg/ml)	Kons. Nifedipien (Molêr)	Kons. Nifedipien (μg/ml)	Kons. Nifedipien (Molêr)	Kons. Nifedipien (μg/ml)	Kons. Nifedipien (Molêr)	Kons. Nifedipien (μg/ml)	Kons. Nifedipien (Molêr)
0.0000	8.925	0.02577	5.000	0.01444	5.250	0.01516	5.250	0.01516
0.0154	12.400	0.03581	11.225	0.03241	11.175	0.03227	11.325	0.03270
0.0308	18.225	0.05263	17.800	0.05140	18.550	0.05357	19.175	0.05537
0.0385	23.325	0.06735	20.550	0.05934	21.400	0.06180	21.900	0.06324
0.0462	24.825	0.07169	23.825	0.06880	25.300	0.07306	27.100	0.07826
0.0615	34.225	0.09883	30.825	0.08901	32.075	0.09262	33.800	0.09760
0.0769	41.550	0.11998	39.075	0.11284	40.525	0.11702	42.875	0.12381
0.0923	47.025	0.13579	45.550	0.13153	49.125	0.14186	50.000	0.14438
0.1077	55.250	0.15954	53.750	0.15521	57.000	0.16460	57.500	0.16604
0.1154	57.500	0.16604	56.250	0.16243	61.750	0.17831	62.500	0.18048
0.1231	63.750	0.18409	63.500	0.18337	66.000	0.19059	66.750	0.19275
0.1538	81.500	0.23535	79.500	0.22957	82.750	0.23895	85.500	0.24690
0.1923	108.750	0.31403	104.000	0.30032	111.475	0.32190	108.400	0.31302
0.2308	126.275	0.36464	128.350	0.37063	135.025	0.38991	132.626	0.38298
0.2692	156.550	0.45206	158.250	0.45697	162.575	0.46946	164.250	0.47430
0.3077	186.400	0.53826	182.325	0.52649	196.350	0.56699	193.850	0.55977
0.3461	218.750	0.63168	218.775	0.63175	230.850	0.66662	230.900	0.66676
0.3846	262.000	0.75657	251.700	0.72683	262.000	0.75657	269.775	0.77902

BIBLIOGRAFIE

AHFS
kyk
AMERICAN HOSPITAL FORMULARY SERVICE

AHMED, S.M., ABDEL-RAHMAN, A.A., SALEH, S.I. & AHMED, M.O. 1993. Comparative dissolution characteristics of bropirimine-beta-cyclodextrin inclusion complex and its solid dispersion with PEG 6000. ***International journal of pharmaceutics***, 96:5-11.

ALBERS, E. & MÜLLER, B.W. 1992. Complexation of steroid hormones with cyclodextrin derivatives: substituent effects of the guest molecule on solubility and stability in aqueous solution. ***Journal of pharmaceutical sciences***, 81:756-761.

ALI, S.L. 1989. Nifedipine. (***In*** Florey, K., ***ed.*** Analytical profiles of drug substances. Vol.18. New York : Academic Press. p.221-288.)

AL-MESHAL, M.A., EL-MAHROOK, G.M., AL-ANGARY, A.A. & GOUDA, M.W. 1993. Interaction of carbamazepine with cyclodextrins. ***Pharmazeutisch Industrie***, 55:1129-1132.

AMERICAN HOSPITAL FORMULARY SERVICE. 1988. Bethesda : American Society of Hospital Pharmacists. 2222p.

ANDERSEN, F.M. & BUNDGAARD, H. 1984. Inclusion complexation of metronidazole benzoate with beta-cyclodextrin and its depression of anhydrate-hydrate transition in aqueous suspensions. ***International journal of pharmaceutics,*** 19:189-197.

ARIMA, H., KONDO, T., IRIE, T. & UEKAMA, K. 1992. Enhanced rectal absorption and reduced local irritation of the anti-inflammatory drug ethyl 4-biphenylylacetate in rats by complexation with water-soluble beta-cyclodextrin derivatives and formulation as oleaginous suppository. ***Journal of pharmaceutical sciences,*** 81:1119-1125.

