

VYUŽITÍ ANALÝZY TEXTURY PŘI VÝVOJI A HODNOCENÍ MATICOVÝCH TABLET S PRODLOUŽENÝM UVOLŇOVÁNÍM LÉČIVA

DANIEL PĚČEK, MARTINA ŠTÝBNAROVÁ,
ELIŠKA MAŠKOVÁ, PETR DOLEŽEL,
MARTINA KEJDUŠOVÁ, DAVID VETCHÝ
a KATEŘINA DVOŘÁČKOVÁ

*Ústav technologie léků, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého 1–3,
612 42 Brno
dvorackovak@vfu.cz*

Došlo 16.9.13, přijato 18.12.13.

Klíčová slova: analýza textury, tloušťka gelové vrstvy, maticové tablety, disoluční profil, statistické zpracování

Úvod

Analýza textury (AT) jako metoda studia vnitřní struktury látek a materiálů nachází široké uplatnění v mnoha odvětvích^{1,2}. Analyzátor textury má pohyblivé rameno pohybující se nahoru a dolů a stacionární část, ke kterým se připevňují různé sondy se zkoumaným vzorkem. Principem metody je pak měření síly (práce) potřebné k roztržení nebo protlačení daného vzorku, k prostupu sondy vzorkem, k protlačení vzorku skrz definovaný otvor apod. Možnosti použití různých typů sond či nástavců, snadná obsluha a široká škála hodnotících kritérií a relativně nízké pořizovací náklady činí z analyzátorů textury velmi všestranná zařízení. Využívají se např. v potravinářském průmyslu (hodnocení rozdrátelnosti čokoládové pomazánky, pevnosti a pružnosti gumových cukrovinek, lepivosti a viskozity sirupů, medu apod., měkkosti tavených sýrů, pevnosti krevet, pevnosti či elasticity těstovin), kosmetickém průmyslu (hodnocení pevnosti tuhých deodorantů, konzistence šamponů), lékařství (hodnocení odolnosti šicího materiálu, ostrosti jehel) nebo při hodnocení obalů (např. přilnavosti lepidla, pevnosti materiálů)².

Ve farmaceutickém průmyslu se začaly analyzátoři textury významněji objevovat až v několika posledních letech a dosud nebyly zavedeny standardní postupy měření těmito přístroji v analýze lékových forem³. Využívají se při hodnocení adhezivity potahových vrstev tablet, tokových vlastností prášků a granulátů, rozpadu orálně dispergovatelných tablet nebo adhezivity a mechanických vlast-

ností mukoadhezivních filmů^{3,4}. Nověji je studována možnost využití AT v oblasti vývoje a hodnocení maticových tablet.

Maticové tablety charakterizované rovnoměrnou dispergací léčiva v nosné pomocné látce jsou velmi často využívanou lékovou formou zajišťující zejména prodloužené uvolňování léčiva. Podle charakteru nosné pomocné látky se dělí na hydrofilní gelové (hydrofilní bobtnající polymery)³, lipofilní (tuky, vosky) a nerozpustné neboli skeletové matrice (ethylcelulosa). Jako směsné matrice se označují ty, které obsahují různé typy nosných pomocných látek (např. hydrofilní polymer a lipofilní vosk).

Prodloužené uvolňování léčiva z hydrofilní gelové matrice je řízeno vznikem gelové vrstvy na jejím povrchu. Strukturální podstata vzniku gelové vrstvy je podmíněna pronikáním molekul vody mezi řetězce polymeru, jejichž soudržnost se tímto zmenšuje⁵. Jakmile koncentrace vody dosáhne prahové hodnoty⁶, začne se polymer rozplétat a zabírat větší prostor^{5,6}. Na povrchu gelové vrstvy je polymer rozvolněný do takové míry, že ztrácí svou integritu a uvolňuje se v podobě jednotlivých molekul nebo shluků⁶. Dochází tak ke ztrátě konzistence a nastává eroze⁷. Tloušťku vrstvy tedy určuje míra bobtnání a eroze⁸.

Rychlost uvolňování léčiva z hydrofilní gelové matrice lze ovlivnit výběrem polymeru, jeho molekulové hmotnosti a viskozitního stupně, koncentrací v systému a rychlostí jeho hydratace v hydrofilním prostředí³. Uvedené parametry se promítají do rigidity vzniklé gelové vrstvy, která ovlivňuje jak difuzní tak erozní procesy systému.

