

MICHAŁ KRZYSZTOF KOŁODZIEJCZYK, MARIAN MIKOŁAJ ZGODA

Wpływ wielkocząsteczkowych substancji pomocniczych na proces wymiany masy na granicy faz z modelowego preparatu przeciwlupieżowego do kompartmentu zewnętrznego w warunkach *in vitro*

The influence of macromolecular excipients on the process of mass transfer at the boundary phase from a model anti-dandruff preparation into the external compartment under *in vitro* conditions

Zakład Technologii Postaci Leku, Katedra Farmacji Stosowanej
Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź

Streszczenie

Cel pracy. Celem badań była ocena aplikacyjna modelowego preparatu – emulsji przeciwlupieżowej. Badania zrealizowano w warunkach *in vitro*, wykorzystując jako układ modelowy w stosunku do skóry ludzkiej celulozowe membrany dializacyjne o standaryzowanej wielkości porów. Zbadano jak zachowuje się preparat na membranie dializacyjnej, oceniono stopień tworzenia filmu pełniącego funkcję bariery ochronnej, po delikatnym splukiwaniu letnią wodą bez dodatku środków myjących. Sprawdzono, czy warstwa produktu pozostająca na membranie nie blokuje procesów dyfuzji i przenikania. Dodatkowo podjęto próbę oceny charakteru warstwy, przy wykorzystaniu hydrofilowego markera.

Materiał i metody. Modelowa emulsja przeciwlupieżowa, membrany dializacyjne Servapor Dialysis Tubing 100 o grubości ścian $d=0,1$ mm i deklarowanej średnicy porów $\phi=25$ Å, sodu chlorek, woda oczyszczona – ocena stopnia pozostałości preparatu badanego na membranie dializacyjnej, Badanie przenikania markera przez membranę dializacyjną pokrytą modelowym preparatem przeciwlupieżowym. Aproksymacja otrzymanych wyników badań.

Wyniki. Pierwszym etapem analizy było przygotowanie membran dializacyjnych do procesu adsorpcji modelowego preparatu przeciwlupieżowego, następnie jego adsorpcja, splukiwanie letnią wodą i sprawdzenie stopnia pozostałości wyrobu na membranie. Zauważono wzrost masy membrany, na którą nanoszono preparat w stosunku do membrany z próby kontrolnej. Wzrostowi masy membrany w próbie badanej towarzyszył wzrost jej grubości, spowodowany zaadsorbowaną ilością produktu i wody na membranie.

Okazało się, że dyfuzja przez membranę w próbie kontrolnej przebiega nieco wolniej, co może świadczyć o charakterze pozostałości błonowej modelowego preparatu przeciwlupieżowego.

Wnioski. Technologia modelowej emulsji przeciwlupieżowej, umożliwia uzyskanie na powierzchni membrany dializacyjnej warstwy stanowiącej swoistą barierę ochronną. Obecność warstwy modelowego preparatu przeciwlupieżowego na membranie potwierdzają wartości średnie przyrostu masy i grubości membrany dializacyjnej. Hydrofobowa warstwa dyfuzyjna ma charakter zmienny. Prawidłowo aplikowana emulsja może w warunkach *in vivo* wypełniać wolne przestrzenie warstwy rogowej naskórki, tworząc strukturę o charakterze filmu pełniącego funkcję bariery ochronnej. Na podstawie oceny *in vitro* można wnioskować o efektywnej skuteczności terapeutycznej *in vivo* (Polim. Med. 2012, 42, 1, 79–88).

Słowa kluczowe: łupież, wymiana masy na granicy faz, membrany dializacyjne, emulsja przeciwlupieżowa, wielkocząsteczkowe substancje pomocnicze, polimery syntetyczne.

Summary

Aim of the study. The aim of the research was the application assessment of a model preparation – anti-dandruff emulsion. The experiments were conducted under *in vitro* conditions using a model system of human skin, which are cellulose dialysis membranes with a standardized pore size. The behaviour of the preparation on the dialysis membrane was analyzed, and the

degree of film formation performing the function of a protective barrier was evaluated after gentle rinsing with tepid water without cleaning agents. It was checked whether the product layer remaining on the membrane product layer does not block diffusion and penetration processes. Additionally, an attempt to assess the character of the layer with the use of a hydrophilic marker was made.

Materials and methods. Model anti-dandruff emulsion, Servapor Dialysis Tubing 100 dialysis membranes with a wall thickness $d=0.1$ mm and a declared pore diameter $\phi = 25 \text{ Å}$, sodium chloride, purified water – assessment of the residue level of the analyzed preparation on the dialysis membrane. Examination on the marker diffusion through the dialysis membrane covered with the model anti-dandruff preparation, Approximation of the obtained results.

Results. The first phase of the experiment was the preparation of dialysis membranes for the adsorption process of a model anti-dandruff preparation, then its adsorption, rinsing with tepid water and the measurement of residue level of the product on the membrane control. It has been observed that the mass of the membrane on which the preparation was applied increased in relation to the membrane from a control sample.

The mass increase of the membrane in a research sample is accompanied with the increase of its thickness caused by the adsorbed amount of the product and water on the membrane.

The diffusion through the membrane in a control sample turned out to be slightly slower what may indicate the character of the membrane residue of the model anti-dandruff preparation.

Conclusions. The technology of model anti-dandruff emulsion enables the formation of a layer forming a specific protective barrier on the surface of the dialysis membrane. The presence of the layer of model anti-dandruff emulsion on the membrane is confirmed by mean values of mass and thickness increase of the dialysis membrane. The hydrophobic diffusion layer is of a variable character. The properly applied emulsion under “in vivo” conditions might fill voids of the corneal layer of epidermis creating a structure of a film character performing the function of a protective barrier. On the basis of the *in vitro* assessment, the therapeutic effectiveness under *in vivo* conditions may be concluded (*Polim. Med.* 2012, 42, 1, 79–88).

