

WPLYW WYBRANYCH SUBSTANCJI POMOCNICZYCH NA WŁAŚCIWOŚCI TERMOWRAŻLIWYCH NOŚNIKÓW ZAWIERAJĄCYCH METOTREKSAT

BOŻENA KAROLEWICZ, JANUSZ PLUTA

Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku
Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich

Streszczenie

Właściwości fizykochemiczne otrzymanych z udziałem Pluronicu F-127 termowrażliwych układów zawierających metotreksat, są zróżnicowane i zależne od rodzaju zastosowanych substancji pomocniczych oraz ich stężenia. W celu uzyskania postaci leku, która spełniałaby wymogi farmakopealne i dla zapewnienia optymalnych wartości parametrów fizykochemicznych otrzymanych formulacji, do ich wykonania użyto substancji pomocniczych doprowadzających do izoosmotyczności, substancji zwiększających lepkość, chlorku benzalkoniowego jako substancji zapewniającej utrzymanie jałowości oraz substancji wpływających na uwalnianie metotreksatu z postaci.

Słowa kluczowe: termowrażliwe nośniki substancji leczniczej, przejście fazowe zol-żel, doguzowa iniekcja leku, metotreksat

EXCIPIENTS INFLUENCE ON PROPERTIES OF THERMOSENSITIVE CARRIERS CONTAINING METHOTREXATE

Summary

The physicochemical properties of thermosensitive formulations obtained on the basis of Pluronic F127 containing methotrexate are differentiated and depends on kind of additives and their concentration. To the effect of obtaining drug form which would satisfy requirements of pharmacopeia and for assurance of optimal physicochemical parameters values of formulation to their obtaining was used of excipients which bring to physiological osmotic pressure, substances increasing of viscosity, benzalkonium chloride as preservative substance and substances influencing on release of methotrexate from drug form.

Key words: thermosensitive drug delivery, sol-gel transition temperature, intratumoral injection, methotrexate

WSTĘP

Nowe metody leczenia nowotworów polegające na miejscowym podaniu cytostatyków, powstały jako próba zwiększenia skuteczności chemioterapii. Wprowadzenie substancji leczniczej bezpośrednio do miejsca działania zwiększa jej selektywność, poprawia dystrybucję w chorej tkance i ogranicza działania niepożądane. Modyfikacje postaci leku bez ingerencji w strukturę chemiczną substancji leczniczej, dają możliwości poprawy aktywności przeciwnowotworowej chemioterapeutyków i pozwalają na doskonalenie miejscowo podawanych form leku.

Formułowanie nowych postaci leku do podania pozajelitowego ma na celu opracowanie nośnika, zapewniającego nie tylko odpowiedni poziom terapeutyczny substancji i przedłużenie jej działania, ale i wygodę stosowania. Osiągnąć to można w dużej mierze

poprzez wykorzystanie nowych substancji pomocniczych, takich jak np. poliestry poprzecznie usieciowane, poliuretany czy polimery wrażliwe na czynniki tj. fizjologiczna temperatura, pH, obecność jonów w płynach organizmu.

Z doniesień literaturowych wynika, iż stosując związki wielkocząsteczkowe zwiększające lepkość, można otrzymać półstałe postacie leku, które umożliwiają uzyskanie spowolnionej kinetyki uwalniania substancji oraz stanowią swoisty *depot* dla leku. W toku licznych badań udowodniono, iż podłoża żelowe opracowane w oparciu o polimery mogą stanowić obok rezerwuaru substancji leczniczej również element kontrolujący jej uwalnianie, a poprzez odpowiedni dobór składu jakościowego i ilościowego żeli można regulować szybkość dyfuzji środka leczniczego do środowiska ustroju.

Podanie leku w układach o właściwościach termowrażliwych, umożliwia dodatkowo uzyskanie nośnika substancji leczniczej aplikowanego w formie roztworu, który w temperaturze fizjologicznej ciała, *in situ* będzie formował żel. Taka właściwość opracowanej postaci nie utrudniałaby jej aplikacji cienką igłą, stosowaną do iniekcji głębokich i nie powodowałaby bolesności przy i po podaniu.

W celu uzyskania postaci leku podawanej pozajelitowo, która spełniałaby wymogi farmakopealne i była dobrze tolerowana przez tkanki, wykorzystano polimer - Pluronic F-127 i szereg substancji pomocniczych, tj. substancje doprowadzające do izoosmotyczności (glukoza, mannitol, laktoza, chlorek sodu, glicerol), substancje o działaniu przeciwbakteryjnym (chlorek benzalkoniowy), substancje zwiększające lepkość i opóźniające proces dyfuzji substancji leczniczej z postaci leku (dekstran) oraz substancje, które mogą wpływać na uwalnianie substancji leczniczych z postaci leku (polioksyetylenoglikole o różnych masach cząsteczkowych: PEG 200, PEG 600 i PEG 1500).

MATERIAŁ I METODY

Materiał

Pluronic F-127 (Sigma-Aldrich, Niemcy);

D(+)-Glukoza jednowodna PhEur (Fluka, Szwajcaria);

D(+)-Laktoza jednowodna PhEur (Fluka, Szwajcaria);
D(-) Mannitol (Riedel-de-Haën, Niemcy);
Glicerol 85% PhEur (Fluka, Szwajcaria);
Chlorek benzalkoniowy cz.d.a. (Fluka, Szwajcaria);
Metotreksat (Sigma-Aldrich, Niemcy);
Chlorek sodu PhEur (Fluka, Szwajcaria);
Polioksyetylenoglikol 200 PhEur (Fluka, Szwajcaria);
Polioksyetylenoglikol 600 PhEur (Fluka, Szwajcaria);
Polioksyetylenoglikol 1500 PhEur (Fluka, Szwajcaria);
Dekstran 7000 PhEur (Fresenius Kabi Polska Sp. z o.o., Wytwórnia Płynów Infuzyjnych, Polska);
Roztwór wodorotlenku sodu $0,1 \text{ mol/dm}^3$ (Zakład Badawczo-Produkcyjny „Chemed”, Polska);
Roztwory do kalibracji osmometru: roztwór kontrolny o ciśnieniu osmotycznym 100 mosmol/kg, roztwór kontrolny o ciśnieniu osmotycznym 400 mosmol/kg (TridentMed, Polska);
Woda do wstrzykiwań wg FP VI;
Sączoneki membranowe apirogenne, Arcodisc[®] Syringe Filter (Pall Gelman Laboratory, USA);
Błona do uwalniania Membra-Cel[®] Dialysis Tubing o wielkości porów 3500 Da (Serva, Niemcy).

Aparatura

Wielofunkcyjny przyrząd komputerowy Elmetron CX-742 do pomiaru pH z elektrodą zespoloną typu OSH 10-10 (EuroSensor, Gliwice, Polska);
Komora z nawiewem laminarnym Lamil (Karstulan Metalli OY, Finlandia);
Piknometr wzorcowany wg Gay-Lussaca z termometrem, kapilarą boczną i korkiem, o objętości rzeczywistej 10 cm^3 , podanej z dokładnością do $0,001 \text{ cm}^3$ (Polska Grupa laboratoryjna Sp. z o. o., Warszawa, Polska);
Memory-Osmometr 020-AT (P. Z. Intech, Polska);
Reometr cyfrowy typu stożek-płytki DV-III-Brookfield wraz z programem komputerowym Rheocalc for Windows, (Brookfield Engineering Laboratories Inc., Middleboro, USA);

Ultratermostat Brookfield TC-101P (Brookfield Engineering Laboratories Inc., Middleboro, USA);

Komory do uwalniania substancji czynnej typu Franz'a o objętości 7 ml z mieszadłem „Helix” (Hanson Research Corporation, Chatsworth, USA);

Sześciopozycyjne mieszadło magnetyczne z grzaniem (G. Kisker GbR, Steinfurt, Niemcy);

UV/VIS spektrofometr Cecil Instruments (Chemist-Handel M. B. H., Austria);

Waga analityczna Sartorius (Sartorius AG, Goettingen, Niemcy).

