

PŮVODNÍ PRÁCE

Hodnotenie liberácie kofeínu z dermálnych polotuhých liekov

Evaluation of liberation of caffeine from dermal semisolid drugs

Alexandra Kodadová • Zuzana Vitková • Petra Herdová

Došlo 26. srpna 2013 / Prijato 14. září 2013

Súhrn

Práca pojednáva o formulácii kofeínu do dermálnych polotuhých liekov – hydrogélom. Kofeín bol vybraný ako modelové liečivo, pretože jeho vlastnosti môžu nájsť uplatnenie práve v hydrogélom. Ochranné či upokojujúce účinky sa môžu využiť v prípravkoch na opaľovanie, lipolytické a regeneračné v prípravkoch na liečbu androgénnej alopecie alebo celulitídy. Predmetom výskumu bolo sledovať vplyv rôznej koncentrácie chitosanu a kofeínu na jeho uvoľňovanie z gélov. Zároveň sa hodnotila stabilita pripravených vzoriek hodnotením reologických parametrov. Na základe získaných výsledkov sa určila optimálna koncentrácia liečiva – kofeín 0,2% (m/m) a gélotvornej látky – chitosan 2,3% (m/m).

Kľúčové slová: kofeín • hydrogély • chitosan • liberácia • reologické parametre

Summary

The paper deals with formulation of caffeine into dermal semisolid dosage forms - hydrogels. Caffeine was chosen as a model drug because its properties can be successfully used just in hydrogels. Protective and tranquilization effects can be used in the preparations for sunbathing, and its lipolytic and regenerative effect can be used for the treatment of androgenic alopecia or cellular bioprotection. The aim of the study was to investigate the influence of different concentrations of

chitosan and caffeine on the liberation of gels. Besides, stability of the prepared samples was evaluated by means of the evaluation of their rheological parameters. Based on the obtained results, there was determined the optimal drug concentration – caffeine 0.2% (w/w) and also the gel forming substance – chitosan 2.3% (w/w).

Keywords: caffeine • hydrogels • chitosan • liberation • rheological parameters

Úvod

Kofeín je látka v praxi známa hlavne svojou prítomnosťou v káve. Vo farmaceutickom priemysle sa využíva najmä ako liečivo, ktoré potencuje antinociceptívny účinok iných liečiv, hlavne z radu analgetík – antipyretík.

Veľmi často dnes ženy bojujú s celulitídou. Kofeín je ako anticelulitídové kozmetikum používaný vďaka lipolytickému efektu na tukové bunky. Ten spočíva v zabránení odbúravania cAMP, ktoré sa podieľa na metabolizme lipidov¹.

Priaznivé účinky vykazujú aj u ľudí trpiacich androgénnou alopeciou. Blokovanie fosfodiesterázy dochádza k zvyšovaniu hladiny cAMP v bunkách. Dochádza k stimulácii bunkového metabolizmu a tým podporuje ich proliferáciu².

Významnú úlohu môže zastávať v liekovej forme hydrogély. Ich výhodou je ľahká aplikácia na miesto pôsobenia, takisto aj ľahká zmývateľnosť. Formulácia kofeínu do hydrogélom by tak mohla pomôcť v terapii týchto svetovozšírených ochorení.

Pri príprave hydrogélom zohrávajú dôležitú úlohu gélotvorné látky. Na prípravu stabilných hydrogélom sa hodia neúplne deacetylované frakcie chitosanu. Chitosan nevykazuje žiadnu toxicitu a je biodegradovateľný. Jeho využitie nachádzame v dermálnych polotuhých liekoch aj vďaka urýchľovaniu absorpcie liečiva cez pokožku³.

Cieľom tejto štúdie bolo stanoviť vhodné zloženie hydrogélu pre kofeín na základe jeho liberácie a sledovať stabilitu pripravených gélov na základe reologických parametrov.

