

Ocena dostępności farmaceutycznej ketoprofenu w obecności suchego wyciągu z nawłoci (*Solidago virgaurea* L.) z syntetycznych podłoży polimerowych

Aneta Berner–Strzelczyk, Justyna Kołodziejska,
Magdalena Piechota–Urbańska, Marian Mikołaj Zgoda

Zakład Technologii Postaci Leku, Katedra Farmacji Stosowanej
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Streszczenie

Celem niniejszej pracy było wytworzenie hydrożeli do stosowania na skórę o wzmocnionym działaniu przeciwzapalnym, przeciwbólowym i przeciwreumatycznym. Aby uzyskać powyższy efekt, formułę zawierającą środek leczniczy z grupy niesterydowych leków przeciwzapalnych – ketoprofen, wzbogacono o suchy standaryzowany wyciąg roślinny.

W tym celu wybrano suchy standaryzowany wyciąg z nawłoci (*Solidago virgaurea* L.) o potwierdzonym działaniu przeciwzapalnym. Jako podłoża do wytworzenia formuły zastosowano pochodne polimerów kwasu akrylowego Carbopol Ultrez i Carbopol 980. Podłoża te wybrano ze względu na ich wysokie wartości aplikacyjne: przejrzystość, odporność na zmiany temperatury, doskonałe właściwości dotykowe i estetyczne, brak właściwości uczulających, brak toksyczności oraz nie wpływające na właściwości terapeutyczne środka leczniczego i zgodność w fazie farmaceutycznej.

Wytworzone formuły poddano podstawowym badaniom fizykochemicznym: pH, parametry lepkościowe (lepkość strukturalna, granica płynięcia i tiksotropia), dostępność farmaceutyczna oraz trwałość wytworzonych formuły po 6 miesiącach przechowywania. Porównano również wpływ składowych

ekstraktu roślinnego na proces dyfuzji ketoprofenu do płynu akceptorowego przez błonę półprzepuszczalną.

Uzyskane rezultaty wskazują, że suchy standaryzowany wyciąg z nawłoci nie wpływa znacząco na proces uwalniania ketoprofenu z badanych preparatów. Preparaty z ketoprofenem po 6 miesięcznym okresie przechowywania, charakteryzują się stabilnością reologiczną i wysoką dostępnością farmaceutyczną.

Słowa kluczowe: hydrożele, ketoprofen, wyciąg suchy z nawłoci (*Solidago virgaurea* L.), uwalnianie substancji leczniczej z żeli

The evaluation of ketoprofen pharmaceutical availability in the presence of a dry extract from goldenrod (*Solidago virgaurea* L.) of synthetic polymer vehicles

Summary

The aim of this study was to produce hydrogels for topical use and having strengthened anti-inflammatory, analgesic and anti-rheumatic activity. To obtain the above effect dry standardized plant extract was added to enrich a formulation containing therapeutic agent (ketoprofen) from the group of nonsteroidal anti-inflammatory drugs.

Dry standardized extract from *Solidago virgaurea* L. of confirmed anti-inflammatory activity was selected for this purpose. The derivatives of acrylic acid polymers (Carbopol Ultrez and Carbopol 980) were used as the formulation vehicles. These vehicles were selected owing to their high applicative properties – transparency, resistance to changes of temperature, perfect tactile and esthetic qualities, no sensitizing agents, no toxicity and lack of influence on therapeutic properties of the therapeutic agent and compatibility in the pharmaceutical phase.

The produced formulations were exposed to basic physicochemical tests – pH, viscosity parameters (structural viscosity, yield stress and thixotropy), pharmaceutical availability and durability after six months of storage. The effect of component plant

extracts on the process of ketoprofen diffusion to acceptor fluid through a semipermeable membrane was also compared.

The obtained results indicate that dry standardized extract from *Solidago virgaurea* L. does not affect significantly the process of ketoprofen release from the tested preparations. After six months of storage the preparations with ketoprofen demonstrate rheological stability and high pharmaceutical availability.