Key words: dandruff, mass transfer at the phase boundary, dialysis membranes, anti-dandruff emulsion, macromolecular excipients, synthetic polymers.

Wstęp

Łupież należy do grupy chorób łojotokowych i jest łagodną odmianą zapalenia łojotokowego skóry. Badania porównawcze skóry zdrowej i skóry z łupieżem, wykazały zmiany w składzie lipidów powierzchniowych. Inne badania wykazały u osób z łupieżem zwiększoną wrażliwość na histaminę aplikowaną miejscowo na skórę owłosioną głowy. Gorsze funkcjonowanie bariery ochronnej u osób z łupieżem sprzyja niepożądanym reakcjom na toksyny bakteryjne i grzybicze, a także zanieczyszczenia środowiska [1–7].

Nowoczesna technologia przemysłowych postaci farmaceutycznych (produkty lecznicze, wyroby medyczne) oraz ciągle rosnące wymagania dotyczące efektywnej i bezpiecznej farmakoterapii, stawiają przed technologami trudne zadanie. Polega ono na tworzeniu nowych preparatów oraz na modyfikowaniu już istniejących. Celem tych wysiłków jest tworzenie przede wszystkim bezpiecznych i skutecznych preparatów dla terapii populacyjnej [8–18].

Przykładem takiej aplikacji technologicznej jest będący przedmiotem badań modelowy preparat przeciwłupieżowy o charakterze emulsji. Mechanizm działania tej modelowej formuły w głównej i zasadniczej mierze, polega na tworzeniu mechanicznej bariery na uszkodzonej skórze. Sprzyja to regeneracji i przywróceniu fizjologicznej homeostazy skóry oraz chroni skórę przed podrażnieniem i inwazją czynników patogen-nych.

Cel pracy

Celem przeprowadzonych badań eksperymentalnych była ocena aplikacyjna modelowego preparatu – emulsji przeciwłupieżowej. Badania zrealizowano w warunkach *in vitro* wykorzystując jako układ modelowy w stosunku do skóry ludzkiej, celulozowe membrany dializacyjne o standaryzowanej wielkości porów. Zbadano jak zachowuje się preparat na membranie dializacyjnej, oceniono stopień tworzenia filmu pełniącego funkcję bariery ochronnej, po delikatnym spłukiwaniu letnią wodą bez dodatku środków myjących. Przeprowadzono również badania, czy warstwa produktu pozostająca na membranie nie blokuje procesów dyfuzji i przenikania. Dodatkowo podjęto próbę oceny charakteru warstwy, przy wykorzystaniu hydrofilowego markera [19–27].

Odczynniki, materiały i aparatura

Membrany

Servapor Dialysis Tubing 100 o grubości ściany $d = 0,1$ mm i deklarowanej średnicy porów $\phi = 25 \text{ Å}$, producent Boehringer Ingelheim Bioproduct, seria: 11614

Wykorzystane do oceny pozostałości wyrobu medycznego po spłukaniu oraz procesu wymiany masy (dyfuzji markera) membrany dializacyjne typu servapor, są produkowane z odpowiednio zregenerowanej i modyfikowanej celulozy i jej estrów. W środowisku wodnym i wodnych roztworach płynów ustrojowych

Tabela 1. Skład jakościowy modelowego preparatu przeciwłupieżowego będącego przedmiotem badań

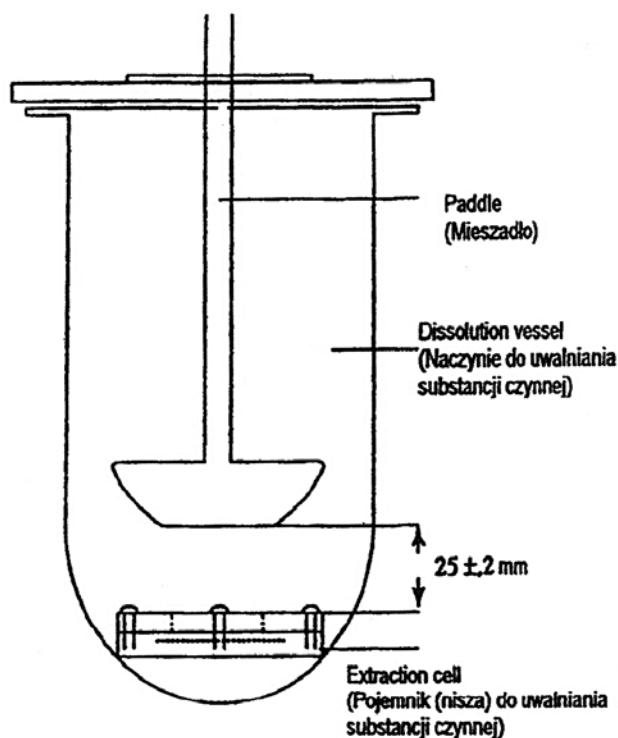
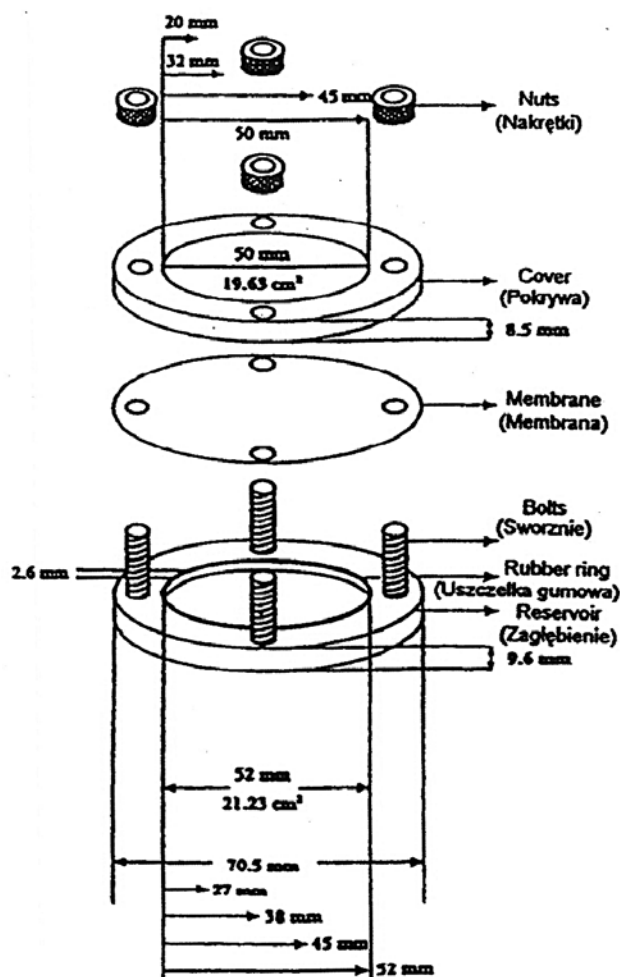
Table 1. The qualitative of a model anti-dandruff preparation being the object of the research

