

Zastosowanie wyciągu z czarciego pazura w przeciwzapalnych preparatach aplikowanych na skórę, wytworzonych na bazie polimerów kwasu akrylowego

MAGDALENA PIECHOTA-URBAŃSKA,
JUSTYNA KOŁODZIEJSKA,
ANETA BERNER-STRZELCZYK

Katedra Farmacji Stosowanej
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Streszczenie

W pracy podjęto próbę wykorzystania suchego, standaryzowanego wyciągu z czarciego pazura (*Harpagophytum procumbens*), o potwierdzonym działaniu przeciwzapalnym w preparatach podawanych na skórę. W celu osiągnięcia synergii w obszarze działania przeciwbólowego i przeciwzapalnego, wytworzono formułacje zawierające obok wyciągu roślinnego – niesteroidowy lek przeciwzapalny (ketoprofen). Dla celów porównawczych wytworzono również formułacje z ketoprofenem. Wszystkie preparaty zostały przygotowane na bazie polimerów kwasu akrylowego (Carbopol Ultrez 10, Carbopol 980). Formułacje poddano komplementarnym badaniom fizykochemicznym.

Przy użyciu reometru cyfrowego typu stożek-płytkę wyznaczono parametry lepkościowe (lepkość strukturalna, granica płynięcia, tiksotropia). Metodą potencjometryczną zmierzono pH wytworzonych hydrożeli. W warunkach *in vitro*, przeprowadzono badanie dostępności farmaceutycznej ketoprofenu przez błonę półprzepuszczalną do płynu akceptorowego. Szybkość procesu uwalniania, badano poprzez oznaczenie ilości substancji leczniczej dyfundującej do pły-

nu akceptorowego w określonych odstępach czasu metodą spektrofotometryczną.

Oceniono wpływ składowych wyciągu z czarciego pazura na proces dyfuzji ketoprofenu. Badania lepkościowe wykazały, iż wszystkie formułacje to układy lepkoplastyczne, posiadające granice płynięcia. Modelowe formułacje zostały przebadane po 24 godzinach od momentu wytworzenia oraz po 6-miesięcznym okresie przechowywania. Wszystkie preparaty cechuje stabilność reologiczna oraz wysoka dostępność farmaceutyczna ketoprofenu. Zaproponowane formułacje mogą stanowić alternatywę dla preparatów rynkowych aplikowanych na skórę, o działaniu przeciwzapalnym i przeciwbólowym.

Słowa kluczowe: hydrożele, ketoprofen, suchy wyciąg z czarciego pazura, dostępność farmaceutyczna

The application of *Harpagophytum procumbens* extract in anti-inflammatory preparations applied on skin produced on acrylic acid polymers base

Summary

An attempt was made to use dry standardized extract from *Harpagophytum procumbens* of confirmed anti-inflammatory activity in formulations applied on skin. To obtain synergy in the area of analgesic and anti-inflammatory activity formulations were produced containing plant extract and nonsteroidal anti-inflammatory drug (ketoprofen). All the preparations were prepared

on the base of acrylic acid polymers (Carbopol Ultrez 10, Carbopol 980).

The formulations were subjected to complementary physicochemical investigations. Viscosity parameters (structural viscosity, yield stress, thixotrophy) were determined with cone-plate digital rheometer. Potentiometric method was used to measure pH of the produced hydrogels. The test for ketoprofen pharmaceutical availability through a semipermeable membrane to acceptor fluid was performed *in vitro*.

The rate of the process of release was tested by determining the quantity of the therapeutic agent diffusing into acceptor fluid at defined time intervals by spectrophotometric method. The effect of *Harpagophytum procumbens* extract components on ketoprofen diffusion was estimated. Viscosity tests revealed that all the formulations are viscoelastic systems having yield stress. All model formulations were tested 24h after production and after 6-month storage. All the formulations demonstrate rheological stability and high pharmaceutical availability of ketoprofen. The suggested formulations can be an alternative for market preparations applied on skin of anti-inflammatory and analgesic activity.

