

Wpływ wybranych niejonowych substancji powierzchniowo czynnych na dostępność farmaceutyczną ibuprofenu z zawiesiny – badania preformulacyjne

The influence of selective non-ionic surface-active substance on ibuprofen pharmaceutical availability in suspension – preformulation study

Marek Dąbrowa¹, Arkadiusz Madejczyk, Agata Bielecka-Dąbrowa², Andrzej Stańczak¹

¹ Zakład Farmacji Szpitalnej, Katedra Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

² Zakład Podstaw Molekularnych Kardionefrologii i Nadciśnienia Tętniczego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Streszczenie

Wstęp. Efektywność terapeutyczna lipofilowych substancji aktywnych zależy od efektywności uwalniania ich z postaci leku, w jakiej się znajdują. Jest to szczególnie istotne w lekach dla dzieci, gdzie zwiększenie dostępności farmaceutycznej, a w konsekwencji biologicznej substancji leczniczej pozwoliłoby zmniejszyć ilości użytej substancji czynnej (API), a co za tym idzie ryzyko wystąpienia ewentualnych działań niepożądanych przy zachowaniu wyjściowej, wysokiej skuteczności terapeutycznej produktu leczniczego. W związku z powyższym podjęto badania preformulacyjne mające na celu zbadanie możliwości zastosowania wybranych niejonowych związków powierzchniowo czynnych jako substancji pomocniczych mających na celu zwiększenie dostępności farmaceutycznej ibuprofenu z często stosowanej u dzieci formy leku, jaką jest zawiesina. **Material i metody.** W badaniach zastosowano: polimery kondensacyjne glikoli polioksypropylenowych z glikolami polioksyetylenowymi (polxamery 124, 184, 185, 188, 407); glikolepolioksyetylenowe E 300, E 400, E 600 oraz pochodnej inuliny – Inutecu SP1. Związki te są nietoksyczne i niedrażniące. Podjęto badania oceniające zdolności solubilizacyjne wybranych substancji powierzchniowo czynnych, wyznaczenie ich optymalnych stężeń w stosunku do stosowanej w preparatach rynkowych dawki ibuprofenu (100 mg/5 ml) oraz potwierdzenie kompatybilności zastosowanych surfaktantów z substancją aktywną w warunkach normalnych i stresowych. **Wnioski.** Użycie poloxamerów, makrogoli i pochodnej inuliny – Inutecu SP1, jako substancji pomocniczych w formułacji zawiesin innowacyjnych z ibuprofenem wydaje się być celowe i istnieje duże prawdopodobieństwo, że wpłynie ono w znacznym stopniu na progresję parametrów farmakokinetycznych oraz dostępność farmaceutyczną lipofilowej substancji aktywnej zaklasyfikowanej do II grupy BCS, jaką jest Ibuprofen. (*Farm Współ* 2008; 1: 191-205)

Słowa kluczowe: poloxamer, makrogol, Inutec SP1, solubilizacja, ibuprofen

Summary

Introduction. The therapeutic efficacy of lipophilic (poorly water-soluble) Active Pharmaceutical Ingredients (API) depends on their release from dosage form. It is particularly important in children therapy because increase pharmaceutical and biological availability gives the opportunity to decrease level of API in dosage form. The risk of side effect should be lower and the level of therapeutic efficacy will be kept. **Material and methods.** In connection with above-mentioned the preformulation study was performed in order to check application possibility of selective nonionic surface-active substance to increase pharmaceutical availability of poorly water-soluble ibuprofen from suspension – very common children dosage form. In research poloxamer (124, 184, 185, 188, 407) macrogol (E 300, E 400, E 600) and Inutec SP1 were used. They are non-toxic and non-irritation auxiliary substances. In this research the solubilization properties of selective nonionic surface-active substances and their optimal concentra-

tions and compatibility (in normal and stress condition) with ibuprofen in common pediatric dosage: 100 mg/5ml were assessed. **Conclusions:** Application of poloxamers, macrogols and Inutec SP1 as an auxiliary substances in formulation of ibuprofen suspension were established. Results postulate that addition chosen nonionic surface-active substance may be useful and will significantly increase pharmaceutical and biological availability of ibuprofen (API belong to II group Biopharmaceutical Classification System). (*Farm Współ* 2008; 1: 191-205)

Keywords: poloxamer, makrogol, Inutec SP1, solubilization, ibuprofen

Wstęp

Poloksamery to rodzina trójblokowych kopolimerów tlenku etylenu i tlenku propylenu ogólnym wzorze $\text{HO}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_a(\text{C}_3\text{H}_6\text{O})_b(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_a\text{H}$. Właściwości polimeru zależą od proporcji segmentów polioksyetylenowych i polioksypropylenowych w cząsteczce oraz od masy cząsteczkowej. Stosowane są w biotechnologii oraz przemyśle farmaceutycznym [1,2].

Poloksamery to niejonowe substancje czynne stosowane w formulacji farmaceutycznej jako substancje emulgujące, stabilizujące oraz solubilizujące, ponadto znalazły zastosowanie jako substancje zwilżające przy produkcji maści, kremów, jako bazy dla czopków i żeli oraz jako substancje pomocnicze przy powlekanii tabletek [1,3-10].

Wodne roztwory poloksamerów są stabilne w środowisku kwaśnym, zasadowym oraz w obecności jonów metali, podtrzymują jednak rozwój pleśni, więc muszą być konserwowane.

Poloksmer 188 daje niezgodności z fenolami oraz parabenami. Glikole polioksyetylenowe są uważane za związki nietoksyczne i niedrażniące, nie są metabolizowane w organizmie ludzkim [1].

Makrogole są mieszaniną polimerów tlenku etylenu o ogólnym wzorze $\text{HOCH}_2(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_m\text{CH}_2\text{OH}$ gdzie m oznacza liczbę grup tlenku etylenu w cząsteczce. Substancje te znalazły szerokie zastosowanie w formulacji preparatów farmaceutycznych takich jak: leki parenteralne, preparaty stosowane miejscowo, leki doodbytnicze oraz preparaty stosowane w okulistyce. Stosowane są jako podłoża maściowe, plastyfikatory, rozpuszczalniki, baza do produkcji czopków oraz substancja smarująca w produkcji tabletek i kapsułek [1].

Polietylenoglikole mogą dawać niezgodności z niektórymi związkami barwnymi, fenolami, sulfonamidami, kwasem taninowym i salicylowym. Preparaty lecznicze wytworzone na ich bazie z antybiotykami takimi jak penicylina czy bacytracyna będą miały osłabioną aktywność przeciwbakteryjną.

Glikolepolioksyetylenowe są generalnie uważane za związki niedrażniące oraz nietoksyczne [11-13]. Według Światowej Organizacji Zdrowia dopuszczalne dzienne spożycie to 10 mg/kilogram masy ciała [14].

Inutec SP1 to pochodna inuliny otrzymanej z korzeni cykorii, zbudowana z bazowych łańcuchów inuliny wzbogaconych o boczne łańcuchy hydrofobowe. Inulina jest polisacharyd na bazie fruktozy charakteryzujący się masą cząsteczkową: 600 – 4500 i prawie całkowicie liniową strukturą. Inutec SP1 dzięki obecności w swojej budowie łańcuchów hydrofilowych i lipofilowych zaliczany jest do grupy niejonowych surfaktantów. Jest wysoce kompatybilny z substancjami anionowymi, kationowymi oraz substancjami powierzchniowo czynnymi o małej masie cząsteczkowej. Może być wykorzystany w przemyśle kosmetycznym jako substancja emulgująca oraz stabilizator emulsji. Inutec SP1 jest substancja niepowodująca podrażnień skóry ani oczu, nie wywołuje działań mutagennych, jest biodegradowalny oraz nietoksyczny [15-17].

