

Ocena właściwości żeli hydrofilowych z simwastatiną sporządzonych na bazie Carbopolu 2020

ARTUR OWCZAREK, JANUSZ PLUTA,
JOANNA KOGUT

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

Streszczenie

Inhibitory 3-hydroxy-3 – reduktazy koenzymu metyloglutarylu są bardzo popularne w terapii hipercholesterolemii. Aktualnie w piśmiennictwie pojawiają się doniesienia na temat nowych działań i wskazań terapeutycznych dla podawania statyn. Opisywane jest ich działanie immunomodulujące, przeciwzapalne i wspomagające mineralizację kości. W klinicznych doniesieniach mówi się o możliwości ich zastosowania w terapii miejscowej łupieżu pstrego, rumienia i łuszczycy.

W niniejszej pracy sporządzono i przebadano formułacje żelowe zawierające simwastatinę, otrzymane na bazie Carbopolu 2020 z dodatkiem wybranych substancji pomocniczych: Tween 20, glikol propylenowy, glicerol, PEG 400. Oceniono ich właściwości reologiczne i dostępność farmaceutyczną simwastatyny.

Słowa kluczowe: hydrożele, Carbopol, statyny, simwastatyna, stany zapalne skóry, reologia, dostępność farmaceutyczna

Evaluation properties of hydrogels with simvastatin prepared on Carbopol 2020

Summary

The inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme-A reductase are very popular in hipercholesterolemia therapy. According to current publications statins can be also used in other medical indications. In addition to fundamental cholesterol lowering activity statins give other effects as well, for example immunomodulating and anti-inflammatory effect, they promote bone mineralization. The anti-inflammatory activity has been described in few articles and clinical letters. Systemic or topical use of statins can be beneficial in alopecia, erythema, psoriasis.

In the following paper prepared and tested formulations including simvastatin gel obtained from the Carbopolu 2020 with the addition of selected excipients: Tween 20, propylene glycol, glycerol, PEG 400. Particle size distributions, rheological characteristic of formulations and pharmaceutical availability were carried over to all formulations.

Key words: hydrogels, Carbopol, statins, simvastatinum, skin inflammation, rheology, pharmaceutical availability

WPROWADZENIE

Inhibitory 3-hydroxy-3 – reduktazy koenzymu metyloglutarylu są często stosowane w terapii hipercholesterolemii. Aktualnie w piśmiennictwie są publikowane badania, dotyczące możliwości zastosowania również statyn w innych medycznych wskazaniach. Opisywane jest ich działanie immunomodulujące, przeciwzapalne, a także wspomagające mineralizację kości [1]. W doniesieniach klinicznych

podkreśla się, iż układowe stosowanie statyn może zostać poszerzone o ich miejscowe działanie wykorzystane w terapii m. in. łupieżu pstrego, rumienia, łuszczycy [2].

Sporządzono formułacje zawierające simwastatynę, otrzymane na bazie Carbopolu 2020 i wybranych substancji pomocniczych. Przeprowadzono dla nich badania dostępności farmaceutycznej oraz oceniono ich właściwości reologiczne. W pracy podjęto próbę otrzymania formułacji żelowych na bazie anionowo-czynnego polimeru (Carbopol EDT 2020). Carbopol EDT 2020 został zsyntetyzowany w efekcie poszukiwania polimerów kwasu akrylowego zapewniających lepszą dyspersję substancji w wodzie, mniejszą podatność na zbrylanie oraz prostsze przenoszenie w czasie procesu technologicznego, a także możliwość utrzymywania się zwiększonej (odpowiedniej) lepkości przed neutralizacją [5].

Opisane cechy polimeru ułatwiają przygotowanie przy jego wykorzystaniu dyspersji z substancjami trudno rozpuszczalnymi w wodzie, a do takich należy także simwastatyna [3–5]. Piśmiennictwo podaje, że po aplikacji żelu otrzymanego z Carbopolu, jego wygląd i stopień przylegania do skóry stopniowo zmienia się w ciągu kilkudziesięciu minut. Po odparowaniu z danej formułacji większości wody, polimer uzyskuje maksymalną przyczepność do skóry i przezroczystość [6].