BACA, M. & KENT, S.B.H. 1992. Direct observation of a ternary complex between the dimeric enzyme HIV-1 protease and a substrate-based inhibitor. ***Journal of the American Chemical Society***, 114:3992-3993.

BACKENSFELD, T., MÜLLER, B.W. & KOLTER, K. 1991. Interaction of NSA with cyclodextrin derivatives. ***International journal of pharmaceutics***, 74:85-93.

BAEYENS, W.R.G. 1988. Cyclodextrins: spectroscopic, pharmaceutical and chromatographic applications. ***Anales de la Real Academia de Farmacia***, 54:698-714.

BAMMI, R.K., NAYAK, V.G., BHATE, V.R., DHUMAL, S.N., PURANDARE, S.M., DIKSHIT, P.M. & GAITONDE, C.D. 1991. Analysis of nifedipine and related compounds in soft geletine capsules by liquid chromatography. ***Drug development and industrial pharmacy***, 17:2239-2244.

BECIREVIC, M. & SENJKOVIC, R. 1992. Improvement of *in vitro* dissolution characteristic of meclozine hydrochloride by cyclodextrin complexation. ***Pharmazie***, 47:202-204.

BEKERS, O., BEIJNEN, J.H., GROOT BRAMEL, E.H., OTAGIRI, M., BULT, A. & UNDERBERG, W.J.M. 1989. Stabilization of mitomycins on complexation with cyclodextrins in aqueous acidic media. ***International journal of pharmaceutics***, 52:239-248.

BETTINETTI, G., MELANI, F., MURA, P., MONNANNI, R. & GIORDANO, F. 1991. Carbon-13 nuclear magnetic resonance study of naproxen interaction with cyclodextrins in solution. ***Journal of pharmaceutical sciences***, 80:1162-1170.

BREWSTER, M.E., ESTES, K.S., LOFTSSON, T., PERCHALSKI, R., DERENDORF, H., MULLERSMAN, G. & BODOR, N. 1988. Improved delivery through biological membranes, XXXI: solubilization and stabilization of an estradiol chemical delivery system by modified beta-cyclodextrins. ***Journal of pharmaceutical sciences***, 77:981-985.

BREWSTER, M.E., HORA, M.S., SIMPKINS, J.W. & BODOR, N. 1991. Use of 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin as a solubilizing and stabilizing excipient for protein drugs. ***Pharmaceutical research***, 8:792-795.

BREWSTER, M.E., SIMPKINS, J.W., HORA, M.S., STERN, W.C. & BODOR, N. 1989. The potencial use of cyclodextrins in parenteral formulations. ***Journal of parenteral science and technology***, 43:231-240.

CAMILLERI, P., HASKINS, N.J., NEW, A.P. & SAUNDERS, M.R. 1993. Analysing the complexation of amino acids and peptides with beta-cyclodextrin using electrospray ionization mass spectrometry. ***Rapid communications in mass spectrometry,*** 7:949-952.

CASTELLI, F., PUGLISI, G., GIAMMONA, G. & VENTURA, C.A. 1992. Effect of the complexation of some nonsteroidal anti-inflammatory drugs with beta-cyclodextrin on the interaction with phosphatidylcholine liposomes. ***International journal of pharmaceutics***, 88:1-8.

CHOI, H., KNEVEL, A.M. & CHANG, C. 1992. Molecular complexation: beta-cyclodextrin and benzaldehyde inclusion complex. ***Pharmaceutical research***, 9:690-693.

CHOW, D. & KARARA, A.H. 1986. Characterization, dissolution and bioavailability in rats of ibuprofen-beta-cyclodextrin complex system. ***International journal of pharmaceutics***, 28:95-101.

COHEN, J. & LACH, J.L. 1963. Interaction of pharmaceuticals with Schardinger dextrins I. ***Journal of pharmaceutical sciences***, 52:132-136.

CONNORS, K.A., LIN, S. & WONG, A.B. 1982. Potentiometric study of molecular complexes of weak acids and bases applied to complexes of alpha-cyclodextrin with para-substituted benzoic acids. ***Journal of pharmaceutical sciences***, 71:217-222.