Key words: hydrogels, ketoprofen, dry extract from *Solidago virgaurea* L., pharmaceutical availability

Na polskim rynku farmaceutycznym istnieje wiele preparatów hydrożelowych, w tym zawierających ekstrakty roślinne. Produkty te jednak w większości oparte są na dostępnych ekstraktach glikolowych i alkoholowych, w których zawartość substancji leczniczych jest zmienna, często niższa od dawki terapeutycznej. Wychodząc naprzeciw potrzebom rynku farmaceutycznego zaproponowano nowe formy hydrożeli, zawierające suchy standaryzowany ekstrakt z nawłoci, a w celu uzyskania synergizmu w obszarze działania przeciwbólowego i przeciwzapalnego – ketoprofen.

Obecnie ziele nawłoci (*Solidago virgaurea* L.) stosuje się głównie wewnętrznie w zapaleniu pęcherza moczowego i nerek oraz kamicy i piasku nerkowym [1-3]. Na rynku farmaceutycznym ziele nawłoci dostępne jest w postaci herbatek ziołowych, w których jest ono jednym ze składników, preparaty płynne, kapsułki ze sproszkowanym ziołem, tabletki, pasty ziołowe, granulaty, krople. W ostatnich latach odkryto działanie przeciwzapalne [4-6] ziela oraz immunostymulujące i przeciwnowotworowe [7-8].

Za działanie przeciwzapalne i przeciwbólowe odpowiedzialny jest obecny w ziele lejkarpozyl z grupy glikozydów fenolowych. Działanie przeciwzapalne i przeciwbólowe wyciągu wodno-alkoholowego z ziela nawłoci, zostało wykazane w różnych modelach zapalenia [9]. Wyciąg z nawłoci hamuje również reakcje zapalne skóry oraz działa przeciwbakteryjnie [10]. Mimo potwierdzonego działania przeciwzapalnego i pozytywnego działania na skórę, obecnie zastosowanie zewnętrzne ziela z nawłoci ogranicza się do naparów do płukania jamy ustnej i gardła oraz na otarcia naskórka i uszkodzenia skóry [1].

CZEŚĆ EKSPERYMENTALNA

Materiały

- Ketoprofen – Sigma-Aldrich;
- *Extr. Solidaginis e Herb. spir. sicc.* (70% Nativ) standaryzowany na zawartość flawonoidów – PhytoPharm Klęka SA;
- Carbopol Ultrez 10 – Noveon;
- Carbopol 980 – Goodrich;
- Trietanolamina - Polskie Odczynniki Chemiczne;
- Glikol propylenowy - Polskie Odczynniki Chemiczne;
- Chlorek sodu – Polskie Odczynniki Chemiczne.

Aparatura

- Reometr cyfrowy typu stożek-płytki DV–III Brookfield wersja 3,0 wraz z programem komputerowym „Rheocalc for Windows”;
- Termostat łaźniowy PGW E-1, Medingen;
- Ciepłarka wodno–elektryczna, Termometal, Spółdzielnia Pracy Urządzeń Termotechnicznych, Andrzejów;
- Mikrokomputerowe urządzenie wielofunkcyjne Microcomputer Multifunction Meter CX– 501 z elektrodą zespoloną typu ESAgP–306 W, Eurosensor, Gliwice;
- Aparat do badania uwalniania środka leczniczego z hydrożelu, DT 600HH, Erweka, Niemcy;
- Tomofan o grubości ściany $d=0,0258$ mm, produkcji Tomaszowskich Zakładów Papierniczych;
- Spektrofotometr Nicolet Evolution 300, wersja 1,0, Spectro-Lab;
- Mieszadło mechaniczne R50D, CAT M. Zipperer GmbH;
- Waga techniczna – WPS 60/C, Zakład Mechaniki Precyzyjnej Radwag, Radom;

- Waga analityczna – WPT 1–C, Zakład Mechaniki Precyzyjnej Radwag, Radom.
- Mikser recepturowy – Unguator automatyczny „Es” firmy Eprus.

Receptura wytworzonych podłoży hydrożelowych i preparatów

Wytworzono matryce hydrożelowe na bazie Carbopolu Ultrez i Carbopolu 980 w oparciu o które opracowano recepturę formulacji z ketoprofenem oraz z suchym wyciągiem z nawłoci (*Ex. Solidago virgaurea aq. siccum*) (tabela 1).

Wyznaczenie parametrów lepkościowych [11-13]

Badania lepkościowe podłoży hydrożelowych przeprowadzono w temp. 37°C przy użyciu reometru cyfrowego typu stożek-płytki firmy Brookfield, DV- III, wersja 3,0, połączonego z termostatem łaźniowym PGW E-1 firmy Medingen.

