

Wpływ krytycznych parametrów technologicznych na proces produkcji maści z ketoprofenem

Katarzyna Ufnal, Iwona Piotrowska, Edmund Sieradzki

Uniwersytet Medyczny w Warszawie, Zakład Farmacji Stosowanej

Adres do korespondencji: Katarzyna Ufnal, Uniwersytet Medyczny w Warszawie, Zakład Farmacji Stosowanej, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa, e-mail: ufnalka@op.pl

Wstęp

Głównym zadaniem producentów leków jest dostarczenie odbiorcom produktów o odpowiedniej jakości, wyrażonej bezpieczeństwem stosowania i skutecznością terapeutyczną. Konkretnie cechy jakościowe kształtowane są podczas procesu technologicznego złożonego z ciągu operacji jednostkowych, których zadaniem jest wpływanie na właściwości postaci farmaceutycznej. Wytwarzanie leków jest dziedziną wzajemnego wpływania na siebie wielu zmiennych wynikających ze specyfiki budowy i działania urządzeń produkcyjnych, oddziaływania środowiska wytwarzania lub właściwości substancji wyjściowych oraz półproduktów. W związku z tym kluczową rolę pełni dokładne poznanie i zrozumienie mechanizmów wzajemnych oddziaływań poszczególnych elementów procesu technologicznego na jakość gotowej postaci leku. Mając na uwadze fakt, że końcowy produkt, a właściwie każda jego cecha jakościowa jest efektem oddziaływania wielu zmiennych, badanie zachodzących efektów wymaga zastosowania specjalistycznej metodyki statystycznej [1].

Ze względu na duże zróżnicowanie potrzeb powstało wiele planów doświadczeń, w tym dwuwartościowe plany eliminacyjne Placketta–Burmana, zgodnie z którymi wykonano eksperyment. Celem pracy było zaprezentowanie sposobów wyznaczenia krytycznych parametrów technologicznych procesu produkcji półstałych postaci leku oraz przedstawienie doświadczenia przeprowadzonego zgodnie z planem eliminacyjnym Placketta–Burmana.

Materiały i metody

Substancja czynna

Ketoprofen – seria 65957; Societa Italiana Medicinali Scandici.

Influence of critical technological parameters on the manufacturing process of ointment with ketoprophen · In this study the ointment with ketoprophen were made according to Plackett–Burman design. Seven critical parameters were tested in eight arrangements, which could have caused undesirable qualitative features of the ointments. The preparations were surrendered for the following measurements: viscosity, stretchability, tendency of the stratification, pharmaceutical availability, measurement of the pH and organoleptic evaluation.
Keywords: ketoprophen, Plackett–Burman designs, viscosity.

© Farm Pol, 2010, 66(7): 461-465

Odczynniki

Wazelina biała; Alkohol stearylowy; Laurylosiarczan sodu – seria 3876860M, BDH Chemicals Ltd Pole England; Glikol propylenowy – seria 0257/06/00, POCh Gliwice; Nipagina M – seria 33028094, Caleo; Woda destylowana; Bufor fosforanowy o pH 7,0.

Aparatura

Aparat wg Mutimer do badania uwalniania substancji czynnej z półstałych postaci leku metodą statyczną; Spektrofotometr UV 300 Visible, Unicam; Wiskozymetr rotacyjny typu płytka-stożek RV DV-III, Brookfield; Ekstensometr, WF WUM; Homogenizator, Mechanika Precyzyjna, Warszawa; Pehametr, Mettler Toledo; Mikroskop projekcyjny MP-3.

Ketoprofen oznaczono metodą spektrofotometryczną przy długości fali $\lambda=255$ nm. Wyniki pomiarów poddano ocenie statystycznej, której wyniki $S_x=0,08 \pm 0,00005$, $n=9$,

Głównym zadaniem producentów leków jest dostarczenie odbiorcom produktów o odpowiedniej jakości, wyrażonej bezpieczeństwem stosowania i skutecznością terapeutyczną. Konkretnie cechy jakościowe kształtowane są podczas procesu technologicznego złożonego z ciągu operacji jednostkowych, których zadaniem jest wpływanie na właściwości postaci farmaceutycznej.

potwierdzają liniową zależność absorpcji od stężenia substancji czynnej w buforze fosforanowym.

Przygotowanie maści zgodnie z planem eliminacyjnym Placketta–Burmana

Analizie poddano proces wytwarzania maści z ketoprofenem. W trakcie wstępnej selekcji wytypowane zostały parametry operacyjne o potencjalnym

krytycznym znaczeniu, które nazwano czynnikami lub zmiennymi niezależnymi. Każdemu z nich przyporządkowane zostały dwie krytyczne wartości: poziom dolny (–1) i poziom górny (1). W celu zidentyfikowania parametrów mających statystycznie istotny wpływ na jakość i właściwości postaci leku wykorzystany został plan eliminacyjny Placketta–Burmana.