Key words: hydrogels, ketoprofen, dry extract from *Harpagophytum procumbens*, pharmaceutical availability

Czarci pazur (*Harpagophytum procumbens*) zwany również hakoroślą rozeslaną, był stosowany od dawna przez ludność afrykańską, ale zainteresowanie tym surowcem w Europie Zachodniej wzrosło dopiero pod koniec XX wieku [1–2]. Wprowadzenie hakorośli do medycyny europejskiej zostało poprzedzone licznymi badaniami farmakologicznymi i klinicznymi [3–8]. Surowcem leczniczym *Harpagophytum procumbens* jest korzeń *Harpagophyti radix* [9]. Monografia dla tego surowca wydana przez European Scientific Cooperative on Phytotherapy, zakłada stosowanie korzenia hakorośli w bolesnych stanach zwyrodnieniowych stawów oraz stanach zapalnych ścięgien.

Zewnętrznie czarci pazur działa przeciwzapalnie, antyhistaminowo, łagodząco na skórę, regenerująco i przeciwbólowo. Badania przeprowadzone z za-

stosowaniem wyciągu wodno-alkoholowego z czarciego pazura, wprowadzonego do żelu wykazały, że ma on działanie przeciwzapalne, łagodzące, odżywcze, regenerujące oraz delikatnie obkurczające naczynia krwionośne. Potwierdzone korzystne działanie na skórę wyciągu z hakorośli, otwiera duże możliwości w zastosowaniu tego wyciągu w kosmetologii oraz farmacji [10, 11].

Celem pracy było osiągnięcie synergii w obszarze działania przeciwbólowego i przeciwzapalnego w preparatach aplikowanych na skórę, poprzez wprowadzenie obok niesteroidowego leku przeciwzapalnego suchego, standaryzowanego wyciągu z czarciego pazura.

MATERIAŁY

- Ketoprofen – Sigma-Aldrich;
- *Extr. Harpagophytie Herb. aq. sicc.* standaryzowany na zawartość harpagozydu – Phytopharm;
- Carbopol Ultrez 10 – Noveon;
- Carbopol 980 – Goodrich;
- Trietanolamina – Polskie Odczynniki Chemiczne;
- Glikol propylenowy – Polskie Odczynniki Chemiczne;
- Chlorek sodu – Polskie Odczynniki Chemiczne.

APARATURA

- Reometr cyfrowy typu stożek-płytki DV-III Brookfield wersja 3,0, wraz z programem komputerowym „Rheocalc for Windows”;
- Termostat łaźniowy PGW E-1, Medingen;
- Mikrokomputerowe urządzenie wielofunkcyjne Microcomputer Multifunction Meter CX-501 z elektrodą zespoloną typu ESAGP-306 W, Eurosensor Gliwice;
- Układ pomiarowy do badania szybkości dyfuzji substancji leczniczej z postaci leku podawanej na skórę i TTS;
- Tomofan o grubości ściany $d = 0,0258$ mm, produkcji Tomaszowskich Zakładów Papierniczych;
- Spektrofotometr Nicolet Evolution 300, wersja 1,0, Spectro-Lab;
- Waga techniczna – WPS 60/C, Zakład Mechaniki Precyzyjnej Radwag, Radom;
- Waga analityczna – WPT 1-C, Zakład Mechaniki Precyzyjnej Radwag, Radom.
- Mikser recepturowy – Unguator automatyczny „Es”, firmy Eprus.

Receptura wytworzonych podłoży hydrożelowych i preparatów

Modelowe formułacje hydrożelowe zostały przygotowane na bazie Carbopolu Ultrez 10 oraz Carbopolu 980.

Wytworzono następujące typy formułacji:

- formułacje zawierające niesteroidowy lek przeciwpalny (ketoprofen),
- formułacje zawierające suchy wyciąg z czarciego pazura (*Extr. Harpagophytie Herb. aq. sicc.*) oraz niesteroidowy lek przeciwpalny (ketoprofen).