PharmDr. Alexandra Kodadová (✉) • Zuzana Vitková • Petra Herdová
Univerzita Komenského v Bratislave
Farmaceutická fakulta, Katedra galenickej farmácie
Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, Slovenská republika
e-mail: kodadova@fpharm.uniba.sk

Pokusná časť**Použité chemikálie**

Kofeín (*Coffeinum*, SL1) (CAF) – 1,3,7-trimetyl-1,2,3,6-tetrahydro-7H-purín-2,6-dión – Sanitas, Praha, Česká republika;

chitosan (*Chitosanum*) (CHIT) praktický stupeň získaný z kreviet – (1→4)-2-amino-2-deoxy-beta-D-glukán, stupeň deacetylácie $\geq 75\%$ – SIGMA-ALDRICH CHEMIE, Steinheim, Nemecko;

Tween 80 (*Polysorbatum 80*, SL1) (P80) – zmes parciálnych esterov rôznych vyšších alifatických kyselín, najmä kyseliny olejovej a sorbitolu a jeho anhydridov – Atlas Powder Co., USA;

kyselina mliečna (*Acidum lacticum*, SL1) (KM) – kyselina 2-hydroxypropánová – Interpharm, Bratislava, Slovenský republik;

čistená voda (*Aqua purificata*, SL1) – FaF UK, Bratislava, Slovenská republika.

Použité prístroje

Analytické váhy: Mettler – Toledo Ag, Greinfensee Swiss, dodal ARID Brno, Česká republika;

viskozimeter: Viscotester VT 500, dodala firma HAAKE Mess – Technik GmbH H. CO Karlsruhe, Nemecko;

permeačná aparátúra: Katedra galenickej farmácie, Farmaceutická fakulta UK Bratislava;

permeačná membrána: celofán, dodáva EKOZ Slovakia, s.r.o.;

spektrofotometer: Philips Pyl UNICAM 8625 Ltd., Cambridge, United Kingdom;

Termostat U 10: VEB ML W Prüfgeräte – Werk Medingen, Nemecko.

Zloženie vzoriek

Pripravili sa hydrogély (100 g) na báze CHIT o rôznej koncentrácii: 2,3 % (m/m), 2,4 % (m/m) a 2,5 % (m/m). Pre vznik gélovej štruktúry bolo potrebné CHIT neutralizovať 1 %-tnou KM. Do hydrogélov sa formuloval CAF v troch rôznych koncentráciách. Na základe predchádzajúcich štúdií sa zvolili koncentrácie: 0,1 % (m/m), 0,2 % (m/m) a 0,3 % (m/m). Všetky gély obsahovali prídavok 0,1 % (m/m) Polysorbátu 80 vo funkcii tenzidu.

Liberácia kofeínu z hydrogélov

Množstvo 3,0 g hydrogélu sa navážilo na semipermeabilnú membránu – celofán s hrúbkou 0,24 μm . Celofánová membrána so vzorkou sa vložila do akceptorovej časti permeačnej aparátúry. Do donorovej časti sa napipetovalo 20 ml fyziologického roztoku. Takto sa pripravili 4 paralelné merania a jeden blank. Obsah komórok sa po celú dobu uvoľňovania premiešaval pomocou magnetických miešadiel. V časových intervaloch 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180 min sa z akceptorovej časti odobrali pipetou 2,0 ml vzorky. Aby sa zachovala koncentrácia fyziologického roztoku, odobratý objem sa vždy nahradil rovnakým množstvom fyziologického roztoku. Odobratá vzorka sa riedila čistenou vodou. Pomocou termostatu sa udržiavala konštantná teplota 30 °C po celú dobu trvania experimentu. Uvoľnené množstvo CAF sa stanovilo spektrofotometricky pri $\lambda = 274 \text{ nm}$. Hodnota $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ pre kofeín bola 510,14.

