

WPLYW TEMPERATURY NA PARAMETRY REOLOGICZNE I DOSTĘPNOŚĆ FARMACEUTYCZNĄ DIKLOFENAKU SODU Z PREPARATÓW HYDROŻELOWYCH, SPORZĄDZONYCH NA BAZIE KARBOPOLU DO STOSOWANIA NA SKÓRĘ

Janusz Pluta, Magdalena Lepka, Ewelina Michalska

Katedra Technologii Postaci Leku Akademii Medycznej we Wrocławiu

Streszczenie

Celem pracy było stwierdzenie wpływu zastosowanej temperatury na wyniki standardowo przeprowadzonych ocen dostępności farmaceutycznej. Badano dostępność farmaceutyczną i parametry reologiczne w temperaturze 32⁰C i 37⁰C półstałych preparatów rynkowych do stosowania na skórę, otrzymanych na bazie karbopolu zawierających diklofenak sodu. Badanie kinetyki uwalniania diklofenaku sodu przeprowadzono *in vitro* z zastosowaniem komór ekstrakcyjnych Hanson i błony dializacyjnej SpectraPor. Parametry reologiczne wyznaczono przy użyciu reometru cyfrowego typu płytka-stożek.

Słowa kluczowe: diklofenak sodu, właściwości reologiczne, dostępność farmaceutyczna

TEMPERATURE EFFECT OF RHEOLOGICAL PARAMETERS AND PHARMACEUTICAL AVAILABILITY OF DICLOFENAK SODIUM SALT FROM HYDROGEL PRODUCTS MADE ON CARBOPOL BASE FOR TOPICAL USE

Summary

The aim of the carried out investigations was to state temperature effect of conventional carried out results of pharmaceutical availability valuation. Rheological parameters were tested in temperature of 32 and 37 in market hydrogel products for topical use made on carbopol base with diclofenac sodium salt. The kinetics of diclofenac sodium salt

release with Hanson extraction cells through a dialysis membrane SpectraPor was tested in vitro. Viscosity parameters were determined with cone-plate digital rheometer.

Key words: Diclofenac sodium salt, rheological properties, pharmaceutical availability

WPROWADZENIE

Aktywność biologiczną substancji leczniczej warunkuje postać leku, droga podania, dobór odpowiedniej formy fizykochemicznej czy substancji pomocniczej. Przygotowanie postaci leku poprzedza analiza dostępności farmaceutycznej substancji aktywnej w modelowych układach imitujących zachowanie się danej postaci w organizmie.

Postacie leku na skórę obok skuteczności terapeutycznej zastosowanej substancji leczniczej, muszą charakteryzować się dostępnością w miejscu podania. Rodzaj polimeru, dobór substancji pomocniczych ma na celu pokonanie oporu dyfuzyjnego naskórka, uzyskanie optymalnej wartości współczynnika podziału olej/woda oraz zapewnienie odpowiedniego czasu utrzymywania się postaci na powierzchni skóry, warunkując stały dostęp substancji leczniczej.

Większość badań postaci leku na skórę prowadzona jest w temperaturze 37°C [1-3], jednak fizjologiczna temperatura powierzchni skóry jest niższa. Fakt ten uwzględnia Farmakopea Europejska oraz Farmakopea Polska VII [4, 6] podając w monografii badania systemów transdermalnych TTS temperaturę 32°C, ale nie podając warunków badania dla maści, kremów oraz żeli.

Celem pracy była ocena parametrów reologicznych i dostępności modelowej substancji leczniczej - diklofenaku sodu przeprowadzona w temperaturze 32°C i 37°C stopni oraz określenie jej wpływu na przeprowadzone pomiary. Do badań użyto dostępnych na rynku preparatów na skórę zawierających diklofenak sodu.

MATERIAŁ I METODY

Odczynniki

1. Diclofenac sodium salt - Sigma - Aldrich Chemie GmbH - Steinheim, Niemcy;
2. Diclac Lipogel 1% - Salutas Pharma GmbH - Barleben, Niemcy;
3. Voltaren Emulgel 1% - Novartis Consumer Health GmbH - Monachium, Niemcy.

Aparatura

1. Aparat łopatkowy – FP VI – Varian VK 7025 – USA;
2. Komory dyfuzyjne - Hanson Research, USA;
3. Membrana dializacyjna Spectra/Por[®] 6, Spectrum Laboratories, Kanada;
4. Spektrofotometr dwuwiązkowy – Cecil CE 5501 – Cecil Instruments, Anglia;
6. Reometr cyfrowy typu płytka-stożek – Brookfield DV-III;

Wyznaczenie parametrów lepkościowych badanych preparatów

Badania lepkościowe przeprowadzono w temp. 32⁰C i 37⁰C przy użyciu reometru cyfrowego typu stożek-płytki firmy Brookfield DV-III wersja 3,0, połączonego z termostatem łaźniowym (PGWE-1 firmy Medingen). Wyniki oznaczeń przedstawiono w tabeli 1 oraz na rycinach 3-8.