Szczegółowe zestawienie wytworzonych preparatów przedstawiono w tabeli 1.

Wyznaczenie parametrów lepkościowych [12–14]

Badania lepkościowe preparatów hydrożelowych przeprowadzono w temp. 37°C przy użyciu reometru cyfrowego typu stożek–płytki firmy Brookfield, DV-III, wersja 3,0, połączonego z termostatem łaźniowym PGW E-1 firmy Medingen.

Oznaczanie pH

Oznaczanie aktywności jonów wodorowych (pH) wykonano zgodnie z zaleceniami FP VIII [15].

OCENA SZYBKOŚCI DYFUZJI SOLI KETOPROFENU Z MODELOWYCH PREPARATÓW DO PŁYNU AKCEPTOROWEGO PRZEZ BŁONĘ PÓLPRZEPUSZCZALNĄ

Ponieważ ketoprofen należy do substancji praktycznie nierozpuszczalnych w wodzie w badaniach wykorzystano trietanolaminę (TEA), która dzięki dodatkowej grupie aminowej przyczynia się do wzrostu dysocjacji kwasowej ketoprofenu (tworzenie się soli TEA-ketoprofen), a tym samym do zwiększenia jego rozpuszczalności. Trietanolamina została użyta w ilości równomolowej (1:1) w stosunku do ketoprofenu.

Absorbancję przygotowanych prób oznaczono przy długości fali:

$$\lambda = 260 \text{ nm dla soli ketoprofen/TEA.}$$

Zmierzone wartości umożliwiły wyznaczenie krzywych kalibracji zgodnie z prawem Lamberta-Beera (przez aproksymację zmierzonej realnej absorbancji roztworów wzorcowych). Przebieg zależności absorbancji (A) od stężenia substancji leczniczych (C) przy poziomie istotności $p = 0,05$, opisano równaniem prostej typu:

$$A = 0,6654 \times C + 0,0378 \text{ (r = 0,9998, Sr = 0,0001).}$$

Badanie szybkości uwalniania soli ketoprofen/TEA z preparatów hydrożelowych, przeprowadzono techniką stosowaną do transdermalnych systemów terapeutycznych, zgodnie z wymogami Farmakopei Europejskiej i FP VIII. W tym celu użyto miesza-

TABELA 1. Skład badanych formułacji hydrożelowych

TABLE 1. The composition of the tested hydrogel formulations

	Carbopol Ultrez 10 [g] Carbopol Ultrez 10 [g]	Carbopol 980 [g] Carbopol 980 [g]	Trietanolamina [g] Trietanolamine [g]	Ketoprofen [g] Ketoprofen [g]	Wyciąg suchy z czarciego pazura [g] Dry extract from <i>Harpagophytum procumbens</i> [g]	Glikol propylenowy [g] Propylene glycol [g]	Woda [g] do Water [g]
F1-K	1,0	–	2,96	2,5	–	10,0	100,0
F1-KH	1,0	–	2,96	2,5	1,0	10,0	100,0
F2-K	–	1,0	2,96	2,5	–	10,0	100,0
F2-KH	–	1,0	2,96	2,5	1,0	10,0	100,0

łopatkowego ze zlewką oraz dodatkowo komorę ekstrakcyjną. Komora składa się z podstawy i nakładki oraz błony dializacyjnej. We wgłębieniu komory ekstrakcyjnej umieszczono jednakową ilość badanego preparatu i przymocowano uprzednio przygotowaną błonę z tomoфанu (po 24 godzinnej ekspozycji w wodzie podwójnie destylowanej). Powierzchnia wgłębienia, a więc i pola kontaktu preparatu z płynem akceptorowym wynosi 19,625 cm². Pokrywę komory połączono z nakładką śrubami dociskowymi. Komorę umieszczono w zlewce okrągłodennej. Funkcję płynu akceptorowego pełnił izotoniczny roztwór chlorku sodu. Szybkość procesu wymiany masy badano przez oznaczenie ilości soli ketoprofenu dyfundującego do płynu akceptorowego, w określonych odstępach czasu metodą spektrofotometryczną.

