

Ph.D. értekezés tézisei

**Bőrön alkalmazható gyógyszerészeti organogélek
optimalizálása és vizsgálata**

Pénzes Tímea

Szegedi Tudományegyetem

Gyógyszertechnológiai Intézet

Szeged

2005

For the purpose of this study, the following
variables were used:

Table 1

Table 2

Table 3

Table 4

BEVEZETÉS

Organogéleknek nevezik azokat a géleket, amelyek diszperz fázisa nemvízes folyadék (pl. olaj). Számos szerves (koleszterol, hidroxisztearinsav) és szervetlen (szerves agyag, hidrofób szilícium-dioxid) vegyületet írtak le organogélképzőként, valamint szintetizáltak (polietilén-glikolok, polimetakrilátok), melyek közül egyesek csak víz jelenlétében képeznek organogélt (lecitin, zselatin).

Az organogéleket a Gyógyszerkönyv régről említi dermális felhasználásra lipofil hatóanyag esetén, azonban a '90-es években az újabb, egyszerű és kis mennyiségben használható gélképzők felfedezése révén tesztelték őket nemcsak gyógyszer technológiai, hanem preparatív kémiai és biotechnológiai kutatásokban egyaránt. Jelenleg több újgenerációs organogélről írták le, hogy hatékony transzdermális hordozórendszerek, de a bőrön való felhasználáson kívül sikeresnek bizonyult szemészeti, valamint rektális gyógyszerhordozóként való kipróbálásuk is.

Az emulgens-tartalmú organogélek ígéretes bőrön felhasználásra kerülő gyógyszerhordozók, mivel egyes nemionos emulgens komponens egyszerre képes a gélstruktúra kialakítására, a konzisztencia szabályozására és egyben penetráció fokozó. A bőrbarát összetevőkből készült termékeknek nemcsak az elkészítésük egyszerű és gazdaságos, de a kevesebb felhasznált komponens révén kisebb a bőrirritáció veszélye is.

CÉLKITŰZÉS

Munkám során az alábbiak vizsgálatát tűztem ki célul:

- Új, biokompatibilis organogél összetételek kidolgozása
- A gélképződés körülményeinek és feltételeinek vizsgálata (*reológia*)
- Állományfejlesztés a felhasználói igényeknek megfelelően (*reológia, érzékszervi analízis*)
- A szerkezet és a stabilitás leírása (*fénymikroszkópia, olajsám meghatározás, reológia*)
- A vivőanyag in vitro hatóanyag-felzabadosulásra kifejtett hatása (*vertikális diffúziós cella módszer*)
- A vivőanyag in vivo biohasznosíthatóságra kifejtett hatása (*patkány talpödéma teszt*)

Ezenkívül az új összetételeket összehasonlítottam néhány hagyományos organogéllal a fenti szempontok alapján.

EREDMÉNYEK ÉS TÁRGYALÁSUK

Organogél összetételek kidolgozása

Az olvadék-típusú organogélek úgy keletkeznek, hogy hűtésekor az emulgens olajban való oldékonyságának csökkenésével aggregátumok képződnek, és az átlátszó szol opálos gellé alakul. A vizsgált emulgensek közül a sztearinsav különféle észterei bizonyultak a leghatékonyabb organogélképzőknek szemipoláros és apoláros olajokban. 50°C körül a sztearát csoport egy kristály–amorf átalakuláson megy keresztül, és a hűléskor visszakristályosodó aggregátumok között kapcsolódási pontok alakulnak ki. A szorbitán- és a glicerín-monosztearát (GMS) molekulák alakja ideális olyan kettősrétegbe való rendeződéshez, melyek a pálcá-alakú aggregátumok falát képezik (a gélváz elemei).

A kereskedelemben elérhető GMS-eket különböző forrásokból és módszerekkel állítják elő, ezért összetételük a mono- és diészter típust és arányt illetően nem egyforma. Munkám során 4 GMS-t hasonlítottam össze az organogélképzés, illetve organogéljeik állománya, stabilitása és hatóanyag-leadása szempontjából. Ezen glicerín-monosztearát organogélek (GMSO) olajfázisaként egy bőrön könnyen felszívódó, biokompatibilis, penetráció fokozó tulajdonságú olajat választottam (1. táblázat).