BADANIE KINETYKI UWALNIANIA ŚRODKA LECZNICZEGO (DIKLOFENAKU SODU) Z PREPARATÓW STOSOWANYCH NA SKÓRĘ PRZEZ MEMBRANĘ DIALIZACYJNĄ

Sposób wykonania oznaczenia

Badanie dostępności farmaceutycznej diklofenaku sodu z preparatów Diclac Lipogel i Voltaren Emulgel, przeprowadzono metodą membranową przy użyciu komór dyfuzyjnych firmy Hanson w aparacie łopatkowym, zgodnie z wymaganiami Farmakopei Europejskiej. Zbiorniki komór miały głębokość 2,6 mm, a użyte podstawy miały średnicę 52 mm. Preparaty nałożono do wgłębień komór dyfuzyjnych i oddzielono od płynu akceptorowego uprzednio przygotowaną błoną dializacyjną o wielkości porów 1000 Da. Tak przygotowaną komorę

uszczelniono pokrywą przez dokręcenie do wyczuwalnego oporu. Komory dyfuzyjne wprowadzono do naczynia zawierającego 500 cm³ wody destylowanej, która stanowiła płyn akceptorowy.

Badanie przeprowadzono w dwóch seriach różniących się warunkami temperaturowymi. Temperatura łaźni wodnej, w której zanurzone były komory aparatu wynosiła w pierwszej serii badań $32^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ oraz w drugiej serii $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Każde badanie uwalniania wykonano w 6 równoległych próbach, umieszczając na dnie naczyń komory dyfuzyjne zawierające badany preparat.

Podczas badania roztwór nad pojemnikiem mieszano mieszadłem łopatkowym z prędkością 90 obr./min. Próbki pobierano co 10 minut, a szybkość procesu wymiany masy badano poprzez ilościowe oznaczenie ilości dyfundującego diklofenaku sodu do płynu akceptorowego (woda destylowana). Wyniki oznaczeń przedstawiono w tabelach 2-3 oraz na rycinach 1 i 2.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Przeprowadzone pomiary lepkościowe dla preparatów handlowych zawierających 1% diklofenaku sodu sporządzonych na bazie karbopolu, umożliwiły wykonanie krzywych zależności zmian lepkości od szybkości ścinania. Dla badanych formułacji wartość lepkości spadała wraz ze wzrostem szybkości ścinania. Przebieg procesu jest nieliniowy, co kwalifikuje badane hydrożele do grupy układów nieniu-tonowskich.

Do analizy uzyskanych danych posłużono się matematycznym modelem opisującym właściwości reologiczne układów. Wyniki zinterpretowano według modelu nieliniowego Ostwalda de Waele'a i przedstawiono graficznie na rycinach (ryciny 3-8).

Interpretacja uzyskanych danych pomiarowych według modelu Ostwalda de Waela'e pozwala na wyznaczenie współczynników konsystencji k , będących miarą lepkości formułacji. Analiza poszczególnych wartości wskazuje, że lepkość układu w temperaturze badania 32°C dla Voltarenu Emulgel wynosiła $k=84,2171$, a dla preparatu Diclac Lipogel $k=64,6385$. W temperaturze 37°C współczynniki konsystencji wzrosły i wynosiły odpowiednio: $k=92,9946$ dla Voltarenu Emulgel; $k=76,0406$ dla Diclacu Lipogel (tabela 1). Wyższe współczynniki konsystencji świadczą o wyższej odporności na odkształcenia.

Badania w temperaturze powierzchni skóry (32°C), wykazały dłuższy czas pólwalniania ($t_{50\%}$) preparatu Voltaren Emulgel (10 h i 58 minuty) od preparatu Diclac Lipogel, gdzie wartość czasu pólwalniania wynosi 7h i 48 min. Analiza przeprowadzonych badań wykazała spodziewane skrócenie czasu pólwalniania substancji, przy wzrastającej temperaturze oraz wpływ tego parametru na kinetykę zachodzących procesów. Badania w temperaturze 37°C wykazały, iż wolniej diklofenak sodu uwalniał się z preparatu Voltaren ($t_{50\%}$ = 9h 13 minut) w stosunku do preparatu Diclac Lipogel ($t_{50\%}$ = 5 h 26 min.). Wartości czasu pólwalniania w temperaturach 32°C i 37°C zostały zestawione w tabeli 2. W temperaturze 37°C wartość $t_{50\%}$ diklofenaku sodu z badanych hydrożeli była mniejsza.

Jak wynika z wartości zestawionych w tabeli 3, stała szybkości uwalniania procesów jest proporcjonalna do temperatury badania.