Technologia przygotowywania układów termowrażliwych

Płynne formułacje zawierające Pluronic F-127, sporządzano na zimno techniką opisaną przez Schmolka w komorze z nawiewem laminarnym Lamil [1]. Wszystkie serie zawierające 14,8% stężenia Pluronicu F-127 z dodatkiem substancji pomocniczych w różnym stężeniu, przygotowano korzystając z jałowych roztworów zapasowych tych substancji. Roztwory zapasowe oraz otrzymany bezpośrednio przed dodaniem roztwór metotreksatu, wprowadzano kolejno do rozpuszczonego w wodzie do wstrzykiwań o temperaturze ok. 15°C polimeru. Dodawany roztwór metotreksatu sporządzono poprzez rozpuszczenie 0,0200 g odważonej substancji, w 1 cm³ 0,1 mol/dm³ jałowego roztworu wodorotlenku sodu.

Otrzymany roztwór metotreksatu dodawano mikropipetą do poszczególnych układów. Po zmieszaniu uzyskane roztwory uzupełniano wodą do wstrzykiwań o temperaturze ok. 15°C dożądanego stężenia. Gotowe formułacje sączono przez strzykawkowe apirogenne sączki membranowe Arcodisc[®] Syringe Filter do jałowych fiolek ze szkła oranżowego [2]. Po przygotowaniu wszystkie formułacje były przechowywane w lodówce w temperaturze ok. 4°C i badane po upływie 72 godzin. Składy poszczególnych badanych formułacji przedstawiono w tabeli 1.

METODY

Wyznaczanie pH

Pomiary wartości odczynu pH wykonano zgodnie z zaleceniami FP VI, bezpośrednio po otwarciu fiolek przy użyciu wielofunkcyjnego przyrządu komputerowego Elmetron CX-742 (Polska) z elektrodą zespoloną typu OSH 10-10 (EuroSensor, Polska). Wszystkie pomiary przeprowadzono w temperaturze $20^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$, z dokładnością do 0,01 jednostki pH [3].

Pomiar gęstości otrzymanych układów

Pomiar gęstości sporządzonych formułacji wykonano wg metody podanej w FP VI w piknometrze wzorcowanym o pojemności 10 cm^3 z termometrem i kapilarą boczną z korkiem, w temperaturze 22°C [3]. Gęstość formułacji obliczono ze wzoru:

$$d_{20} = \frac{m}{w} \cdot [0,9970 + 0,0012] [\text{g}/\text{cm}^3]$$

gdzie:

d_{20} - gęstość w temperaturze 20°C w g/cm^3 ;

m - masa badanej formułacji oznaczona w temperaturze 20°C w g;

w - masa tej samej objętości wody oznaczona w powietrzu w temperaturze 20°C w g;

0,9970 - gęstość wody w temperaturze 20°C ;

0,0012 - poprawka na ważenie w powietrzu.

Gęstość formułacji badano w temperaturze 22°C , uwzględniono więc poprawkę na gęstość wody $d_{22^{\circ}\text{C}} \text{ H}_2\text{O} = 0,9978$. Dla każdej formułacji pomiar gęstości wykonano sześciokrotnie. Piknometr napełniony badanym układem ważono każdorazowo na wadze

analitycznej Sartorius z dokładnością do 0,001 g. Z uzyskanych wartości pomiarowych obliczono średnią arytmetyczną oraz wartość odchylenia standardowego.

Pomiar osmolarności

Poszczególne formułacje umieszczano w aparacie i doprowadzano do stanu przechłodzenia. Obniżenie temperatury powodowało krzepnięcie wody, a uwalniane ciepło topnienia podnosiło temperaturę roztworu do temperatury zamarzania. Przed rozpoczęciem pomiarów aparat wyzerowano na wodę i kalibrowano zgodnie z zaleceniami PhEur 2007, przy użyciu wzorcowych roztworów o osmolarności 100 i 400 mosmol/kg [4]. Do badań pobierano 100 µl układu. Zmierzoną wartość ciśnienia odczytywano ze skali aparatu w mosmol/kg. Pomiar ciśnienia osmotycznego powtarzano sześciokrotnie dla każdej formułacji i obliczono średnią wartość ciśnienia dla wszystkich układów.

Wyznaczanie temperatury przejścia fazowego zol-żel na podstawie pomiaru zmian lepkości

Badania temperatury przejścia fazowego zol-żel, wykonano przy wykorzystaniu reometru cyfrowego Brookfield typu DV-III. Pomiary powtarzano 3-krotnie dla każdej formułacji przy wzrastającej o 0,2°C/5 sekund temperaturze w granicach 20°C±0,1°C - 40°C±0,1°C, przy stałej prędkości ścinania wynoszącej 10 s⁻¹. Do badania lepkości pobierano 0,5 cm³ próbki i nanoszono strzykawką na płytkę aparatu. Pomiar lepkości zgodnie z wymaganiami FP VI wykonano 3-krotnie i obliczono średnią arytmetyczną i odchylenie standardowe [3]. Według PhEur 2007 żele do iniekcji powinny posiadać odpowiednią lepkość, gwarantującą zmodyfikowane uwalnianie substancji aktywnej w miejscu iniekcji [4].

Badanie uwalniania metotreksatu z formułacji w komorach Franz'a

Badanie dostępności farmaceutycznej metotreksatu z otrzymanych formułacji przeprowadzono w komorach Franz'a [5]. Błone półprzepuszczalną do uwalniania Membra-Cel[®] Dialysis Tubing (Serva, Heidelberg) o wielkości porów 3500 Da, przed przystąpieniem

do badań poddano spęcznieniu w wodzie oczyszczonej przez 30 minut. Do płaszcza wodnego w komorach Franz'a, wprowadzano wodę z ultratermostatu o temperaturze $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Po umieszczeniu błony półprzepuszczalnej i pierścienia z otworem do nakładania badanego nośnika w odpowiednim miejscu komory, wprowadzono do niej wodę oczyszczoną, świeżo przygotowaną i ochłodzoną do temperatury pokojowej. Po osiągnięciu przez płyn akceptorowy w komorze stabilnej temperatury $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, na błonę półprzepuszczalną наносono strzykawką odważone z dokładnością do około 0,001 g formułacje zawierające metotreksat.

Komora do uwalniania substancji umieszczona była na mieszadle magnetycznym, zapewniającym mieszanie płynu akceptorowego z prędkością 100 obrotów/min. Płyn akceptorowy pobierano w ilości 3,5 ml po 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 i 240 minutach. Badanie prowadzono równolegle dla 6 próbek, a z uzyskanych wyników obliczono średnią, odchylenie standardowe, przedział ufności oraz wykreślono zależność ilości uwolnionej substancji od czasu.

Uwalnianie metotreksatu z otrzymanych formułacji, interpretowano matematycznie w oparciu o model zgodny z kinetyką zerowego i pierwszego rzędu oraz pół-empiryczny model Korsmeyera-Peppasa, który umożliwił ocenę wpływu procesu dyfuzji na proces uwalniania substancji z nośnika [6]. W programie STATISTICA dokonano estymacji nieliniowej metodą najmniejszych kwadratów, w oparciu o algorytm Quasi-Newtona proponowanego modelu wykładniczego oraz obliczono współczynniki korelacji R dla tego modelu.

Obliczenia statystyczne

Dla wyników przeprowadzonych badań dokonano obliczeń statystyk opisowych: średniej arytmetycznej, odchylenia standardowego oraz przedziału ufności przy poziomie istotności 0,05. W przypadku zależności o charakterze funkcji liniowej oceny korelacji uzyskanych wyników, dokonywano na podstawie wyznaczenia metodą najmniejszych kwadratów linii trendu oraz obliczenia współczynnika r-Pearson'a.

WYNIKI

Pomiar pH

Pomiar wartości odczynu pH, wykonano przy użyciu wielofunkcyjnego przyrządu komputerowego Elmetron CX-742 z elektrodą zespoloną w temperaturze $20^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$, z dokładnością do 0,01 jednostki pH. Zgodnie z wymaganiami przyjętymi przez FP VI, postaci leku podawane pozajelitowo powinny być w miarę możliwości izohydryczne i odpowiadać fizjologicznym wartościom odczynu pH płynów ustrojowych w granicach 7,2-7,6. Odczyn pH wszystkich uzyskanych formułacji mieścił się w zakresie 6,7-7,5. Układy te podane we wstrzyknięciach głębokich do guza nowotworowego nie powinny drażnić tkanek i powodować bólu po aplikacji. Uzyskane wartości odczynu pH dla badanych formułacji wraz z wartościami odchyłeń standardowych przedstawiono w tabeli 2.