CORRIGAN, O.I. & STANLEY, C.T. 1982. Mechanism of drug dissolution rate enhancement from beta-cyclodextrin-drug systems. ***Journal of pharmacy and pharmacology***, 34:621-626.

CRAMER, F. 1987. Introduction. (***In*** Duchêne, D., ***ed.*** Cyclodextrins and their industrial uses. Paris : Editions de Santé. p.11-16.)

CRAMER, F., SAENGER, W. & SRATZ, H.-Ch. 1967. Inclusion compounds. XIX. The formation of inclusion compounds of alpha-cyclodextrin in aqueous solutions. Thermodynamics and kinetics. ***Journal of the american chemical society***, 89:14-20.

CSS: STATISTIKA (vol 1, Quick CSS). 1986-1991. Statsoft, Inc. Tulsa, Okla.

DIBBERN, H.W. 1985. UV and IR spectra of some important drugs. Aulendorf : Editio Cantor, 240p.

DIETZEL, K., ESTES, K.S., BREWSTER, M.E., BODOR, N.S. & DERENDORF, H. 1990. The use of 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin as a vehicle for intravenous administration of dexamethasone in dogs. ***International journal of pharmaceutics***, 59:225-230.

DOKLADALOVA, J., TYKAL, J.A., COCO, S.J., DURKEE, P.E., QUERCIA, G.T. & KORST, J.J. 1982. Occurrence and measurement of nifedipine and its nitropyridine derivative in human blood plasma. ***Journal of chromatography***, 231:451-458.

DUCHêNE, D., VAUTION, C. & GLOMOT, F. 1986. Cyclodextrins, their value in pharmaceutical technology. ***Drug development and industrial pharmacy***, 12:2193-2215.

DUCHêNE, D., VAUTION, C. & GLOMOT, F. 1990. Cyclodextrins, their value in pharmaceutical technology. (*In* Rubinstein, M.H., *ed.* Pharmaceutical technology : drug stability. New York : Wiley. p. 9-23.)

DUCHêNE, D. & WOUESSIDJEWE, D. 1990a. The current state of beta-cyclodextrin in pharmaceutics. ***Acta pharmaceutica technologica***, 36:1-6.

DUCHêNE, D. & WOUESSIDJEWE, D. 1990b. Pharmaceutical uses of cyclodextrins and derivatives. ***Drug development and industrial pharmacy***, 16:2487-2499.

DUCHêNE, D. & WOUESSIDJEWE, D. 1990c. Physicochemical characteristics and pharmaceutical uses of cyclodextrin derivatives : Part II. ***Pharmaceutical technology***, 14:22-30.

DUHM, B., MAUL, W., MEDENWALD, H., PATZSCHKE, K. & WEGNER, L.A. 1972. Tierexperimentelle Untersuchungen zur Pharmakokinetik und Biotransformation von radioaktiv markiertem 4-(2'-Nitrophenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarbonsaure-dimethylester. ***Arzneimittel-Forschung***, 22:42-53.

EBEL, S., SCHÜTZ, H. & HORNITSCHEK, A. 1978. Untersuchungen zur Analytik von Nifedipin unter besonderer Berücksichtigung der bei Lichtexposition entstehenden Umwandlungsprodukte. ***Arzneimittel-Forschung***, 28:2188-2193.

EL-GENDY, G.A. & EL-GENDY, M.A. 1993. Heptakis (2,6-di-O-methyl)-beta-cyclodextrin complexation, with glutethimide. ***European journal of pharmacy and biopharmaceutics***, 39:249-254.

ERDEN, N. & CELEBI, N. 1988. A study of the inclusion complex of naproxen with beta-cyclodextrin. ***International journal of pharmaceutics***, 48:83-89.

FOSTER, T.S., HAMANN, S.R., RICHARDS, V.R., BRYANT, P.J., GRAVES, D.A. & McALLISTER, R.G. 1983. Nifedipine kinetics and bioavailability after single intravenous and oral doses in normal subjects. ***Journal of clinical pharmacology***, 23:161-170.