A gélképződés

Feltételezvé, hogy a reakció mértéke arányos a hőmérséklet változás során a tárolási moduluszban bekövetkező növekedéssel, ami a kolloidális vázban kialakuló aktív elasztikus

1. táblázat: A kísérletekben vizsgált összetételek és jelölésük (m/m%)

<i>Glicerín-monosztearát organogélek</i> (GMSO)	Miglyol [®] 812 + 5 - 17% Tegin [®] Pellets (G1), Tegin [®] 90 Pellets (G2), Tcgin [®] M Pellets (G3), Imwitor [®] 900 (G4)
<i>Szilikoparaffin kenőcs</i> (SP), Unguentum silicoparaffini – FoNo VI.	
<i>Olajos kenőcs</i> (OL), Unguentum oleosum – PhHg VII.	
<i>Paraffin kenőcs</i> (PR), Unguentum paraffini – PhHg VII.	
<i>Egyszerű kenőcs</i> (SX), Unguentum simplex – PhHg VII.	

kötések képződésének következménye, és az aggregáció, azaz a gélképződés mértékével arányos, a Kolmogorov–Johnson–Mehl–Avrami elmélet alapján az GMSO-képződésről reo-kinetikai elemzést végeztem.

Az oszcillációs reológiai „*temperature sweep*”-ekben (HAAKE RS1 reométer, ThermoElectron, Németország) azt tapasztaltam, hogy a gélképződés kezdete és sebessége koncentrációfüggő, valamint az egyes GMSO-kban különböző.

Állomány vizsgálat

A GMS mennyiségének változtatásával (5 – 17%) a „lotio”-tól a krémig változatos konzisztenciájú GMSO-kat kaptam. Az állományban ilymódon bekövetkezett változások erőteljesen megnyilvánultak a GMSO-kra jellemző *viszkozitás*, *folyáshatár*, *viszkoelaszticitás* és *szétterülőképeség* értékeiben.

Az ASTM E-1114 szabvány előírásai szerint folytatott érzékszervi tesztekben a betanított panelek a 13% emulgenst tartalmazó mintákat találták optimális keménységűnek — az emulgens típusától függetlenül (*egyszerű rangsorolás teszt*), míg a 9%-os mintákat túl lágynak, a 17%-osokat túl keménynek érezték („*éppen jó*” *teszt*). A rangsorolással elért összpontszámot a reológiai adatokkal összehasonlítva elmondható, hogy a 20 – 30 Pa körüli folyáshatárérték definiálható optimálisként a GMSO-k esetén.

A hagyományos organogélekkel összehasonlítva a G2-t (az előzőekben a legmagasabb pontszámot érte el), az említett szignifikánsan jobbnak bizonyult az általános megítélés, a makroszkópos megjelenés és az állomány szempontjából az OL-hez képest, hasonlóan az SP-vel. Az SX-hez képest a G2 általános megítélése szignifikánsan jobb volt. A bőrérzés tekintetében a vizsgált minták közt viszont nem volt szignifikáns különbség.

Szerkezet vizsgálata

Fénymikroszkóp alatt (Zeiss, Németország) megfigyelhetők a GMSO-kban az összekapcsolódó és az egész olajfázist behálózó pálcá-alakú aggregátumok.

A nyírásra való viselkedésére (*folyásgörbe felvétele*) a Cross-modell illeszkedett. Az oszcillációs reológiai tesztek („*frequency sweep*”) szerint a különböző GMSO-k szerkezete (13%) mérsékelt vázenergiájú. A kristályos vázszerkezet törékeny („*stress sweep*”), ám egy kritikus folyáshatár érték alatt elasztikus deformációt mutat.

A hagyományos organogélekkel összehasonlítva, a szilárd paraffin (PR-ben) a GMS-ekhez hasonló törékeny kristály szerkezetet formál. Az SX és az OL vázszerkezete azonban nagymértékben hálószerű (a kristály váz lanalkol- és amorf viasz szálakkal van körülvéve), így kötöttebb és viszkózusabb jellegű. A kolloid szilícium-dioxid gélváz (SP-ben) elasztikussága kifejezettebb.