Wpływ składu na gęstość otrzymanych formułacji

Gęstość wykonanych formułacji mieściła się w zakresie 1,0079 - 1,0099 g/cm³. Jak wynika z danych przedstawionych na wykresie 1, wśród formułacji nie zawierających metotreksatu (stanowiących grupę odniesienia) najmniejszą gęstością w warunkach prowadzenia badania, charakteryzowały się formułacje otrzymane z Pluronicu F-127 i chlorku benzalkoniowego z 0,5% dodatkiem polioksyetylenoglikolu 200 i 600 (serie PEG₂₀₀1 i PEG₆₀₀1). Największą gęstość w grupie formułacji nie zawierających substancji leczniczej posiadały układy zawierające w swoim składzie Pluronic F-127, chlorek benzalkoniowy oraz dodatek glukozy, laktozy, mannitolu czy dekstranu 7000. Wzrost stężenia wymienionych substancji pomocniczych w każdym przypadku powodował wzrost gęstości otrzymanych z ich udziałem formułacji.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, iż dodatek metotreksatu powodował wzrost gęstości większości formułacji. Wielkość i charakter tych zmian zależał od rodzaju użytej substancji pomocniczej.

Wprowadzenie laktozy w stężeniu 0,5 i 1,0% do serii Lak2 i Lak4 w porównaniu do formułacji odniesienia nie zawierającej tej substancji pomocniczej (seria 0), powodowało

największy przyrost ich gęstości. Gęstość formulacji otrzymanych z dodatkiem laktozy, wynosiła dla 0,5% stężenia substancji $1,0094 \text{ g/cm}^3$ i odpowiednio $1,0099 \text{ g/cm}^3$ dla 1,0% zawartości substancji. Podobnie do omówionych serii zachowywały się formulacje zawierające w swoim składzie dodatek 0,5 i 1,0% glukozy (Glu2 i Glu4), 0,5 i 1,0% mannitolu (M2 i M4) oraz 0,2% i 0,4% chlorku sodu (NC2 i NC4).

W serii formulacji zawierających dodatek glikoli polioksyetylenowych (PEG₂₀₀, PEG₆₀₀ i PEG₁₅₀₀) niezależnie od stężenia tych substancji wzrost gęstości był podobny i stosunkowo niski w porównaniu do serii 0, bez dodatku wymienionych substancji pomocniczych. Przeciwnie do powyżej omówionych serii, dodatek metotreksatu wpływał na gęstość formulacji zawierających glicerol (Gly2 i Gly4) i dekstran (DX2). Odnotowano znaczny spadek gęstości tych formulacji, w stosunku do odpowiadających im serii bez dodatku metotreksatu.

Wpływ składu na osmolarność formulacji

Jak wynika z uzyskanych wyników, przedstawionych na wykresie 2, dodatek substancji pomocniczych miał istotny wpływ na wartość oznaczonego ciśnienia osmotycznego formulacji. Największą osmolarność w grupie formulacji nie zawierających metotreksatu posiadały serie otrzymane z dodatkiem mannitolu (M1, M3), glicerolu (Gly1, Gly3), polioksyetylenoglikolu o niskiej masie cząsteczkowej (PEG₂₀₀1, PEG₂₀₀3) i chlorku sodu (NC1, NC3). Za silnie hiperosmotyczne formulacje można uznać serie otrzymane z dodatkiem 1% glicerolu (Gly3), 1% mannitolu (M3) i 0,4% chlorku sodu (NC, NC3). Ciśnienie osmotyczne tych formulacji wynosiło odpowiednio dla Gly3 $353,33 \text{ mosmol/kg}$, dla M3 $335,00 \text{ mosmol/kg}$ i dla NC4 $407,57 \text{ mosmol/kg}$.

Dodatek metotreksatu powodował wzrost ciśnienia osmotycznego formulacji, dzięki czemu wiele z nich osiągnęło wymaganą przez FPVI osmolarność w zakresie $280\text{--}300 \text{ mosmol/l}$. Serie formulacji zawierające obok substancji działającej dodatek laktozy, glukozy, polioksyetylenoglikolu 200 i polioksyetylenoglikolu 600 w stężeniu 1% (Lak4, Glu4, PEG₂₀₀4, PEG₆₀₀4), posiadały osmolarność w zakresie fizjologicznej wartości ciśnienia osmotycznego surowicy krwi. Formulacje z metotreksatem zawierające 0,5% dodatek glukozy, mannitolu i glicerolu (Glu2, M2 i Gly2) jako substancji izotonizujących, posiadały

ciśnienie osmotyczne w zakresie 250-280 mosmol/kg. Roztwory, których wartość osmolarności zawiera się w tym przedziale określane są jako hipoosmotyczne. Za silnie hipoosmotyczne w grupie formułacji zawierających substancję leczniczą z 0,5% dodatkiem substancji doprowadzających do izotonii można uznać serie Lak2 i DX2, zawierające laktosę i dekstran 7000. Oznaczone ciśnienie osmotyczne tych formułacji miało wartość poniżej 253 mosmol/kg.

Stwierdzono również, iż wzrost masy cząsteczkowej dodawanych polioksietylenoglikoli, pomimo ich niskiego stężenia w formułacjach, miał wpływ na wartość oznaczanego ciśnienia osmotycznego. Najniższą osmolarność w grupie formułacji zawierających dodatek polioksietylenoglikoli, posiadały serie zawierające PEG 1500 o największej masie cząsteczkowej (serie PEG₁₅₀₀).

Wyznaczanie temperatury przejścia fazowego zol-żel na podstawie pomiaru zmian lepkości

Zgodnie z wymaganiami FP VI pomiary lepkości powtarzano 3-krotnie, dla każdej formułacji przy wzrastającej o 0,2°C/5 sekund temperaturze w granicach temperatur 20°C±0,1°C - 40°C±0,1°C, przy stałej prędkości ścinania wynoszącej 10 s⁻¹.

Zmiany lepkości formułacji przedstawiono na wykresach 3. a-c. Za temperaturę przejścia fazowego przyjęto temperaturę, w której w warunkach badania odnotowano największy przyrost lepkości formułacji. Stwierdzono, iż temperatury przejść fazowych układów otrzymanych z metotreksatem były około 2°C niższe, w stosunku do odpowiadających im serii pozbawionych substancji leczniczej. Wartość temperatur przemian zol-żel uzyskanych bez metotreksatu formułacji mieściła się w zakresie 36-38°C.

Dodatek laktosy i mannitolu do formułacji (serie L i M) powodował w porównaniu do serii 0 uznanej za odnośnik, wzrost temperatury przejścia fazowego o ok. 1°C w kierunku wartości temperatury fizjologicznej. Termodynamiczna przemiana fazowa tych formułacji miała miejsce w temperaturze ok. 35°C. Wprowadzenie glukozy, glicerolu i dekstranu do serii G, GL i DX, powodowało obniżenie o ok. 1°C temperatury przejścia fazowego tych układów w stosunku do serii 0. Wyraźny spadek temperatury przejścia fazowego w odniesieniu do serii 0, można również zaobserwować dla formułacji zawierającej 0,2% i

0,4% dodatek chlorku sodu (seria NC). Spadek ten w tym przypadku jest proporcjonalny do stężenia chlorku sodowego (seria NC4).

Wprowadzenie polioksyetylenoglikolu 200 i 1500 do serii PEG₂₀₀ i PEG₁₅₀₀, powodowało wzrost temperatury przemiany fazowej żół-żel w przypadku 0,5% ich dodatku (seria PEG₂₀₀2 i seria PEG₁₅₀₀2). Spadek temperatury przemiany fazowej odnotowano natomiast dla formułacji, do których wprowadzono polioksyetylenoglikol 600 (seria PEG₆₀₀2 i PEG₆₀₀4).