Dostępność farmaceutyczna, a co za tym idzie dostępność biologiczna substancji aktywnych z produktów leczniczych po padaniu doustnym zależy od formy leku. Największa wchłaniania cechuje substancje lecznicze podane w postaci roztworu. Dla wszystkich innych postaci leku dostępność farmaceutyczna jest zależna od etapu przejścia substancji aktywnej z formy leku do roztworu w świetle przewodu pokarmowego, czyli szybkością jej uwalniania i rozpuszczania. Istotne jest to przede wszystkim w przypadku substancji leczniczych trudnorozpuszczalnych, czyli takich, których roztwory nasycone w wodzie nie przekraczają stężeń 0,3% [18-21].

Jedną z metod przyspieszenia procesu uwalniania jest dodanie substancji powierzchniowo czynnej – solubilizatora.

Substancje aktywne zostały sklasyfikowane pod kątem ich właściwości biofarmaceutycznych. Zostały one podzielone na cztery klasy BCS (Biopharmaceutical

Tabela 1. Klasyfikacja substancji leczniczych uwzględniająca rozpuszczalność i szybkość wchłaniania

Klasa BCS - Biopharmaceutical Classification System			
I	II	III	IV
Dobra rozpuszczalność	Mała rozpuszczalność	Dobra rozpuszczalność	Mała rozpuszczalność
Dobre wchłanianie	Dobre wchłanianie	Słabe wchłaniania	Słabe wchłaniania

Classification System) (Tabela 1) [18,21].

Ibuprofen został zaklasyfikowany do II klasy BCS [22], czyli substancji, które cechuje słaba rozpuszczalność i dobre wchłanianie. Z powyższego wynika, że na szybkość pojawienia się go we krwi największy wpływ ma etap rozpuszczania w świetle przewodów pokarmowych, czyli uwalnianie z postaci leku. W związku z ograniczoną rozpuszczalnością ibuprofenu w wodzie, dostępność farmaceutyczna, a zarazem spodziewany efekt terapeutyczny, można zwiększyć poprzez dodanie do formulacji postaci leku, związku powierzchniowo czynnego. Aby wyznaczyć odpowiednie stężenie wyżej wymienionych związków powierzchniowo czynnych w gotowej postaci leku (zawiesinie), niezbędne jest prześledzenie procesu efektywnej solubilizacji oraz potwierdzenie kompatybilności zastosowanych surfaktantów z substancją aktywną w badaniach preformulacyjnych.

Ibuprofen ze względu na praktyczną nierozpuszczalność w roztworach wodnych stanowi doskonały materiał umożliwiający zbadanie właściwości solubilizacyjnych zastosowanych związków powierzchniowo czynnych.

Cel pracy

Wiele prac z zakresu technologii farmaceutycznej koncentruje się na udoskonaleniu postaci leku i możliwości wykorzystania nowych substancji pomocniczych. To właśnie dobór odpowiednich substancji pomocniczych w optymalnym stężeniu jest najistotniejszy w procesie projektowania i modyfikowania postaci leku. Ich obecność wpływa na dostępność farmaceutyczną substancji aktywnej jej stabilność w zaprojektowanej postaci leku oraz w konsekwencji na skuteczność oraz bezpieczeństwo farmakoterapii.

Celem podjętej pracy było oszacowanie skuteczności solubilizacyjnej wodnych roztworów poniższych grup związków powierzchniowo czynnych:

- polimerów kondensacyjny glikoli polioksypropylenowych z glikolami polioksyetylenowymi: poloxamerów 124, 184, 185, 188, 407;

- glikolepolioksyetylenowe szeregu E 300, E400, E600
 - pochodnej inulinu – Inutecu SP1
- w stosunku do powszechnie stosowanej niesteroidowej substancji przeciwwzapalnej – ibuprofenu.

Ponadto podjęto próbę wyznaczenia optymalnych stężeń w/w substancji powierzchniowo czynnych w stosunku do rynkowej dawki ibuprofenu w zawiesinie dla dzieci: 100 mg/5 ml oraz potwierdzenia braku niekorzystnego wpływu użytych solubilizatorów na stabilność i zawartość substancji czynnej.

Wyniki podjętych badań mogą stanowić potwierdzenie możliwości użycia wybranych niejonowych substancji powierzchniowo czynnych jako substancji pomocniczych przy projektowaniu zawiesiny z ibuprofenem istotnie zwiększając jej dostępność farmaceutyczną. Zwiększenie dostępności farmaceutycznej ibuprofenu z zawiesiny może wpłynąć dodatnio na szybkość i skuteczność terapii oraz, co jest szczególnie ważne w przypadku leku dla dzieci, może pozwolić na zmniejszenie dawki substancji aktywnej w zaprojektowanej postaci leku, minimalizując tym samym możliwość wystąpienia działań niepożądanych.

Materiały użyte do badań

Odczynniki chemiczne:

1. Polimer kondensacyjny glikoli polioksypropylenowych z glikolami polioksyetylenowymi firmy BASF Corp.: poloxamer 124 – L44; poloxamer 184 – L64; poloxamer 185 – P 65; poloxamer 188 – F 68; poloxamer 407 – F127
2. Glikolepolioksyetylenowe firmy BASF Corp.: Macrogol 300 – E 300; Macrogol 400 – E 400, Macrogol 600 – E 600
3. Pochodna inuliny o nazwie handlowej Inutec SP1 firmy Orafiti.
4. Ibuprofen firmy Hubei Biocause Pharmaceutical Co. Ltd
5. Acetonitryl HPLC firmy POCH
6. Diwodorofosforan potasu (bezwodny) czystości cz.d.a firmy POCH

7. Wodorotlenek sodu czystości cz.d.a firmy POCH
8. Kwas ortofosforowy (1,71 kg/l) czystości cz.d.a firmy POCH
9. Woda oczyszczona.

Aparatura:

1. Mieszadło magnetyczne z funkcją grzania i termometrem
2. Łaźnia ultradźwiękowa
3. Filtr strzykawkowy nylonowy 25 mm × 0,45 µm
4. Waga analityczna z dokładnością do 0,0001 g
5. Detektor - MERCK DAD L2450
6. Pompa - MERCK L2130
7. System obróbki i zbierania danych - MERCK EZChrom Elite
8. Termostat - MERCK L2350
9. Autosampler - MERCK L2200
10. Komputer TOSHIBA PC z oprogramowaniem Windows Vista, program Microsoft Office Word i arkusz kalkulacyjny Microsoft Office Excel 2003

Metody badań eksperymentalnych:

1. Badanie zdolności solubilizacyjnych wodnych roztworów związków powierzchniowo czynnych w odniesieniu do lipofilowej substancji czynnej – ibuprofenu.

Celem wykonanych badań było wyznaczenie optymalnego stężenia zastosowanych związków powierzchniowo czynnych w roztworze wodnym w stosunku do zadanej ilości ibuprofenu. Stężenie to warunkuje dobór optymalnej ilości solubilizatorów w czasie badań nad formułą postaci leku (zawiesiny).