Stabilitás vizsgálat

A G2 kivételével a GMSO-kban a hőterhelés magas *olajsám* értékeket, azaz kifejezett szinerézist eredményezett, ami a gélváznak az olajjal való gyenge abszorpciós kölcsönhatására utal. A GMS-ek közül a Tegin 90[®]-nek volt a legjobb a Miglyol[®] 812-vel való nedvesedése (*nedvesedési peremszög*, OCA 20, DataPhysics, Germany), és a G2-nek volt a legalacsonyabb az olajsáma, ami arra utal, hogy minél erősebb a szilárd–folyékony fázisok közti kölcsönhatás, annál kevésbé befolyásolja a hőmérséklet, azaz annál kisebb a hőhatásra bekövetkező szinerézis. A hagyományos organogélekkel összehasonlítva a GMSO-k olajsáma szignifikánsan magasabb volt, a G2 organogélek kivételével.

A GMSO-k mechanikai stabilitásáról az mondható el, hogy a szerkezet már alacsony nyírásra letört, ami fizikai gélvázakra jellemző.

A 4 hetes tárolási idő alatt a reológiai mutatók (*folyásgörbe*, *tixotróp terület*) alapján a G2-4 organogélek vázának keményedését, a G1 esetében gyengülését észleltem.

Hatóanyag-leadás

Modell hatóanyagként 1% piroxicamot (Px) használtam, mely NSAID-t gyulladáscsökkentő, ízületi panaszokkal járó megbetegedések, és osteoarthritis esetében használnak. Amennyiben ezen betegségek helyi kezelése a cél, a vehikulumnak biztosítania kell a Px mély bőrpenetrációját. Az általam vizsgált organogélekben lévő GMS felületaktív tulajdonságának köszönhetően képes a stratum corneum lipíd rétegeinek rendezettségét megzavarni, ezáltal a Px percután penetrációját elősegíteni.

A bőrpenetráció in vitro előrejelzése

Franz-típusú vertikális diffúziós cellában (Hanson Research, USA), izopropil-mirisztátba áztatott cellulóz membránt használva a GMSO-kból felszabadult és penetrálódott Px mennyisége és a folyamat sebessége közt nem volt szignifikáns különbség. Eszerint az

előrejelzés szerint tehát a különböző GMS-ek egyformán befolyásolják a Px bőrpenetrációját. Az *in vitro* penetrációs folyamatok matematikailag a Higuchi-féle diffúziós modellel voltak leírhatók.

A hagyományos organogélekkel összehasonlítva a GMSO-kból a Px *in vitro* penetrációja szignifikánsan magasabb volt, vélhetően a relatív magas felületaktív anyag tartalom miatt.

Az emulgenseknek a Px fizikokémiai tulajdonságaira gyakorolt hatásának vizsgálatakor azt találtam, hogy bár a GMS-ek különbözően hatnak a Px hidrofíl közegben való *oldékonyságára*, a hatás csak akkor érvényesül, ha az emulgens átjut a lipofil rétegen (*lipofil/hidrofíl megoszlás, P*).

A Px diffúzió sebessége és mértéke az emulgens mennyiségének, és ezzel az organogél viszkozitásának növelésével csökkent, azonban abban a koncentráció tartományban, amely megfelelő konzisztenciát eredményez, az *in vitro* penetrációban nem volt különbség.

A Guy-Plot elmélet szerint a bőrön keresztüli penetráció előrejelezhető az *in vitro* penetrációs együtthatóval, és a penetráció sikeressége $\log P \sim 2$ érték esetén a legnagyobb. A Px $\log P$ értékét a különféle GMS-ek jelenléte úgy befolyásolja, hogy a méréseim és az említettek alapján a GMSO-kból való bőrpenetráció várható sorrendje: $G2 > G4 > G3 > G1$.

In vivo gyulladásgátló hatás

A G1-be és a G2-be inkorporált Px *karragénnel kiváltott akut lábödéma* kialakulását gátló hatásának vizsgálatakor (plethyszométer, Hugo Sachs Elektronik, Németország) azt tapasztaltam, hogy az organogélekbe inkorporált Px nemcsak lokális, hanem szisztémás gyulladásgátló hatás kifejtésére is képes volt.