FRANK, S.G. 1975. Inclusion compounds. ***Journal of pharmaceutical sciences***, 64:1585-1601.

FRIJLINK, H.W., VISSER, J. & DRENTH, B.F.H. 1987. Determination of cyclodextrins in biological fluids by high-performance liquid chromatography with negative colorimetric detection using post-column complexation with phenolphthalein. ***Journal of chromatography***, 415:325-333.

GANEM, B., LI, Y. & HENION, J.D. 1991. Observation of noncovalent enzyme-substrate and enzyme-product complexes by ion-spray mass spectrometry. ***Journal of the American Chemical Society***, 1991:7818-7819.

HAMILTON, J.A. & CHEN, L. 1988. Crystal structures of inclusion complexes of beta-cyclodextrin with (S)-(+)- and (R)-(-)-fenoprofen. ***Journal of the American Chemical Society***, 110:4379-4391.

HELM, H., BACKENSFELD, T., MÜLLER, B.W. & WAALER, T. 1991. The preparation and characterization of digoxin-beta-cyclodextrin and 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin complex. ***Acta pharmaceutica Nordica***, 3:199-204.

HIGUCHI, T. & CONNORS, K.A. 1965. Phase solubility techniques. (***In*** Reilley, C.N., ***ed***. Advances in analytical chemistry and instrumentation. Vol.4. New York : Wiley. p. 117-212.)

HIGUCHI, T. & LACH, J.L. 1954. Investigation of some complexes formed in solution by caffeine. ***Journal of the American Pharmaceutical Association***, 43:349-354.

HIGUCHI, T., SASAKI, H. & SADO, T. 1975. Determination of a new cerebral vasodilator 2,6-dimethyl-4-(3-nitrophenyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylic acid 3-2-(N-benzyl-N-methylamino)-ethyl ester 5-methyl ester hydrochloride (YC-93) in plasma by electron capture gas chromatography. ***Journal of chromatography***, 110:301-307.

HIGUCHI, T. & SHIOBARA, Y. 1978. Quantitative determination of nifedipine in human plasma by selected ion monitoring. ***Biomedical mass spectrometry***, 5:220-223.

HIRAYAMA, F., KURIHARA, M. & UEKAMA, K. 1984. Improving the aqueous stability of prostaglandin E_2 and prostaglandin A_2 by inclusion complexation with methylated beta-cyclodextrins. ***Chemical and pharmaceutical bulletin***, 32:4237-4240.

HIRAYAMA, F. & UEKAMA, K. 1987. Methods of investigating and preparing inclusion compounds. (***In*** Duchêne, D., ***ed***. Cyclodextrins and their industrial uses. Paris : Editions de Santé. p.131-173)

HORSTER, F.A. 1975. Pharmacokinetics of nifedipine-^{14}C in man. 2nd International Adalat® symposium, Berlin, Heidelberg. New York : Springer.

HORSTER, F.A., DUHM, B., MAUL, W., MEDENWALD, H., PATZSCHKE, K. & WEGNER, L.A. 1972. Klinische Untersuchungen zur Pharmakokinetik von radioaktiv markiertem 4-(2'nitrophenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarbonsaüredimethyl-ester. ***Arzneimittel-Forschung***, 22:330-334.

IKEDA, K., UEKAMA, K. & OTAGIRI, M. 1975. Inclusion complexes of beta-cyclodextrin with antiinflammatory drugs fenamates in aqueous solution. ***Chemical and pharmaceutical bulletin***, 23:201-208.

IMAI, T., OTAGIRI, M., SAITO, H. & UEKAMA, K. 1988. Inclusion mode of flurbiprofen with beta-cyclodextrin and heptakis(2,3,6-tri-o-methyl)-beta-cyclodextrin, and improvements of some pharmaceutical properties of flurbiprofen by complexation. ***Chemical and pharmaceutical bulletin***, 36:354-359.

IRIE, T., FUKUNAGA, K., YOSHIDA, A., UEKAMA, K., FALES, H.M. & PITHA, J. 1988. Amorphous water-soluble cyclodextrin derivatives: 2-hydroxyethyl, 3-hydroxypropyl, 2-hydroxyisobutyl, and carboxamidomethyl derivatives of beta-cyclodextrin. ***Pharmaceutical research***, 5:713-717.