Ke sledování vzniku gelové vrstvy, tedy změn její tloušťky při styku s vodným prostředím, bývají používány různé analytické metody⁹, např. zobrazovací metody (optický, rastrovací elektronový nebo konfokální mikroskop) nebo NMR spektroskopie^{3,10}, vážení tablet (určování rozdílu hmotnosti mezi suchým a nabobtnalým polymerem)^{8,9} a další. Společným problémem použití těchto metod jsou buď finanční a časová náročnost a jejich obecně špatná dostupnost, nebo v případě vážení tablet nízká výpovědní hodnota metody. Z tohoto důvodu nemohou být využity jako univerzální metody pro hodnocení gelové vrstvy při vývoji maticových tablet^{3,4,10}. Novou metodou v této oblasti je použití přístroje pro analýzu textury. Tato metoda není zatížena výše uvedenými nedostatky a může tak poskytovat praktickou pomoc při vývoji maticové lékové formy³. AT poskytuje jednoduché a přesné určení tloušťky gelové vrstvy maticové tablety pomocí hodnocení hloubky vpichu sondy přístroje do těla tablety, která současně poskytuje informace o rigiditě gelové vrstvy vyjádřené vykonanou prací použité sondy⁴.

Cílem této unikátní studie bylo pomocí vícerozměrné analýzy dat zhodnotit možnost využití texturního profilu tloušťky gelové vrstvy maticových tablet pro predikci disolučního profilu léčiva. Obdobná studie dosud nebyla publikována.

Experimentální část

Použitý materiál

Jako modelové snadno rozpustné léčivo se použil levetiracetam (Zentiva k.s., Česká republika). Hlavní složkou hydrofilních matic byly hypromelosa – HPMC (Methocel K4M a K100M, Dow Chemicals, USA), polyetylenoxid – PEO (Polyox WSR 303 NF, Colorcon Ltd., Velká Británie) a hyprolosa – HPC (Klucel HXF, Ashland, USA). Hydrofilně-lipofilní matrice obsahovaly lipofilní látku karnaubský vosk (Mach Chemikálie s.r.o., Česká republika). Stearan hořečnatý (Peter Greven, Bad Münstereifel, Německo) a bezvodý koloidní oxid křemičitý (Aerosil 200, Degussa, Itálie) se použily jako pomocné látky pro zlepšení tokových vlastností směsí.

Výroba tablet

Bylo připraveno sedm vzorků maticových tablet, z nichž každý obsahoval 100 mg levetiracetamu. Vzorek 1 dále obsahoval 230 mg HPMC K100M, vzorek 2 – 57,5 mg HPMC K100M a 172,5 mg HPMC K4M, vzorek 3 – 230 mg PEO, vzorek 4 – 230 mg HPC, vzorek 5 – 115 mg HPMC K100M a 115 mg vosku, vzorek 6 – 115 mg PEO a 115 mg vosku a vzorek 7 – 115 mg HPC a 115 mg vosku. Každý vzorek obsahoval 2,5 % stearanu hořečnatého a 0,5 % Aerosilu. Tabletovina byla připravena homogenizací složek (10 min, TURBULA typ T2C, WaB Company, Švýcarsko). Kulaté bikonvexní tablety o průměru 10 mm byly připraveny na výstředníkovém tabletovacím lisu KORSCH typ EK 0 (Korsch, Německo). Tablety byly podrobeny zkouškám, které pro hodnocení tablet předepisuje ČL 2009 i Ph.Eur. 7.