Stanovenie reologických vlastností pripravených vzoriek

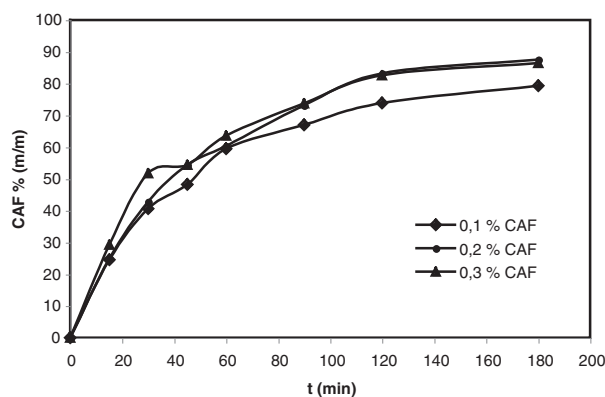
Stanovenie reologických parametrov sa realizovalo 48 h od prípravy hydrogélov na rotačnom viskozimetri VISCOTESTER VT 500 pri teplote 21 °C \pm 0,2 °C. Zaznamenávali sa hodnoty točivého momentu, z ktorého sa vypočítali základné reologické parametre.

Výsledky a diskusia

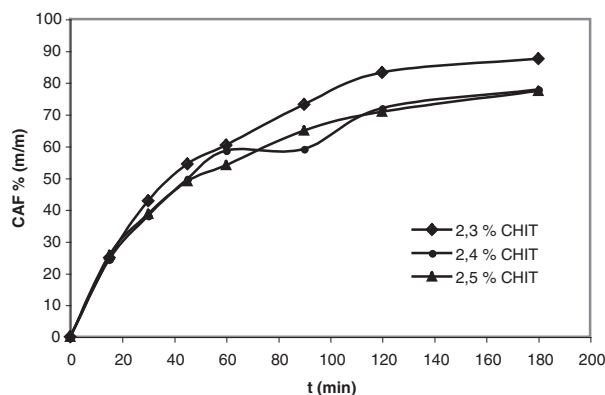
V tejto práci sa sledovalo uvoľňovanie kofeínu z pripravených hydrogélov. Cieľom bolo nájsť vhodnú koncentráciu chitosanu a kofeínu pre formuláciu gélov.

Obrázok 1 poskytuje údaje o uvoľnených množstvách troch rôznych koncentrácií kofeínu 0,1; 0,2; 0,3 % (m/m) z 2,3 % (m/m) chitosanového gélu. Liberačné profily vzoriek majú podobný priebeh. Vyplýva z nich, že zo všetkých troch vzoriek sa po 15 minútach uvoľnilo približne rovnaké množstvo CAF. Porovnateľné hodnoty uvoľneného CAF si udržali až do 60. minúty. Po 180 minútach sa zo vzorky s obsahom 0,2 % (m/m) CAF uvoľnilo najväčšie množstvo CAF a to 87,58 % (m/m). Zo vzorky s obsahom 0,3 % CAF sa uvoľnilo 86,41 % (m/m) a najmenšie množstvo CAF sa uvoľnilo zo vzorky s obsahom 0,1% CAF 79,33 % (m/m). Rozdiely v množstve uvoľneného CAF neboli štatisticky významné ($P > 0,05$).