WYNIKI I DISKUSJA

Wyniki badań będące średnią arytmetyczną trzech pomiarów, poddano analizie statystycznej na podstawie komputerowego programu statystycznego STATISTICA 5,1 G (Windows 97), określając regresję metodą najmniejszych kwadratów. Wyznaczone na poziomie istotności $p = 0,05$ typy równań regresji, charakteryzują się wysokimi wartościami współczynników korelacji ($r > 0,9$ przy $r_{\max} = 1$; dla $n = 7-16$), świadczącymi o ścisłej korelacji między analizowanymi zmiennymi.

Przeprowadzone pomiary lepkościowe umożliwiły wykreślenie krzywych płynięcia (zależność naprężenia stycznego od szybkości ścinania), wytwor-

zonych preparatów. Przykładowe krzywe płynięcia przedstawiono na rycinie 1.

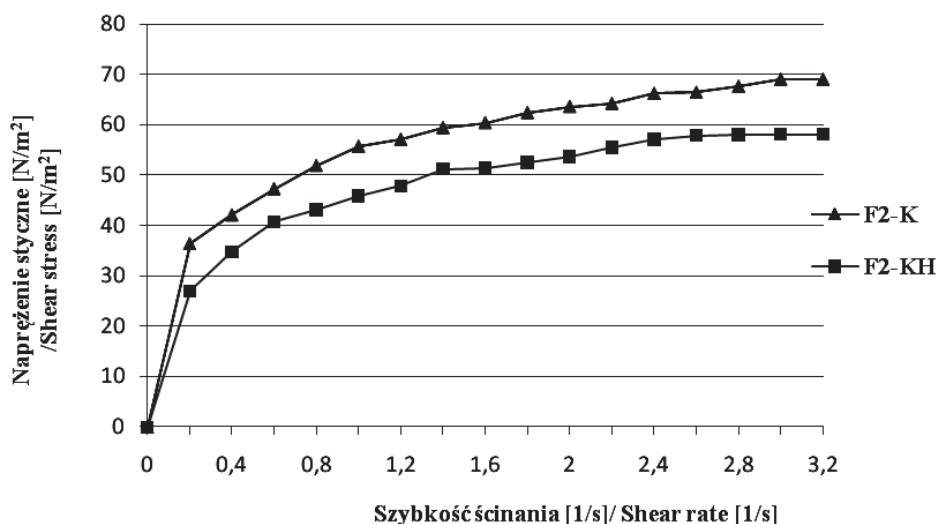
Z analizy uzyskanych zależności wynika, iż wytworzone formułacje to układy lepkoplastyczne (nie-binghamowskie) posiadające granice płynięcia. Krzywe płynięcia nie przechodzą przez początek układu współrzędnych i nie są liniami prostymi. Jak wynika z ryciny 1 są to układy rozrzedzane ścinaniem, dla których naprężenie styczne wzrasta mniej niż proporcjonalnie do wzrostu szybkości ścinania. Na uwagę zasługuje fakt, iż po wprowadzeniu do formułacji z ketoprofenem suchego wyciągu z czarnego pazura, obserwujemy mniejszą progresję naprężeń ścinających wraz ze wzrostem szybkości ścinania.

Parametry lepkościowe modelowych formułacji przy dwóch dowolnie wybranych szybkościach ścinania przedstawiono w tabeli 2.

Wyniki badań lepkościowych można w pewnym stopniu skorelować z dostępnością farmaceutyczną. Duża dostępność farmaceutyczna jest tłumaczona niską lepkością układu w temp. 37°C. Jak wynika z tabeli 2, wprowadzenie do podłoża z ketoprofenem suchego wyciągu z czarnego pazura, spowodowało spadek lepkości oraz obniżenie granicy płynięcia, co powinno wpłynąć na proces uwalniania ketoprofenu z badanych preparatów.