Preparaty sporządzane na bazie Carbopolu EDT 2020 cechują się dużą bioadhezją i trwałością [7]. Dlatego zdecydowano o podjęciu badań nad oceną właściwości formułacji z simwastatyną opracowanych na bazie tego polimeru. Ponadto w niniejszej pracy oceniono wpływ dodatku wytypowanych substancji pomocniczych, takich jak: glikol propylenowy, glicerol, glikol polioksyetylenowy i Tween 20 na właściwości otrzymanych hydrożeli. Zastosowane substancje pomocnicze dobrano tak, aby nie wpływały na pH formułacji a wspomagały rozpuszczalność simwastatyny i docelowo korzystnie wpływały na uwalnianie substancji czynnej [9].

MATERIAŁ I METODY

Odczynniki

- Simwastatyna (Simvastatinum, FP VIII), Polpharma;
- Glicerol (Glycerolum 86%, FP VIII), Chempur, Piekary Śląskie;
- Glikol propylenowy (Propylenglicolum, FP VIII), Sigma Chemicals Co.;

- Tween 20 (Polisorbitanum monolauratum, FP VIII), Uni Gema QC Laboratory;
- PEG 400 (Polioxyethylenoglycolum, FP VIII), Fluka;
- Carbopol EDT 2020, Lubrizol, Ketenislaan;
- NaOH (0,1M), Chempur, Piekary Śląskie;
- Woda oczyszczona.

Aparatura

- Pionowe komory dyfuzyjne typu Franza, Hanson Research;
- Pehametr Multifunction Computer Meter CX741 Elmetron;
- Błona półprzepuszczalna Cellulose ester (CE) 300000Da;
- Reometr cyfrowy typu płytka-stożek Brookfield DV-III wersja 3.0 z programem Rheocalc 2.4 for Windows, połączony z termostatem łaźniowym PGWE-1 firmy Medingen, Stożek CP-51;
- Spektrofotometr Jasco V-650, seria AO20161150;
- Waga analityczna GENIUS SARTORIUS MC1.

Technologia sporządzonych formułacji

Sporządzono cztery formułacje z Carbopolem 2020 różniące się rodzajem zastosowanych substancji pomocniczych. Zawartość simwastatyny w każdym hydrożelu wynosiła 1%.

Odważone naważki Carbopolu zsypano na powierzchnię odpowiednio odgazowanej wody w zlewce i pozostawiono do spęcznienia, następnie mieszano aż do uzyskania jednorodnego układu. Roztwory zobojętniono do pH 6–8, za pomocą 0,1 M NaOH. Po żelowaniu układu i wprowadzeniu simwastatyny dodawano do poszczególnych formułacji odpowiednie substancje pomocnicze. Składy otrzymanych formułacji zestawiono w tabeli 1.

Pomiar lepkości

Pomiary lepkości przeprowadzono przy pomocy reometru firmy Brookfield DV-III typu płytka-stożek CP-51, połączanego z termostatem łaźniowym. Badanie reometryczne przeprowadzono dla poszczególnych formułacji w temp. 32°C przy zmiennej szybkości ścinania, a zakresy jej podano w tabeli 2.

W czasie pomiaru wyznaczono 20 punktów, z czego 10 z przyrostem prędkości obrotów stożka, po czym kolejne 10 punktów z prędkością malejącą.

TABELA 1. Skład jakościowy badanych formułacji

TABLE 1. Composition of the tested formulations

Składnik podłoża [g]	F1	F2	F3	F4
0,1M NaOH	+	+	+	+
Simwastatyna	+	+	+	+
Carbopol 2020	+	+	+	+
Glikol propylenowy	+	–	–	–
Glicerol	–	–	–	+
PEG 400	–	–	+	–
Tween 20	–	+	–	–
Woda oczyszczona	+	+	+	+

TABELA 2. Eksperymentalnie wyznaczone stałe szybkości ścinania [s^{-1}]TABLE 2. Experimentally determined constant shear rate [s^{-1}]

Nr formułacji	Szybkość ścinania [s^{-1}]
F1	1,92–3,84
F2	1,92–2,30
F3	1,92–3,84
F4	1,92–3,84

ca. Dla formułacji F1, F3, F4 prędkość obrotów stożka malała z każdym kolejnym punktem o 0,05, natomiast dla formułacji F2 malała o 0,01, obroty stożka CP-51 zmieniały się co 10 sekund.