Preparat modelowy	Skład preparatu
Emulsja przeciwłupieżowa do skóry	Zinc Pyrithione Climbazole Piroctone Olamine Panthenol Aqua Propylene Glycol Cyclomethicone Sodium Polyacrylate Hydrogenated Polydecene Trideceth-6 Sodium Laneth-40 Maleate/Styrene Sulfonate Copolimer Horsetail Extract Ceteareth-25 Undecylenamide DEA

ulegają spęczeniu, przybierając strukturę hydrożelową o właściwościach skóry lub jelita. Adsorbują na swojej powierzchni wielkocząsteczkowe związki tworząc rodzaj filtra, który może wpływać na proces wymiany masy.

Aparatura i odczynniki

- mieszadło mechaniczne CAT R-17 M. Zipperer GmbH D-79219 Staufen;
- waga analityczna – WPA 180C, Radwag, $d = 0,0001$ g;
- waga analityczna – WPT 3/6, Radwag, $d = 0,1$ g;
- waga analityczna – WPS 210/C, Radwag, $d = 0,001$ g;
- pH-metr – MP 220, Mettler Toledo;
- układ pomiarowy do badania szybkości dyfuzji substancji czynnej z postaci leku podawanych na skórę i TTS, (rycina 1);



Ryc. 1. Schemat aparatury do badania szybkości dyfuzji markera do kompartmentu zewnętrznego przez membranę, pokrytą modelowym preparatem przeciwłupieżowym

Fig. 1. Schematic diagram of apparatus for research on diffusion rate of a marker into the external compartment through a membrane covered with the model anti-dandruff preparation

- aparat do badania dostępności farmaceutycznej wg wymagań FPVIII;
- komora badań cieplnych KBC-32W – Wamed;
- zespół sterujący KBC-32W – Wamed;
- konduktometr, Mikrokomputer Conductivity Meter CC – 551 – Elmetron;
- Elektroda Eurosens EP-2ZE;
- Termostat Julabo ED, Labart sp. z o.o.
- sodu chlorek, POCH Gliwice;
- woda oczyszczona FP VIII.

Metodyka badań

Ocena stopnia pozostałości preparatu badanego na membranie dializacyjnej

W celu realizacji założonego modelowego projektu badawczego, przygotowano fragmenty błon dializacyjnych typu servapor o wymiarach 10 cm x 10 cm (100 cm²). Błony docinano z dokładnością $\pm 0,5$ mm. Następnie przygotowane fragmenty zostały poddane termostataowaniu w komorze badań cieplnych (KBC) w 0,9% roztworze chlorku sodowego w czasie 24 h. W czasie przechowywania w KBC błony pęcznieją, pochłaniając maksymalną ilość płynu, potrzebną do aktywizacji włókien celulozowych tworzących sieć membrany. Po 24 h ekspozycji, błony zostały osuszone od nadmiaru płynu i w ten sposób przygotowane do naniesienia porcji badanego modelowego preparatu przeciwlupieżowego.

Odważono przewidziane projektem 10,0 g preparatu i naniesiono na membrany, pokrywając całą powierzchnię równomierną warstwą. Po 5 min. membrany zostały poddane procesowi splukiwania. Zastosowano metodę *insert-pull*. Przygotowano zlewki o poj. 1000 ml, w których umieszczono 900 ml wody o temp. $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Do zlewki wprowadzano na trzy sekundy membranę pokrytą przeciwlupieżowym preparatem modelowym, następnie wyciągano, powtarzając procedurę dziesięciokrotnie w ciągu 30 s. Po tym czasie odczekano 1 minutę celem dokładniejszego spłynięcia modelowego preparatu z membrany, a następnie czynność zmywania powtórzono z zachowaniem takich samych parametrów. Tak przygotowane membrany wstawiono do KBC w celu ekspozycji do stałej masy.

Jednocześnie w sposób analogiczny do wyżej opisanego wykonano próbę kontrolną bez użycia preparatu badanego. Oprócz oceny wagowej dokonano również pomiarów grubości membrany w próbie kontrolnej i w próbie badanej.