1.1 Przygotowanie prób do badań.

Przygotowano szereg roztworów wodnych ibuprofenu z dodatkiem poloxameru o następujących stężeniach substancji powierzchniowo czynnej: 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%. Sporządzono po 15g każdego z roztworów o następującym składzie:

Ibuprofen	0,3g	2%
Poloxamer	0,075 – 0,9g	0,5–6%
Woda oczyszczona	ad. 15g	q.s

Przygotowano szereg roztworów wodnych ibuprofenu z dodatkiem glikolopolioksyetylenowego o następujących stężeniach substancji powierzchniowo czynnej: 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 10%, 15%, 20%. Sporządzono po 15g każdego roztworu o następującym składzie:

Ibuprofen	0,3 g	2%
Makrogol	0,075–3,0 g	0,5–20%
Woda oczyszczona	ad 15 g	q.s

Przygotowano szereg roztworów wodnych ibuprofenu z dodatkiem pochodnej inuliny – Inutec-u SPI o następujących stężeniach substancji powierzchniowo czynnej: 0,1%; 0,5%; 1%; 1,5; 2%; 2,5%; 3,5%; 4,5%; 6%. Sporządzono po 15g każdego roztworu o następującym składzie:

Ibuprofen	0,3 g	2%
Inutec	0,015–0,9 g	0,01–0,6%
Woda oczyszczona	ad. 15g	q.s

Do buteleczki ze szkła oranżowego naważono odpowiednią (wynikającą z powyższych składów) ilość związku powierzchniowo czynnego, następnie wyliczoną ilość wody oczyszczonej i mieszano na mieszadle mechanicznym 30 minut w temperaturze 40°C. Po rozpuszczeniu solubilizatora ostudzono próbkę do temperatury pokojowej, dodano wynikającą ze składu ilość ibuprofenu i mieszano przez 30 minut. Następnie szczelnie zakręcono butelkę i wytrząsano 45 minut na łaźni ultradźwiękowej w temperaturze pokojowej.

1.2 Przygotowanie prób do analizy

Próbki filtrowano przez sączek nylonowy bezpośrednio do fiolek HPLC (roztwór badany 1).

1.3 Przygotowanie roztworu porównawczego ibuprofenu

Do kolby miarowej pojemności 50 ml odważono dokładnie około 11,0 mg substancji porównawczej ibuprofenu, rozpuszczono w około 5 ml acetonitrylu, dodano około 25 ml buforu fosforanowego o pH 7,2, umieszczono w łaźni ultradźwiękowej na około 5 minut i dopełniono do kreski buforem fosforanowym. Następnie wymieszano i przefiltrowano. Stężenie ibuprofenu w otrzymanym roztworze wynosiło 0,22 mg/ml.

1.4 Metody HPLC pomiaru zawartości ibuprofenu

Do wyznaczenia zawartości ibuprofenu zawartej w próbce użyto chromatografu cieczonego. Zastosowano następujące parametry rozdzielania chromatograficznego:

- kolumna chromatograficzna
- C8 5 µm 4,6 x 150 mm (np. XTerra, Waters lub odpowiednia)

- faza ruchoma
 - A – 0,01 mol/l kwas ortofosforowy
 - B – acetonitryl
 (A : B - 63 : 37 v/v)
- natężenie przepływu fazy ruchomej
 - F = 2,0 ml/min.
- długość fali detektora (UV/Vis)
 - $\lambda = 214 \text{ nm}$
- temperatura kolumny
 - 25°C
- temperatura próbek
 - 10°C
- objętość nastrzyku wzorca
 - 20 μl
- objętość nastrzyku próbek
 - 1 μl lub 20 μl
- czas trwania analizy
 - około 20 min.
- charakterystyczny czas retencji ibuprofenu
 - około 12 min.

Wykonanie oznaczenia

Przeprowadzono analizę chromatograficzną prze-filtrowanych roztworów: porównawczego ibuprofenu (20 μl) oraz badanego 1 (1 μl lub 20 μl)

Stężenie ibuprofenu obliczono w następujący sposób:

Stężenie ibuprofenu C_i w próbach obliczono ze wzoru:

$$C_i = N \times \frac{P_b}{P_w} \times c_w$$

gdzie:

- C_i - stężenie ibuprofenu [mg/ml]
- c_w - stężenie substancji ibuprofenu w roztworze porównawczym [mg/ml]
- P_b - pole powierzchni pików ibuprofenu z roztworu badanego 1
- P_w - pole powierzchni pików ibuprofenu z roztworu porównawczego
- N - objętość nastrzyku (1 lub 20)

1.5 Walidacja metody HPLC pomiaru zawartości ibuprofenu

Wyniki przeprowadzonej walidacji przedstawia tabela 2.

Metoda wysokosprawnej chromatografii cieczowej

oznaczania zawartości substancji czynnej ibuprofen w przygotowanych próbach jest specyficzna, precyzyjna i dokładna, spełnia również kryterium liniowości w badanym zakresie stężeń.

2. Potwierdzenie kompatybilności zastosowanych związków powierzchniowo czynnych z substancją czynną – Ibuprofen.

Celem wykonanych badań było sprawdzenie kompatybilności użytych substancji powierzchniowo czynnych z substancją aktywną – ibuprofenem. Pozytywny wynik badań warunkuje przydatność aplikacyjną użytych solubilizatorów.

W celu potwierdzenia kompatybilności między solubilizatorami a API przygotowano równowagowe mieszaniny substancji czynnej z badanymi solubilizatorami i przechowywano w kontrolowanych warunkach przez okres 14 dni. Skład badanych mieszanin oraz warunki przechowywania zestawiono w tabeli 2.

W celu ustalenia, jaki procent ubytku substancji aktywnej spowodowany był obecnością solubilizatora, przygotowano i przechowywano w tych samych warunkach, próby odnośnikowe zawierające tylko ibuprofen. Założono, że różnica w zawartości substancji czynnej w próbce zawierającej mieszaninę solubilizatora i API, w stosunku do przechowywanej w tych samych warunkach próby odnośnikowej, będzie spowodowana obecnością substancji powierzchniowo czynnej.

Wyniki badania kompatybilności substancji czynnej z solubilizatorem będzie można uznać za pozytywne, kiedy zawartość ibuprofenu w badanej mieszaninie będzie równa bądź większa w stosunku do próby odnośnikowej przechowywanej w tych samych warunkach.

2.1. Przygotowanie prób do badań.

Do buteleczki ze szkła oranżowego naważono bezpośredni 0,5g ibuprofenu oraz do wszystkich prób z wyjątkiem próby kontrolnej naważono 0,5g badanego solubilizatora, po dokładnym wymieszaniu butelki zamknięto szczelnie korkiem i przechowywano w kontrolowanych warunkach (patrz: Tabela 3).

2.2 Przygotowanie próbek do analizy

Roztwór badany 2 (kompatybilność)

Przygotowane próby na kompatybilność przeniesiono ilościowo do kolby miarowej pojemności 100 ml,

Tabela 2. Skład mieszanin poddanych badaniom kompatybilności oraz warunki przechowywania