Analiza krzywych uwalniania diklofenaku sodu w badanych formulacjach, przedstawiona na rycinach 1 i 2 wskazuje, iż żaden z preparatów po 3 godzinach doświadczenia nie uwolnił całej dawki leku. Przebieg uwalniania substancji leczniczej w układzie liniowym był rozłożony w czasie, równomiernie wzrastający, bez osiągnięcia fazy plateau. Wskazuje to na fakt, iż badane żele zapewniają stały dostęp diklofenaku sodu do miejsca aplikacji.

Różnica w całkowitej ilości uwolnionej substancji pomiędzy wynikami uzyskanymi w temperaturze 32°C a 37°C dla preparatu Voltaren Emulgel wynosiła 5,4% a dla preparatu Diclac Lipogel 9,7%.

W celu scharakteryzowania mechanizmu uwalniania pod względem kinetycznym, otrzymane wyniki opracowano w oparciu o model kinetyki I rzędu oraz model Higuchiego, uzyskując wartości współczynników korelacji r świadczące o stopniu dopasowania otrzymanych danych do wybranego modelu. Przeprowadzona analiza wartości współczynników korelacji według testu ANOVA wykazała, iż nie ma istotnie statystycznych różnic w wyborze modelu opisującego kinetykę procesu uwalniania. W przypadku badanych formulacji równorzędnie można interpretować otrzymane wyniki przy wykorzystaniu modelu kinetyki I-go rzędu, jak i modelu Higuchiego.

DYSKUSJA

W półstałych preparatach modeluje się optymalne parametry reologiczne takie jak lepkość, rozsmarowywalność czy tiksotropię. Dodatkowo substancje pomocnicze solubilizują substancję leczniczą zwiększając jej przenikalność i dostępność. Poddane badaniu preparaty cechowały się takim samym stężeniem substancji czynnej – diklofenaku sodu oraz miały postać półstałych preparatów na bazie karbopolu, przeznaczonych do stosowania na skórę. Różniły się między sobą składem jakościowym i ilościowym substancji pomocniczych, co może wpływać na różnice w profilu uwalniania substancji leczniczej oraz powodować odmienne właściwości reologiczne formulacji.

Warunki badania dostępności farmaceutycznej muszą być dobrane w taki sposób, aby umożliwiły w sposób właściwy interpretację wyników. Należy ustalić rodzaj płynu akceptorowego, jego objętość, temperaturę, szybkość obrotów mieszania lub szybkość przepływu płynu akceptorowego (dla aparatu przepływowego), czas badania i pobierania próbek. Ze względu na korelację pomiędzy stopniem uwalniania substancji leczniczych a procesem wchłaniania się ich przez skórę możemy wnioskować, iż pomimo odmienności płynu akceptorowego, jakim jest woda w warunkach *in vitro*, uwalnianie z tych formulacji zapewnia stały dostęp i gradient stężeń w warunkach *in vivo*.

W zależności od właściwości fizycznych postaci leku i drogi podania, warunki badania, metodyka, koncepcja oraz cel badania mogą ulegać odpowiednim zmianom [7, 8].

Warunki badania charakteryzowane są przez farmakopee. Brak jest jednak monografii do badania preparatów półstałych stosowanych na skórę, a co za tym idzie także wymagań co do temperatury badania uwalniania czy pomiarów reologicznych. Z danych literaturowych wynika, że najczęściej badania te przeprowadza się w temperaturze 25°C i 37°C a w dalszej kolejności 32°C [1-3, 6].

Najbardziej zbliżona do warunków podania na skórę, jest badanie szybkości dyfuzji substancji leczniczej według monografii do transdermalnych systemów terapeutycznych (TTS).

Wyniki pracy dowodzą, iż wybór temperatury badania wpływa na wartości parametrów reologicznych oraz dostępność farmaceutyczną. Należy uznać słuszność wyboru temperatury 32°C dla badania preparatów na skórę. Jest ona zgodna z fizjologiczną

temperaturą na powierzchni skóry i lepiej symuluje warunki *in vivo*, podczas badań dostępności farmaceutycznej.

WNIOSKI

1. Temperatura prowadzenia badania uwalniania miała wpływ na szybkość procesu uwalniania oraz dostępność farmaceutyczną diklofenaku sodu z badanych preparatów.
2. Badane preparaty odznaczyły się wyższym procentem uwolnionej substancji leczniczej w temperaturze badania 37°C.
3. Przebieg krzywych uwalniania badanych preparatów handlowych nie wykazuje fazy plateau, zapewniając stałą dostępność farmaceutyczną diklofenaku sodu.
4. Badane handlowe preparaty powstałe otrzymane na bazie karbopolu zawierające 1% diklofenaku sodu, to ciecze nieniuetonowskie rozrzedzane ścinaniem. Napężenie styczne tych płynów wzrasta nieliniowo w stosunku do zwiększającej się szybkości ścinania.
5. Zmiana temperatury pomiarów lepkościowych wpłynęła na otrzymane wartości parametrów reologicznych.