Oznaczanie pH

Oznaczanie aktywności jonów wodorowych (pH) wykonano zgodnie z zaleceniami FP VIII [14].

OCENA SZYBKOŚCI DYFUZJI KETOPROFENU Z MODELOWYCH PREPARATÓW DO PŁYNU AKCEPTOROWEGO PRZEZ BŁONĘ PÓLPRZEPUSZCZALNĄ

Przed przystąpieniem do pomiaru uwalniania ketoprofenu w obecności substancji leczniczych zawartych w suchym wyciągu z nawłoci, z modelowych preparatów wykonano krzywą wzorcową zależności absorbancji od stężenia substancji leczniczej.

Absorbancję przygotowanych prób oznaczono przy długości fali:

$$\lambda = 260 \text{ nm dla soli ketoprofen/TEA.}$$

Zmierzone wartości umożliwiły wyznaczenie krzywej kalibracji zgodnie z prawem Lamberta-Beera (przez aproksymację zmierzonej realnej absorbancji roztworów wzorcowych).

Przebieg zależności absorbancji (A) od stężenia substancji leczniczych (C) przy poziomie istotności $p = 0,05$, opisano równaniem prostej typu:

$$A = 0,6654 \times C + 0,0378 \quad (r = 0,9998, \text{Sr} = 0,0001) \text{ dla ketoprofenu.}$$

Badanie szybkości dyfuzji ketoprofenu w obecności substancji leczniczych zawartych w suchym ekstrakcie roślinnym z badanych preparatów, przeprowadzono metodą membranową przy użyciu plastikowego pojemnika (zmodyfikowanego aparatu Mutimer i wsp.). Do niszy aparatu wprowadzono badany preparat i przymocowano uprzednio przygotowaną błonę dializacyjną z tomofanu (24 h ekspozycja w wodzie podwójnie destylowanej). Pokrywę aparatu połączono z niszą śrubami dociskowymi. Aparat Mutimer i wsp. umieszczono w zlewce okrągłodennej, w której zainstalowano mieszadło mechaniczne o regulowanej szybkości obrotów. Funkcje płynu akceptorowego pełnił izotoniczny roztwór chlorku sodu.

Szybkość procesu wymiany masy badano przez oznaczenie ilości substancji leczniczej, dyfundującej do płynu akceptorowego w określonych odstępach czasu metodą spektrofotometryczną.

REZULTATY I DYSKUSJA

Wyniki badań będące średnią arytmetyczną trzech pomiarów, poddano analizie statystycznej na podstawie komputerowego programu statystycznego STATISTICA 5,1 G (Windows 97), określając regresję metodą najmniejszych kwadratów. Wyznaczone na poziomie istotności $p = 0,05$ typy równań regresji, charakteryzują się wysokimi wartościami współczynników korelacji ($r > 0,9$ przy $r_{\max} = 1$; dla $n = 7-16$), świadczącymi o ścisłej korelacji między analizowanymi zmiennymi. Wartości pH wytworzonych podłoży i formulacji zestawiono w tabeli 2.

Przeprowadzone pomiary lepkościowe umożliwiły wykreślenie krzywych płynięcia (zależność naprężenia stycznego od szybkości ścinania) wytworzonych preparatów.

Krzywe płynięcia wytworzonych formulacji hydrożelowych mają typowy przebieg dla płynów nienewtonowskich, rozrzedzonych ścinaniem, dla których naprężenie styczne wzrasta mniej niż proporcjonalnie do wzrostu szybkości ścinania.

Parametry lepkościowe modelowych formulacji przy dwóch dowolnie wybranych szybkościach ścinania przedstawiono w tabeli 3.

Kinetykę uwalniania ketoprofenu z formulacji do płynu akceptorowego przedstawiono jako zależności między ilością dyfundującej substancji wyrażoną w (mg/cm^2), a czasem ekspozycji (h). Zależność ilości substancji leczniczej od czasu prowadzenia procesu dyfuzji [$C_s = f(t)$], opisano trzema równaniami korelacyjnymi:

1. $y = ax + b$; równanie „0” rzędu;
2. $\ln(100 - c) = -kt + \ln a$; równanie „I” rzędu;
3. $c = Kt^{1/2}$; równanie pierwiastka kwadratowego „square root”.