Badaniu poddano siedem czynników (w tym jeden fikcyjny) w ośmiu układach. Każdy układ jest reprezentowany w tabeli 1 jako jedna maść [2].

Parametrem krytycznym procesu nazwano taką zmienną niezależną, która może spowodować wystąpienie niepożądanych cech jakościowych leku i powinna w związku z tym podlegać szczególnej kontroli. W badaniu (zgodnie z wymaganiami FP VIII) niepożądanymi cechami są następujące zmienne zależne: długość kryształów ketoprofenu większa niż 90 μm, długość śladu na bibule filtracyjnej charakteryzująca tendencję do rozwarstwienia powyżej 130 mm oraz zbyt płynną konsystencję maści [3]. Poziomy zmiennych niezależnych objętych badaniem zaprezentowano w tabeli 2.

Wykonanych zostało osiem maści z 2,5% zawartością ketoprofenu, o składzie podłoża przedstawionym w tabeli 3.

Każda z wykonanych maści została poddana ocenie organoleptycznej, pomiarowi pH, badaniom reologicznym, takim jak: pomiar lepkości, rozciągliwości oraz tendencji do rozwarstwienia, badaniu dostępności farmaceutycznej oraz pomiarowi długości kryształów substancji czynnej.

Omówienie wyników

Pierwszym etapem eksperymentu była ocena porównawcza tendencji do rozwarstwienia dla poszczególnych preparatów [4], co przedstawia tabela 4. Wysokość wzniesień składników płynnych dla wszystkich maści poddanych badaniu (M3, M4, M5, M6) nie przekroczyła 4 mm, natomiast preparaty nr 1, 2, 3 i 4 w wyniku pięciominutowej homogenizacji wkrótce po sporządzeniu uległy rozplątaniu.

Badanie rozciągliwości wykonano w temperaturze 20°C za pomocą ekstensometru, a następnie wyniki opisano równaniem: $y=ax+b$. Parametry powyższego równania wykorzystano do obliczenia pól powierzchni pod krzywą rozciągliwości w jednostkach umownych [j.u.] [5], które przedstawia tabela 5. Duże wartości pola powierzchni pod krzywą wiskoelastyczności uzyskane dla preparatów M1, M7 i M8 potwierdzają zmianę konsystencji tych układów.

Zastosowanie macierzy korelacji w programie Statistica potwierdza bardzo wysoki stopień korelacji pomiędzy obciążeniem a polem powierzchni rozciągniętej maści, dla wszystkich preparatów poddanych

Tabela 1. Plan matrycowy badania obrazujący założenia statystyki Placketta–Burmana

Układ	Zmienne niezależne poddane badaniu						
	x1	x2	x3	x4	x5	x6	x7
1	1	1	1	1	1	1	1
2	1	1	–1	1	–1	–1	–1
3	1	–1	1	–1	1	–1	–1
4	1	–1	–1	–1	–1	1	1
5	–1	1	1	–1	–1	1	–1
6	–1	1	–1	–1	1	–1	1
7	–1	–1	1	1	–1	–1	1
8	–1	–1	–1	1	1	1	–1

Tabela 2. Poziomy czynników (zmiennych niezależnych) objętych badaniem (* – +/- 15%)

Nr zmiennej	Zmienne niezależne	Poziom dolny (–1)	Poziom górny (1)
x1	ilość wody	62,9 g	67,9 g
x2	czas mikronizacji	1 min	5 min
x3	szybkość mieszania	650 obr/min*	1000 obr/min*
x4	czas homogenizacji	1 min	5 min
x5	rodzaj opakowania	tuba	pudełko
x6	temperatura zestawienia podłoża	10°C	20°C

Tabela 3. Ilość i funkcja poszczególnych składników podłoża (* – dla maści 5, 6, 7, 8)

Substancja	Ilość	Funkcja
Wazelina biała	10,0 / 15,0*	podłoże
Alkohol stearylowy	15,0	substancja utwardzająca, emulgator
Laurylosiarczan sodu	2,0	emulgator, promotor wchłaniania
Glikol propylenowy	5,0	substancja utrzymująca wilgoć, promotor wchłaniania
Nipagina M	0,1	substancja konserwująca
Woda	ad 100,0	substancja umożliwiająca uzyskanie odpowiedniej konsystencji, rozpuszczalnik dla laurylosiarczanu sodu

Tabela 4. Wyniki badania tendencji do rozwarstwienia (wyniki uśrednione n=3)

Maść	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
Długość śladu [mm]	–	–	2	1	1	4	–	–

badaniu wiskoelastyczności i przy poziomie istotności $p=0,05$ pozwala na odrzucenie hipotezy zerowej o braku istotności. Zestawienie współczynników korelacji przedstawia **tabela 6**.