A Px-os előkezelést lokálisan alkalmazva a karragénnel kezelt területen, mindkét GMSO hatásosan gátolta az ödéma-kialakulást a kontrollhoz (placebóval kezelt csoport) képest, és közöttük nem volt szignifikáns különbség. Azonban a Px-os előkezelést a hátbőrön alkalmazva, a G1 ödéma-gátló képessége a G2-höz képest csekély volt, valószínűleg mivel a lipofilabb Tegín[®] 90 jobban elősegítette a hatóanyag bőrpenetrációját.

A vizsgált koncentráció tartományban a Px dózisának emelésével a szisztémás ödéma-kialakulásának gátlása logaritmikusan nőtt.

Az emulgens (penetráció fokozó) mennyiségének változtatása az optimális konzisztenciát

biztosító tartományon belül nem befolyásolta szignifikánsan a szisztémás ödéma-gátló hatást.

A lokálisan alkalmazott G1 és G2 hatékonyabbak voltak az SX-nél, de az SP-hez képest nem mutattak szignifikáns különbséget. A szisztémás hatást nézve, a G2 hatékonyabb volt az SX-nél és az SP-nél, azonban a G1 és az SX valamint az SP közt nem volt szignifikáns különbség. Továbbá, a G2 szisztémás ödéma-gátló hatását összehasonlítva egy o/v krémével és egy penetráció fokozóként karbamidot tartalmazó hidrogélével, a G2-ben alkalmazott Px megközelítőleg azonos ödéma-gátló hatást ért el, mint a karbamid tartalmú hidrogél, és jobbnak bizonyult az o/v krémnél. Tehát a bőrérzés és a lemoshatóság szempontjából általában jobban kedvelt hidrofil vivőanyagok a Px biohasznosíthatóságát tekintve nem jobbak az GMSO-khoz képest.

In vitro – in vivo korreláció

Az in vivo bőrön keresztüli penetráció jól korrelált az in vitro penetrációs együttható értékével, azonban az in vitro penetrációs profiltól eltért. Az eltérés oka az alkalmazott membránok különböző természetére vezethető vissza. Az in vitro felhasznált szintetikus membrán inert, és ez a teszt a hatóanyag-felszabadulást és az azt követő lipofil/hidrofil megoszlást modellezi. Azonban az in vivo perkután abszorpció ennél összetettebb, mivel a penetráció fokozó és egyes hatóanyagok is kölcsönhatásba léphetnek a stratum corneumban lévő multilamelláris lipid mátrixsal, így a bőr aktív barrierként viselkedik.

ÖSSZEFOGLALÁS

- A GMS már alacsony koncentrációban stabil organogéleket eredményez számos apoláros és szemipoláros olajjal.
- A kereskedelemben elérhető különböző forrásokból nyert és eltérő módszerekkel előállított GMS-ek organogélképzésében, illetve organogéljeik állományában, stabilitásában és hatóanyag-leadásában az alábbi különbségek vannak:
 - A gélképződési pont az emulgens típusától és koncentrációjától függ.
 - Az állományt az emulgens típus döntően befolyásolja.
 - Az olajsám arányos az emulgens olajjal való nedvesedésével.
 - Tárolás során a G2-4 szerkezete keményedik, a G1-é gyengül.

- A Px penetráció arányos az emulgens által befolyásolt log P értékkel.
- Fénymikroszkóp alatt felismerhető a heterogén vázszerkezet, amely pálca-alakú GMS aggregátumok összekapcsolódásából alakul ki és az egész olajfázist átszövi.
- A két komponens arányának változtatása megváltoztatja a folyáshatárt, a viszkoelaszticitást, a viszkozitást és a szétterülőképeséget. A termékfejlesztés számára ez egyszerű eljárást biztosít.
- A bőrön való felhasználás szempontjából 13% GMS-tartalom eredményez optimális keménységet. A hagyományos organogélekkel összehasonlítva: a GMSO-k általános megítélése jobb az SX-énél és az OL-énál. Az általános megítélés a megjelenéssel és a bőrérzéssel arányos.
- A GMSO-k vázenergiája mérsékelt. Az apró kristály képletekből felépülő gélszerkezet törekeny, ezért a GMSO-k folyáshatára alacsony.
- A G2 kivételével a GMSO-k hőstabilitása a hagyományos organogélekhez képest alacsony.
- A G2-be inkorporált Px jelentékeny ödéma-kialakulást gátló hatást mutat lokálisan alkalmazva és transzdermális felszívódást követően egyaránt. A tesztelt hagyományos organogélekhez képest a Px biohasznosíthatósága a G2-ből jobb. A Tegin[®] 90 ezért hatékony segédanyag a Px bőrpenetrációjának növeléséhez.
- Az in vivo eredmények korrelálnak az in vitro penetrációs együttható értékével. Azonban csak óvatos következtetéseket vonhatunk le az in vivo bőrpenetrációra vonatkozóan olyan in vitro kísérletekből, ahol szintetikus membránt alkalmaztunk modell barrierként.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönöm **Dr. Erős István** professzor úrnak a lehetőséget, hogy az intézetben dolgozhattam, és hogy a munkámhoz szakmai és anyagi háttérrel biztosított. Köszönettel tartozom neki, mint témavezetőmnek a munkámhoz nyújtott segítségéért. Szeretném megköszönni **Dr. Csóka Ildikónak** a munkámhoz nyújtott segítségét és bátorítását.