LITERATURA

- [1] Górecki M., Zalewska A.: Reometryczna analiza farmaceutycznych układów rozproszonych. *Farm. Pol.*, (2000), 56, 748-752.
- [2] Zgoda M. M., Kołodziejska J.: Wpływ parametrów reologicznych na dostępność farmaceutyczną ketoprofen z produktów hydrożelowych wytworzonych na bazie Carbopol. *Polim. w Med.*, (2006), 26, 11-25.
- [3] Czarnecki W., Wiktorowicz M.: Wpływ właściwości reologicznych maści na uwalnianie chloramfenikolu, *Farm. Pol.*, (1994), 50, 409-415.
- [4] *Farmakopea Polska*. Wyd. VII, Tom I, Warszawa, 2006.
- [5] *European Pharmacopoeia – Supplement* 2001.
- [6] Samczewska G., Ciałkowska-Rysz A.: Badania porównawcze dostępności farmaceutycznej chlorowodorku i siarczanu morfiny z modelowych maści i hydrożeli. *Pol. Med. Paliat.*, (2006), 5, 3, 94-107.

[7] Farmacja stosowana. Podręcznik dla studentów farmacji pod redakcją prof. dr hab. farm. S. Janickiego, prof. dr hab. farm. A. Fiebiga, dr. hab. M. Szmitowskiej.

[8] Janicki S., Sznitowska M., Zielinski W., Dostępność farmaceutyczna i dostępność biologiczna leków. Ośrodek Informacji Naukowej „Polfa” Sp zo.o., Warszawa, 2001.