Lp.	Skład mieszaniny	Seria mieszaniny	Warunki przechowywania
1.	Próba zerowa sam ibuprofenu	IB KN	Temp. 25°C ± 2°C; Wilgotność 60% RH ± 5% RH
		IB KT	Temp. 40°C ± 2°C; Wilgotność 75% RH ± 5% RH
2.	Ibuprofenu mikronizowany + poloksamer L 44	IB+L 44 KN	Temp. 25°C ± 2°C; Wilgotność 60% RH ± 5% RH
		IB+L 44 KT	Temp. 40°C ± 2°C; Wilgotność 75% RH ± 5% RH
3.	Ibuprofenu mikronizowany + poloksamer L 64	IB+L 64 KN	Temp. 25°C ± 2°C; Wilgotność 60% RH ± 5% RH
		IB+L 64 KT	Temp. 40°C ± 2°C; Wilgotność 75% RH ± 5% RH
4.	Ibuprofenu mikronizowany + poloksamer P 65	IB+P 65 KN	Temp. 25°C ± 2°C; Wilgotność 60% RH ± 5% RH
		IB+P 65 KT	Temp. 40°C ± 2°C; Wilgotność 75% RH ± 5% RH
5.	Ibuprofenu mikronizowany + poloksamer F 68	IB+F 68 KN	Temp. 25°C ± 2°C; Wilgotność 60% RH ± 5% RH
		IB+F 68 KT	Temp. 40°C ± 2°C; Wilgotność 75% RH ± 5% RH
6.	Ibuprofenu mikronizowany + poloksamer F128	IB+F 128 KN	Temp. 25°C ± 2°C; Wilgotność 60% RH ± 5% RH
		IB+F 128 KT	Temp. 40°C ± 2°C; Wilgotność 75% RH ± 5% RH
7.	Ibuprofenu mikronizowany + PEG E 300	IB+E 300 KN	Temp. 25°C ± 2°C; Wilgotność 60% RH ± 5% RH
		IB+E 300 KT	Temp. 40°C ± 2°C; Wilgotność 75% RH ± 5% RH
8.	Ibuprofenu mikronizowany + PEG E 400	IB+E 400 KN	Temp. 25°C ± 2°C; Wilgotność 60% RH ± 5% RH
		IB+E 400 KT	Temp. 40°C ± 2°C; Wilgotność 75% RH ± 5% RH
9.	Ibuprofenu mikronizowany + PEG E 600	IB+E 600 KN	Temp. 25°C ± 2°C; Wilgotność 60% RH ± 5% RH
		IB+E 600 KT	Temp. 40°C ± 2°C; Wilgotność 75% RH ± 5% RH
10.	Ibuprofenu mikronizowany + Inutec SP1	IB+Inutec KN	Temp. 25°C ± 2°C; Wilgotność 60% RH ± 5% RH
		IB+Inutec KT	Temp. 40°C ± 2°C; Wilgotność 75% RH ± 5% RH

Tabela 3. Wyniki walidacji metody HPLC pomiaru zawartości ibuprofenu

Kryteria oceny metody	Kryteria akceptacji	Wyniki
Specyficzność	- na chromatogramie roztworu porównawczego, substancji badanej i modelowego widoczny jest pik badanej substancji - na chromatogramie roztworu placebo nie widoczny jest żaden pik w zakresie czasu retencji substancji badanej	- na chromatogramie roztworu porównawczego, substancji badanej i modelowego widoczny jest pik badanej substancji - na chromatogramie roztworu placebo nie widoczny jest żaden pik w zakresie czasu retencji substancji badanej
Dokładność	- odzysk 95%-105%	- odzysk: 99,95 %
Liniiowość	- współczynnik korelacji krzywej regresji $r \geq 0,995$	- współczynnik korelacji r: R = 0,99996
Zakres	- zakres od 0,01588 mg/ml do 0,5080 mg/ml	- zakres: 0,01588 mg/ml ÷ 0,5080 mg/ml

rozpuszczono w około 50 ml acetonitrylu, uzupełniono do kreski buforem fosforanowym o pH 7,2, wymieszano i przefiltrowano.

2.3 Przygotowanie roztworu porównawczego ibuprofenu zgodnie z punktem 1.3

2.4 Metody HPLC pomiaru zawartości ibuprofenu
Zastosowano te same parametry podziału chromatycznego, co w punkcie 1.4

Wykonanie oznaczenia

Przeprowadzono analizę chromatograficzną przefiltrowanych roztworów: porównawczego ibuprofenu (20 µl), badanego 2 (1 µl).

Procent zawartości ibuprofenu obliczono w następujący sposób:

Zawartość ibuprofenu X [%] w próbach obliczono ze wzoru:

$$X = \frac{P_b}{P_w} \times \frac{m_w}{m_b} \times 0,04 \times Z_w$$

gdzie:

X - zawartość ibuprofenu [%]

m_w - naważka substancji porównawczej ibuprofenu [mg]

m_b - masa ibuprofenu w próbce modelowej na kompatybilność [g]

P_b - pole powierzchni pików ibuprofenu z roztworu

badanego 2

P_w - pole powierzchni pików ibuprofenu z roztworu porównawczego

Z_w - zawartość ibuprofenu w substancji porównawczej zgodnie z certyfikatem analitycznym [%]

0,04 - współczynnik przeliczeniowy

2.5 Walidacja metody

Walidacja metody została opisana w punkcie 1.5

Wyniki

Zastosowanie wybranych związków powierzchniowo czynnych w formulacji zawiesin innowacyjnych wymaga znajomości optymalnych skutecznych stężeń tych związków w stosunku do określonej dawki ibuprofenu oraz pewności, że połączenie solubilizatorów z substancją aktywną nie wpłynie negatywnie na stabilność i zawartość tej drugiej.

Wykonane badania preformulacyjne rozpoczęto od zbadania ilości zsolubilizowanego ibuprofenu w wodnych roztworach solubilizatorów o zmiennej procentowości. Pozwoliło to wyznaczyć optymalne stężenie solubilizatora, powyżej którego progres rozpuszczania ibuprofenu jest na tyle niewielki, że nie jest celowe dalsze zwiększanie ilości solubilizatora.

Tabela 4 i ryciny 1–9 przedstawiają stężenia ibuprofenu w badanych, wodnych roztworach solubilizatorów w stosunku do ilości zadanej.

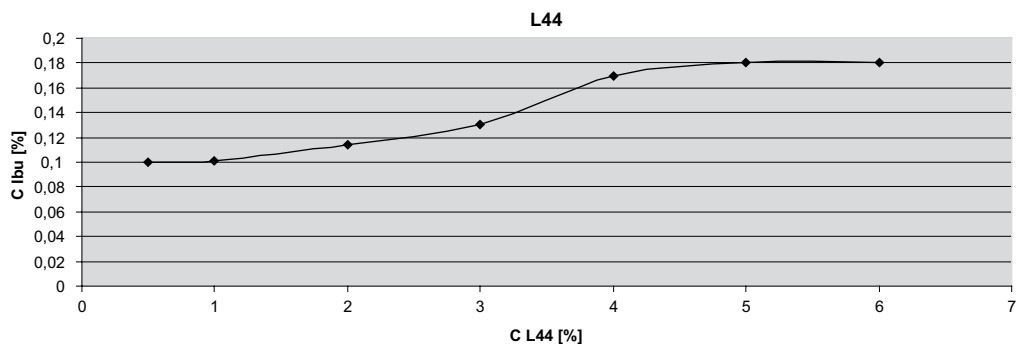
Tabela 4. Stężenie ibuprofenu w badanych wodnych roztworach solubilizatorów

Kod próbki	Stężenie solubilizatora [%]	Wyznaczone stężenie ibuprofenu w próbce [g/100ml]*	Wyznaczone stężenie ibuprofenu w stosunku do ilości zadanej [%]
L 44 IB	0,5	0,002	0,1
L 44 IB	1	0,00202	0,101
L 44 IB	2	0,00228	0,114
L 44 IB	3	0,0026	0,13
L 44 IB	4	0,0034	0,17
L 44 IB	5	0,0036	0,18
L 44 IB	6	0,0036	0,18
L 64 IB	0,5	0,0018	0,09
L 64 IB	1	0,0074	0,37
L 64 IB	2	0,1678	8,39
L 64 IB	3	0,2344	11,72
L 64 IB	4	0,334	16,7
L 64 IB	5	0,6378	31,89
L 64 IB	6	0,6784	33,92