Do szczegółowej analizy przyjęto równanie „I” rzędu, dla którego współczynniki korelacji (r) mają wartości najwyższe (zbliżone do jedności) oraz posiadają aspekt równania farmakokinetycznego, opisującego proces uwalniania z kontrolowaną szybkością dyfuzji.

Pola powierzchni pod krzywymi dyfuzji ketoprofenu obliczono w jednostkach umownych [j. u.] metodą trapezów. Wyniki umieszczono w tabeli 4.

Przeprowadzone badania uwalniania ketoprofenu z podłoży i formulacji, świadczą o wysokiej dostępności farmaceutycznej ketoprofenu, z nieznacznie większym polem powierzchni pod krzywą uwalniania dla podłoży i formulacji wytworzonych na bazie Carbopolu Ultrez (ryc., tab. 5). Obecność suchego standaryzowanego wyciągu z nawłoci, nie wpływa istotnie na dostępność farmaceutyczną ketoprofenu z podłoży hydrożelowych (rycina).

Dla wytworzonych preparatów przeprowadzono badania lepkościowe, oraz zbadano proces uwalniania substancji leczniczej po 6-miesięcznym okresie przechowywania. Uzyskane rezultaty zestawiono w tabeli 5.

Po 6-miesięcznym okresie przechowywania, stwierdzono we wszystkich preparatach z ketoprofenem wzrost lepkości plastycznej oraz zmniejszenie granicy płynięcia. Największą różnicę odnotowano dla formulacji F2G-KS (tab. 5). Nie są to jednak wartości, które istotnie wpływałyby na wartość aplikacyjną zaproponowanych preparatów. Uzyskane wartości lepkości i granic płynięcia - ocena wizualna - wskazują, że formulacje charakteryzują się dobrą rozsmarowywalnością na skórze, łatwością aplikacji, a jednocześnie w opakowaniu są spoiste i nie wypływają.

WNIOSKI

1. Zaproponowane formułacje to układy lepkoplastyczne posiadające granicę płynięcia.
2. Suchy standaryzowany wyciąg z nawłoci nie wpływa znacząco na proces uwalniania ketoprofenu z badanych preparatów.
3. Preparaty z ketoprofenem po 6-miesięcznym okresie przechowywania, charakteryzują się stabilnością reologiczną i wysoką dostępnością farmaceutyczną.

LITERATURA

- [1] Lamer-Zarawska E., Kowal-Gierczak B., Niedworok J.: Fitoterapia i leki roślinne. PZWL Warszawa, (2007).
- [2] Milczarek-Szałkowska H.: Nawłóć pospolita – surowiec o działaniu moczopędnym. Wiadomości Zielarskie, (2002), 6, 12.
- [3] Melzig M. F.: Goldenrod - a classical exponent in the urological phytotherapy. Wien. Med. Wochenschr., (2004), 154, 523-257.
- [4] Klein-Galczyński C.: Pharmacological and clinical effectiveness of a fixed phytogenic combination trembling poplar (*Populus tremula*), true goldenrod (*Solidago virgaurea*) and ash (*Fraxinus excelsior*) in mild to moderate rheumatic complaints. Wien. Med. Wochenschr., (1999), 149, 248-253.
- [5] Gundermann K. J., Müller J.: Phytodolor - effects and efficacy of a herbal medicine. Wien. Med. Wochenschr., (2007), 157, 343-347.
- [6] von Krüedener S., Schneider W., Elstner E.F.: Effects of extracts from *Populus tremula* L., *solidago virgaurea* L. and *Fraxinus excelsior* L. on various myeloperoxidase systems. Arzneimittelforschung, (1996), 46, 809-814.
- [7] Plohm B., Bader G., Hiller K., Franz G.: Immunomodulatory and antitumoral effects of triterpenoid saponins. Pharmazie, (1997), 52, 953-957.
- [8] Gross S.C., Goodarzi G., Watabe M., Bandyopadhyay S., Pai S. K., Watabe K.: Antineoplastic activity of *Solidago virgaurea* on prostatic tumor cells in an SCID mouse model. Nutr. Cancer., (2002), 43, 76-81.
- [9] Meyer B., Elstner E. F.: Antioxidative properties of leaf extracts from *Populus*,

Fraxinus and Solidago as components of the anti-inflammatory plant drug „Phytodolor”. *Planta Med.*, (1990), 56, 666.