Wyznaczanie pH otrzymanych formułacji

Pomiary wykonano dla każdej formułacji trzykrotnie, odczytując każdorazowo wynik po 20 sekundach od zanurzenia elektrody w analizie. Obliczono średnią wartość pH oraz odchylenie standardowe. Wyniki przedstawiono w tabeli 3.

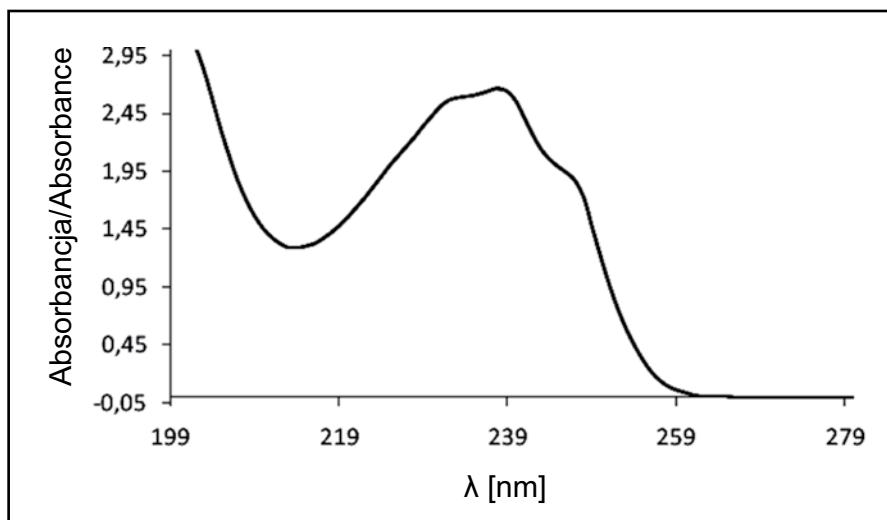
Badanie uwalniania simwastatyny z otrzymanych formułacji

Badanie dostępności farmaceutycznej simwastatyny prowadzono z użyciem pionowych komór Franza o pojemności 7 ml. Komory te służą do badania uwalniania substancji głównie z półstałych postaci leku w warunkach *in vitro*. Według wytycznych FDA

komory Franza są odpowiednim sprzętem do tego typu badań, ponieważ zapewniają uzyskanie pionowego przepływu medium, pozwalającego na zachowanie odpowiednich warunków badań [6]. Błona półprzepuszczalna oddzielająca komorę donorową od akceptorowej została tak dobrana, aby nie wchodziła w interakcje chemiczne z podłożem i uwalnianą substancją leczniczą oraz jej nie absorbowała.

W celu zapewnienia nieograniczonego uwalniania substancji czynnej, zastosowano błonę półprzepuszczalną z estrów celulozy o wielkości porów 300000 Da. Wybrana wielkość porów umożliwia swobodne przechodzenie substancji czynnej do płynu akceptorowego. Metody farmakopealne nie podają dla tego typu badań temperatury prowadzenia doświadczenia. Badania prowadzono w temperaturze $32^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, przyjmując wartość analogiczną jak dla systemów transdermalnych stosowanych na skórę. Badania prowadzono jednocześnie z użyciem 6 komór Franza, zaopatrzonych w mieszało magnetyczne. Szybkość pracy mieszadeł magnetycznych wynosiła 50 obrotów na minutę. Płynem akceptorowym była woda podwójnie destylowana, odgazowana.