IRWIN, W.J. 1990. Kinetics of drug decomposition : basic computer solutions. New York : Elsevier. 247p.

JAIN, N.K., PATEL, V.V. & TANEJA, L.N. 1988. Formulation and evaluation of nifedipine injection. ***Pharmazie***, 43:254-255.

JAKOBSEN, P., LEDERBALLE PEDERSEN, O. & MIKKELSEN, E. 1979. Gas chromatographic determination of nifedipine and one of its metabolites using electron capture detection. ***Journal of chromatography***, 162:81-87.

JONES, S.P., GRANT, D.J.W., HADGRAFT, J. & PARR, G.D. 1984. Cyclodextrins in the pharmaceutical sciences: Part 1. Preparation, structure and properties of cyclodextrins and cyclodextrin inclusion compounds. ***Acta pharmaceutica technologica***, 30:213-223.

KATA, M. & KEDVESSY, G. 1987. Increasing the solubility characteristics of pharmaca with cyclodextrins. ***Pharmazeutische Industrie***, 49:98-100.

KLEINBLOESEM, C.H., VAN BRUMMELEN, P., VAN DE LINDE, J.A., VOOGD, P.Y. & BREIMER, D.D. 1984. Nifedipine : kinetics and dynamics in healthy subjects. ***Clinical pharmacology and therapeutics***, 35:742-749.

KONDO, S., KUCHIKI, A., YAMAMOTO, K., AKIMOTO, K. & TAKAHASHI, K. 1980. Identification of nifedipine metabolites and their determination by gas chromatography. ***Chemical and pharmaceutical bulletin***, 28:1-7.

KRENN, M., GAMCSIK, M.P., VOGELSANG, G.B., COLVIN, O.M. & LEONG, K.W. 1992. Improvements in solubility and stability of thalidomide upon complexation with hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. ***Journal of pharmaceutical sciences***, 81:685-689.

KUHLMANN, J., GRAEFE, K.H., RAMSCH, K.D. & ZIEGLER, R. 1986. Clinical pharmacology in treatment of cardiovascular diseases by Adalat®. (***In*** Krebs, R., ***ed.*** Stuttgart, NY : Schattauer Verlag.)

KUROZUMI, M., NAMBU, N. & NAGAI, T. 1975. Inclusion compounds of non-steroidal antiinflammatory and other slightly water soluble drugs with alpha- and beta-cyclodextrins in powdered form. ***Chemical and pharmaceutical bulletin***, 23:3062-3068.

LEDERBALLE PEDERSEN, O., MIKKELSEN, E. & ANDERSSON, K.E. 1978. Effects of extracellular calcium on potassium and noradrenaline induced contractions in the aorta of spontaneously hypertensive rats - increased sensitivity to nifedipine. ***Acta pharmacologica et toxicologica***, 43:137-144.

LESKO, L.J., MILLER, A.K., YEAGER, R.L. & CHATTERJI, D.C. 1983. Rapid GC method for quantitation of nifedipine in serum using electron capture detection. ***Journal of chromatographic science***, 21:415-419.

LIN, S.Y., KAO, Y.H. & YANG, J.C. 1988. Grinding effect on some pharmaceutical properties of drugs by adding beta-cyclodextrin. ***Drug development and industrial pharmacy***, 14:99-118.

LOFTSSON, T., FRIDRIKSDOTTIR, H., OLAFSDOTTIR, B.J. & GUDMUNDSSON, O. 1991. Solubilization and stabilization of drugs through cyclodextrin complexation. ***Acta pharmaceutica Nordica***, 3:215-217.

LOVE, S.J., YEH, J., KANN, J., LEVIT, M.J. & REITBERG, D.P. 1985. Effect of mode of administration on nifedipine pharmacokinetics. ***Clinical pharmacology and therapeutics***, 37:209-211.

MANNHOLD, R., RODENKIRCHEN, R., BAYER, R. & HAAS, W. 1984. The importance of drug ionization for the action of calcium-antagonists and related compounds. ***Arzneimittel-Forschung***, 34:407-409.