Adres autorów

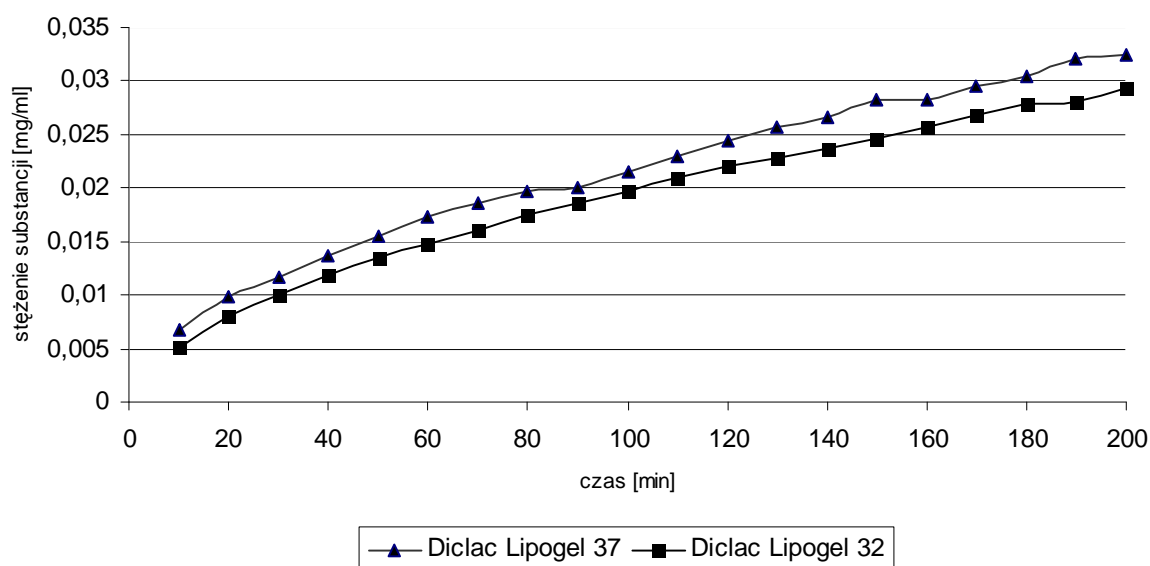
Akademia Medyczna we Wrocławiu

Katedra Technologii Postaci Leku

ul. Szewska 38, 50-139 Wrocław

tel. (071) 78 40 315

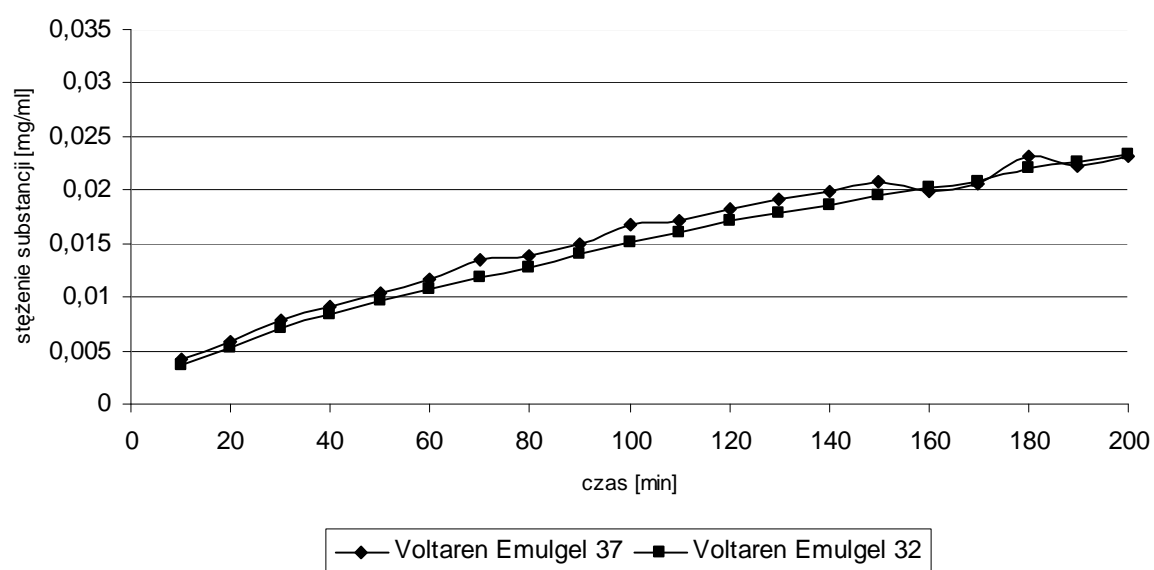
magdalenalepka@wp.pl



Ryc. 1. Kinetyka uwalniania diklofenaku sodu z preparatu Diclac Lipogel w temperaturze

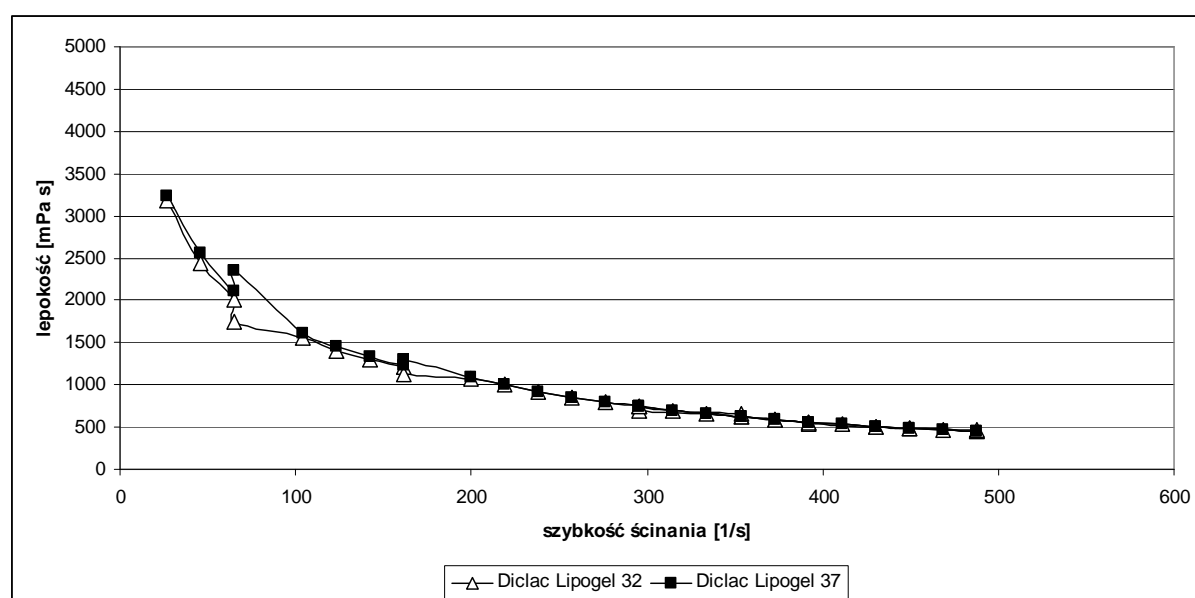
32⁰C i 37⁰C

Fig. 1. Diclofenac sodium salt release kinetics from Diclac Lipogel preparation obtained at 32⁰C and 37⁰C temperature