Objętość płynu akceptorowego i częstotliwość pobierania próbek dobrano tak, aby zachowane były podczas całego procesu warunki *sink* [8]. Po pobraniu próbki następowało automatyczne uzupełnienie płynu w komorze akceptorowej. Ilość substancji czynnej, która przeszła do płynu akceptorowego w czasie prowadzenia procesu uwalniania, została oznaczona spektrofotometrycznie przy analitycznej długości fali $\lambda = 238 \text{ nm}$, po wykreśleniu krzywej wzorcowej o równaniu $y = 0,0008 + 0,5498 \cdot x$. Wiadomo dla simwastatyny, na podstawie którego wyznaczono analityczną długość fali przedstawiono na rycinie 1. Przeprowadzona analiza statystyczna pozwo-



RYC. 1. Widmo dla wodnego roztworu simwastatyny [opracowanie własne]

FIG. 1. Aqueous solution of simvastatin spectrum [experimentally determined]

TABELA 3. Wartości pH badanych formułacji. Oznaczenia formułacji odpowiadają składowym podanym w tabeli 1

TABLE 3. pH values tested formulations. Symbols correspond with compositions of the tested formulations in table 1

Numer formułacji	pH			pH średnie (n = 3, SD)
	1	2	3	
F1	5,249	5,250	5,251	5,250 ± 0,0010
F2	4,657	4,652	4,655	4,655 ± 0,0025
F3	4,437	4,437	4,339	4,404 ± 0,0565
F4	5,825	5,823	5,825	5,824 ± 0,0011

n – liczba pomiarów

TABELA 4. Granice płynięcia dla badanych formułacji

TABLE 4. Field stress tested formulations

Formułacja	Granica płynięcia [N/m ²]
F1	26,7
F2	96,3
F3	43,1
F4	27,0

liła stwierdzić, że wartość wyznaczonego współczynnika korelacji dla krzywej wzorcowej jest istotna statystycznie ($p < 0,05$, $r \geq 0,9978$).

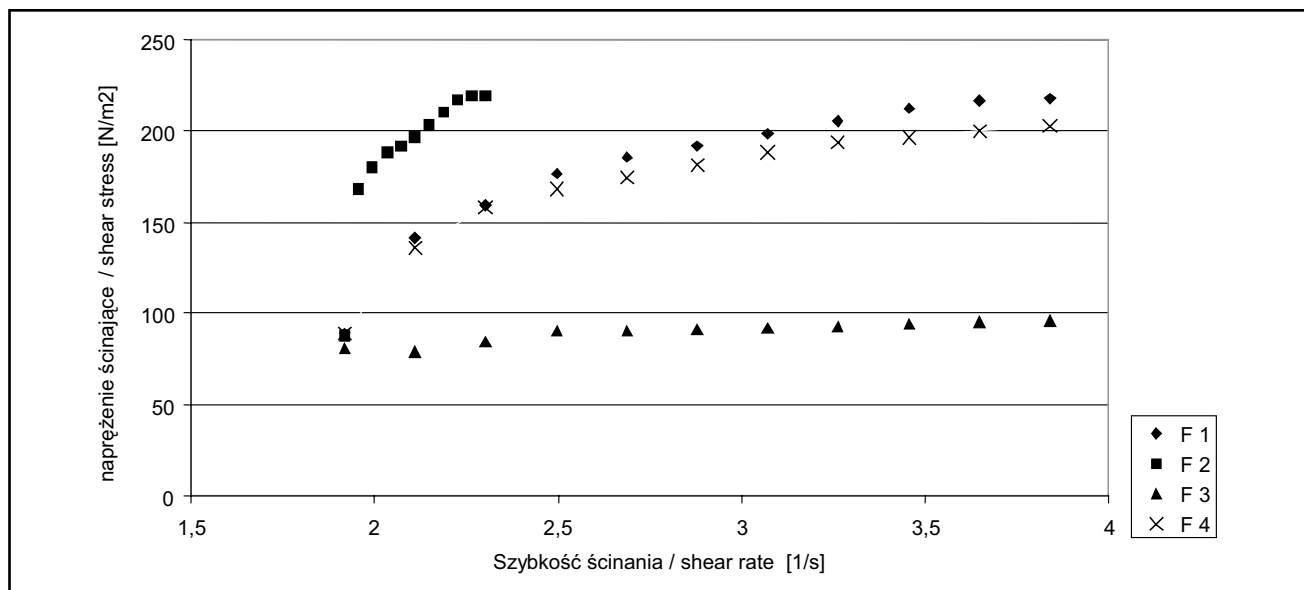
WYNIKI I OMÓWIENIE

W trakcie badań oceniono właściwości fizykochemiczne i reologiczne formułacji oraz zbadano dostępność farmaceutyczną simwastatyny. Po wyzna-