Badanie przenikania markera przez membranę dializacyjną pokrytą modelowym preparatem przeciwlupieżowym

Badanie szybkości dyfuzji markera (0,9% NaCl) przez membranę w układzie próby kontrolnej i badanej, prowadzono techniką wykorzystywaną przy badaniu transdermalnych systemów terapeutycznych wg wymogów Farmakopei Europejskiej (rycina 1). Do pojemnika dializacyjnego o objętości $V = 19,625 \text{ cm}^3$ i powierzchni wymiany $P = 19,625 \text{ cm}^2$ ($2r = 5,0 \text{ cm}$, $h = 1,0 \text{ cm}$), wprowadzono roztwór markera zwracając szczególną uwagę, aby zachować w niszy pojemnika dializacyjnego menisk wypukły. Roztwór markera wprowadzano w symetrycznych ilościach wagowych ($M_n \approx 20,0 \text{ g}$). Następnie powierzchnię roztworu markera przykryto odpowiednio przygotowaną membraną dializacyjną. Badanie poprzedzała ekspozycja membran dializacyjnych w fizjologicznym roztworze NaCl w czasie 24 h. Tuż przed rozpoczęciem analizy (*ex tempore*), membrany były przemylane wodą podwójnie destylowaną. Całość uszczelniano pokrywą przez dokręcenie nakrętek.

Tak przygotowany pojemnik dializacyjny wprowadzano do termostowanego naczynia, zawierającego 900 cm³ wody oczyszczonej (FP VIII) stanowiącej płyn akceptorowy. Roztwór nad pojemnikiem wprowadzano w ciągły ruch obrotowy przy pomocy mieszadła z prędkością 50 obr./min. Do płynu akceptorowego nad pojemnikiem wprowadzono elektrodę do pomiaru przewodnictwa elektrycznego. Szybkość procesu dyfuzji (wymiany masy) markera przez membranę badano poprzez analizę zmieniających się wartości przewodnictwa: $\lambda_t = f(t)$. Całość eksperymentu prowadzono w sumarycznym czasie 72 godzin, z czego 5 godzin stanowiło fazę dynamiczną, a 67 godzin – fazę statyczną. Całość eksperymentu zakończono pomiarem po 72 godzinach ekspozycji preparatu pod membraną dializacyjną. Przeprowadzono cztery oznaczenia do średniej.

Aproksymacja otrzymanych wyników badań metodą najmniejszych kwadratów

Kinetykę procesu dyfuzji markera z próby kontrolnej i próby badanej do obszaru medium pomiarowego, opisano równaniami korelacyjnymi na poziomie ufności $p = 0,05$. Powyższe pozwala sprecyzować matematyczną zależność, która powtarzalnie ilustruje proces dyfuzji. Do szczegółowej analizy przyjęto te równania, których współczynniki korelacji (R^2) mają wartości maksymalne oraz posiadają aspekt równań farmakokinetycznych opisujących rzędowość mechanizmu dyfuzji (tabela 8).

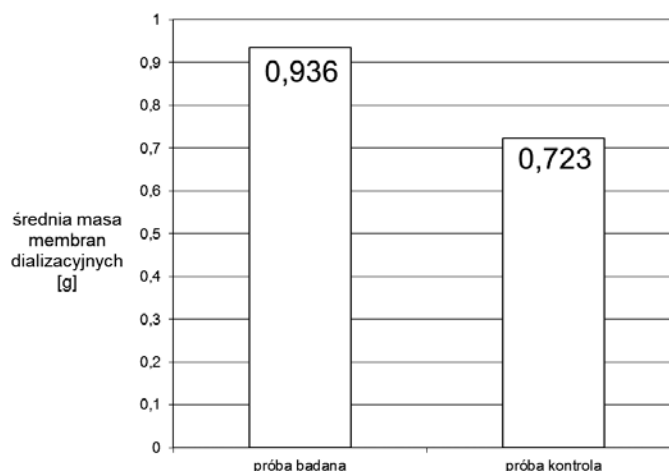
Omówienie wyników

Pierwszym etapem analizy było przygotowanie membran dializacyjnych do procesu adsorpcji modelowego preparatu przeciwłupieżowego, następnie jego adsorpcja, spłukanie letnią wodą i sprawdzenie stopnia pozostałości wyrobu na membranie. Oceniano średnie masy membran przed adsorpcją preparatu, po adsorpcji oraz po ich doprowadzeniu do stałej masy w KBC w temp. $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Rezultaty zestawiono w tabeli 2 i 3. Zauważono wzrost masy membrany, na którą nanoszono preparat w stosunku do membrany z próby

Tabela 2. Zestawienie wagowo-masowe membran z próby kontrolnej

Table 2. Weight/mass comparison of membranes from a control sample

Próba kontrolna		
Numer próby	Masa czystej błony po ekspozycji w warunkach KBC i osuszeniu	Masa czystej błony po wysuszeniu do stałej masy w warunkach KBC
1	1,562	0,735
2	1,528	0,723
3	1,603	0,705
4	1,553	0,730
Analiza statystyczna		
średnia	1,561	0,723
SD	0,0270	0,0113
minimum	1,528	0,705
maximum	1,603	0,735
wariancja	0,5097	0,1092
współczynnik zmienności	0,0172	0,0157



Ryc. 2. Ilustracja średnich różnic w przyrostach masy membran dializacyjnych z próby kontrolnej i próby badanej

Fig. 2. Illustration of mean differences in mass increase of dialysis membranes from a control and research sample

kontrolnej. Średni przyrost masy membrany dializacyjnej wynosi 213 mg, co daje $2,13 \text{ mg/cm}^2$. Powyższe zilustrowano na rycinie 2.

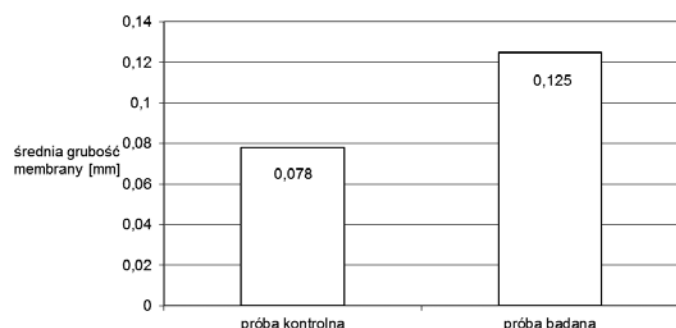
Wzrostowi masy membrany w próbie badanej towarzyszy wzrost jej grubości, spowodowany zaadsorbowaną ilością produktu i wody na membranie. Powyższe zjawisko w układzie ilościowym przedstawiono na rycinie 3. Różnica w średnim przyroście grubości wynosi $0,047 \text{ mm}$.