Lepkość serii zawierających metotreksat była około 3-4-krotnie większa w temperaturze 38°C w porównaniu do nośników, otrzymanych bez dodatku substancji leczniczej. Dodatek polioksyetylenoglikolu 600 (seria PEG₆₀₀) do formułacji przyczyniał się do znaczącej progresji lepkości. Lepkość tych formułacji była około 2-krotnie większa w temperaturze 38°C w stosunku do pozostałych serii (lepkość przy prędkości 10s⁻¹ wynosiła dla serii PEG₆₀₀2 14045 mPa·s i 131193 mPa·s dla serii PEG₆₀₀4). Najmniejszą lepkość posiadały formułacje zawierające dodatek polioksyetylenoglikolu 200, mannitolu i laktozy (serie PEG₂₀₀, M i L).

Badanie uwalniania metotreksatu z formułacji w komorach Franz'a

Badanie dostępności farmaceutycznej metotreksatu z otrzymanych formułacji do wody, przeprowadzono w temperaturze 37±0,5°C w komorach Franz'a.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, iż dodatek substancji pomocniczych do formułacji, umożliwił uzyskanie nośników substancji leczniczej o różnym czasie półuwalniania. W zależności od stężenia i rodzaju wprowadzonych substancji pomocniczych, otrzymano formułacje uwalniające metotreksat z różną szybkością. Uzyskane średnie wartości oznaczeń wykazały, iż proces uwalniania metotreksatu z formułacji przebiegał z kinetyką I-rzędu, co potwierdzają wielkości współczynników korelacji R dla danych empirycznych w skali półlogarytmicznej.

Na podstawie wyznaczonych współczynników kierunkowych linii trendu, odpowiadającym stałym szybkości reakcji uwalniania, obliczono dla poszczególnych serii formułacji okresy półuwalniania. Wartość współczynników korelacji przy poziomie istotności p<0,05, świadczy o wysokim dopasowaniu danych doświadczalnych do

półlogarytmicznej zależności zmian procentu pozostałości metotreksatu w formulacji w funkcji czasu.

W celu oceny wpływu procesu dyfuzji na dostępność farmaceutyczną metotreksatu z nośnika, przeprowadzono także analizę przebiegu uwalniania w oparciu o półempiryczny model Korsmeyera-Peppasa. Wartość wykładnika dyfuzji n w tym modelu jest wyznacznikiem wpływu dyfuzji na proces uwalniania. Dla $n=0,5$ uwalnianie leku jest kontrolowane przez proces dyfuzji zgodny z prawem Ficka, dla $n=1,0$ uwalnianie zachodzi zgodnie z zerowym rzędem reakcji. Wartość wykładnika n w zakresie $0,5 < n < 1,0$ świadczy o tym, iż na uwalnianie substancji leczniczej z nośnika mają wpływ oba wymienione mechanizmy. Równania linii trendu kinetyki uwalniania metotreksatu z serii formulacji zebrano w tabeli 3.

Wykorzystując algorytm Quasi-Newtona dostępny w programie komputerowym *STATISTICA* v.5,97, dokonano estymacji nieliniowej metodą najmniejszych kwadratów uzyskanych danych pomiarowych i wyznaczono wykładnik n wskazujący na mechanizm uwalniania substancji z uzyskanych formulacji. Wartość tego współczynnika dla większości badanych układów mieściła się w przedziale $0,5 < n < 1,0$, co świadczy o tym, iż w procesie uwalniania metotreksatu z opracowanych formulacji biorą udział dwa mechanizmy, dyfuzja oparta na prawie Ficka i uwalnianie zgodne z zerowym rzędem reakcji.

Ogólnie można stwierdzić, że dostępność farmaceutyczna metotreksatu z formulacji była wyższa w serii NC zawierającej 14,8% Pluronicu F-127 z dodatkiem chlorku sodu.

Analizując dane dotyczące kinetyki uwalniania metotreksatu zaobserwowano, iż najszybciej metotreksat uwalniał się z formulacji zawierających dodatek chlorku sodu, 1,0% glukozy i 1,0% mannitolu jako substancji pomocniczych. Z układów, do których wprowadzono 0,2% i 0,4% chlorku sodu (serie NC2 i NC4), w czasie 4 godzin uwolniło się odpowiednio 23,5% i 18,7% metotreksatu w porównaniu do 11,07% substancji, która uwolniła się z serii 0 uznawanej za odnośnik. Podobnie w przypadku dodatku 1,0% glukozy i 1,0% mannitolu uwolniło się ok. 19,3% metotreksatu dla serii Glu4 i około 26% dla serii M4.

Stwierdzone różnice w uwalnianiu substancji czynnej z tych formulacji, można tłumaczyć różnicami w ciśnieniu osmotycznym po obu stronach błony. Nośniki zawierające chlorek sodu i 1% mannitol miały najwyższe, w granicach 376-398 mosmol/kg, wartości

ciśnienia osmotycznego. Dodatek dekstranu i glicerolu nie powodował dużych zmian w kinetyce uwalniania metotreksatu w stosunku do serii 0.

Najwolniej metotreksat uwalniał się z formulacji zawierających 0,5% dodatek laktozy i polioksyetylenoglikoli o niskiej masie cząsteczkowej PEG 200 i PEG 600. W przypadku serii Lak2 z 0,5% dodatkiem laktozy, w ciągu 4 godzin badania uwolniło się ok. 9,67% metotreksatu, z serii zawierającej 0,5% PEG 200 (PEG₂₀₀2) i 0,5% PEG 600 (PEG₆₀₀2) uwolniło się odpowiednio 9,52% i 9,91% substancji. Po dodaniu polioksyetylenoglikoli, spadek uwalniania metotreksatu można tłumaczyć dużą lepkością formulacji. W przypadku dodatku polioksyetylenoglikoli szybkość uwalniania metotreksatu była zmienna w czasie, przy czym różnice te były najbardziej widoczne dla formulacji zawierających dodatek polioksyetylenoglikolu 200 i 600.

Zachowanie opracowanych formulacji w badaniach reologicznych nie znajduje jednoznacznego przełożenia na zdolność uwalniania metotreksatu.

PODSUMOWANIE

Wykorzystany do otrzymania badanych formulacji Pluronic F-127 jest biokompatybilnym, ulegającym bioerozji w organizmie polimerem. Właściwości fizykochemiczne otrzymanych z jego udziałem termowrażliwych układów zawierających metotreksat, są zróżnicowane i zależne od rodzaju zastosowanych substancji pomocniczych oraz ich stężenia.

W celu uzyskania postaci leku, która spełniałaby wymogi farmakopealne i dla zapewnienia optymalnych wartości parametrów fizykochemicznych otrzymanych formulacji, do ich wykonania użyto substancji pomocniczych doprowadzających do izoosmotyczności, substancji zwiększających lepkość, chlorku benzalkoniowego, zapewniającego utrzymanie jałowości oraz substancji wpływających na uwalnianie substancji z postaci.

W przypadku leków do wstrzykiwań w celu uniknięcia działań drażniących dąży się do izohydrii. Odczyn pH uzyskanych składów mieścił się w zakresie fizjologicznych wartości odczynu pH płynów ustrojowych. Analiza właściwości fizykochemicznych badanych formulacji, tj. pH, ciśnienia osmotycznego i gęstości pozwala przypuszczać, iż ich podanie cienką igłą nie powinno stwarzać problemów, a po aplikacji będą dobrze tolerowane przez tkanki.

Gęstość formulacji obok lepkości jest czynnikiem wpływającym na szybkość uwalniania i na czas działania substancji. Większe wartości gęstości i lepkości w przypadku żeli, zapewniają dłuższe ich pozostanie w miejscu aplikacji. Gęstość badanych w temperaturze 22°C formulacji zawierających metotreksat, była zbliżona do gęstości podawanych podskórnie zawiesin parenteralnych z hormonami peptydowymi otrzymanych przez Dolińską i wsp. [7].