czeniu pH ocenianych hydrożeli stwierdzono, że uzyskane wartości mieszczą się w zakresie 4,0–5,9. Założono, że lekko kwaśny odczyn opracowanych składów zapewni stabilne środowisko dla simwastatyny oraz korzystne warunki dla zachowania jakości postaci. Przyjęto ten poziom pH jako odpowiedni, gdyż Carbopol EDT 2020 wykazuje dużą odporność na jony H^+ , a uzyskanie konsystencji żelu nie wymaga alkalizacji dyspersji niniejszego polimeru do odczynu wyraźnie alkalicznego, co zasadniczo jest zalecane w technologii sporządzania roztworów polimerów kwasu akrylowego. Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli 3.

W badaniach reologicznych stwierdzono, że formułacje różniły się lepkością. Uzyskane dla hydrożeli krzywe płynięcia nie były liniami prostymi i nie przechodziły przez początek układu współrzędnych, czyli zaliczamy je do ciał plastycznych. W tabeli 4 zestawiono wyznaczone według modelu Cassona'a granice płynięcia dla badanych formułacji.

Oceniając uzyskane krzywe płynięcia (rycina 2)



Ryc. 2. Krzywe płynięcia dla uzyskanych formułacji. Oznaczenia formułacji odpowiadają składowym podanym w tabeli 1

Fig. 2. Flow curves tested formulations. Symbols correspond with compositions of the tested formulations in table 1

stwierdzono, że formułacja F3, z dodatkiem PEG 400, charakteryzowała się korzystnymi cechami organoleptycznymi, ponadto nie zaobserwowano w niej nadmiernego upłynnienia pod wpływem ścinania. Formułacje z dodatkiem glikolu propylenowego (F1) i z dodatkiem glicerolu (F4) uzyskały najniższe wartości granicznego naprężenia ścinającego, co wskazuje na nieco mniej sztywną strukturę w porównaniu do formułacji z dodatkiem Tweenu 20 (F2) i PEG 400 (F3). Ich aplikacja na skórę powinna być zatem łatwiejsza.

Zdecydowanie najwyższą wartością granicznego naprężenia ścinającego charakteryzuje się formułacja z dodatkiem Tween 20 (F2). Wykazuje ona bardzo sztywną strukturę, co warunkować powinno jej długie utrzymywanie się na skórze. Jednakże zbyt sztywna struktura może spowodować trudności z aplikacją preparatu. Przebadane formułacje wykazują również właściwości tiksotropowe, co zostało potwierdzone przy pomocy testu pętli histerezy. Na rycinie 3 umieszczono przykładową pętlę histerezy dla formułacji z glikolem propylenowym (F1).