Badanie dyfuzji markera przez membranę pokrytą zaadsorbowaną ilością modelowego preparatu przeciwłupieżowego przy wykorzystaniu metod farmakopealnych polega na oznaczeniu, czy nie następuje znaczące pogorszenie przenikania w próbie badanej, kiedy

Tabela 3. Zestawienie wagowo-masowe membran z próby badanej z naniesionym modelowym preparatem przeciwłupieżowym

Table 3. Weight/mass comparison of membranes covered with the model anti-dandruff preparation from a research sample

Próba badana								
Numer próby	Masa czystej błony po ekspozycji w warunkach KBC i osuszeniu	Naważka preparatu	Odczyt masy [g] w określonych przedziałach czasu ekspozycji [h]					
			t = 24	t = 48	t = 120	t = 144	t = 168	t = 192
1	1,562	10,034	4,520	1,018	1,336	0,846	0,889	0,899
2	1,528	10,330	1,996	1,027	1,050	1,010	1,008	1,012
3	1,603	10,095	2,865	2,440	1,039	0,975	0,956	0,954
4	1,553	10,090	3,513	0,820	0,920	0,829	0,872	0,882
Analiza statystyczna								
średnia	1,560	10,137	3,223	1,326	1,086	0,915	0,931	0,936
SD	0,0404	0,1138	0,9219	0,6483	0,1529	0,0787	0,0541	0,0507
minimum	1,521	10,034	1,996	0,820	0,920	0,829	0,872	0,882
maximum	1,625	10,330	4,520	2,440	1,336	1,010	1,008	1,012
wariancja	0,2918	12,6047	1,6088	0,5195	0,1377	0,0935	0,0997	0,1015
wsp. zmien.	0,0259	0,0112	0,2860	0,4888	0,1407	0,0860	0,0581	0,0542



Ryc. 3. Ilustracja średnich różnic w przyrostach grubości membran dializacyjnych z próby kontrolnej i próby badanej

Fig. 3. Illustration of mean differences in thickness increase of dialysis membranes from a control and research sample

membrana pokryta jest warstwą fazy technologicznej preparatu badanego. Częstość pomiarów zależna jest od szybkości przechodzenia markera z niszy pojemnika dializacyjnego do zewnętrznego płynu biorczego. Charakterystykę tych zmian zamieszczono w tabelach 4 i 5 oraz zilustrowano na rycinie 4.

Przebieg zależności między ilością dyfundującego markera λ_{exp} [mS], a czasem ekspozycji t [h] – rycina 4, umożliwia selektywną i wiarygodną ocenę procesu wymiany masy na granicy faz. Okazało się, że dyfuzja przez membranę w próbie kontrolnej przebiega nieco wolniej, co może świadczyć o charakterze pozostałości błonowej modelowego preparatu przeciwlupieżowego. Wydaje się zasadnym stwierdzenie, iż spowolnienie dyfuzji związane jest z nieznaczną lipofilowością pozostałości preparatu na membranie, co może mieć korzystny wpływ ochronny w aspekcie wielokierunkowej aplikacji *in vivo*. Jednocześnie warstwa spowalniająca dyfuzję nie

Tabela 4. Zmiana przewodnictwa elektrycznego [λ_c] roztworu biorczego w badaniu przenikania markera przez błonę typu servapor – próba kontrolna

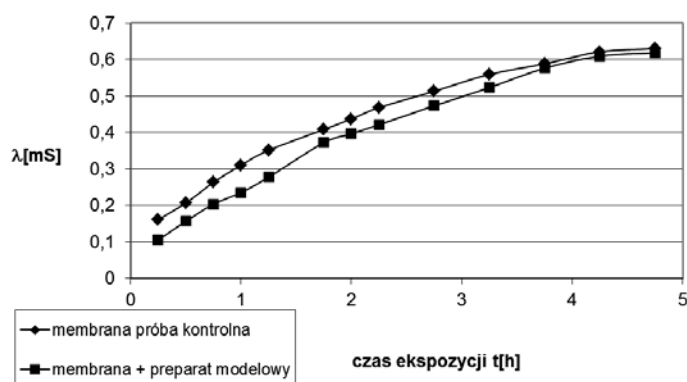
Table 4. The change of conductivity [λ_c] of recipient solution in research on the marker diffusion through a membrane of servapor type – control sample

Czas ekspozycji [h]	Kolejny numer próbki					
	1	2	3	4		
Przewodnictwo kinetyczne płynu biorczego λ[mS] – próba kontrolna						
0,25	0,147	0,166	0,159	0,172		
0,50	0,195	0,230	0,198	0,201		
0,75	0,236	0,263	0,285	0,268		
1,00	0,291	0,318	0,335	0,296		
1,25	0,326	0,355	0,376	0,347		
1,75	0,391	0,421	0,452	0,368		
2,00	0,437	0,433	0,469	0,409		
2,25	0,458	0,471	0,497	0,446		
2,75	0,495	0,532	0,531	0,494		
3,25	0,540	0,581	0,594	0,521		
3,75	0,552	0,611	0,619	0,570		
4,25	0,587	0,641	0,649	0,607		
4,75	0,601	0,651	0,662	0,606		
Analiza statystyczna						
	średnia	SD	wariancja	minimum	maximum	współczynnik zmienności
0,25	0,161	0,0093	0,000115	0,147	0,172	0,0577
0,50	0,206	0,0140	0,000262	0,195	0,230	0,0680
0,75	0,263	0,0176	0,000413	0,236	0,285	0,0668
1,00	0,310	0,0176	0,000415	0,291	0,335	0,0569
1,25	0,351	0,0179	0,000427	0,326	0,376	0,0510
1,75	0,408	0,0316	0,001331	0,368	0,452	0,0774
2,00	0,437	0,0214	0,000608	0,409	0,469	0,0489
2,25	0,468	0,0189	0,000478	0,446	0,497	0,0405
2,75	0,513	0,0185	0,000457	0,494	0,532	0,0361
3,25	0,559	0,0296	0,001171	0,521	0,594	0,0530
3,75	0,588	0,0279	0,001037	0,552	0,619	0,0474
4,25	0,621	0,0252	0,000845	0,587	0,649	0,0405
4,75	0,630	0,0268	0,000961	0,601	0,662	0,0426