Wszystkie składy zawierające metotreksat, posiadały korzystniejsze właściwości fizykochemiczne względem czystych podłoży. Dodatek metotreksatu powodował wzrost ciśnienia osmotycznego formulacji, dzięki czemu wiele z nich osiągnęło wymaganą przez FPVI osmolarność w zakresie 280-300 mosmol/l. Serie formulacji zawierające obok substancji działającej i środka konserwującego dodatek laktozy, glukozy, polioksyetylenoglikolu 200, polioksyetylenoglikolu 600 i glikolu propylenowego-1,2 w stężeniu 1%, posiadały osmolarność w zakresie fizjologicznej wartości ciśnienia osmotycznego surowicy krwi.

Jednak o rzeczywistej skuteczności formulacji decydują dwa elementy, jej lepkość oraz profil uwalniania substancji leczniczej. Lepkość półstałych postaci leku wpływa znacząco na możliwość ich podania w iniekcji głębokiej, na szybkość wnikania wody do nośnika po jego podaniu i na dostępność farmaceutyczną substancji leczniczej z postaci leku. Przy oznaczonej dużej lepkości podłoża można sądzić, iż szybkość rozmywania nośnika ulegnie wydłużeniu. Wzajemne korelacje pomiędzy wyznaczonymi reometrycznie właściwościami reologicznymi formulacji i pozostałymi cechami fizycznymi, takimi jak: osmolarność i gęstość, pozwalają na przewidywanie ich użytkowej charakterystyki oraz przydatności w badaniach *in vivo*.

W dalszej części pracy przy pomocy badań reologicznych, analizowano termiczne przejścia fazowe zol-żel roztworów koloidalnych związków wielkocząsteczkowych. Wartość temperatur przemian zol-żel uzyskanych bez metotreksatu formulacji mieściła się w zakresie 36-38°C. Stwierdzono, iż temperatury przejść fazowych układów otrzymanych z metotreksatem były ok. 2°C niższe, w stosunku do odpowiadających im serii pozbawionych substancji leczniczej. Dodatek laktozy i mannitolu do formulacji (serie L i M) powodował w porównaniu do serii zawierającej polimer, chlorek benzalkoniowy i metotreksat (seria 0),

uznanej za odnośnik, wzrost temperatury przejścia fazowego o ok. 1°C w kierunku wartości temperatury fizjologicznej.

Termodynamiczna przemiana fazowa tych formuacji miała miejsce w temperaturze około 35°C. Wprowadzenie glukozy, glicerolu i dekstranu do serii G, GL i DX powodowało obniżenie o ok. 1°C temperatury przejścia fazowego tych układów w stosunku do serii 0. Wyraźny spadek temperatury przejścia fazowego w odniesieniu do serii 0, można również zaobserwować dla formuacji zawierającej 0,2% i 0,4% dodatek chlorku sodu (seria NC). Spadek ten w tym przypadku jest proporcjonalny do stężenia chlorku sodowego (seria NC4).

Wprowadzenie polioksyetylenoglikolu 200 i 1500 do serii PEG₂₀₀ i PEG₁₅₀, powodowało wzrost temperatury przemiany fazowej żół-żel w przypadku 0,5% ich dodatku (seria PEG₂₀₀2 i seria PEG₁₅₀₀2). Spadek temperatury przemiany fazowej odnotowano natomiast dla formuacji, do których wprowadzono polioksyetylenoglikol 600 (seria PEG₆₀₀2 i PEG₆₀₀4).

W przeprowadzonym badaniu zmian lepkości zaobserwowano tendencje do jej wzrostu w obecności substancji leczniczej. Lepkość serii zawierających metotreksat była około 3-4-krotnie większa w temperaturze 38°C, w porównaniu do nośników otrzymanych bez dodatku substancji leczniczej. Dodatek polioksyetylenoglikolu 600 (seria PEG₆₀₀) do formuacji przyczyniał się do znaczącej progresji lepkości. Lepkość formuacji otrzymanych z jego udziałem była ok. 2-krotnie większa w temperaturze 38°C w stosunku do pozostałych serii. Najmniejszą lepkość posiadały formuacje zawierające dodatek polioksyetylenoglikolu 200, mannitolu i laktozy (serie PEG₂₀₀, M i L).

Stwierdzono, iż zachowanie formuacji w badaniach reologicznych nie znajduje jednoznacznego przełożenia na zdolność uwalniania substancji czynnej. W zależności od stężenia i rodzaju wprowadzonych substancji pomocniczych, otrzymano formuacje uwalniające metotreksat z różną szybkością. Ogólnie można stwierdzić, że dostępność farmaceutyczna metotreksatu z formuacji była wyższa w obecności chlorku sodu. Z układów, do których wprowadzono 0,2% i 0,4% chlorku sodu (serie NC2 i NC4), w czasie 4 godzin uwolniło się odpowiednio 23,5% i 18,7% metotreksatu w porównaniu do 11,07% substancji, która uwolniła się z serii 0 uznawanej za odnośnik.

Analizując dane dotyczące kinetyki uwalniania metotreksatu zaobserwowano, iż z dużą szybkością metotreksat uwalniał się z formuacji zawierających także dodatek 1,0%

glukozy (19,3%) i 1,0% (26%) mannitolu. Stwierdzone różnice w uwalnianiu substancji czynnej z tych formułacji, można tłumaczyć różnicami w ciśnieniu osmotycznym po obu stronach błony półprzepuszczalnej. Nośniki zawierające chlorek sodu i mannitol miały najwyższe, w granicy 376-398 mosmol/kg, wartości ciśnienia osmotycznego.

W toku badań uwalniania okazało się, iż dodatek dekstranu, glicerolu i glikolu propylenowego-1,2 nie powodował dużych zmian w kinetyce uwalniania metotreksatu w stosunku do serii 0.

Najwolniej metotreksat uwalniał się z formułacji zawierających 0,5% dodatek laktozy i polioksyetylenoglikoli o niskiej masie cząsteczkowej PEG 200 i PEG 600. W przypadku serii 0,5% laktozy, w ciągu 4 godzin badania uwolniło się około 9,67% metotreksatu. Z serii zawierającej 0,5% PEG 200 (PEG₂₀₀2) i 0,5% PEG 600 (PEG₆₀₀2) uwolniło się odpowiednio 9,52% i 9,91% substancji. Po dodaniu polioksyetylenoglikoli spadek uwalniania metotreksatu można tłumaczyć dużą lepkością formułacji. Zauważono także, iż w przypadku dodatku polioksyetylenoglikoli szybkość uwalniania metotreksatu była zmienna w czasie, przy czym różnice te były najbardziej widoczne dla formułacji zawierających dodatek polioksyetylenoglikolu 200 i 600.

Wyznaczone stałe szybkości uwalniania metotreksatu rzędu 10^{-4} pozwoliły uzyskać formułacje, w których czas połowicznego uwalniania wynosił od 11,55 godz. do 57,75 godz.

WNIOSKI

1. Analiza właściwości fizykochemicznych badanych formułacji tj. pH, ciśnienie osmotyczne, gęstość pozwala przypuszczać, iż ich podanie cienką igłą nie powinno stwarzać problemów, a po aplikacji będą dobrze tolerowane przez tkanki.
2. Zastosowane składowe formułacyjne wpływały na wielkość i charakter zmian temperatury przemiany fazowej zol-żel badanych serii (dodatek laktozy i mannitolu powodował przesunięcie temperatury przemiany fazowej w stronę wartości temperatury fizjologicznej, wprowadzenie glicerolu, glukozy czy dekstranu 7000 obniżało temperaturę przejścia fazowego, temperatury przemiany fazowej zol-żel serii zawierających polioksyetylenoglikole były zależne od ich masy cząsteczkowej i stężenia).

3. Dostępność farmaceutyczna metotreksatu z temowrażliwych formuacji była zróżnicowana (zależnie od składu uzyskano nośniki metotreksatu o różnym czasie pólwalniania). Jest ona wynikiem sumowania się równocześnie zachodzącej dyfuzji opartej na prawie Ficka i uwalniania zgodnego z zerowym rzędem reakcji.