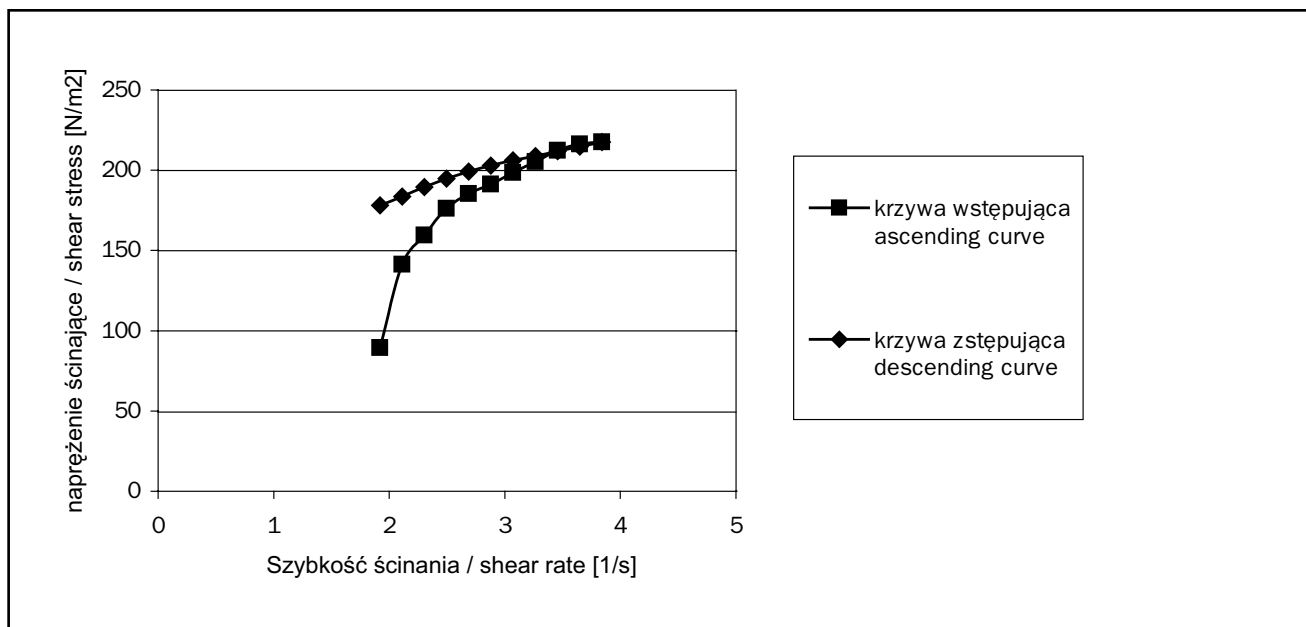
Uwalnianie simwastatyny z formułacji przeprowadzono metodą opisaną w części Materiał i metody. Próbkę płynu akceptorowego w ilości 3,5 ml pobierano co 30 minut przez kolejne 4 h. Ilość uwolnionej simwastatyny określono przeprowadzając oznaczenie spektrofotometryczne. Dla każdej formułacji

uwalnianie prowadzono w 6 komorach Franza i następnie obliczono średni % uwolnionej simwastatyny. Przebieg procesu uwalniania simwastatyny przedstawiono na rycinie 4.

Analiza uzyskanych danych została przeprowadzona przy użyciu programu Statistica 7.1. Przed przystąpieniem do wykonania właściwego testu statystycznego sprawdzono, czy zostały spełnione warunki dotyczące normalności rozkładu oraz jednorodności wariancji. W celu wykazania normalności rozkładu posłużono się testem normalności rozkładu W. Shapiro–Wilka, gdzie $p = 0,9657$, którego wartość wskazuje na rozkład normalny.

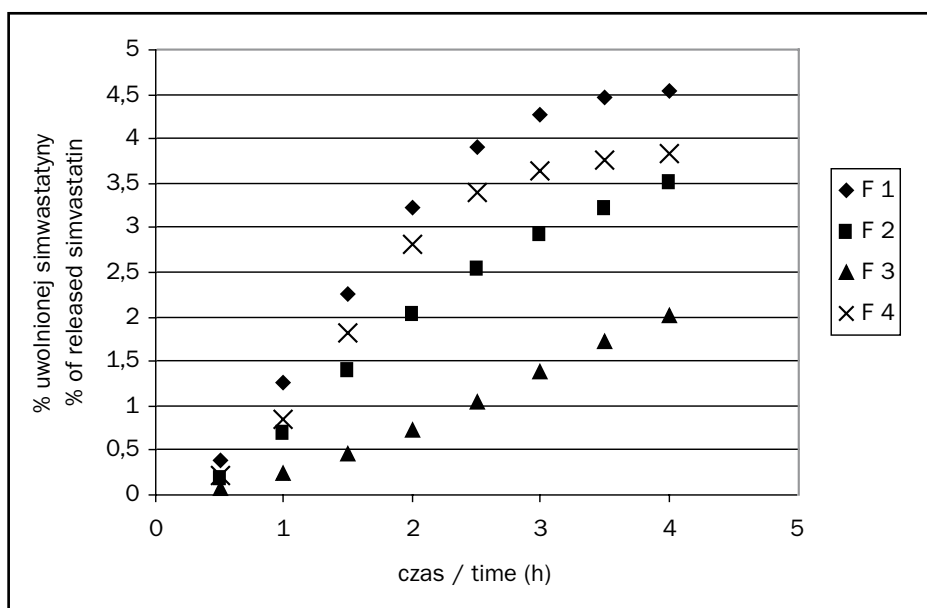
Kolejnym warunkiem jednoczynnikowej analizy wariancji jest jednorodność wariancji, którą sprawdzono testem Browna-Forsythe'a. W celu wykazania różnic pomiędzy ilością simwastatyny uwolnionej z poszczególnych formułacji posłużono się jednym z testów *post hoc* - wykorzystując test Fishera NIR. Na podstawie przeprowadzonej analizy stwierdzono, że dla wszystkich par średnich różnice są istotne statystycznie, ponieważ wartości p są mniejsze od założonego poziomu istotności 0,05. Zatem analiza danych wskazuje, że rodzaj użytej substancji pomocniczej wpływa na stopień uwolnienia simwastatyny, co przedstawiono na rycinie 5.