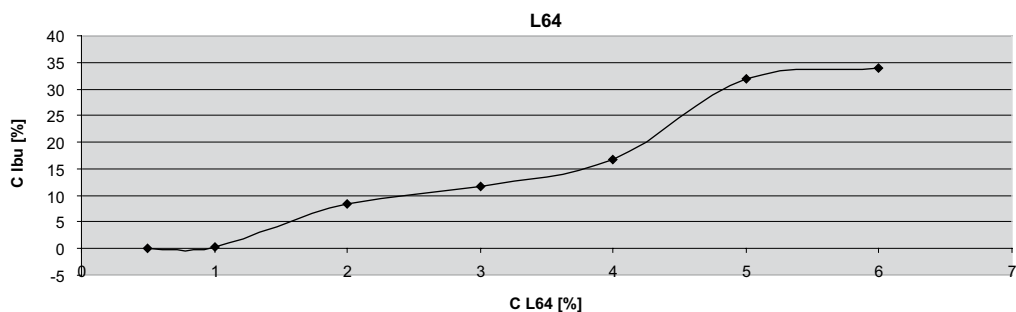
P 65 IB	0,5	0,000124	0,0062
P 65 IB	1	0,0118	0,59
P 65 IB	2	0,0186	0,93
P 65 IB	3	0,035	1,75
P 65 IB	4	0,202	10,1
P 65 IB	5	0,318	15,9
P 65 IB	6	0,3222	16,11
F 127 IB	0,5	0,0154	0,77
F 127 IB	1	0,0534	2,67
F 127 IB	2	0,1316	6,58
F 127 IB	3	0,2436	12,18
F 127 IB	4	0,3584	17,92
F 127 IB	5	0,4094	20,47
F 127 IB	6	0,4254	21,27
F 68 IB	0,5	0,0018	0,09
F 68 IB	1	0,00366	0,183
F 68 IB	2	0,0042	0,21
F 68 IB	3	0,0062	0,31
F 68 IB	4	0,008	0,4
F 68 IB	5	0,0098	0,49
F 68 IB	6	0,01	0,5
E 300 IB	0,5	0,003	0,15
E 300 IB	1	0,0036	0,18
E 300 IB	2	0,004	0,2
E 300 IB	3	0,0042	0,21
E 300 IB	4	0,0046	0,23
E 300 IB	5	0,0068	0,34
E 300 IB	6	0,0076	0,38
E 300 IB	10	0,0082	0,41
E 300 IB	15	0,0082	0,41
E 300 IB	20	0,008	0,4
E 400 IB	0,5	0,0032	0,16
E 400 IB	1	0,0034	0,17
E 400 IB	2	0,00394	0,197
E 400 IB	3	0,00398	0,199
E 400 IB	4	0,004	0,2
E 400 IB	5	0,0058	0,29
E 400 IB	6	0,0088	0,44
E 400 IB	10	0,0088	0,44
E 400 IB	15	0,009	0,45
E 400 IB	20	0,0092	0,46
E 600 IB	0,5	0,0032	0,16
E 600 IB	1	0,0034	0,17
E 600 IB	2	0,00368	0,184
E 600 IB	3	0,0037	0,185
E 600 IB	4	0,00384	0,192
E 600 IB	5	0,00398	0,199
E 600 IB	6	0,0092	0,46
E 600 IB	10	0,0102	0,51
E 600 IB	15	0,0102	0,51
E 600 IB	20	0,0106	0,53

Inutec IB	0,1	0,003	0,15
Inutec IB	0,5	0,007	0,35
Inutec IB	1	0,0108	0,54
Inutec IB	1,5	0,019	0,95
Inutec IB	2	0,0264	1,32
Inutec IB	2,5	0,0332	1,66
Inutec IB	3,5	0,0436	2,18
Inutec IB	4,5	0,0628	3,14
Inutec IB	6	0,0662	3,31

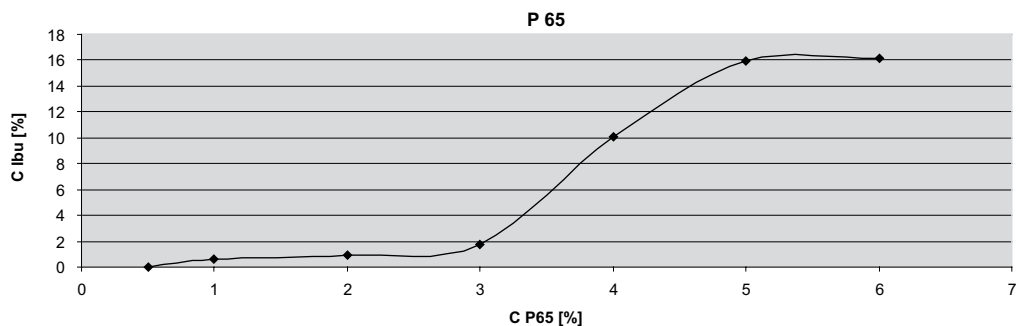
* wyniki prezentowane w tej kolumnie to średnia arytmetyczna z trzech pomiarów



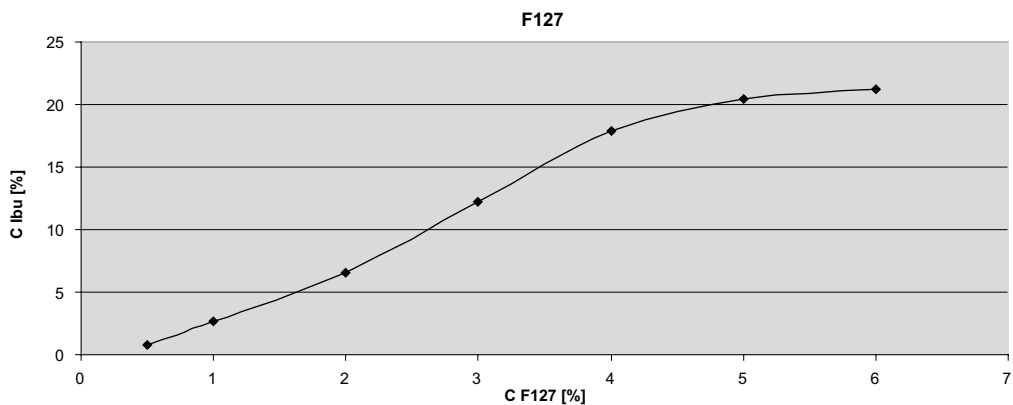
Rycina 1. Wpływ stężenia poloksameru (Lutriol L 44) na procent zsolubilizowanego ibuprofenu



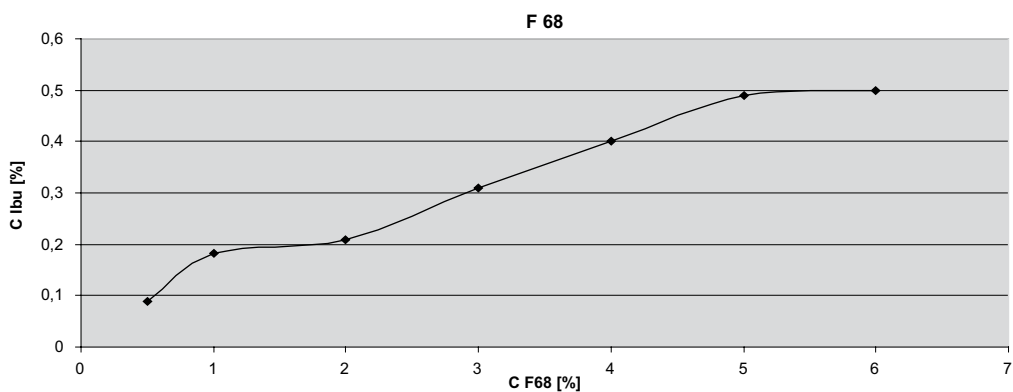
Rycina 2. Wpływ stężenia poloksameru (Lutriol L 64) na procent zsolubilizowanego ibuprofenu