- [10] Hülya Demir, Leyla Acik E., Burcu Bali L., Yasemin Koc, Gönül Kaynak.: Antioxidant and antimicrobial activities of *Solidago virgaurea* extracts. *African Journal of Biotechnology*, (2009), 8, 274 – 279.
- [11] Górecki M., Zalewska A.: Reometryczna analiza farmaceutycznych układów rozproszonych. *Farmacja Polska* (2000), 56, 748-753.
- [12] Górecki M.: Reologia farmaceutyczna – perspektywy rozwoju. *Farmacja Polska*, (1996), 52, 739-743.
- [13] Ferguson J., Kembłowski Z.: Reologia stosowana płynów. Marcus sc, Łódź (1995), 10 -16.
- [14] *Farmakopea Polska VIII*, PTFarm, (2008), 1, 139.

Adres do korespondencji
Aneta Berner-Strzelczyk
Zakład Technologii Postaci Leku
Katedra Farmacji Stosowanej
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
90-151 Łódź, ul. Muszyńskiego 1
tel. 042 677-92-40, e-mail: aberner@tlen.pl

Tabela 1. Skład formułacji hydrożelowych z ketoprofenem i suchym wyciągiem z nawłoci

Table 1. Prescription of hydrogel formulations with ketoprofen and dry extract from Solidaginis

	Carbopol Ultrez 10 [g] Carbopol Ultrez 10 [g]	Carbopol 980 [g] Carbopol 980 [g]	Trietanolamina [g] Trietanolamine [g]	Ketoprofen [g] Ketoprofen [g]	Suchy wyciąg z nawłoci [g] Dry standardized extract from Solidaginis [g]	Glikol propylenowy [g] Propylene glycol [g]	Woda [g] do Water [g]
F1G-K	1,0	-	2,96	2,5	-	10,0	100,0
F1G-KS	1,0	-	2,96	2,5	1,0	10,0	100,0
F2G-K	-	1,0	2,96	2,5	-	10,0	100,0
F2G-KS	-	1,0	2,96	2,5	1,0	10,0	100,0

Tabela 2. Wartości pH badanych podłoży oraz formulacji

Table 2. The values of pH of the tested vehicles and formulations

Rodzaj formulacji	pH
Formulation	
F1G-K	7,1
F1G-KS	7,4
F2G-K	7,5
F2G-KS	7,4

Tabela 3. Parametry lepkościowe podłoży i modelowych preparatów wyznaczone w temp. 37°C przy dwóch dowolnie wybranych szybkościach ścinania

Table 3. Viscosity parameters of vehicles and model preparations determined at 37°C at two randomly selected shear rates

Rodzaj formulacji	Szybkość ścinania 1,01/s Shear rate 1,0 1/s		Szybkość ścinania 2,01/s Shear rate 2,01/s		Granica płynięcia [N/m²] Yeld stress [N/m²]
	Naprężenie styczne [N/m²] Shear stress [N/m²]	Lepkość [mPa·s] V]iscosity [mPa·s]	Naprężenie styczne [N/m²] Shear stress [N/m²]	Lepkość [mPa·s] V]iscosity [mPa·s]	
F1G-K	57,7	57652	61,4	30715	41,7
F1G-KS	139	138961	155,3	77631	80,1
F2G-K	55,7	55664	63,6	31808	31,7
F2G-KS	151,9	151883	157,8	78526	85,1

Tabela 4. Wartości stałych szybkości uwalniania ketoprofenu z modelowych formuacji hydrożelowych oraz wartości pól powierzchni pod krzywymi uwalniania
 Table 4. The values of constant release rates of ketoprofen from model hydrogel formulations and the values of the areas under the curves of release