LITERATURA

- [1] Schmolka I. R.: Artificial skin I. Preparation and properties of Pluronic F-127 gels for the treatment of burns, J. Biomed. Mater. Res. (1972), 6, 571-582.
- [2] Lucas L. N., Esch J. Van, Kellogg R. M., Feringa B. L.: Photocontrolled Self-assembly of Molecular Switches, Chem. Commun. (2001), 759.
- [3] Farmakopea Polska VI, Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych - Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne Warszawa 2002.
- [4] European Pharmacopoeia 5th Edition, Council of Europe Strasbourg (2007).
- [5] <http://www.hansonresearch.com/vert-diffusion-cell.htm>
- [6] Costa P., Sousa Lobo J. M.: Modeling and comparison of dissolution profiles - Eur. J. Pharm. Sci. (2001), 13, 123-133.
- [7] Dolińska B.: Zawiesiny parenteralne hormonów białkowo-peptydowych i ich właściwości. Rozprawa habilitacyjna - Śląska Akademia Medyczna, Katowice 2001.

Adres autorów

Akademia Medyczna we Wrocławiu
Katedra Technologii Postaci Leku
ul. Szewska 38, 50-139 Wrocław
tel. 071 784 0324
E-mail: karol@bf.uni.wroc.pl

Correspondence:

Bożena Karolewicz

Department of Dispensing Pharmacy

Wrocław Medical University

Szewska 38 50-139 Wrocław, Poland.

Tel./fax: +48 071-784-03-17.

E-mail address: karol@bf.uni.wroc.pl

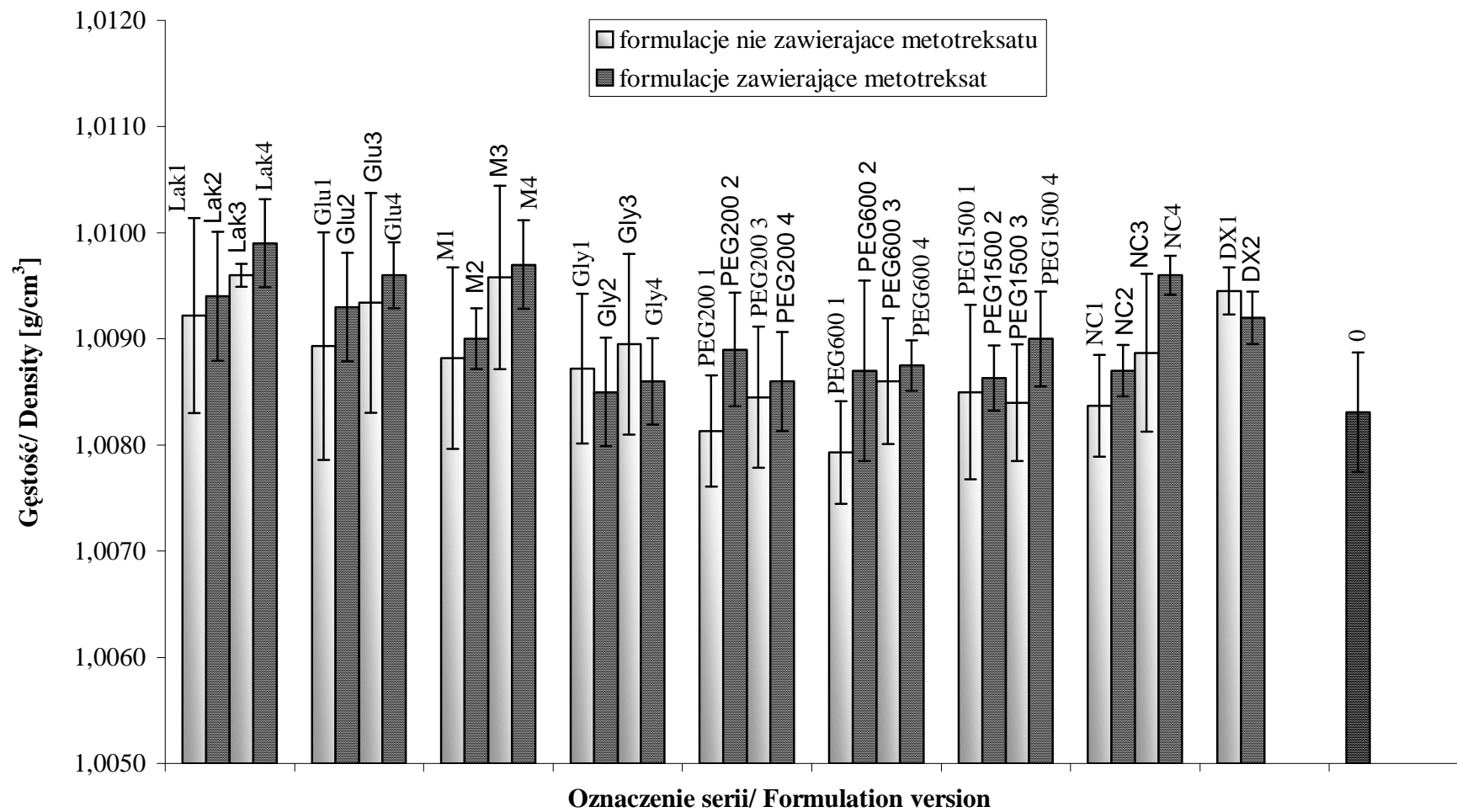
Tabela 1. Skład badanych formulacji

Table 1. Composition of the investigated formulations

Oznaczenie serii/Series version	Skład/Composition		Oznaczenie formulacji/Formulation version	Oznaczenie serii/Series version	Skład/Composition		Oznaczenie formulacji/Formulation version
Seria L	14,8% Pluronic F-127 0,01% ChB	0,5% Lak	Lak1	Seria PEG ₂₀₀	14,8% Pluronic F-127 0,01% ChB	0,5% PEG ₂₀₀	PEG ₂₀₀ 1
		0,5% Lak, 0,01% MTX	Lak2			0,5% PEG ₂₀₀ , 0,01% MTX	PEG ₂₀₀ 2
		1,0% Lak	Lak3			1,0% PEG ₂₀₀	PEG ₂₀₀ 3
		1,0% Lak, 0,01% MTX	Lak4			1,0% PEG ₂₀₀ , 0,01% MTX	PEG ₂₀₀ 4
Seria G	14,8% Pluronic F-127 0,01% ChB	0,5% Glu	Glu1	Seria PEG ₆₀₀	14,8% Pluronic F-127 0,01% ChB	0,5% PEG ₆₀₀	PEG ₆₀₀ 1
		0,5% Glu, 0,01% MTX	Glu2			0,5% PEG ₆₀₀ , 0,01% MTX	PEG ₆₀₀ 2
		1,0% Glu	Glu3			1,0% PEG ₆₀₀	PEG ₆₀₀ 3
		1,0% Glu, 0,01% MTX	Glu4			1,0% PEG ₆₀₀ , 0,01% MTX	PEG ₆₀₀ 4
Seria M	14,8% Pluronic F-127 0,01% ChB	0,5% M	M1	Seria PEG ₁₅₀₀	14,8% Pluronic F-127 0,01% ChB	0,5% PEG ₁₅₀₀	PEG ₁₅₀₀ 1
		0,5% M, 0,01% MTX	M2			0,5% PEG ₁₅₀₀ , 0,01% MTX	PEG ₁₅₀₀ 2
		1,0% M	M3			1,0% PEG ₁₅₀₀	PEG ₁₅₀₀ 3
		1,0% M, 0,01% MTX	M4			1,0% PEG ₁₅₀₀ , 0,01% MTX	PEG ₁₅₀₀ 4
Seria GL	14,8% Pluronic F-127 0,01% ChB	0,5% Gly	Gly1	Seria NC	14,8% Pluronic F-127 0,01% ChB	0,2% NC	NC1
		0,5% Gly, 0,01% MTX	Gly2			0,2% NC, 0,01% MTX	NC2
		1,0% Gly	Gly3			0,4% NC	NC3
		1,0% Gly, 0,01% MTX	Gly4			0,4% NC, 0,01% MTX	NC4
Seria DX	14,8% Pluronic F-127 0,01% ChB	0,5% Dex	DX1	Seria 0	14,8% Pluronic F-127	0,01% ChB, 0,01% MTX	-
		0,5% Dex, 0,01% MTX	DX2				