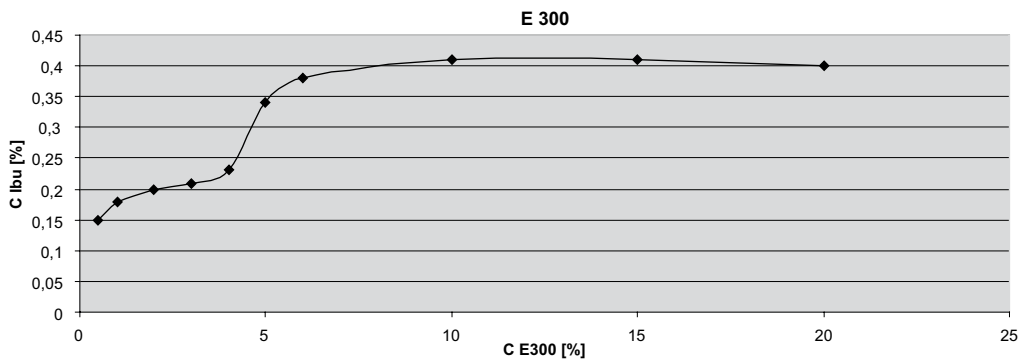
Rycina 3. Wpływ stężenia poloksameru (Lutriol P 65) na procent zsolubilizowanego ibuprofenu



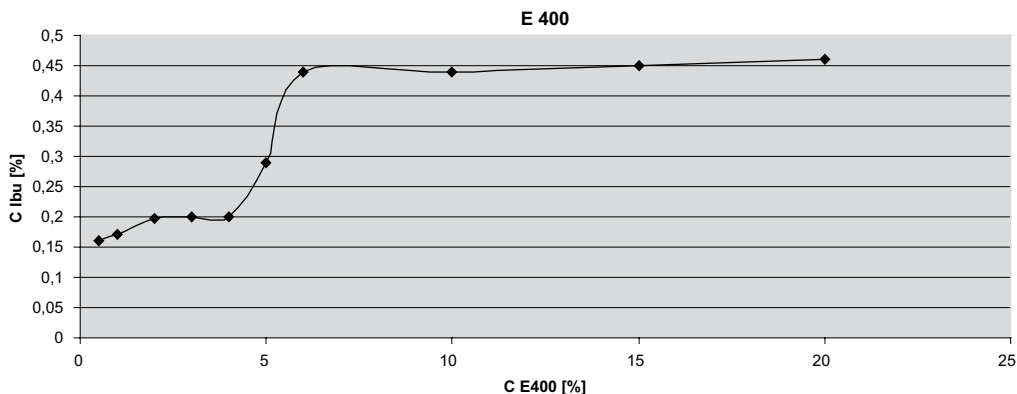
Rycina 4. Wpływ stężenia poloksameru (Lutriol F 127) na procent zsolubilizowanego ibuprofenu



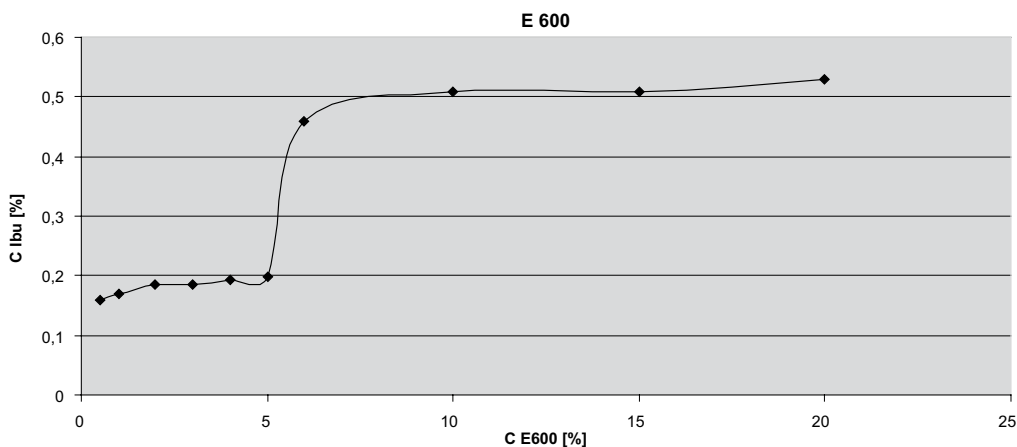
Rycina 5. Wpływ stężenia poloksameru (Lutriol F 68) na procent zsolubilizowanego ibuprofenu



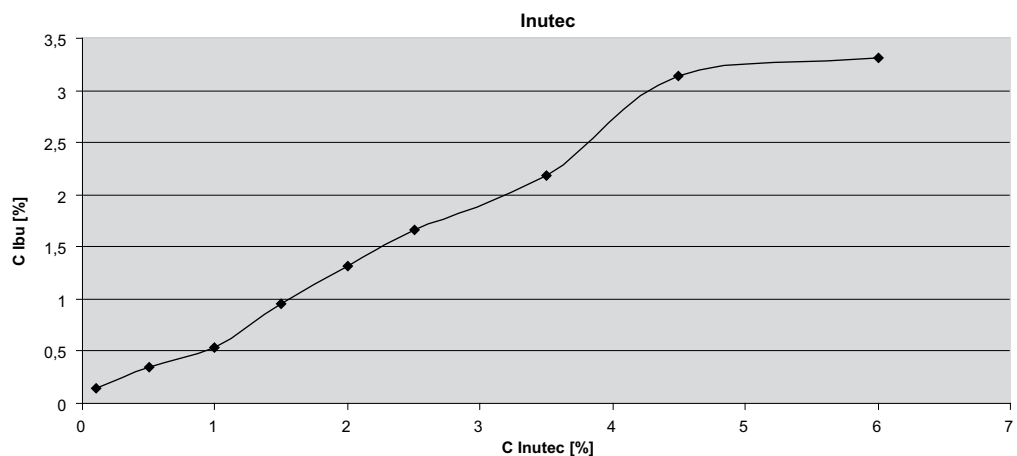
Rycina 6. Wpływ stężenia glikolopolioksyetylenowego (Lutriol E 300) na procent zsolubilizowanego ibuprofenu



Rycina 7. Wpływ stężenia glikolopolioksyetylenowego (Lutriol E 400) na procent zsolubilizowanego ibuprofenu



Rycina 8. Wpływ stężenia glikolopolioksyetylenowego (Lutriol E 600) na procent zsolubilizowanego ibuprofenu



Rycina 9. Wpływ stężenia zastosowanej pochodnej inuliny – Inutecu SP1 na procent zsolubilizowanego ibuprofenu

Najwyższe zawartości ibuprofenu znaleziono w roztworach wodnych następujących poloxamerów:

- P 65 – maksymalna zawartość ibuprofenu w granicach 16% ilości zadanej,
- F 127 – maksymalna zawartość ibuprofenu w granicach 21% ilości zadanej,
- L 64 – maksymalna zawartość ibuprofenu w granicach 33% ilości zadanej,

Optymalne stężenie poloxamerów w wodnych roztworach ibuprofenu o terapeutycznym stężeniu 100 mg / 5 ml zawiesiny doustnej, wynosi 5%. Wykazano, że dla wszystkich przebadanych związków z tej rodziny zwiększenie stężenia powyżej wyznaczonego optymalnego jest bezcelowe, ponieważ nie wiąże się ono ze istotnym wzrostem ilości zsolubilizowanego ibuprofenu. Stężenie optymalne glikoli polioksyetylenowych jest nieco wyższe i równe 6% natomiast Inutecu SP1, podobnie jak poloxamerów – 5%. Powyższe wyniki pozwalają przypuszczać, że dostępność farmaceutyczna ibuprofenu z zawiesiny zawierającej w swoim składzie badane niejonowe związki powierzchniowo czynne będzie dużo większa w stosunku do zawiesiny modelowej niezawierającej solubilizatora.