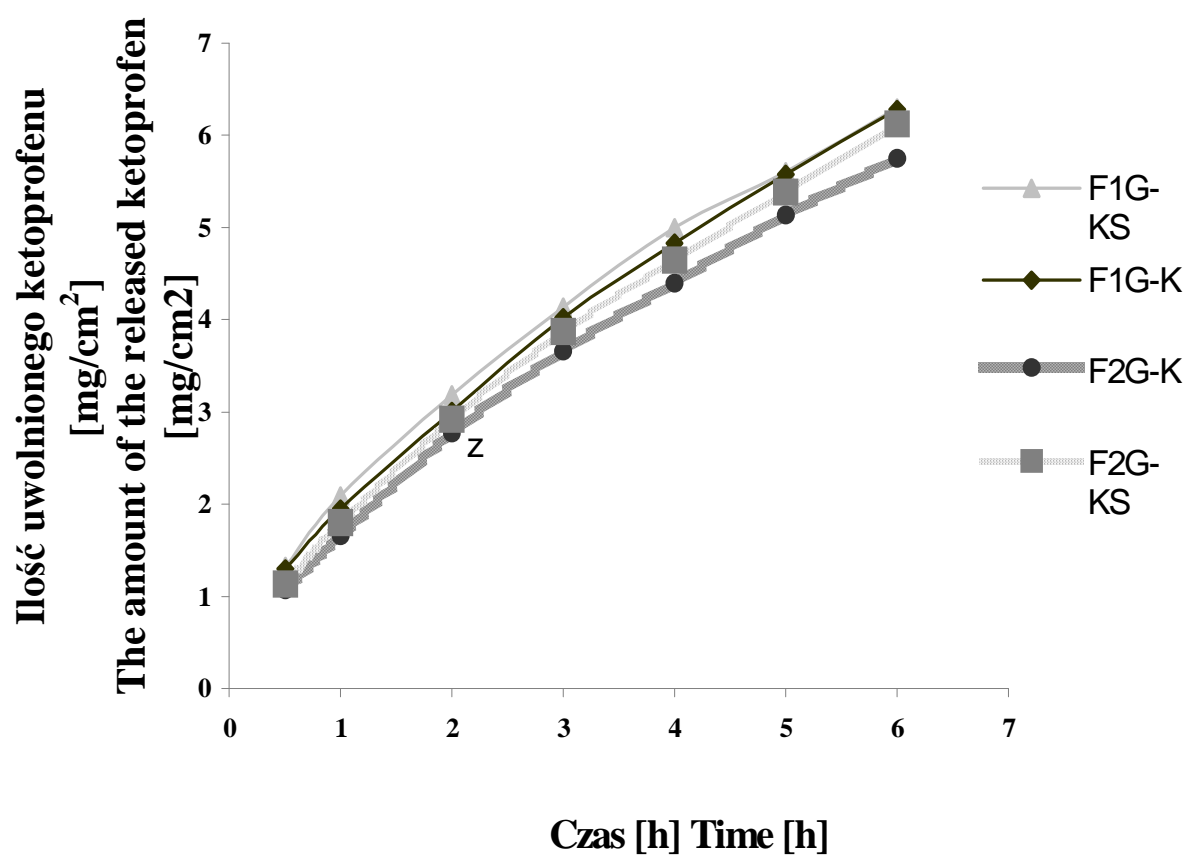
Rodzaj podłoża i formulacji Vehicles and formulations	Stała szybkości procesu uwalniania [% ·min ^{-1/2}] Constant rate of the release process [% ·min ^{-1/2}]	Pole powierzchni [j. u.] Area [c.u.]
F1G-K	2,43	26,75
F1G-KS	2,68	27,57
F2G-K	2,22	24,27
F2G-KS	2,34	25,64

Tabela 5. Parametry lepkościowe uzyskane dla formulacji według modelu matematycznego Cassona oraz procent uwolnionego ketoprofenu.

Table 5. Viscosity parameters obtained for hydrogel formulations and the per cent of released ketoprofen

Nazwa formulacji Formulation	Lepkość plastyczna [mPa•s] Viscosity [mPa•s]		Granica płynięcia [N/m ²] Yield stress [N/m ²]		Procent uwolnionej substancji lecniczej [%] Per cent of released ketoprofen [%]	
	1*	2*	1*	2*	1*	2*
F1G-K	892,3	1165	41,7	35,6	49,32	52,14
F1G-KS	2084	3457	46,5	32,3	49,76	52,87
F2G-K	2586	2140	31,7	27,8	48,04	49,8
F2G-KS	3735	8233	26,3	8,06	45,16	53,77

1* po 24 godzinach/1* after 24 hours; 2* po 6 miesiącach/2* after 6 months



Ryc. Kinetyka uwalniania ketoprofenu z formulacji hydrożelowych wytworzonych na bazie Carbopoli

Fig. Kinetics of ketoprofen from hydrogel formulations produced on Carbopol base