MARTIN, S.A., COSTELLO, C.E. & BIEMANN, K. The use of xenon as bombardment gas in VAB. 1982. ***Analytical chemistry***, 54:2362-2368.

MARTINDALE: the extra pharmacopoeia. 29th ed. 1989. London : The Pharmaceutical Press. 1896p.

MEDENWALD, H., SCHLOSSMANN, K. & WÜNSCHE, C. 1972. Strukturaufklärung der renalen Ausscheidungsprodukte von 4-(2'-Nitrophenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester. ***Arzneimittel-Forschung***, 22:53-56.

MERCK INDEX. 11th ed. 1989. Rahway, N.J. : Merck. 1606p.

MEYER, H., BOSSERT, F. & WEHINGER, E. 1986. Chemistry of nifedipine in treatment of cardiovascular diseases by Adalat®. (***In*** Krebs, R., ***ed.*** Stuttgart, NY : Schattauer Verlag.)

MÜLLER, B.W. & ALBERS, E. 1992. Complexation of dihydropyridine derivatives with cyclodextrins and 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin in solution. ***International journal of pharmaceutics***, 79:273-288.

NAKAI, Y., YAMAMOTO, K., TERADA, K. & AKIMOTO, K. 1984. The dispersed states of medicinal molecules in ground mixtures with alpha- or beta-cyclodextrin. ***Chemical and pharmaceutical bulletin***, 32:685-691.

NAKAI, Y., YAMAMOTO, K., TERADA, K., HORIBE, H. & OZAWA, K. 1983. Interaction of tri-o-methyl-beta-cyclodextrin with drugs, II: enhanced bioavailability of ketoprofen in rats when administered with tri-o-methyl-beta-cyclodextrin. ***Chemical and pharmaceutical bulletin***, 31:3745-3747.

NAKAI, Y., YAMAMOTO, K., TERADA, K. & WATANABE, D. 1987. New methods for preparing cyclodextrin incusion compounds I : heating in a sealed container. ***Chemical and pharmaceutical bulletin***, 35:4609-4615.

NAKASHIMA, T., INOKI, M. & NAKANISHI, Y. 1984. Nifedipine serum concentration: effects upon blood pressure and heart rate in normotensive volunteers. ***European journal of drug metabolism and pharmacokinetics***, 9:73-78.

NAMBU, N., SHIMODA, M., TAKAHASHI, Y., UEDA, H. & NAGAI, T. 1978. Bioavailability of powdered inclusion compounds of nonsteroidal antiinflammatory drugs with beta-cyclodextrin in rabbits and dogs. ***Chemical and pharmaceutical bulletin***, 26:2952-2956.

NISHIOKA, F., NAKANISHI, I., FUJIWARA, T. & TOMITA, K. 1984. The crystal and molecular structure of the beta-cyclodextrin inclusion complex with aspirin and salicylic acid. ***Journal of inclusion phenomena***, 21:701-714.

OTAGIRI, M., FOKKENS, J.G., HARDEE, G.E. & PERRIN, J.H. 1978. The interaction of some coumarin anticoagulants with beta-cyclodextrin in phosphate buffers. ***Pharmaceutica acta helvetiae***, 53:241-247.

OTERO-ESPINAR, F.J., ANGUIANO-IGEA, S., GARCIA-GONZALEZ, N., VILA-JATO, J.L. & BLANCO-MENDEZ, J. 1991. Oral bioavailability of naproxen-beta-cyclodextrin inclusion compound. ***International journal of pharmaceutics***, 75:37-44.

PAGINGTON, J.S. 1986. Beta-cyclodextrin. ***Perfumer and flavorist international***, 11:49-58.

PEDERSEN, M., EDELSTEN, M., NIELSEN, V.F., SCARPELLINI, A., SKYTTE, S. & SLOT, C. 1993. Formation and antimycotic effect of cyclodextrin inclusion complexes of econazole and miconazole. ***International journal of pharmaceutics***, 90:247-254.