Zkouška disoluce

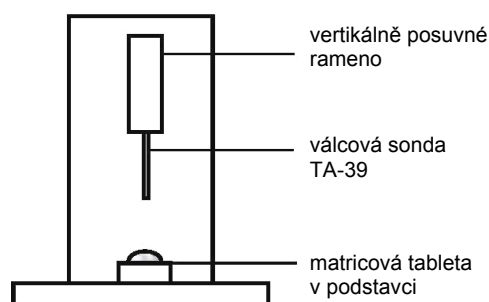
Ke zkoušce disoluce ($n = 6$) pádlovou metodou se použil přístroj SOTAX, typ AT 7 Smart (Sotax, Švýcarsko). Disolučním médiem byl fosfátový tlumivý roztok o pH 6,0 ($37 \pm 0,5$ °C, 50 ot/min). Ve vzorcích odebíraných v daných intervalech se stanovilo množství uvolněného léčiva spektrofotometricky na přístroji Lambda 25 UV/VIS Spectrometer (Perkin Elmer Instruments, USA) při vlnové délce 210 nm pro levetiracetam. Z naměřených hodnot se sestavil disoluční profil léčiva.

Hodnocení tloušťky gelové vrstvy pomocí analýzy textury

K přípravě vzorků pro analýzu textury byla každá tableta umístěna do cylindrického podstavce vyrobeného z polyvinylchloridu, jehož vnitřní rozměry přesně odpovídaly velikosti hodnocených tablet. Tyto podstavce umožnily stabilizaci tablety v průběhu měření tloušťky gelové vrstvy a výhodně umožnily vznik gelové vrstvy pouze směrem vertikálně vzhůru. Vždy 4 tablety uchycené v podstavci byly vystaveny stejným podmínkám popsá-

ným v kap. Zkouška disoluce. Tablety byly i s podstavci vyjímány z disolučního média vždy v časech 0,5; 1; 2; 4; 6 a 8 hodin.

Měření probíhalo na přístroji Texture Analyser CT3 (Brookfield, Velká Británie). K určení tloušťky gelové vrstvy byla použita válcová sonda s plochým koncem TA-39 ($\varnothing 2$ mm \times L 30 mm) ke změření hloubky průniku gelovou vrstvou. Schéma uspořádání přístroje je uvedeno na obr. 1. Rychlost přibližování sondy ke vzorku byla stanovena na $0,5$ mm s^{-1} a počátek snímání hloubky penetrační sondy byl spuštěn při dosažení zatížení sondy odpovídajícímu 5 g (bod dotyku sondy a horní části gelové vrstvy). Sonda v tomto okamžiku začala pronikat gelovou vrstvou, dokud nebyl zaznamenán odpor 200 g (stanovený odpor, který kladlo suché, doposud nehydratované jádro). Poté se sonda začala automaticky vracet do své původní polohy rychlostí 10 mm s^{-1} (cit.⁴). Získaná data byla vyhodnocena softwarem Texture Expert (Brookfield, Velká Británie) a vyjádřena průměrnou hodnotou a její směrodatnou odchylkou (SD).