Zastosowanie aplikacyjne badanych surfaktantów

będzie możliwe tylko wówczas, gdy potwierdzona będzie ich kompatybilność z substancją aktywną, dlatego też w kolejnym etapie badań preformulacyjnych została zbadana zawartość ibuprofenu w przygotowanych uprzednio i przechowywanych w warunkach stresowych próbach na kompatybilność.

Wyniki badania prezentuje Tabela 5.

Zawartość substancji aktywnej we wszystkich przebadanych próbach jest zbliżona do próby odnośnikowej, która nie zawierała substancji powierzchniowo czynnej i równa ilości zadanej, nawet w podwyższonej temperaturze i wilgotności.

Dyskusja i wnioski

Dostępne są publikacje opisujące zastosowanie poloxamerów jako substancji zwiększających rozpuszczalność, a w konsekwencji dostępność biologiczną trudno-rozpuszczalnych w wodzie substancji leczniczych.

Kanagale i wsp. zastosowali poloxamer 188 do stworzenia stałej zawiesiny nifendypiny, którą wykorzystali do zaprojektowania elementarnej pompy osmotycznej (EOP). System ten cechował się regularnym uwalnianiem substancji czynnej przez 20 godzin

Tabela 5. Zawartość ibuprofenu w próbie kompatybilności

Lp.	Seria mieszaniny	Zawartość API [%]	Zawartość API [%] w stosunku do próby odnośnikowej
1.	IB KN	100,0	-
	IB KT	99,99	-
2.	IB+L 44 KN	100,0	100
	IB+L 44 KT	99,99	100
3.	IB+L 64 KN	99,99	99,99
	IB+L 64 KT	99,98	99,99
4.	IB+P 65 KN	100,0	100
	IB+P 65 KT	99,99	100
5.	IB+F 68 KN	100,0	100
	IB+F 68 KT	99,99	100
6.	IB+F 128 KN	100,1	100,1
	IB+F 128 KT	99,99	100
7.	IB+E 300 KN	100,0	100
	IB+E 300 KT	99,99	100
8.	IB+E 400 KN	100,0	100
	IB+E 400 KT	100,0	100,01
9.	IB+E 600 KN	100,0	100
	IB+E 600 KT	99,99	100
10.	IB+Inutec KN	100,0	100
	IB+Inutec KT	99,99	100

bez względu na pH i intensywne wstrząsanie. Do stworzenia rdzenia systemu użyto ponadto PEG-400 [23].

W badaniu Lee i wsp. wykazano wyższość poloxamerów nad hydroksypropylometylocelulozą (HPMC) jako środków zwiększających rozpuszczalność felodipiny w wodzie. Było to wstępem do zaprojektowania tabletki o kontrolowanym uwalnianiu felodipiny z poloxamerem jako solubilizatorem [24].

González i wsp. dowiedli, że 30% bazy roztwór poloxamerów jest użyteczny do zaprojektowania naskórných preparatów z udziałem ibuprofenu [25].

W badaniu Newa i wsp. zaprojektowano podwójną stałą dyspersję zawierającą ibuprofen i poloxamer 188. Nie stwierdzono interakcji pomiędzy użytymi związkami, ponadto badania dostępności biologicznej przeprowadzone na szczurach wykazały znaczny wzrost pola powierzchni pod krzywą (AUC) zawartości ibuprofenu w osoczu od czasu oraz znacznie krótszy czas T_{max} osiągnięcia maksymalnego stężenia (C_{max}) substancji czynnej w osoczu. Świadczy to o znacznej poprawie dostępności biologicznej ibuprofenu w połączeniu z poloxamerem 188 [26]. W badaniu Yong i wsp. potwierdzono celowość wprowadzenia do doustnej formulacji z ibuprofenem poloxameru 188 i mentolu. Wykazano wzrost rozpuszczalności ibuprofenu w wodzie oraz ponadto zwiększoną dostępność biologiczną API, z zaprojektowanej w ten sposób doustnej postaci leku [27]. W kolejnym badaniu Youn-ga i wsp. udowodniono celowość zastosowanie połączeni Ibuprofen – poloxamer 188 – mentol w doodbytniczej postaci leku. Dostępność biologiczna ibuprofenu z zaprojektowanego czopka była znacznie większa w porównaniu z konwencjonalnymi czopkami. Badania dostępności biologicznej były prowadzone na szczurach [28].

Passefini N i wsp. zaprojektowali granulat z ibuprofenem jako substancją czynną i poloxamerem 188 w roli hydrofilizującej substancji pomocniczej. Badania *in vitro* wytworzonego adduktu wykazała zwiększoną rozpuszczalność ibuprofenu w porównaniu do czystej substancji oraz stabilność wytworzonego połączenia przez okres 1 roku w 25°C [29].

W publikacji Janssens i wsp. opisano wykorzystanie Inutec-u SP1 do sporządzenia stałej dyspersji z itrakonazolem. Wykazano brak interakcji między zastosowanym solubilizatorem i substancją czynną oraz wzrost rozpuszczalności itrakonazolu w opisanym połączeniu [15].

Van Eerdenbrugh i wsp wykorzystali Inutec

SP1 do stworzenia nanozawiesiny z następującymi substancjami czynnymi: cinnarizyną, itrakonazolem i fenylbutazolem. Wykazano wzrost rozpuszczalności wymienionych substancji czynnych w połączeniu z substancją powierzchniowo czynną o 31 – 37% w porównaniu do analogicznej postaci leku wykonanej bez użycia Inutec SP1 [16].

W publikacji Van den Mooter G i wsp udowodniono celowość zastosowania Inutec SP1 jako nowego nośnika do przygotowania stałej dyspersji trudno-rozpuszczalnych substancji czynnych na przykładzie itrakonazolu [17].

Ponieważ nie znaleziono w dostępnej literaturze piśmiennictwa mówiącego o badaniu dostępności farmaceutycznej ibuprofenu z zawiesiny oraz tym bardziej o metodach zwiększania tego parametru podjęto badania w tym kierunku. Praca ta miała odpowiedzieć na pytanie czy wybrane związki powierzchniowo czynne mogą zostać zastosowane w celu zwiększenie dostępności farmaceutycznej, a co za tym idzie biologicznej oraz stabilności ibuprofenu w często stosowanej w pediatrii formie leku, jaką jest zawiesina. Z powyższych doświadczeń wyciągnięte zostały następujące wnioski.

1. Wykazano skuteczność solubilizacyjną badanych wodnych roztworów związków powierzchniowo czynnych w stosunku do użytej substancji czynnej – ibuprofenu.
2. Zaobserwowano, że zwiększanie stężenia związków powierzchniowo czynnych powyżej stężenia optymalnego:
 - poloxamer – 5%,
 - makrogol – 6%,
 - Inutec SP1 – 5%
 jest bezcelowe, ponieważ nie niesie za sobą znacznego zwiększenia stężenia zsolubilizowanego ibuprofenu.
3. Zawartość substancji czynnej we wszystkich badanych próbach testu kompatybilności była podobna i mieściła się w granicach normy zawartości substancji czynnej ($\pm 0,1\%$).
4. Na podstawie otrzymanych wyników: braku degradacji substancji czynnej w mieszaninie z zastosowanymi substancjami powierzchniowo czynnymi stwierdzono brak ujemnego wpływu badanych związków na zawartość ibuprofenu.
5. Badane wybrane niejonowe substancje powierzchniowo czynne z grupy polimerów kondensacyjnych glikoli polioksypropylenowych z glikolami

polioksyetylenowymi, glikoli polioksyetylenowych oraz pochodnych inuliny – Inutec SP1, mogą być stosowane jako potencjalne solubilizatory (substancje pomocnicze) ibuprofenu w formulacji innowacyjnych postaci leków. Wskazują na to wyniki przeprowadzonych doświadczeń oraz przegląd literatury.