Graficznie badaną zależność prezentują wykresy rozrzutu. Wąski pas regresji świadczy o bardzo silnym powiązaniu obciążenia i pola powierzchni rozciągniętej maści, co prezentuje **rycina 1**.

Dla maści z ketoprofenem wyznaczono lepkość przy szybkości ścinania $D=6,4 \text{ s}^{-1}$ w temperaturze 37°C bezpośrednio po sporządzeniu preparatów oraz po 1 i 2 tygodniach przechowywania w temperaturze 20°C (**tabela 7**). Lepkość maści M3 i M6 poddanych jednodominutowej homogenizacji, które zestalano w obniżonej temperaturze i przechowywano w pudełku nie uległa zmianie.

Wyznaczono także teoretyczny współczynnik dyfuzji (**tabela 8**), który umożliwia wstępną ocenę przenikania ketoprofenu do płynu akceptorowego. W celu jego wyznaczenia przyjęto następujące parametry: temperatura $T=310,15 \text{ K}$, promień kryształu ketoprofenu $r=2 \cdot 10^{-6} \text{ m}$, lepkość przy szybkości ścinania $6,40 \text{ s}^{-1}$ w temperaturze 37°C .

Metoda statyczna z wykorzystaniem aparatu wg Mutimer pozwoliła na ilościową ocenę dostępności farmaceutycznej ketoprofenu. Procentowa zawartość substancji czynnej w płynie akceptorowym po 4 godz. dializie została przedstawiona na **rycynie 2**.

Wykorzystując regresję wieloraką w programie Statistica 8 określony został współczynnik dopasowania zmiennej zależnej (procentowej zawartości ketoprofenu w płynie dializacyjnym po 4 godz.) od zmiennych niezależnych (lepkości i współczynnika dyfuzji). Przyjęty model liniowy i jego skorygowany współczynnik determinacji $R^2=0,161$ tłumaczy, że około 16% zmian dla stężenia substancji aktywnej w płynie akceptorowym jest tłumaczone przez model.

Współczynnik korelacji r , będący miarą wzajemnych zależności poszczególnych zmiennych, dla układu lepkość uwalnianie wynosi $-0,6248$ (**rycina 3**). Wskazuje to na istnienie powiązań między badanymi parametrami, jednak nie świadczy jednoznacznie o liniowej zależności. Otrzymane wyniki stanowią potwierdzenie, że na uwalnianie substancji czynnej z maści większy wpływ ma sam skład podłoża niż jego lepkość. Zależność pomiędzy uwalnianiem a współczynnikiem dyfuzji w liczbowy sposób charakteryzowana jest wartością współczynnika r równą $0,5377$ (**rycina 4**), [6].

Wobec braku liniowych zależności zastosowano także nieparametryczną korelację porządku rang Spearmana, której wyniki przedstawiono w **tabeli 9**. Jako metoda tylko w niewielkim stopniu wrażliwa na obserwacje odstające, pozwoliła wykazać wzajemne powiązania między zmiennymi losowymi niespełniającymi warunków rozkładu normalnego.

Tabela 5. Równania korelacyjne opisujące rozciągliwość badanych maści wraz z wyliczonymi polami powierzchni pod krzywymi rozciągliwości (wartości uśrednione; $n=3$)

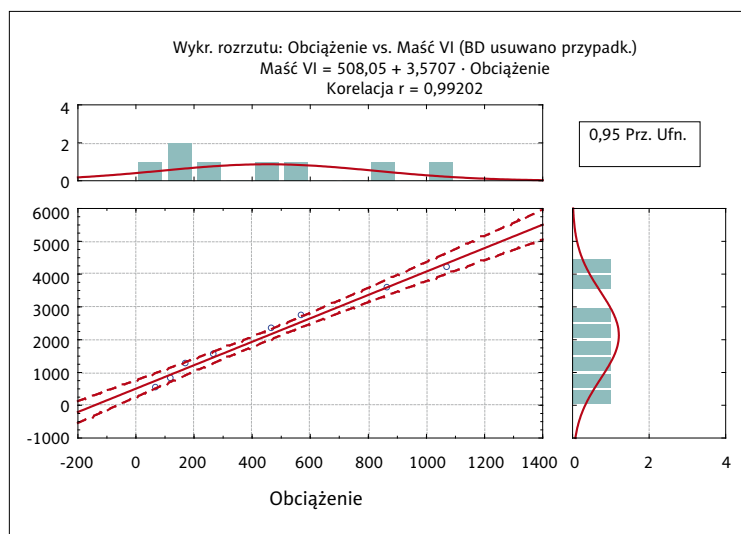
Maść	Współczynniki a i b równania typu $y = ax + b$		Współczynnik korelacji	Pole powierzchni [j.u.]
	a	b		
M1	7,38	2069,95	0,4227	6275443,0
M2	–	–	–	–
M3	3,53	600,10	0,9864	2611670,5
M4	3,45	886,20	0,9491	2852182,5
M5	2,66	1108,26	0,9880	2624061,0
M6	3,60	486,73	0,9906	2538190,0
M7	7,02	1862,87	0,9738	5863217,0
M8	7,50	5158,88	0,9370	9432755,0