Obr. 1. Schéma uspořádání přístroje Texture Analyser CT3

Vícerozměrná analýza dat

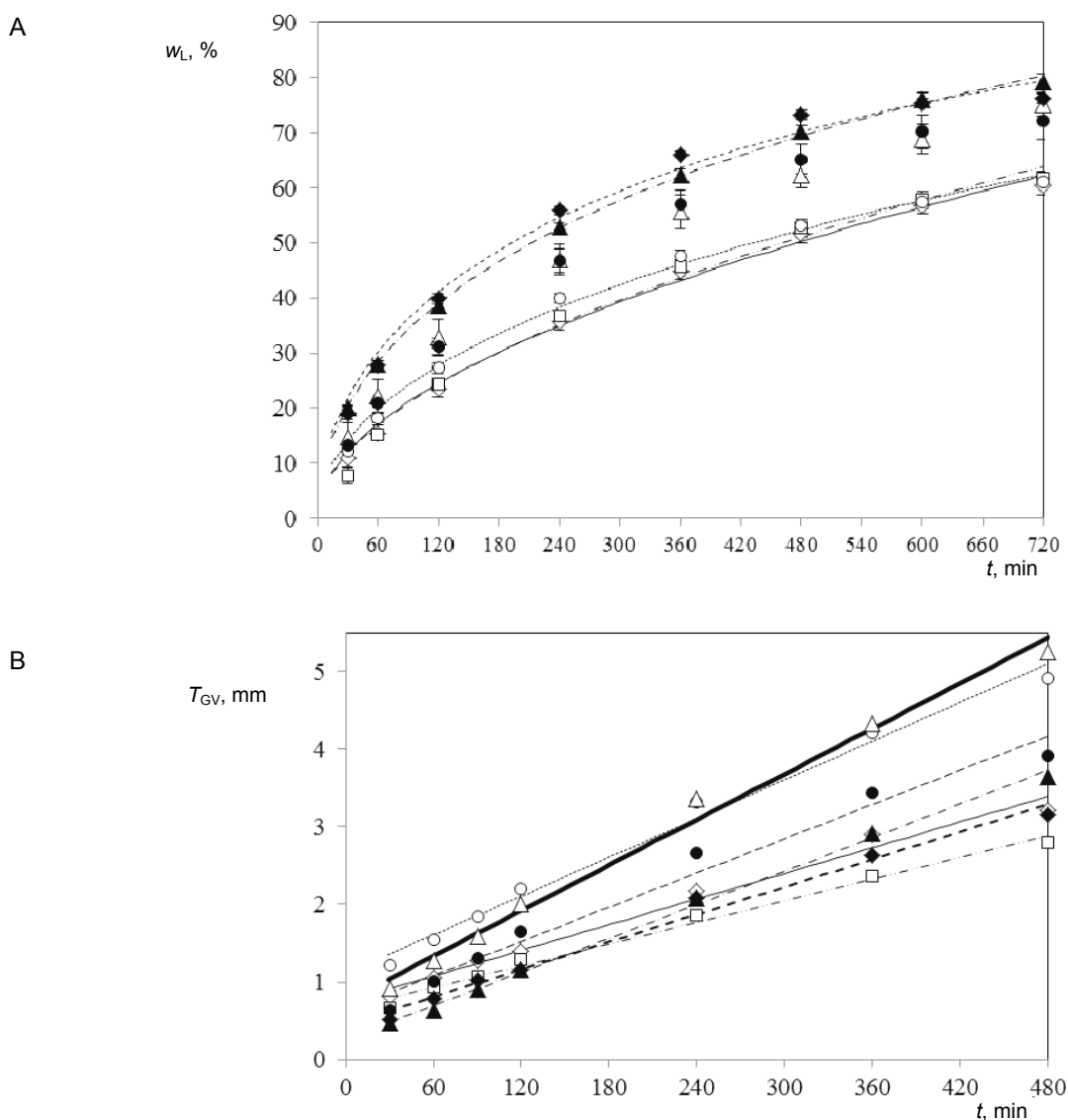
K hodnocení vzájemné korelace mezi hodnotami tloušťky gelové vrstvy a množství uvolněného léčiva se využila vícerozměrná metoda částečných nejmenších čtverců, PLS-2 regrese (Unscrambler X 1.3, Camo software).

Výsledky a diskuse

Připravené výlisky vyhověly předepsaným zkouškám dle ČSL 2009.

Zkouška disoluce

Během zkoušky disoluce bylo u všech vzorků pozorováno prodloužené uvolňování účinné látky. Z disolučních profilů všech testovaných formulací (obr. 2A – vyznačeno body) lze vyvodit, že nejvyšší míry retardace uvolňování léčiva bylo dosaženo ze vzorku 1 a 2, kde byly hlavními