PIETTA, P., RAVA, A. & BIONDI, P. 1981. High-performance liquid chromatography of nifedipine, its metabolites and photochemical degradation products. ***Journal of chromatography***, 210:516-521.

PITHA, J., MILECKI, J., FALES, H., PANNELL, L. & UEKAMA, K. 1986. Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin: preparation and characterization: effects on solubility of drugs. ***International journal of pharmaceutics***, 29:73-82.

RAHMAN, A.A., SALEH, S.I., NAKAI, Y., ABOUTALEB, A.E. & AHMED, M.O. 1993. Inclusion complexation between trimethyl-beta-cyclodextrin and clobazam or flunitrazepam during sealed heating. ***European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics***, 39:82-86.

ROSSEEL, M.T. & BOGAERT, M.G. 1983. Determination of nifedipine in human plasma by capillary gas chromatography with nitrogen detection. ***Journal of chromatography***, 279:675-680.

SANGHAVI, N.M., CHOUDHARI, K.B., MATHARU, R.S. & VISWANATHAN, L. 1993. Inclusion complexation of lorazepam with beta-cyclodextrin. ***Drug development and industrial pharmacy***, 19:701-712.

SANTOS, S.R.C.J. 1980. Analysis of nifedipine in blood. (***In*** Turner, P. & Padgham, C., ***eds***. World conference on clinical pharmacology and therapeutics. Abstract No. 0575. London : Macmillan.)

SAVE, T., SHAH, M.U., GHAMANDE, A.R. & VENKITACHALAM, P. 1994. Comparative study of buccoadhesive formulations and sublingual capsules of nifedipine. ***Journal of Pharmacy and pharmacology***, 46:192-195.

SCHLOSSMANN, K. 1972. Fluorometrische Bestimmung des 4-(2'-nitrophenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester und seines Hauptmetaboliten. ***Arzneimittel-Forschung***, 22:60-62.

SETH, P. & SETH, P.L. 1994. An in-vivo bioequivalence study of a new nifedipine extended release dosage form, 'opticaps'. ***Drug development and industrial pharmacy***, 20:1605-1612.

SICARD, P.J. & SANIEZ, M. 1987. Biosynthesis of cycloglycosyltransferase and obtention of its enzymatic reaction products. (***In*** Duchêne, D., ***ed***. Cyclodextrins and their industrial uses. Paris : Editions de Santé. p.77-104.)

SMOLKOVA-KEULEMANSOVA, E. 1987. Cyclodextrins in chromatography. (***In*** Duchêne, D., ***ed***. Cyclodextrins and their industrial uses. Paris : Editions de Santé. p.259-296.)

SNEDDEN, W., FERNANDEZ, P.G., GALWAY, B.A. & KIM, B.K. 1984. Specific HPLC assay for serum nifedipine. ***Clinical and investigative medicine***, 7:173-178.

SORKIN, E.M., CLISSOLD, S.P. & BROGDEN, R.N. 1985. Nifedipine : a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy, in ischaemic heart disease, hypertension and related cardiovascular disorders. ***Drugs***, 30:182-274.

SOUDER, J.C. & ELLENBOGEN, W.C. 1985. Laboratory control of alpha-amphetamine sulphate sustained release capsules. ***Drug standard***, 26:77-83.

SZEJTLI, J. 1982. Cyclodextrins and their inclusion complexes. Budapest : Akademiai Kaido.

SZEJTLI, J. 1987. The metabolism, toxicity and biological effects of cyclodextrins. (***In*** Duchêne, D., ***ed***. Cyclodextrins and their industrial uses. Paris : Editions de Santé. p.173-211.)

SZEJTLI, J., BOLLA-PUSZTAI, E., SZABO, P. & FERENCZY, T. 1980. Enhancement of stability and biological effect of cholecalciferol by beta-cyclodextrin complexation. ***Pharmazie***, 35:779-787.

SZENTé, L., APOSTOL, I., GERLOCZY, A. & SZEJTLI, J. 1985. Suppositories containing cyclodextrin complexes part 2: dissolution and absorpsion studies. ***Pharmazie***, 40:406-407.