Na podstawie przeprowadzonych pomiarów stwierdzono, że najwięcej simwastatyny w ciągu 4h



Ryc. 3. Pętla histerezy otrzymana dla formułacji F1

FIG. 3. Hysteresis loop of a formulation F1

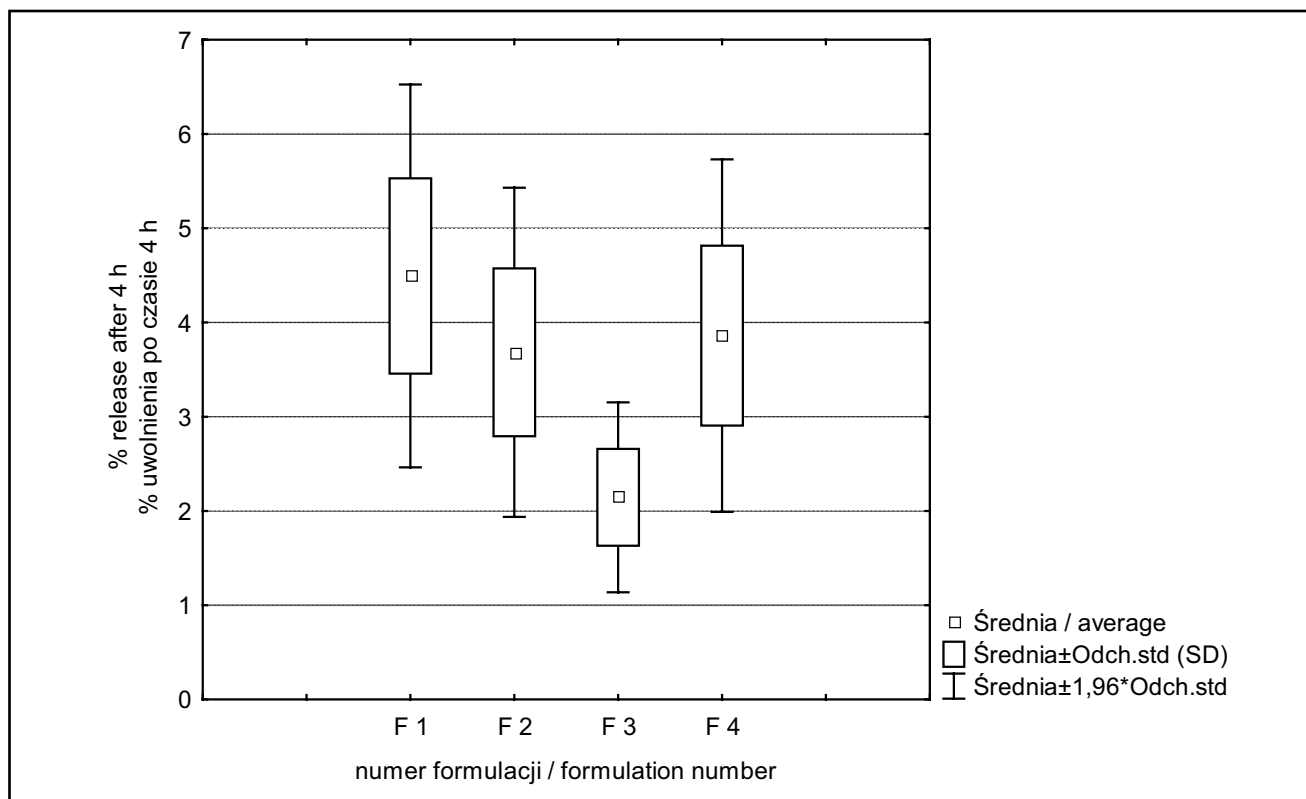


Ryc. 4. Przebieg procesu uwalniania simwastatyny z badanych formułacji. Oznaczenia formułacji odpowiadają składowym podanym w tabeli 1