Tabela 5. Zmiana przewodnictwa elektrycznego [λ_t] roztworu biorczego w badaniu przenikania markera przez błonę typu servapor – próba badana

Table 5. The change of conductivity [λ_t] of recipient solution in research on the marker diffusion through a membrane of servapor type – research sample

Czas ekspozycji [h]	Kolejny numer próbki					
	1	2	3	4		
Przewodnictwo kinetyczne płynu biorczego λ[mS] – próba badana						
0,25	0,102	0,088	0,115	0,115		
0,50	0,132	0,167	0,147	0,178		
0,75	0,196	0,212	0,185	0,219		
1,00	0,226	0,274	0,209	0,231		
1,25	0,254	0,322	0,248	0,284		
1,75	0,402	0,373	0,351	0,362		
2,00	0,427	0,394	0,375	0,388		
2,25	0,461	0,421	0,398	0,404		
2,75	0,505	0,477	0,461	0,449		
3,25	0,558	0,532	0,503	0,499		
3,75	0,598	0,565	0,555	0,586		
4,25	0,634	0,599	0,589	0,614		
4,75	0,641	0,611	0,601	0,619		
Analiza statystyczna						
	średnia	SD	wariancja	minimum	maximum	współczynnik zmienności
0,25	0,105	0,0111	0,000166	0,088	0,115	0,1063
0,50	0,156	0,0178	0,000421	0,132	0,178	0,1139
0,75	0,203	0,0133	0,000237	0,185	0,219	0,0656
1,00	0,235	0,0239	0,000765	0,209	0,274	0,1019
1,25	0,277	0,0293	0,001148	0,248	0,322	0,1059
1,75	0,372	0,0189	0,000481	0,351	0,402	0,0510
2,00	0,396	0,0192	0,000490	0,375	0,427	0,0484
2,25	0,421	0,0246	0,000806	0,398	0,461	0,0584
2,75	0,473	0,0209	0,000587	0,449	0,505	0,0443
3,25	0,523	0,0239	0,000761	0,499	0,558	0,0457
3,75	0,576	0,0169	0,000382	0,555	0,598	0,0294
4,25	0,609	0,0169	0,000383	0,589	0,634	0,0278
4,75	0,618	0,0147	0,000289	0,601	0,641	0,0238



Ryc. 4. Ilustracja procesu dyfuzji markera przez membranę dializacyjną typu servapor do płynu akceptorowego

Fig. 4. Illustration of the marker diffusion process through a dialysis membrane of servapor type into acceptor fluid

ma charakteru warstwy trwale stabilnej, ponieważ po 72 godzinach ekspozycji, wartości średnie mierzonego przewodnictwa osiągają porównywalne wartości różniące się o 1,004% (tabela 6 i 7).

Analizę profilu dyfuzji markera przeprowadzono aproksymując średnie wartości uzyskanego przewodnictwa elektrycznego w funkcji czasu ekspozycji, metodą najmniejszych kwadratów. Otrzymane równania korelacyjne na poziomie ufności $p = 0,05$, przy wysokich wartościach R^2 , precyzują powtarzalną zależność ilustrującą proces dyfuzji do płynu akceptorowego. Ponadto równania te posiadają aspekt równań kinetycznych, opisujących rzędowość i mechanizm procesu dyfuzji (tabela 8, rycina 5).

Tabela 6. Zmiana przewodnictwa elektrycznego $[\Delta\lambda_c]$ roztworu biorczego w badaniu przenikania markera przez błonę typu servapor – próba kontrolna po 72 h ekspozycji

Table 6. The change of conductivity $[\lambda_c]$ of recipient solution in research on the marker diffusion through a membrane of servapor type – control sample after 72 h of exposition

Czas ekspozycji [h]	Kolejny numer próbki					
	1	2	3	4		
Przewodnictwo elektryczne płynu biorczego λ[mS] – próba kontrolna						
72	1,117	1,120	1,108	1,059		
Analiza statystyczna						
	średnia	SD	wariancja	minimum	maximum	współczynnik zmienności
72	1,101	1,059	0,11629	1,059	1,120	0,0203

Tabela 7. Zmiana przewodnictwa elektrycznego $[\Delta\lambda_c]$ roztworu biorczego w badaniu przenikania markera przez błonę typu servapor – próba badana po 72 h ekspozycji

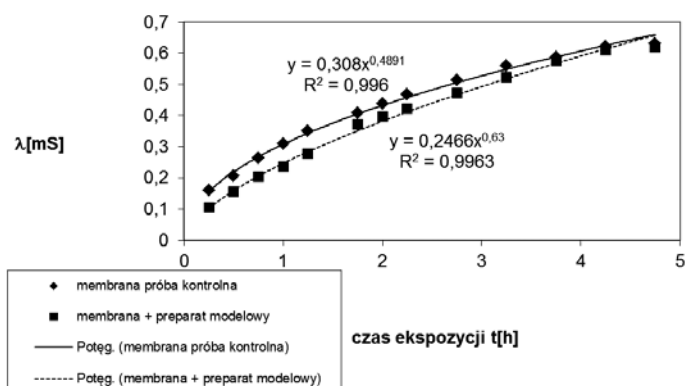
Table 7. The change of conductivity $[\lambda_c]$ of recipient solution in research on the marker diffusion through a membrane of servapor type – research sample after 72 h of exposition