Pre ďalšie experimenty bola zvolená koncentrácia

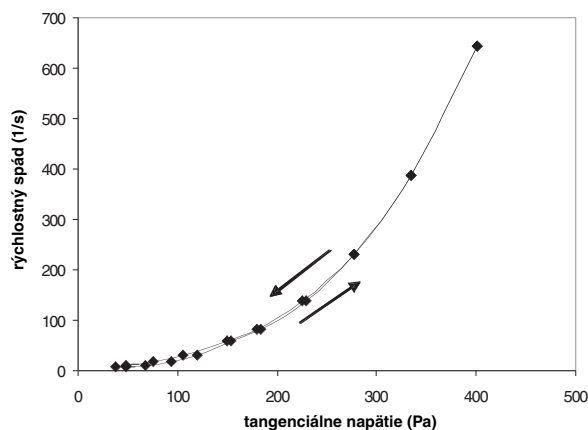


Obr. 1. Uvoľňovanie 0,1–0,3 % (m/m) CAF z 2,3 % (m/m) CHIT gélov



Obr. 2. Uvoľňovanie 0,2 % (m/m) CAF z 2,3–2,5 % (m/m) CHIT gélov

CAF 0,2 % (m/m) na základe najväčšieho uvoľneného množstva CAF. Na obrázku 2 vidíme liberačné profily vzoriek s tromi rozdielnymi koncentraciami CHIT: 2,3 % (m/m); 2,4 % (m/m) a 2,5 % (m/m). Z obrázku 2 vyplýva, že koncentrácia chitosanu na uvoľňovanie CAF mala štatisticky významný vplyv ($P < 0,05$). Liberačné krivky vzoriek s 2,4 % (m/m) a 2,5 % (m/m) CHIT sú takmer totožné. Najvyššie množstvo CAF sa po celú dobu experimentu uvoľňovalo zo vzorky s koncentráciou CHIT 2,3 % (m/m), z ktorej sa po 180 minútach uvoľnilo 87,58 % (m/m). Išlo o štatisticky významný rozdiel v porovnaní so vzorkou s 2,4 % (m/m) CHIT, z ktorej sa po 180 min uvoľnilo 77,88 % (m/m) CAF a vzorkou s 2,5 % (m/m) CHIT 77,39 % (m/m) CAF.



Obr. 3. Toková krivka gélu s obsahom 0,2 % (m/m) CAF a 2,3 % (m/m) CHIT

Poslednou časťou výskumu bolo stanovenie reologických parametrov jednotlivých hydrogélů a výber vhodného zloženia hydrogélů pre kofeín. Hodnotenie reolo-

gických vlastností zohráva významnú úlohu v posúdení stability hydrogélů.

Vypočítaním základných reologických parametrov a zhotovením tokových kriviek sa zistilo, že všetky gély patria medzi neneutronovské sústavy. Zvyšovanie koncentrácie kofeínu nemalo na priebeh tokovej krivky výrazný vplyv. Počas 3 mesiacov skladovania nedochádzalo k výrazným zmenám štruktúrnej viskozity ani k prechodu sústavy z časovo nezávislej na časovo závislú. Na obrázku 3 je vidieť priebeh tokovej krivky gélu s 2,3 % (m/m) CHIT a 0,2 % (m/m) CAF. Gél mal charakter časovo nezávislej plastickej sústavy.

Na základe dosiahnutých výsledkov liberácie a reológie možno konštatovať, že pre lokálnu aplikáciu je výhodné použiť koncentráciu kofeínu 0,2 % (m/m) v 2,3 % (m/m) géli chitosanu.

Z tohto gélu sa najlepšie uvoľňoval CAF a gél disponoval optimálnymi tokovými vlastnosťami.

Výskum bol podporený grantami UK/101/2013, VEGA 1/0024/11, FAF UK/3/2013.

Stret záujmov: žiadny.

Literatúra

1. Velasco M. V. R., Tano C. T. N., Machado-Santelli G. M., Consiglieri V. O., Kaneko T. M., Baby A. R. Effects of caffeine and siloxanetriol alginate caffeine, as anticellulite agents, on fatty tissue: histological evaluation. *JCD*. 2008; 7, 23–29.
2. Bansal M., Manchanda K., Pandey S. S. Role of Caffeine in the Management of Androgenetic Alopecia. *Int J Trichology* 2012; 4, 185–186.
3. Herdová P., Vitková Z. Štúdium liberácie liečiv z chitosanových hydrogélů. *Derma* 2010; 10, 20.