ChB - chlorek benzalkoniowy, MTX - metotreksat, Lak - laktoza, Glu - Glukoza, M - mannitol, Gly - glicerol, PEG₂₀₀ - polioksyetylenoglikol 200, PEG₆₀₀ - polioksyetylenoglikol 600, PEG₁₅₀₀ - polioksyetylenoglikol 1500, NC - chlorek sodu, DX - dekstran 7000

ChB - benzalkonium chloride, MTX - methotrexate, Lak - lactose, Glu - glucose, M - mannitol, Gly - glycerol, PEG₂₀₀ - polyethyleneglycol 200, PEG₆₀₀ - polyethyleneglycol 600, PEG₁₅₀₀ - polyethyleneglycol 1500, NC - sodium chloride, DX - dextran 7000



Wykres 1. Średnie wartości gęstości otrzymanych formacji

Graph 1. Mean density of formulations in g/cm³

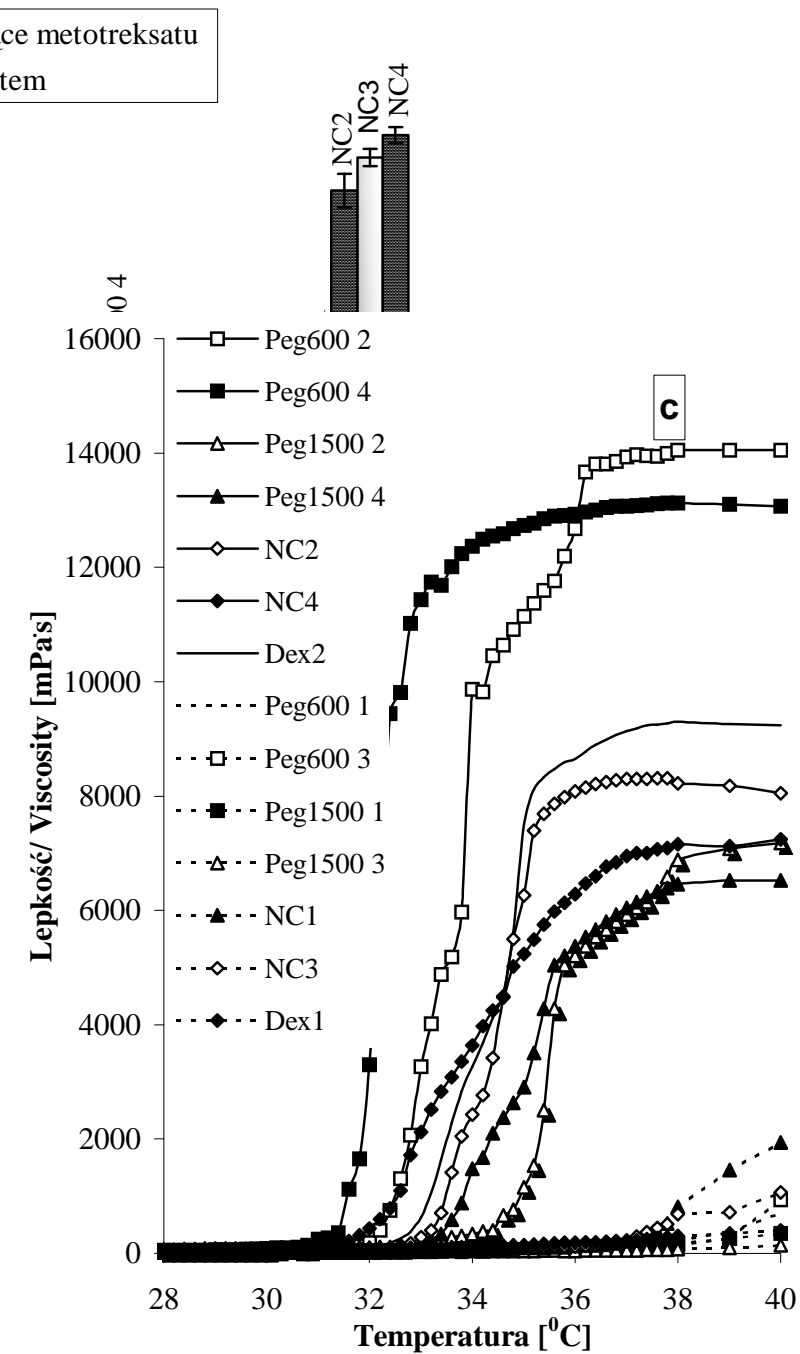
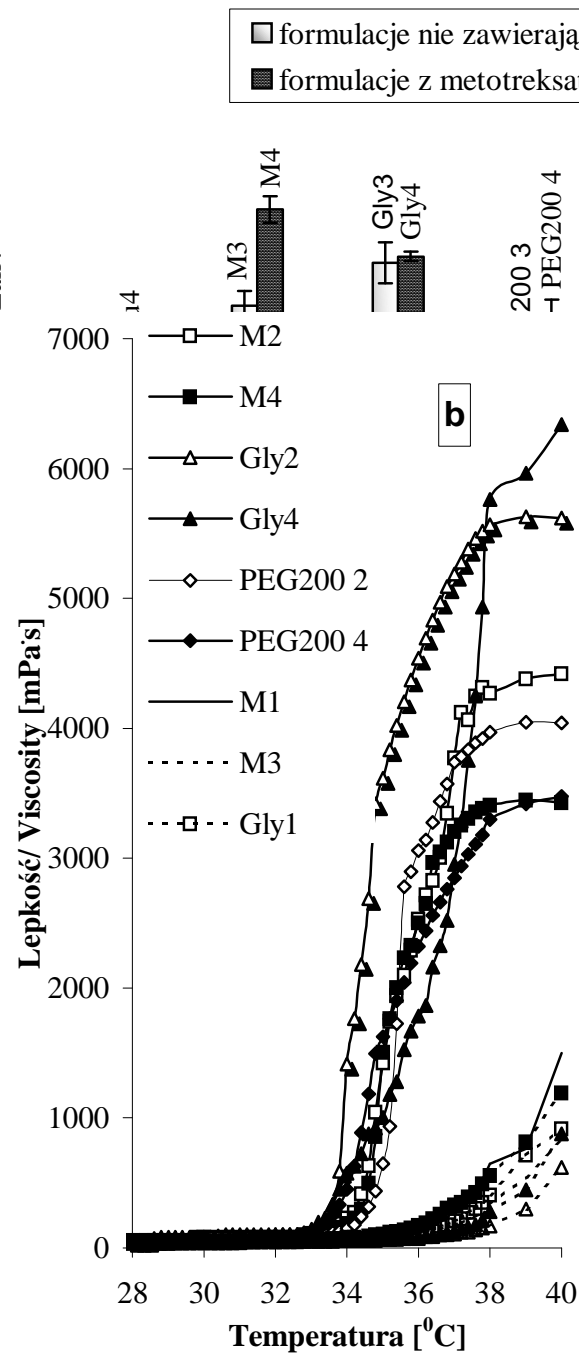
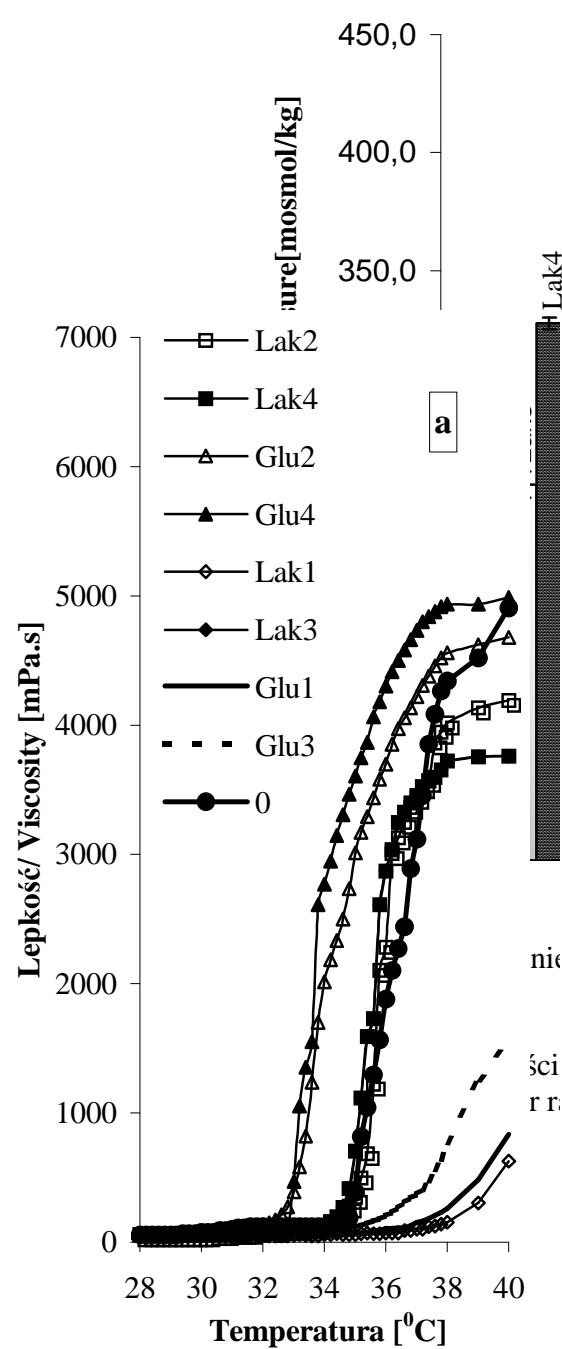