Czas ekspozycji [h]	Kolejny numer próbki					
	1	2	3	4		
Przewodnictwo elektryczne płynu biorczego λ[mS] – próba badana						
72	1,121	1,123	1,109	1,067		
Analiza statystyczna						
	średnia	SD	wariancja	minimum	maximum	współczynnik zmienności
72	1,105	0,0205	0,11756	1,067	1,123	0,0185

Tabela 8. Charakterystyka profili dyfuzji markera przez membrany typu servapor

Table 8. Characteristics of profiles of the marker diffusion through membranes of servapor type

Rodzaj próby	Równania prostej określające przebieg procesu	Współczynnik korelacji R^2	Parametry prostej	
			A	B
Próba kontrolna	$[\lambda_{exp}] = A + B \cdot t$	0,9488	0,1953	0,1044
	$[\lambda_{exp}] = A + B \ln(t)$	0,9673	0,3380	0,1743
	$[\lambda_{exp}] = A \cdot t^B$	0,9960	0,3080	0,4891
	$[\lambda_{exp}] = A \cdot e^{Bt}$	0,8468	0,2157	0,2729
Próba badana	$[\lambda_{exp}] = A + B \cdot t$	0,9650	0,1253	0,1170
	$[\lambda_{exp}] = A + B \ln(t)$	0,9474	0,2870	0,1916
	$[\lambda_{exp}] = A \cdot t^B$	0,9963	0,2466	0,6300
	$[\lambda_{exp}] = A \cdot e^{Bt}$	0,8484	0,1558	0,3518



Ryc. 5. Ilustracja procesu dyfuzji markera przez membranę dializacyjną typu servapor do płynu akceptorowego przy maksymalnej wartości współczynnika korelacji R^2

Fig. 5. Illustration of the marker diffusion process through a dialysis membrane of servapor type into acceptor fluid with the maximum value of the correlation coefficient R^2

Wnioski

1. Technologia modelowego preparatu przeciwłupieżowego o charakterze emulsji umożliwia w modelowym układzie *in vitro* (układ modelowy z udziałem membran dializacyjnych imitujących ludzką skórę), uzyskanie na powierzchni membrany dializacyjnej – dzięki obecności związków wielkocząsteczkowych – warstwy stanowiącej swoistą barierę ochronną. Powyższe uzyskujemy przy zachowaniu umiarkowanego przemycania membran letnią wodą.

2. Obecność warstwy modelowego preparatu przeciwłupieżowego na membranie, potwierdzają wartości średnie przyrostu masy i grubości membrany dializacyjnej.

3. Uzyskana warstwa ma charakter lekko hydrofobowy, co wynika z różnic w przenikaniu hydrofilowego markera przez membranę w próbie badanej i próbie kontrolnej.

4. Hydrofobowa warstwa dyfuzyjna ma charakter zmienny, o czym świadczą wyniki ekspozycji po 72 h (różnica 1,004%).

5. Prawidłowo aplikowana emulsja modelowego preparatu przeciwłupieżowego, może w warunkach *in vivo* wypełniać wolne przestrzenie warstwy rogowej naskórka, tworząc strukturę o charakterze filmu pełniąc go funkcję bariery ochronnej. Film ten jest jednocześnie przepuszczalny dla innych fizjologicznych związków chemicznych jak i powietrza, co wykazały badania z użyciem fizjologicznego markera. Nie stanowi zagrożenia stworzenia twardej nieprzepuszczalnej warstwy.

6. Przenikanie markera przez wariantowo dobrane układy membran dializacyjnych – próba kontrolna, próba badana – wyrażających w systemie modelowym, w warunkach *in vitro* ludzką skórę, przebiega symetrycznie w układzie profili uwalniania, najefektywniej dla równania potęgowego typu: $[\lambda_{\text{exp}}] = A \cdot t^B$.

7. Z przeprowadzonej oceny *in vitro* modelowego preparatu przeciwłupieżowego o charakterze emulsji można wnioskować o efektywnej skuteczności terapeutycznej *in vivo*.