FIG. 4. Course of simvastatin release in tested formulations. Symbols correspond with compositions of the tested formulations in table 1

uwolniło się z formułacji uzyskanych z dodatkiem glikolu propylenowego (F1) oraz glicerolu (F4). Uwalnianie z formułacji F3 uzyskanej z dodatkiem PEG 400 miało charakter przedłużonego uwalniania i przebiegało najwolniej. Reasumując, na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że uzyskane wyniki różnią się pomiędzy sobą w sposób

statystycznie istotny. Stwierdzono także, że dodatek substancji pomocniczych, tj. glicerolu, glikolu propylenowego i Tween 20 wpływa na wzrost stopnia uwalniania simwastatyny z podłoży, sporządzonych na bazie Carbopolu ETD 2020. Natomiast odwrotny efekt zaobserwowano dla formułacji z dodatkiem PEG 400.



Ryc. 5. Porównanie procentu uwolnionej substancji czynnej z formulacji F1-F4 po 4 godzinach prowadzenia procesu

Fig. 5. Comparison of the percentage of active substance released from formulations F1-F4 after 4 hours process

WNIOSKI

1. Dodatek glicerolu, glikolu propylenowego i Tween 20 do formulacji na bazie Carbopolu EDT 2020, korzystnie wpływa na intensywność uwalniania simvastatyny, jako substancji trudno rozpuszczalnej w wodzie.
2. Polimer Carbopol EDT 2020, może być korzystnym nośnikiem o pożądanych właściwościach reologicznych dla formulacji stosowanych miejscowo, zawierających trudno rozpuszczalne substancje.
3. Formulacje poddane badaniom są układami nienewtonowskimi oraz z wyjątkiem formulacji F2, wykazują właściwości tiksotropowe.

LITERATURA

- [1] NAMAZI M.R.: Statins: novel additions to the dermatologic arsenal? *Ex. Dermatol.*, (2004), 13, 337–339.
- [2] OTUKI M. F., PIETROVSKI E. F., CABRINI D. A.: Topical simvastatin: Preclinical evidence for a treatment of skin inflammatory conditions. *J. Dermatol. Science*, (2006), 44, 45–47.
- [3] http://www.sdpolska.pl/prod_zagostniki.html, (dostępna 17.03.2009).
- [4] JANICKI S., FIEBIG A., SZNITOWSKA M.: *Farmacja stosowana*, PZWL, Warszawa, (2003), 14, 322–325.
- [5] CONTRERAS M. D., SANCHEZ R.: Application of factorial design of the study of specific parameters of a Carbopol ETD 2020 gel. Part I. Viscoelastic parameters. *International J. of Pharm.*, (2002), 234, 139–147.
- [6] www.lubrizol.com: Carbopol ETD 2020 Polymer for Personal Care Applications, (2002), (dostępna 21.09.2009)
- [7] ZGODA M. M., KOŁODZIEJSKA J.: Polimery kwasu poliakrylowego jako nowoczesne substancje pomocnicze stosowane w produkcji środków farmaceutycznych podawanych na skórę, zawieszin i bioadhezyjnych postaci o przedłużonym działaniu., *Farm. Pol.*, (2008), 64, 2.

- [8] SZNITOWSKA M., JANICKI S., ZIELIŃSKI W.: „Dostępność farmaceutyczna i dostępność biologiczna leków”, Ośr. Inf. Nauk. „Polfa”, Warszawa, (2001), 6, 95–102.
- [9] Red. ROWE R. C., SHESKEY P. J., QUINN M. E.: „Pharmaceutical Excipients”, The Pharmaceutical Press, London, (2003), 262-266, 454-459, 479–483, 521–523

Adres autorów

Akademia Medyczna we Wrocławiu
Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku
50-139 Wrocław, ul. Szewska 38, Polska
Tel: +48 71 784-03-15; Fax +48 71 784-03-17
e-mail: artur@ktpl.am.wroc.pl