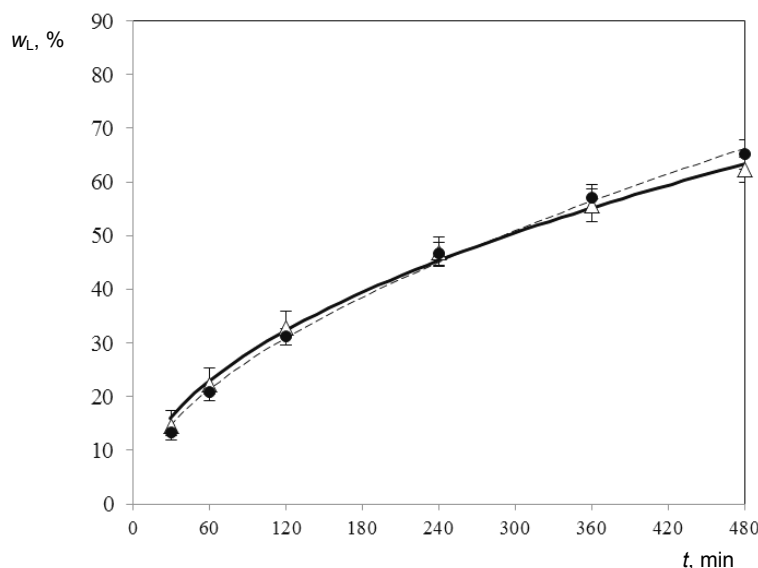


Obr. 2. **Disoluční (A) a texturní (B) profily vzorků matricových tablet;** experimentální data jsou vyznačena body, data predikovaná PLS-2 modelem čarami pro vzorek 1 (HPMC K100M): \diamond —, vzorek 2 (HPMC K100M + HPMC K4M): \square - - - - -, vzorek 3 (PEO): \circ - - - - -, vzorek 4 (HPC): Δ —, vzorek 5 (HPMC K100M + karnaubský vosk): \blacklozenge - - - - -, vzorek 6 (PEO + karnaubský vosk): \bullet —, vzorek 7 (HPC + karnaubský vosk): \blacktriangle - - - - -, w_L – množství uvolněného levetiracetamu, T_{GV} – tloušťky gelové vrstvy matric

složkami dva různé viskozitní typy HPMC, a to K100M a K4M (viskozita 2% vodného roztoku při 20 °C 100 000, resp. 4000 mPa s)¹¹. Rovněž bylo ověřeno, že retardační síla PEO (viskozita 1% vodného roztoku 7 500–10 000 mPa s)¹² ve vzorku 3 je srovnatelná s testovanými typy hypromelosity. Naopak vzorek 4 tvořený HPC vykazoval z hydrofilních polymerů nejslabší retardaci uvolňování léčiva, což lze předpokládat vzhledem k viskozitě 1% vodného roztoku HPC (1500–3000 mPa s)¹³.

U směsných hydrofilně-lipofilních vzorků 5–7 bylo patrné rychlejší uvolňování účinné látky oproti formulaci tvořené samotným hydrofilním polymerem. Tento jev lze

přisoudit snížení koncentrace gelotvorného polymeru a narušení integrity hydratovaného hydrofilního polymeru přidávkem látky lipofilní povahy, která současně zpomaluje rychlost hydratace gelové vrstvy, což v terminální fázi vede k oddělení hydrofilní a lipofilní fáze a k vypuzení hydrofilního léčiva ze systému¹⁴. Použití hydrofilního polymeru s vyšší viskozitou jeho roztoku nevedlo k očekávanému pomalejšímu uvolňování léčiva z matricového systému. Tento jev lze vysvětlit akcelerací separace hydrofilní a lipofilní fáze popsaného výše¹⁴ při inkorporaci pomaleji se hydratujícího polymeru s vyšší molekulovou hmotností (vyšší viskozitou)¹⁵.



Obr. 3. Porovnání experimentálně zjištěného a predikovaného disolučního profilu vzorku 4 a 6; Δ referenční disoluční profil vzorku 4 (experimentální data), — disoluční profil vzorku 4 predikovaný PLS-2 modelem \bullet referenční disoluční profil vzorku 6 (experimentální data), - - - - - disoluční profil vzorku 6 predikovaný PLS-2 modelem

Vyhodnocení měření tloušťky gelové vrstvy připravených vzorků matricových tablet

Pomocí AT se měřila tloušťka gelové vrstvy (obr. 2B – vyznačeno body), která představuje vzdálenost mezi pevným jádrem tvořeným nehydratovaným polymerem a svrchní vrstvou hydratované gelové vrstvy¹⁰. Nejrobustnější gelovou vrstvou tvořil vzorek 1 (HPMC K100M) a vzorek 2 (HPMC K100M, HPMC 4K) z důvodu nejvyšší viskozity roztoků HPMC v porovnání s jinými testovanými polymery. Největší razance bobtnání gelové vrstvy byla naměřena u vzorku 3 (PEO) a 4 (HPC), přičemž více viskózní PEO má pomalejší nástup tvorby gelové vrstvy než HPC. V případě hydrofilně-lipofilních vzorků (5–7) měl nejvyšší vliv na redukci tloušťky gelové vrstvy (o více než 1,5 mm) přídavek vosku k HPC (vzorek 7). Nižší vliv (o 1 mm) měl přídavek vosku k PEO (vzorek 6). Přísada karnaubského vosku k HPMC K100M (vzorek 5) měla pouze zanedbatelný vliv (0,06 mm).