Literatura

- [1] Schmidt-Rose T., Braren S., Fölster H., Hillemann T., Oltrogge B., Philipp P., Weets G., Fey S.: Efficacy of a piroctone olamine/climbazol shampoo in comparison with a zinc pyrithione shampoo in subjects with moderate to severe dandruff. *Int. J. Cosmet. Sci.* (2011), 1, 27.
- [2] Kerr K., Schwartz J.R., Filloon T., Fielo A., Wehmeyer K., Szepietowski J. C., Mills K. J.: Scalp Stratum Corneum Histamine Levels: Novel Sampling Method Reveals Association with Itch Resolution in Dandruff/Seborrheic Dermatitis Treatment. *Acta Derm. Venereol.* (2011), 1, 21.
- [3] Kerr K., Darcy T., Henry J., Mizoguchi H., Schwartz Jr., Morrall S., Filloon T., Wimalasena R., Fadaye G., Mills K. J.: Epidermal changes associated with symptomatic resolution of dandruff: biomarkers of scalp health. *Int. J. Dermatol.* 2011, 50(1), 102–113.
- [4] Ranganathan S., Mukhopadhyay T.: Dandruff: the most commercially exploited skin disease, *Indian J. Dermatol.* (2010), 55, 2, 130–134.
- [5] Seite S., Rougier A., Talarico S.: Randomized study comparing the efficacy and tolerance of a lipohydroxy acid shampoo to a ciclopiroxolamine shampoo in the treatment of scalp seborrheic dermatitis. *J. Cosmet. Dermatol.* (2009), 8, 4, 249–253.
- [6] Sinclair R. D., Schwartz J. R., Rocchetta H. L., Dawson T. L. Jr, Fisher B. K., Meinert K., Wilder E. A.: Dandruff and seborrheic dermatitis adversely affect hair quality. *Eur. J. Dermatol.* (2009), 19, 4, 410–411.
- [7] Schwartz J. R., Rocchetta H., Asawanonda P., Luo F., Thomas J. H.: Does tachyphylaxis occur in long-term management of scalp seborrheic dermatitis with pyrithione zinc-based treatments? *Int. J. Dermatol.* (2009), 48, 1, 79–85.
- [8] Waldroup W., Scheinfeld N.: Medicated shampoos for the treatment of seborrheic dermatitis, *J. Drugs Dermatol.* (2008), 7, 7, 699–703.
- [9] Piérard-Franchimont C., Uhoda E., Loussouarn G., Saint-Léger D., Piérard G. E.: Effect of residence time on the efficacy of antidandruff shampoos. *Int. J. Cosmet. Sci.* (2003), 25, 267–271.
- [10] Lodén M., Wessman C.: The antidandruff efficacy of a shampoo containing piroctone olamine and salicylic acid in comparison to that of a zinc pyrithione shampoo. *Int. J. Cosmet. Sci.* (2000), 22, 4, 285–289.
- [11] Sawleshwarkar S. N., Salgaonkar V., Oberai C.: Multicenter, open-label, non-comparative study of a combination of pilytar and zinc pyrithione shampoo in the management of dandruff. *Indian J. Dermatol Venereol Leprol.* (2004), 70, 25–28.
- [12] Reygagne P., Poncet M., Sidou F., Soto P.: Clobetasol propionate shampoo 0.05% in the treatment of seborrheic dermatitis of the scalp: results of a pilot study. *Cutis.* (2007), 79, 5, 397–403.
- [13] Trüeb R. M.: Shampoos: ingredients, efficacy and adverse effects. *J. Dtsch. Dermatol. Ges.* (2007), 5, 5, 356–65.
- [14] Nowicki R.: Modern management of dandruff. *Pol. Merkur. Lekarski.* (2006), 20, 115, 121–124.
- [15] Warner R. R., Schwartz J. R., Boissy Y., Dawson T. L. Jr.: Dandruff has an altered stratum corneum ultrastructure that is improved with zinc pyrithione shampoo. *J. Am. Acad. Dermatol.* (2001), 45, 6, 897–903.
- [16] Baroni A., De Rosa R., De Rosa A., Donnarumma G., Catalanotti P.: New strategies in dandruff treatment: growth control of *Malassezia ovalis*. *Dermatology* (2000), 201, 4, 332–336.
- [17] Bailey P., Arrowsmith C., Darling K., Dexter J., Eklund J., Lane A., Little C., Murray B., Scott A., Williams A., Wilson D.: A double-blind randomized vehicle-controlled clinical trial investigating the effect of ZnPTO dose on the scalp vs. antidandruff efficacy and antimycotic activity. *Int. J. Cosmet. Sci.* (2003), 25, 4, 183–188.
- [18] Piérard-Franchimont C., Xhaufaire-Uhoda E., Piérard G. E.: Revisiting dandruff, *Int. J. Cosmet. Sci.* 2006, 28, 5, 311–318.

- [19] FARMAKOPEA POLSKA VIII, PZWL, Warszawa, 2009.
- [20] Kołodziejczyk M. K., Sobolewski M.: Modyfikacja chemiczna struktury substancji leczniczej i jej dostępność farmaceutyczna w warunkach „in vitro” z modelowej postaci leku podawanej na skórę. *Polish Journal of Cosmetology*, (2004), 3, 177–188.
- [21] Krówczyński L.: Podstawy Biofarmacji, PZWL, Warszawa, 1986.
- [22] Kołodziejczyk M. K., Wnuk J., Studzińska A., Zgoda M. M.: Wykorzystanie techniki stosowanej dla transdermalnych systemów terapeutycznych (Ph. Eur.) do oceny dostępności farmaceutycznej kapsaicyny i dihydrokapsaicyny z preparatu Kapsiplast® i Kapsiplast Plus®. *Polish Journal of Cosmetology*, (2007), 3, 171–178.
- [23] Zgoda M. M., Ogiński M.: Przydatność wybranych membran dializacyjnych do oceny w warunkach in vitro procesu wymiany masy na granicy faz z preparatu typu hydrożeli. *Polish Journal of Cosmetology*, (1999), 3, 197–208.
- [24] Janicki S., Sznitowska M., Zieliński W.: Dostępność farmaceutyczna i biologiczna Leków. (2001), Wydawnictwo Naukowe Polfa, Warszawa.
- [25] Kołodziejczyk M. K., Zgoda M. M.: Dostępność farmaceutyczna soli cholinowej naproksenu z modelowego środka farmaceutycznego typu hydrożel w warunkach „in vitro”. *Farmacja Polska*, (2001), LVII, 4, 16–28.
- [26] Kołodziejczyk M. K., Kołodziejska J., Zgoda M. M.: Wpływ lepkości strukturalnej na uwalnianie środka leczniczego z form hydrożeli zawierających kwas poliakrylowy. *Polish Journal of Cosmetology*, (2008), 11(1), 72–80.
- [27] Kołodziejczyk M. K., Kołodziejska J., Zgoda M. M.: Rheological properties of hydrogels applied on skin and pharmaceutical availability of non-steroidal anti-inflammatory drug. *Military Pharmacy and Medicine*, (2009), 2(1–2), 153–158.

Adres do korespondencji

Uniwersytet Medyczny w Łodzi
Katedra Farmacji Stosowanej
Zakład Technologii Postaci Leku
ul. Muszyńskiego 1
90-151 Łódź
tel. (42) 677 92 41, w. 241
e-mail: michal.kolodziejczyk@umed.lodz.pl