W tabeli 3 podano wartości pH wytworzonych formułacji hydrożelowych. Wszystkie modelowe formułacje mieszczą się w granicach pH 7,1-7,5.

Kinetykę uwalniania ketoprofenu z badanych preparatów hydrożelowych do płynu akceptorowego, przedstawiono jako zależności między ilością dyfun-



Ryc. 1. Krzywe płynięcia formułacji hydrożelowych z ketoprofenem na bazie Carbopolu 980 wyznaczone w temperaturze 37°C

Fig. 1. Flow curves of hydrogel formulations with ketoprofen on Carbopol 980 base determined at 37°C

TABELA 2. Parametry lepkościowe modelowych preparatów wyznaczone w temp. 37°C przy dwóch dowolnie wybranych szybkościach ścinania

TABLE 2. Viscosity parameters of model preparations determined at 37°C at two randomly selected shear rates

Nazwa formuacji Name of formulation	Szybkość ścinania 1,0 1/s Shear rate 1,0 1/s		Szybkość ścinania 2,0 1/s Shear rate 2,0 1/s		Granica płynięcia [N/m ²] Yield stress [N/m ²]
	Napężenie styczne [N/m ²] Shear stress [N/m ²]	Lepkość [mPa·s] Viscosity [mPa·s]	Napężenie styczne [N/m ²] Shear stress [N/m ²]	Lepkość [mPa·s] (Viscosity [mPa·s])	
F1-K	57,7	57652	61,4	30715	41,7
F1-KH	52,2	52212	56,6	29995	37,5
F2-K	55,7	55664	63,6	31808	31,7
F2-KH	45,9	45925	53,7	26838	25,0

TABELA 3. Wartości pH badanych formuacji

TABLE 3. pH values of the tested formulations

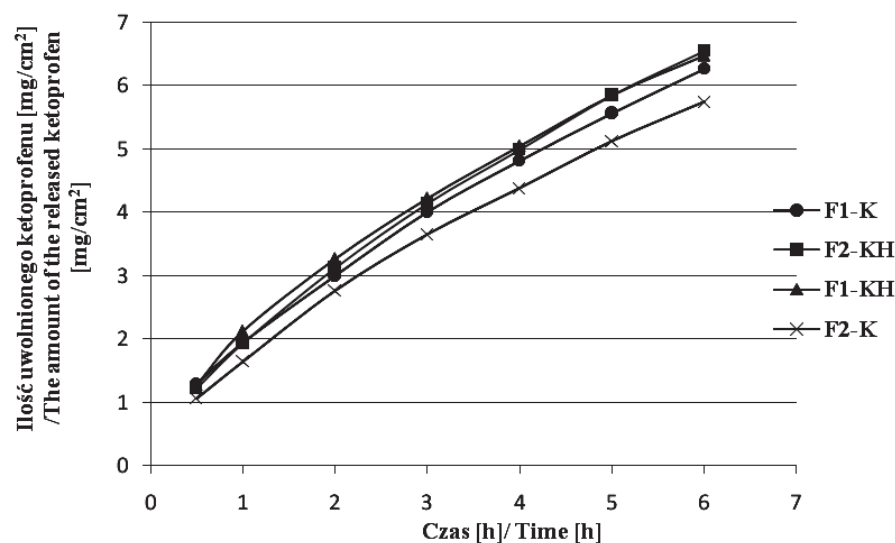
Rodzaj formuacji Formulation	pH
F1-K	7,1
F1-KH	7,3
F2-K	7,5
F2-KH	7,4

dużą substancji leczniczej wyrażoną w (mg/cm²), a czasem ekspozycji (h) (ryc. 2).