Vícerozměrná analýza dat

Nejprve se provedla regresní analýza disolučních a texturních profilů a vhodnost modelů se posoudila na základě koeficientu determinace (R^2), střední kvadratické chyby (MSE) a modifikovaného Akaikeho informačního kritéria (MSC)¹⁶. Pro proložení disolučních profilů vzorků 1, 2, 3, 5 a 7 v časech 30–720 minut (obr. 2A – vyznačeno čarami) se použila funkce ve tvaru $F = k_1 \cdot t^{0,5} + k_2 \cdot t$ zohledňující pravděpodobný kombinovaný mechanismus uvolňování léčiva difuzí a erozí matrice daného složení¹⁷, kde F

je frakce uvolněného léčiva v čase t , k_1 je regresní koeficient vyjadřující relativní přínos difuze k uvolňování léčiva, k_2 je regresní koeficient vyjadřující relativní přínos eroze matrice k uvolňování léčiva. Zvolená funkce vychází z kinetického modelu dle Kopcha^{16,17}. Vhodnost použitého modelu dokládají hodnoty $R^2 > 0,99$ a $MSC > 3$. Pro proložení texturních profilů vzorků 1–7 v časech 30–480 minut (obr. 2B – vyznačeno čarami) se použila funkce kinetiky nultého řádu ve tvaru $F = F_0 + k_0 \cdot t$ zohledňující konstantní rychlost bobtnání matrice, kde F je tloušťka gelové vrstvy, F_0 je regresní koeficient vyjadřující počáteční hodnotu měřené tloušťky, k_0 je regresní koeficient vyjadřující rychlost bobtnání^{18,19}. Vhodnost použitého modelu dokládají hodnoty $R^2 > 0,98$ a $MSC > 3$. Před konstrukcí PLS-2 modelu se data upravila centrováním a standardizací směrodatnou odchylkou. Následně se sestrojil úvodní PLS-2 model, kde se pomocí Martensova testu nejistoty regresních koeficientů ($\alpha = 0,05$) identifikovaly významné nezávisle proměnné F_0 a $k_0 \cdot F_0$, které se použily ve výsledném PLS-2 modelu k vyjádření závisle proměnných k_1 a k_2 . Pomocí prvních dvou komponent se docílilo popsání 86% variability matice Y (regresních koeficientů disolučních profilů) na základě 99% variability matice X (regresních koeficientů texturních profilů). Model se validoval úplnou křížovou validací a jevil dosti silnou regresní závislost²⁰ ($R^2 = 0,81$) hodnot referenčních a predikovaných křížovou validací pro regresní koeficient k_1 s relativní chybou křížové validace 15 % a dosti silnou regresní závislost pro regresní koeficient k_2 ($R^2 = 0,84$) s relativní chybou křížové validace 5 %. Model byl vyvinut na základě variability všech vzorků mimo vzorků 4 a 6, které se použily pro externí ověření

funkčnosti modelu. Na obr. 3 jsou patrné hodnoty predikované sestaveným modelem a naměřené referenční disoluční metodou. Mezi těmito křivkami se počítal tzv. faktor podobnosti f_2 . Je-li jeho hodnota vyšší než 50, lze považovat srovnávané disoluční profily za podobné²¹. Faktor podobnosti f_2 dosáhl mezi predikovanou a experimentálně získanou disoluční křivkou hodnoty 66,89 pro vzorek 4 a 79,07 pro vzorek 6.

Závěr

Měření tloušťky gelové vrstvy přístrojem pro analýzu textury lze využít jako jednoduchou a robustní metodu pro orientační predikci disoluční charakteristiky hydrofilních gelových a hydrofilně-lipofilních matricových tablet zajišťujících prodloužené uvolňování léčivé látky a mohla by najít rozsáhlejšího uplatnění zejména při vývoji této široce využívané lékové formy.

Experimentální práce byla podporována projektem 72/2012/FaF Interní grantovou agenturou Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně.