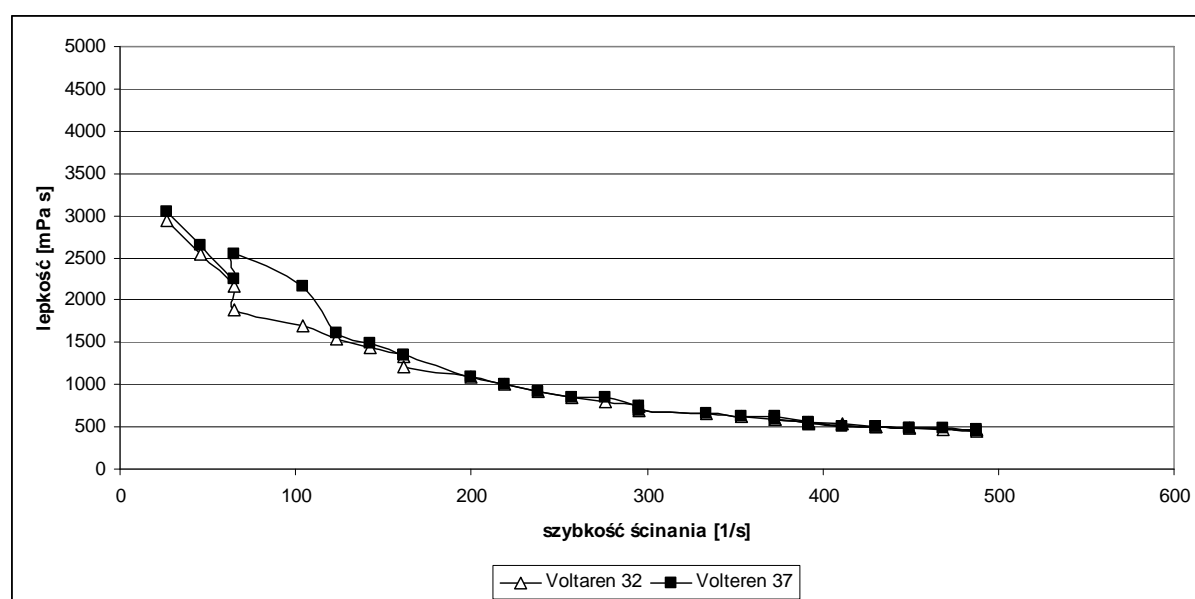
Ryc. 2. Kinytyka uwalniania diklofenaku sodu z preparatu Voltaren Emulgel w temperaturze 32⁰C i 37⁰C

Fig. 2. Diclofenac sodium salt release kinetics from Volteren Emulgel preparation obtained at 32⁰C and 37⁰C temperature



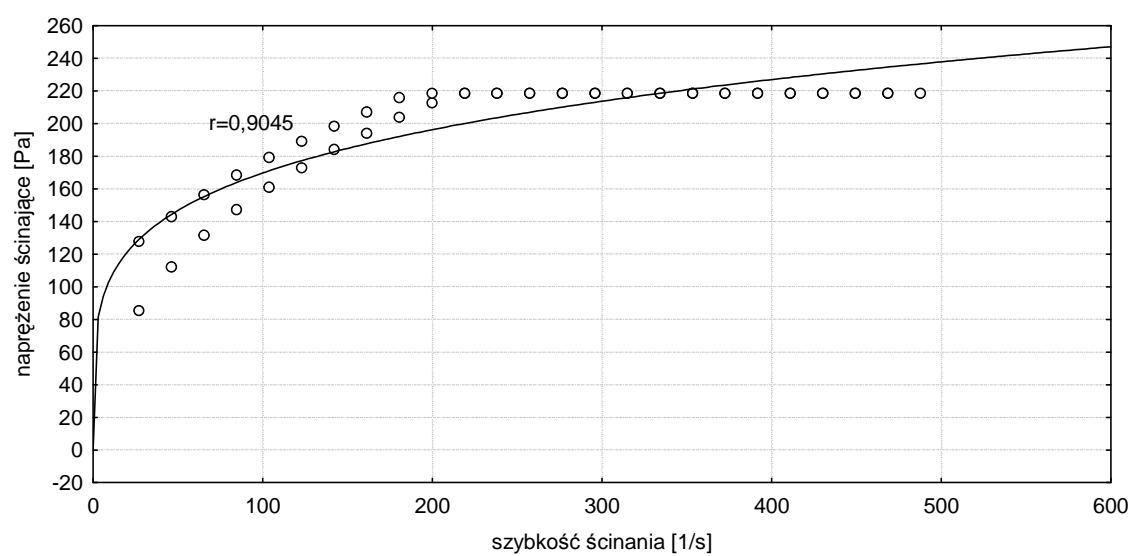
Ryc. 3. Zależność lepkości od szybkości ścinania dla preparatu Diclac Lipogel w temp. 32⁰C i 37⁰C

Fig. 3. Relationship between viscosity and shear rate for Diclac Lipogel preparation at at 32⁰C and 37⁰C temperature