Zależność ilości ketoprofenu od czasu prowadzenia procesu dyfuzji [$C_s = f(t)$] opisano trzema równaniami korelacyjnymi:

1. $y = ax + b$; równanie „0” rzędu.
2. $\ln(100 - c) = -kt + \ln a$; równanie „I” rzędu.
3. $c = Kt^{1/2}$; równanie pierwiastka kwadratowego „square root”.

Do szczegółowej analizy przyjęto równanie „I” rzędu, dla którego współczynniki korelacji (r) mają wartości najwyższe (zbliżone do jedności) oraz posiadają aspekt równania farmakokinetycznego, opi-



Ryc. 2. Kinetyka uwalniania ketoprofenu z formuacji hydrożelowych wytworzonych na bazie Carbopoli

FIG. 2. Kinetics of ketoprofen release from hydrogel formulations produced on Carbopol base

TABELA 4. Wartości stałych szybkości uwalniania ketoprofenu z badanych formułacji oraz wartości pól powierzchni pod krzywymi uwalniania

TABLE 4. The Values of constant rates of release of ketoprofen from the tested formulations and the values of the areas under release curves

Rodzaj formułacji Formulation	Stała szybkości procesu uwalniania [% · min ^{-1/2}] Constant rate of the release process [% · min ^{-1/2}]	Pole powierzchni [j. u.] Area [c.u.]
F1-K	2,43	26,75
F1-KH	2,55	28,14
F2-K	2,22	24,27
F2-KH	2,52	27,64

sujuącego proces uwalniania z kontrolowaną szybkością dyfuzji. Pola powierzchni pod krzywymi dyfuzji substancji leczniczych, obliczono w jednostkach umownych [j.u.] metodą trapezów. Wyniki umieszczono w tabeli 4.

Analiza danych z tabeli 2 i 4 pozwala zauważyć, iż istnieje ścisła zależność pomiędzy właściwościami reologicznymi charakteryzującymi sporządzone hydrożele, a ilością uwolnionego ketoprofenu. Wprowadzenie do podłoża z ketoprofenem suchego standaryzowanego wyciągu z czarciego pazura, zmniej-

szyło lepkość formułacji i tym samym nieznacznie zwiększyło ilość uwolnionego ketoprofenu.

Badania lepkościowe oraz ocenę szybkości dyfuzji soli ketoprofenu z modelowych preparatów, przeprowadzono po 6-miesięcznym okresie przechowywania. Wyniki badań przedstawiono w tabeli 5.

Zaproponowane modelowe formułacje po 6-miesięcznym okresie przechowywania, cechuje stabilność reologiczna oraz wysoka dostępność farmaceutyczna ketoprofenu.

WNIOSKI

1. Wszystkie zaproponowane formułacje, to układy lepkoplastyczne posiadające granice płynięcia.
2. Wprowadzenie do formułacji hydrożelowej z ketoprofenem suchego standaryzowanego wyciągu z czarciego pazura, spowodowało spadek lepkości preparatów i tym samym wzrost ilości uwolnionego ketoprofenu z badanych preparatów.
3. Wszystkie preparaty z ketoprofenem charakteryzują się dużą stabilnością reologiczną, oraz wysoką dostępnością farmaceutyczną ketoprofenu po 6-miesięcznym okresie przechowywania.
4. Zaproponowane formułacje mogą stanowić alternatywę dla preparatów rynkowych o działaniu przeciwbólowym i przeciwzapalnym.

TABELA 5. Parametry lepkościowe uzyskane dla formułacji hydrożelowych oraz procent uwolnionego ketoprofenu

TABLE 5. Viscosity parameters obtained for hydrogel formulations and the per cent of released ketoprofen

Formułacja Formulation	Lepkość [mPa·s] przy szybkości ścinania 1,0 1/s Viscosity [mPa·s] at shear rate 1,0 1/s		Granica płynięcia [N/m ²] Yield stress [N/m ²]		Procent uwolnionego ketoprofenu [%] Per cent of released ketoprofen [%]	
	1*	2*	1*	2*	1*	2*
F1-K	57652	54327	41,7	36,6	49,3	52,2
F1-KH	52212	52765	37,5	35,1	51,9	53,5
F2-K	55664	51934	31,7	28,8	45,2	47,8
F2-KH	45925	43689	25,0	23,4	50,5	50,8

1* po 24 godzinach; 1* after 24hours.