Seznam použitých zkratk

AT	analýza textury
HPC	hyprolosa
HPMC	hypromelosa
MSE	střední kvadratické chyby
MSC	modifikované Akaikého informační kritérium
NMR	nukleární magnetická rezonance
t	čas
PEO	polyethylenoxid
T_{GV}	tloušťka gelové vrstvy
w_L	množství uvolněného levetiracetamu

LITERATURA

- Matsuo M., Arimori K., Nakamura C., Nakano M.: *Int. J. Pharm.* 138, 225 (1996).
- <http://www.stablemicrosystems.com>, staženo 20.5.2013.
- Li H., Gu X.: *Int. J. Pharm.* 342, 18 (2007).
- Stable Micro Systems Ltd.: *Texture Analysis Application Overview. Controlled Release, Drug Delivery and Bioadhesion Application Overview*. Stable Micro Systems, Godalming 2012.
- Conti S., Maggi L., Segale L., Machiste E. O., Conte U., Grenier P.: *Int. J. Pharm.* 333, 143 (2007).
- Maggi L., Segale L., Torre M. L., Machiste E. O., Conte U.: *Biomaterials* 23, 1113 (2002).
- Fredenberg S., Wahlgren M., Reslow M., Axelsson A.: *Int. J. Pharm.* 415, 34 (2011).
- Efentakis M., Pagoni I., Vlachou M., Avgoustakis K.: *Int. J. Pharm.* 339, 66 (2007).
- Huanbutta K., Terada K., Sriamornsak P., Nunthanid J.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 88, 315 (2013).
- Colombo P., Bettini R., Peppas N. A.: *J. Control. Rel.* 61, 83 (1999).
- Colorcon Limited: *Using METHOCEL Cellulose Ethers for Controlled Release of Drugs in Hydrophilic Matrices*. Colorcon, Dartford 2000. <http://www.colorcon.com>, staženo 9.7.2013.
- Colorcon Limited: *PolyoxTM. Watersolubleresins*. Colorcon, Dartford 2009. <http://www.colorcon.com>, staženo 9.7.2013.
- Ashland Inc.: *Pharmaceutical Excipients and Coating Systems*. Ashland, Wilmington 2009. <http://www.ashland.com>, staženo 9. 7. 2013.
- Tiwari S. B., Murthy T. K., Pai M. R., Mehta P. R., Chowdary P. B.: *AAPS PharmSciTech* 4 (2003). <http://www.thefutureisnear.org>, staženo 9.7.2013.
- Yang L., Johnson B., Fassih R.: *Pharm. Res.* 15, 1902 (1998).
- Peppas N. A., Sahlin J. J.: *Int. J. Pharm.* 57, 169 (1989).
- Baviskar D., Sharma R., Jain D.: *Pak. J. Pharm. Sci.* 26, 137 (2013).
- Berry M. R., Likar M. D.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 45, 194 (2007).
- Costa, P., Lobo, J. M. S.: *Eur. J. Pharm. Sci.* 13, 123 (2001).
- Trilčová A., Čopíková J., Coimbra M. A., Barros A. S., Křístková H., Egert L., Synytsya A.: *Chem. Listy* 99, 821 (2005).
- Vetchý D., Vetchá M., Rabišková M., Gryczová E., Bartošiková L.: *Medicina (Kaunas)* 43, 326 (2007).

D. Pěček, M. Štýbnarová, E. Mašková, P. Doležel, M. Kejdušová, D. Vetchý, and K. Dvořáčková
(Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno): **The Use of Texture Analysis in Development and Evaluation of Matrix Tablets with Prolonged Drug Release**

Texture analysis as a versatile tool for testing the inner structure of materials have been widely used. Though being also used in pharmaceutical industry, it has not been included in standard procedures for evaluation of drug dosage forms. The aim of this study is to measure the thickness of gel layer using texture analysis for the prediction of dissolution profile of very soluble drugs based on hydrophilic and hydrophilic-lipophilic matrix tablets. For the evaluation of the correlation between the thickness of the gel layer as an independent variable and the amount of a released drug as a dependent variable at given time intervals, the multivariate method of partial least squares – PLS-2 regression was used. For the prediction of dissolution characteristics of matrix tablets, a PLS-2 model validated by full cross-validation was developed. A PLS-2 model validated by full cross-validation was developed.