THOMA, K. & KLIMEK, R. 1985a. Untersuchungen zur Photoinstabilität von Nifedipin. 1 Mitt. : Zersetzungskinetik und Reaktionsmechanismus. ***Pharmazeutisch Industrie***, 47:207-215.

THOMA, K. & KLIMEK, R. 1985b. Untersuchungen zur Photoinstabilität von Nifedipin. 2 Mitt. : Einfluß von milieubedingungen. ***Pharmazeutisch Industrie***, 47:319-327.

TRIGGLE, A.M., SHEFTER, E.P. & TRIGGLE, D.J. 1980. Crystal structures of calcium channel antagonists : 2,6-dimethyl-3,5-dicarbomethoxy-4-[2-nitro-,3 cyano-,4-(dimethylamino)-, and 2,3,4,5,6-pentafluorophenyl]-1,4-dihidropyridine. ***Journal of medicinal chemistry***, 23:1442-1445.

UEKAMA, K., HIRASHIMA, N., HORIUCHI, Y., HIRAYAMA, F., IJITSU, T. & UENO, M. 1987. Ethylated beta-cyclodextrins as hydrophobic drug carriers: sustained release of diltiazem in the rat. ***Journal of pharmaceutical sciences***, 76:660-661.

UEKAMA, K., HIRAYAMA, F., ESAKI, K. & INOUE, M. 1979. Inclusion complexes of cyclodextrins with cinnamic acid derivatives: dissolusion and thermal behavior. ***Chemical and pharmaceutical bulletin***, 27:76-79.

UEKAMA, K., HIRAYAMA, F., FUJISE, A., OTAGIRI, M., INABA, K. & SAITO, H. 1984. Inclusion complexation of prostaglandin F_2-alpha with gamma-cyclodextrin in solution and solid phases. ***Journal of pharmaceutical sciences***, 73:382-384.

UEKAMA. K., IKEGAMI, K., WANG, Z., HORIUCHI, Y. & HIRAYAMA, F. 1992. Inhibitory effect of 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin on crystal-growth of nifedipine during storage : Superior dissolution and oral bioavailability compared with polyvinylpyrrolidone K-30. ***Journal of pharmacy and pharmacology***, 44:73-78.p

UEKAMA, K. & IRIE, T. 1990. New perspectives in cyclodextrin pharmaceutical applications: cyclodextrin derivatives as new drug carriers. ***Drug investigation***, 2(4):22-28.

UEKAMA, K., OH, K., OTAGIRI, M., SEO, H. & TSURUOKA, M. 1983. Improvement of some pharmaceutical properties of clofibrate by cyclodextrin complexation. ***Pharmaceutica acta helvetiae***, 58:338-342.

UNITED STATES PHARMACOPOEIA XXII : the national formulary XVII. 1990. Easton, Pa. : Mack. 2067p.

USP XXII
kyk
UNITED STATES PHARMACOPOEIA XXII

VENTURA, C.A., PUGLISI, G., GIAMMONA, G. & BOTTINO, F.A. 1994. Comparative study on inclusion compounds of 4-biphenylacetic acid with beta-cyclodextrin, hydroxypropylated-beta-cyclodextrins, and methylated-beta-cyclodextrins. ***Drug development and industrial pharmacy***, 20:2245-2265.

VROMANS, H., EISSENS, A.C. & LERK, C.F. 1989. Mechanism of dissolution of drug-cyclodextrin complexes: a pragmatic approach. ***Acta pharmaceutica technologica***, 35:250-255.

YAMAMOTO, M., HIRAYAMA, F. & UEKAMA, K. 1992. Improvement of stability and dissolution of prostaglandin E_1 by maltosyl-beta-cyclodextrin in lyophilized formulation. ***Chemical and pharmaceutical bulletin***, 40:747-751.

YOSHIDA, A., YAMAMOTO, M., IRIE, T., HIRAYAMA, F. & UEKAMA, K. 1989. Some pharmaceutical properties of 3-hydroxypropyl- and 2,3-dihydroxypropyl-beta-cyclodextrins and their solubilizing and stabilizing abilities. ***Chemical and pharmaceutical bulletin***, 37:1059-1063.