Tabela 2. Średnia wartość pH wyznaczona dla poszczególnych formułacji

Table 2. Mean pH for formulations

Seria	Oznaczenie Formułacji	Średnie pH	Odchylenie standardowe
Seria L	Lak1	6,771	±0,002
	Lak2	7,304	±0,008
	Lak3	6,804	±0,006
	Lak4	7,225	±0,001
Seria G	Glu1	6,661	±0,004
	Glu2	7,241	±0,005
	Glu3	6,779	±0,006
	Glu4	7,259	±0,005
Seria M	M1	6,719	±0,003
	M2	7,407	±0,003
	M3	6,708	±0,005
	M4	7,359	±0,002
Seria GL	Gly1	6,790	±0,008
	Gly2	7,291	±0,002
	Gly3	6,833	±0,010
	Gly4	7,357	±0,003
Seria PEG ₂₀₀	PEG ₂₀₀ 1	6,757	±0,004
	PEG ₂₀₀ 2	7,370	±0,001
	PEG ₂₀₀ 3	6,962	±0,009
	PEG ₂₀₀ 4	7,381	±0,001
Seria PEG ₆₀₀	PEG ₆₀₀ 1	6,798	±0,001
	PEG ₆₀₀ 2	7,502	±0,008

	PEG ₆₀₀ 3	6,887	±0,003
	PEG ₆₀₀ 4	7,375	±0,003
Seria PEG ₁₅₀₀	PEG ₁₅₀₀ 1	6,936	±0,004
	PEG ₁₅₀₀ 2	7,341	±0,003
	PEG ₁₅₀₀ 3	6,998	±0,004
	PEG ₁₅₀₀ 4	7,243	±0,003
Seria NC	NC1	6,733	±0,001
	NC2	7,505	±0,002
	NC3	6,693	±0,001
	NC4	7,469	±0,001
Seria DX	DX1	7,122	±0,009
	DX2	7,343	±0,002
Seria 0	-	7,371	±0,006

Tabela 3. Równania linii trendu kinetyki uwalniania metotreksatu z serii formułacji

Table 3. Interpretation of the release process on the basis of zero order, first order mathematical orders and Korsmeyer-Peppas model

Seria/ Series	Współ. r-Pearsona Pearson's coefficient	Zależność % pozostałości od czasu/ Relationship of percentage in the residual of substance in time			Zależność ln % pozostałości od czasu/ Relationship of ln percentage in the residual of substance in time			Model Korsmeyera- Peppasa/ Korsmeyer- Peppas model	
		Równanie linii trendu/ Equation of trends line	R ²	T _{0,5} [min]	Równanie linii trendu/ Equation of trends line	R ²	T _{0,5} [min]	Równanie linii trendu $f_t = at^n$ / Equation of trends line $f_t = at^n$	R ²
Lak2	-0,9470	y= - 0,0253x + 95,8048	0,8968	1976,28	y= - 0,0002x + 4,5625	0,9014	3465,00	y=1,1509x ^{0,3936}	0,9867
Lak4	-0,9722	y= - 0,0389x + 96,8918	0,9451	1285,34	y= - 0,0004x + 4,5746	0,9516	1732,50	y=0,5510x ^{0,5629}	0,9928
Glu2	-0,9872	y= - 0,0333x + 96,3638	0,9747	1501,50	y= - 0,0003x + 4,5691	0,9791	2310,00	y=0,7586x ^{0,4918}	0,9906
Glu4	-0,9599	y= - 0,0665x + 97,4539	0,9214	751,88	y= - 0,0008x + 4,5528	0,9369	866,25	y=0,8926x ^{0,5702}	0,9853
M2	-0,9469	y= - 0,0460x + 96,1958	0,8968	1086,96	y= - 0,0005x + 4,5673	0,9045	1386,00	y=0,7020x ^{0,5506}	0,9774

M4	-0,9542	$y = -0,0827x + 94,9439$	0,9106	604,59	$y = -0,0010x + 4,5247$	0,9255	693,00	$y = 1,5967x^{0,5155}$	0,9846
Gly2	-0,9948	$y = -0,0467x + 97,9969$	0,9896	1070,66	$y = -0,0005x + 4,5868$	0,9929	1386,00	$y = 0,2671x^{0,7074}$	0,9988
Gly4	-0,9965	$y = -0,0449x + 98,0866$	0,9931	1113,58	$y = -0,0004x + 4,5872$	0,9951	1732,50	$y = 0,2503x^{0,7119}$	0,9990
PEG ₂₀₀ 2	-0,9520	$y = -0,0250x + 95,9048$	0,9063	2000,00	$y = -0,0002x + 4,5636$	0,9115	3465,00	$y = 1,1173x^{0,3957}$	0,9886
PEG ₂₀₀ 4	-0,9862	$y = -0,0538x + 97,0770$	0,9770	929,36	$y = -0,0006x + 4,5778$	0,9800	1155,24	$y = 0,4236x^{0,6553}$	0,9912
PEG ₁₅₀₀ 2	-0,9917	$y = -0,0382x + 97,4962$	0,9836	1308,90	$y = -0,0004x + 4,5807$	0,9864	1732,50	$y = 0,3891x^{0,6151}$	0,9982
PEG ₁₅₀₀ 4	-0,9900	$y = -0,0523x + 96,4763$	0,9802	956,02	$y = -0,0005x + 4,5714$	0,9854	1386,00	$y = 0,5596x^{0,6070}$	0,9983
NC2	-0,9875	$y = -0,0839x + 95,3007$	0,9751	595,94	$y = -0,0009x + 4,5647$	0,9822	770,00	$y = 0,6979x^{0,6464}$	0,9968
NC4	-0,9676	$y = -0,0617x + 94,7388$	0,9363	810,37	$y = -0,0007x + 4,5537$	0,9484	990,00	$y = 0,9704x^{0,5466}$	0,9907
DX2	-0,9665	$y = -0,0376x + 96,1030$	0,9341	1329,79	$y = -0,0004x + 4,5661$	0,9406	1732,50	$y = 0,7984x^{0,5018}$	0,9922
0	-0,9955	$y = -0,0368x + 97,4539$	0,9911	1358,69	$y = -0,0004x + 4,5804$	0,9935	1732,50	$y = 0,4006x^{0,6053}$	0,9990

$T_{0,5}$ - czas półuwalniania, f_t - ilość uwolnionej substancji w czasie, a - stała dla modelu, t - czas, n - wykładnik dyfuzji, R^2 - współczynnik determinacji

$T_{0,5}$ - semi-release times, f_t - amount of drug released in time, a – constant for model, t – time, n – diffusion index, R^2 - coefficient of determination