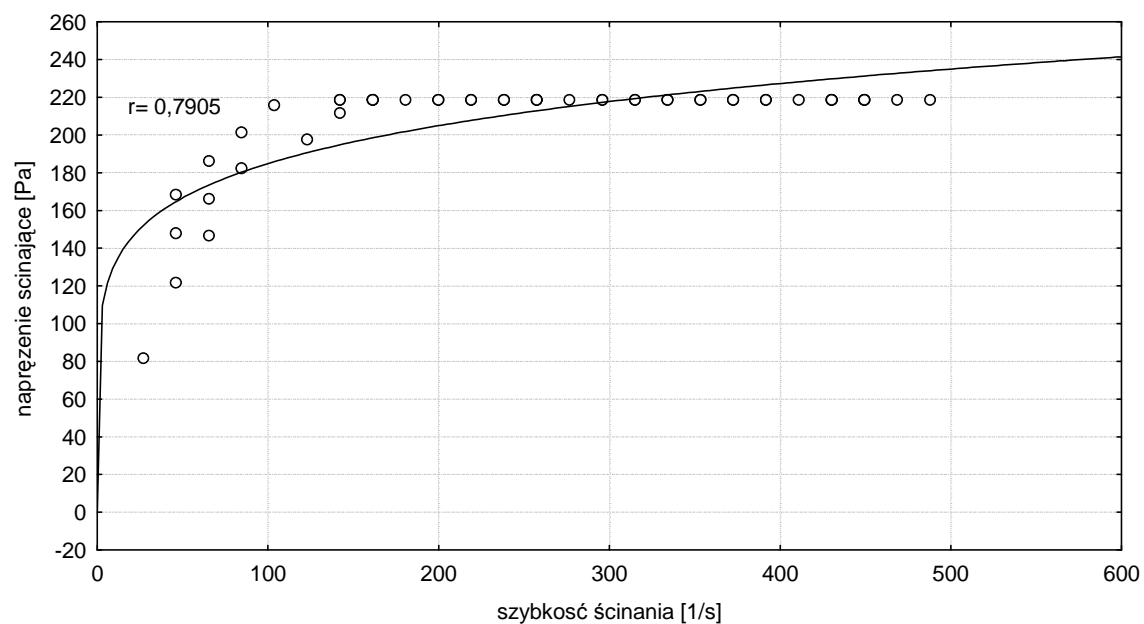
Ryc. 4. Zależność lepkości od szybkości ścinania dla preparatu Voltaren Emulgel w temp. 32⁰C i 37⁰C

Fig. 4. Relationship between viscosity and shear rate for Volteren Emulgel preparation at at 32⁰C and 37⁰C temperature



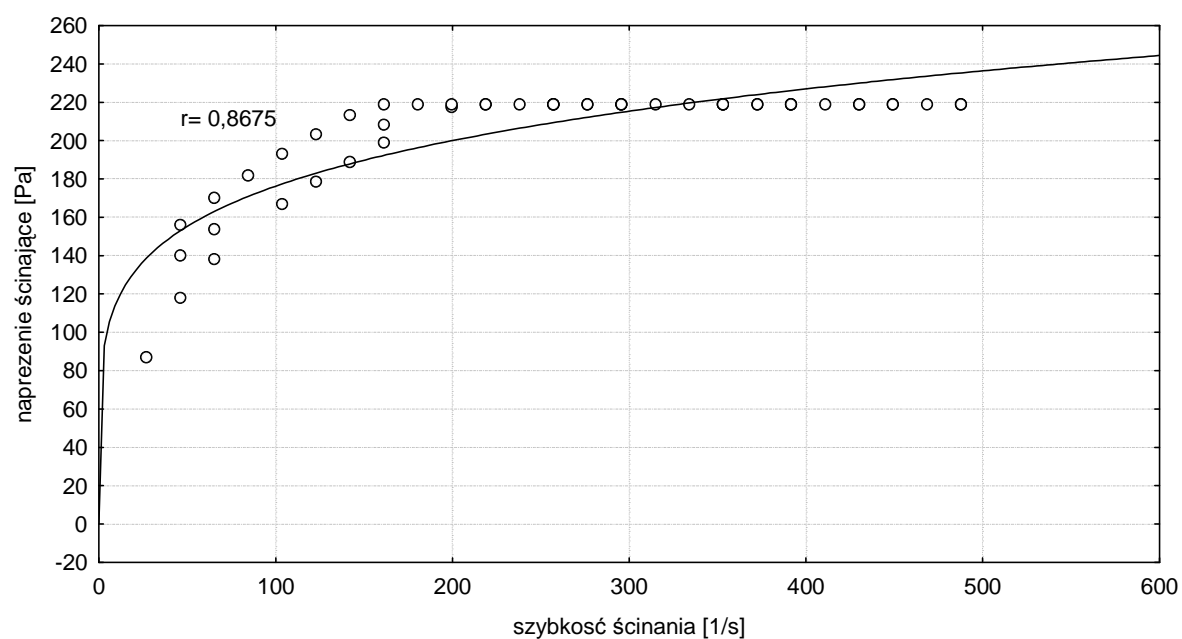
Ryc. 5. Układ pętli histerezy dla preparatu Diclac Lipogel według modelu Ostwalda de Waele'a w temp. 32⁰C