Köszönettel tartozom **Carla Caramella** professzor asszonynak és **Dr. Falkay György** professzor úrnak a lehetőségért, hogy az intézetükben dolgozhattam.

Külön köszönettel tartozom társszerzőimnek: Franca Ferrarinak, Silvia Rossinak, Dr. Blaszó Gábornak, Dr. Aigner Zoltánnak, Prof. Maria Fernanda Bahianak és Isabel Almeidanak az együttműködésért és az ösztönző beszélgetésekért.

Köszönöm a kollégáimnak, hogy támogattak a disszertáció elkészítésében.

Szeretném megköszönni családom szeretetét és türelmét.

A TÉZISHEZ KAPCSOLÓDÓ ANYAGOK

Közlemények

- T Péntes, F Ferrari, S Rossi, C Caramella, I Csóka, I Erős: Rheological characterization of organogels based on glyceryl monostearates. *www.rheofuture 2002* (2002)
- Péntes T, Csóka I, Erős I: Gyógyászati és kozmetikai organogélek típusai és jellemzőik. *Olaj, szappan, kozmetika* 2003 (52) 45–49.
- T Péntes, I Csóka, I Erős: Rheological analysis of the structural properties effecting the percutaneous absorption and stability in pharmaceutical organogels. *Rheologica Acta* (2004) 43: 457-463.
- T Péntes, G Blaszó, Z Aigner, Gy Falkay, I Erős: Topical absorption of piroxicam from organogels - *in vitro* and *in vivo* correlations. *International Journal of Pharmaceutics* (in press)

Előadáskivonatok

- Péntes T, Erős I.: Reológiai módszerek alkalmazása az organogélek kutatásának területén, *Kedvessy György Emlékkülés*, Szeged (2004), Absztrakt gyűjt. 114-118.o.
- Péntes T, Blaszó G, Sipos P, Falkay Gy, Erős I: Piroxicam abszorpció organogélekből – *in vitro/in vivo* korreláció, *X. Farmakokinetika és Gyógyszermetabolizmus Szimpózium*, Mátraháza (2004), Absztrakt gyűjt. 91.o.
- T Péntes, I Almeida, F Bahia, I Csóka, I Erős: Lipophilic surfactant gels as novel alternative to hydrocarbon bases, *Proc. 5th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology*, Nürnberg (2004), 419-420.o.
- T Péntes, I Csóka, I Erős: Effect of structural properties of organogels on percutaneous absorption and stability, *Annual European Rheological Conference*, Guimarães (2003), Absztrakt gyűjt. 39.o.
- Péntes T, Csóka I, Erős I: Lipofil emulgensgélek – új dermatológiai organogélek, *Congressus Pharmaceuticus Hungaricus XII.*, Budapest (2003), Absztrakt gyűjt. 85.o.
- Péntes T, Csóka I, Erős I: Emulgens tartalmú organogélek, *XIV. Országos Gyógyszertechnológiai Konferencia*, Hévíz (2002), Absztrakt gyűjt. 37.o.
- T Péntes, I Csóka, I Erős: Organogels designed for pharmaceutical use, *4th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology*, Firenze (2002), Absztrakt gyűjt. 1243-1244.o.