6. Poprzez zastosowane związków powierzchniowo czynnych (w wyznaczonych stężeniach) jako substancji o charakterze solubilizatorów w zawiesinie należy oczekiwać znacznej progresji parametrów farmakokinetycznych oraz wysokiej dostępności farmaceutycznej lipofilowych środków leczniczych między innymi ibuprofenu.

W związku z powyższym celowe wydają się dalsze badania, polegające na zaprojektowaniu zawiesiny innowacyjnej z użyciem przebadanych solubilizatorów, w wyznaczonych stężeniach granicznych: poloxamery (5%), makrogole (6%) oraz Inutec SP1 (5%), i zbadanie ich wpływu na dostępność farmaceutyczna ibuprofenu.

Praca sfinansowana ze źródeł własnych autora.

Adres do korespondencji:

Marek Dąbrowa

ul. Narutowicza 135 m.21, 90–146 Łódź

Tel.: 606 167 245; E-mail: mard@autograf.pl

Piśmiennictwo

1. Pharmaceutical Excipients 2004 is a joint publication of the Pharmaceutical Press London UK and the American Pharmacists Association Washington USA.
2. Huang K, Lee B, Messersmith PB. Synthesis and characterization of selfassembling block copolymers containing adhesive moieties. *Polymer Preprints* 2001; 42(2): 147.
3. Suh H, Jun HW. Physicochemical and release of naproxen in poloxamer gels. *Int J Pharm* 1996; 129: 13-20.
4. Pandi NK, Wang D. Salt effects on the diffusion and release rate of propranolol from poloxamer 407 gels. *Int J Pharm* 1998; 167: 183-9.
5. Wanka G, Hoffman H, Ulbricht W. Phase diagrams and aggregation behaviour of poly(oxyethylene)-poly(oxypropylene)-poly(oxyethylene) tribloc copolymers in aqueous solutions. *Macromolecules* 1994; 27: 4151-9.
6. Kabanov AV, Nazarova IR, Astafieva IV i wsp. Micelle formation and solubilization of fluorescent probes in poly-(oxyethylene-b-oxypropylene-b-oxyethylene) solutions. *Macromolecules* 1995; 28: 2303-14.
7. Lee JW, Park ES, Chi SC. Solubilization of ibuprofen in aqueous solution. *J Korean Pharm Sci* 1997; 274: 279-86.
8. Saettone MF, Giannaccini B, Delmote G i wsp. Solubilization of tropicamide by poloxamers: physicochemical data activity data in rabbits and humans. *Int J Pharm* 1988; 43: 67-76.
9. Cabana A, Ait-Kadi A, Juhasz J.: Study of the gelation process of polyethylene oxide copolymers (Poloxamer 407) aqueous solutions. *J Colloid Interface Sci*; 1997; 190: 307-12.
10. Bohorquez M, Koch C, Trygstad T i wsp. A study of the temperature-dependent micellization of Pluronic F127. *J Colloid Interface Sci* 1999; 216: 34-40.
11. Smyth HF, Carpenter CP, Weil CS. The toxicology of the polyethylene glycols. *J Am Pharm Assoc (Sci)* 1950; 39: 349-54.
12. Tusing TW, Elsea JR, Sauveur AB The chronic dermal toxicity of a series of polyethylene glycols. *J Am Pharm Assoc (Sci)* 1954; 43: 489-90.
13. Smyth HF, Carpenter CP, Weil CS. The chronic oral toxicology of the polyethylene glycols. *J Am Pharm Assoc (Sci)* 1955; 44: 27-30.
14. FAO/WHO. Evaluation of certain food additives. Twenty-third report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1980; No. 648.
15. Janssens S, Humbeek JV, Van den Mooter G.: Evaluation of the formulation of solid dispersions by co-spray drying itraconazole with Inutec SP1, a polymeric surfactant, in combination with PVPVA 64. *Eur J Pharm Biopharm.* 2008; 70(2):500-5.
16. Van Eerdenbrugh B, Froyen L, Van Humbeek J i wsp. Alternative matrix formers for nanosuspension solidification: Dissolution performance and X-ray microanalysis as an evaluation tool for powder dispersion. *Eur J Pharm Sci* 2008, Aug 14
17. Van den Mooter G, Weuts I, De Ridder T, i wsp.: Evaluation of Inutec SP1 as a new carrier in the formulation of solid dispersions for poorly soluble drugs. *Int J Pharm* 2006, June; 19;316(1-2): 1-6.
18. Kołodziejczyk M: Biofarmaceutyczny aspekt micelarnej solubilizacji lipofilowych środków leczniczych w wodnych roztworach soli sodowych kwasów cholowych i niejonowych surfaktantów. Konferencja Naukowa PTF Biofarmaceutyczne aspekty formulacji postaci leku. Warszawa 2004.
19. Chodera A, Herman Z. *Farmakologia kliniczna*. Warszawa: PZWL; 1993.
20. Danek A, Krówczyński L. *Zarys farmacji klinicznej*. Warszawa: PZWL; 1988.

21. Janicki S, Szmitowska M, Zieliński W. Dostępność farmaceutyczna i dostępność biologiczna leków. Warszawa: Ośrodek Informacji Naukowej Polfa; 2001.
22. Potthast H, Dressman JB, Jungingen HE. Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Ibuprofen. *Journal of Pharmaceutical Sci* 2005; 94(10): 2121-31.
23. Kanagale P, Patel V, Venkatesan N i wsp. Pharmaceutical development of solid dispersion based osmotic drug delivery system for nifedipine. *Curr Drug Deliv* 2008; 5(4): 306-11.
24. Lee KR, Kim EJ, Seo SW, Choi HK. Effect of poloxamer on the dissolution of felodipine and preparation of controlled release matrix tablets containing felodipine. *Arch Pharm Res* 2008; 31(8):1023-8.
25. González N, Sumano H. Design of two liquid Ibuprofen-poloxamer-limonene or menthol preparations for dermal administration. *Drug Deliv* 2007; 14(5): 287-93.
26. Newa M, Bhandari KH, Li DX i wsp. Preparation, characterization and in vivo evaluation of ibuprofen binary solid dispersions with poloxamer 188. *Int J Pharm* 2007; 1;343(1-2): 228-37.
27. Yong CS, Lee MK, Park YJ i wsp. Enhanced oral bioavailability of ibuprofen in rats by poloxamer gel using poloxamer 188 and menthol. *Drug Dev Ind Pharm* 2005; 31(7): 615-22.
28. Yong CS, Oh YK, Jung SH i wsp. Preparation of ibuprofen-loaded liquid suppository using eutectic mixture system with menthol. *Eur J Pharm Sci* 2004; 23(4-5): 347-53.
29. Passerini N, Albertini B, González-Rodríguez ML i wsp. Preparation and characterisation of ibuprofen-poloxamer 188 granules obtained by melt granulation. *Eur J Pharm Sci* 2002;15(1): 71-8.