Fig. 5. Hysteresis loop obtained at 32⁰C for Diclac Lipogel preparations on the Ostwald de Wael'a model



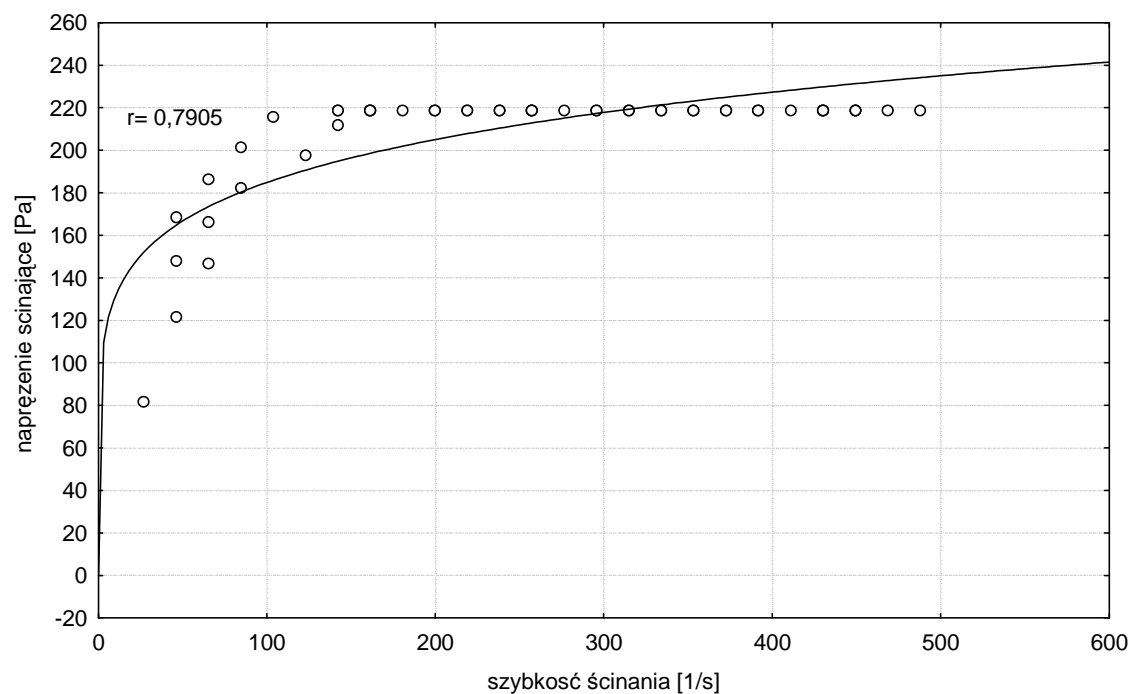
Ryc. 6. Układ pętli histerezy dla preparatu Voltaren Emulgel według modelu Ostwalda de Waele'a w temp. 32⁰C

Fig. 6. Hysteresis loop obtained at 32⁰C for Volteren Emulgel preparations on the Ostwald de Wael'a model



Ryc. 7. Układ pętli histerezy dla preparatu Diclac Lipogel według modelu Ostwalda de Waele'a w temp. 37⁰C

Fig. 7. Hysteresis loop obtained at 37⁰C for Diclac Lipogel preparations on the Ostwald de Wael'a model



Ryc. 8. Układ pętli histerezy dla preparatu Voltaren Emulgel według modelu Ostwalda

de Waele'a w temp. 37⁰C

Fig. 8. Hysteresis loop obtained at 37⁰C for Volteren Emulgel preparations on the Ostwald de Wael'a model

Tabela 1. Wartości współczynników konsystencji k dla badanych preparatów wyznaczone w temp. 32⁰C i 37⁰C

Table1. Consistensy coefficient values k for investigated preparations obtained at 32⁰C and 37⁰C temperature

	32 ⁰ C	37 ⁰ C
Preparat	k	k
Diclac Lipogel	64,6385	76,0406
Voltaren Emulgel	84,2171	92,9942

Tabela 2. Wartości $t_{50\%}$ dla kinetyki uwalniania diklofenaku sodu z badanych preparatów w temp. 32°C i 37°C

Table 2. $T_{50\%}$ values for diclofenac sodium salt kinetics release from investigated preparations obtained at 32°C and 37°C temperature

	32°C	37°C
Preparat	$t_{50\%}$	$t_{50\%}$
Diclac Lipogel	7 h 48 min.	5 h 26 min.
Voltaren Emulgel	10 h 58 min.	9 h 13 min.

Tabela. 3. Wartości stałej szybkości uwalniania k według kinetyki I-go rzędu

Table. 3. Velocity release constant values k according to primary kinetics

	32°C	37°C
Preparat	k [min^{-1}]	k [min^{-1}]
Diclac Lipogel	0,001474	0,002140
Voltaren Emulgel	0,002680	0,001269