2* po 6 miesiącach; 2* after 6 months.

LITERATURA

- [1] KLIMEK B.: Korzeń hakorośli (*Harpagophyti radix*) – roślinny lek. Postępy Fitoterapii (2001), 2–3, 6, 12–14.
- [2] HOSTETTMANN K., MARSTON A., NDJOKO K., WOLFENDER J. L.: The potential of African plants as a source of drugs. Current Organic Chemistry (2000), 4, 973–1010.
- [3] HOROSZKIEWICZ-HASSAN M.: Hakorośl rozesłana (czarci pazur) optymalizacja leczenia chorób zwyrodnieniowych i bólów stawowych lekiem roślinnym – przegląd badań farmakologicznych i klinicznych. Farmacja Polska (2003), 59, 487–491.
- [4] WEGNER T.: Devil's Ciaw: from african traditional remedy to modern analgesic and antiinflammatory. Herbal Gram (2000), 50, 47–54.
- [5] LANHERS M.C., FLEURENTIN J., MORTIER F., VINCHE A., YONOS C.: Anti-inflammatory and analgesic effects of an aqueous extract of *Harpagophytum procumbens*. Planta Medica (1992), 58, 117–123.
- [6] BAGHDIKIAN B., LANHERS M.C., FLURETINI J., OLLIVIER E., MAILLARD C., BALANSARD G., MORTIER F.: An analytical study, antiinflammatory and analgesic effects of *Harpagophytum procumbens* and *Harpagophytum zeyheri*. Planta Medica (1997), 63, 171–176.
- [7] BOJE K., LECHTENBERG M., NAHRSTED A.: New and known iridoid – and phenylethanoid glycosides from *Harpagophytum procumbens* and their *in vitro* inhibition of human leukocyte elastase. Planta Medica (2003), 69, 820–825.
- [8] LOEW D., MOLLERFELD J., SCHRODTER A., PUTTKAMMER S., KASZKIN M.: Investigations on the pharmacokinetic properties of *Harpagophytum* extracts and their effects on eicosanoid biosynthesis *in vitro* and *ex vivo*. Clinical pharmacology and therapeutics (2001), 69, 356–364.
- [9] Farmakopea Polska VIII, Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne (2008), tom II, 1092–1094.
- [10] PIECHOTA-URBAŃSKA M., BERNER-STRZELCZYK A.: Dostępność farmaceutyczna ketoprofenu z podłoża hydrożelowych w obecności suchych wyciągów roślinnych. Polish Journal of Cosmetology (2008), 2, 148–161.
- [11] PIETRZAK A., STASIEŃKO A.: Zastosowanie ekstraktu z czarciego pazura (*Harpagophytum procumbens*) w farmacji i kosmetyce. Polish Journal of Cosmetology (2005), 3, 154–161.
- [12] GÓRECKI M., ZALEWSKA A.: Reometryczna analiza farmaceutycznych układów rozproszonych. Farmacja Polska (2000), 56, 748–753.
- [13] GÓRECKI M.: Reologia farmaceutyczna – perspektywy rozwoju. Farmacja Polska (1996), 52, 739–743.
- [14] FERGUSON J., KEMBŁOWSKI Z.: Reologia stosowana płynów. Marcus sc, Łódź (1995), 2, 10–19.
- [15] Farmakopea Polska VIII, Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne (2008), tom I, 139.

Adres do korespondencji

Zakład Farmacji Aptecznej
Katedra Farmacji Stosowanej
Uniwersytet Medyczny
ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź
tel. 042 677-92-40
e-mail: magdalena.piechota_xl@wp.pl