Tabela 6. Współczynniki korelacji pomiędzy obciążeniem a polem powierzchni rozciągniętej maści

Korelacje (Arkusze 49)							
Oznaczone wsp. korelacji są istotne z $p < 0,050000$							
N=8 (Braki danych usuwano przypadkami)							
Zmienna	Maść I	Maść III	Maść IV	Maść V	Maść VI	Maść VII	Maść VIII
Obciążenie	0,9800	0,9864	0,9887	0,9880	0,9920	0,9739	0,9370
	$p=0,000$	$p=0,000$	$p=0,000$	$p=0,000$	$p=0,000$	$p=0,000$	$p=0,001$

W przypadku gdy korelacja zmiennych przyjmuje wartość -1 , jak dla zależności lepkość-współczynnik dyfuzji, zachodzi maksymalna niezgodność rang, co oznacza, że jedna zmienna jest ściśle malejącą funkcją drugiej.

Każda z maści została sporządzona zgodnie z planem eliminacyjnym Placketta–Burmana. Z powodu braku dostępu do odpowiedniego komputerowego programu statystycznego, za którego pomocą byłoby możliwe przeprowadzenie profesjonalnej oceny



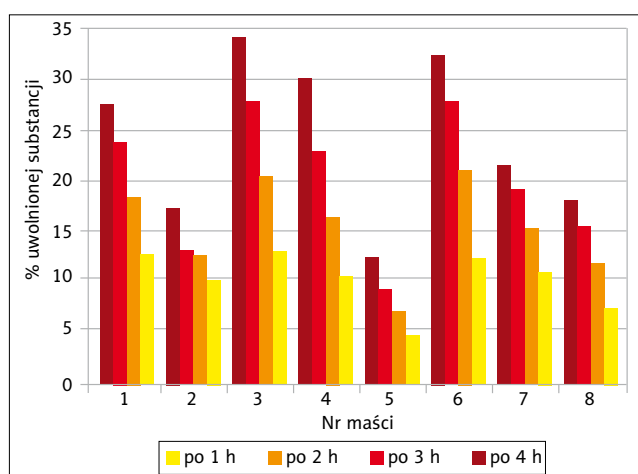
Rycina 1. Przykładowy wykres rozrzutu dla zależności: obciążenie – pole powierzchni rozciągniętej maści nr 6

Tabela 7. Wartości lepkości badanych maści w temperaturze 37°C, przy szybkości ścinania 6,40 s⁻¹

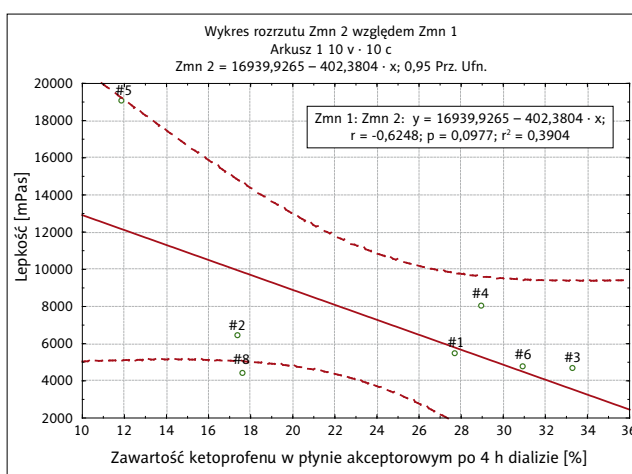
Maść	Lepkość [mPa·s]		
	Bezpośrednio	po 1 tyg.	po 2 tyg.
M1	5439	–	–
M2	6402	–	–
M3	4662	4289	4662
M4	8019	7366	3139
M5	19052	6278	5657
M6	4724	4786	4880
M7	5718	–	–
M8	4351	–	–

Tabela 8. Współczynnik dyfuzji ketoprofenu z badanych maści bezpośrednio po sporządzeniu (B)

Maść	Lepkość [mpa·s]	Czas wykonania badania lepkości	Współczynnik dyfuzji [m ² s ⁻¹]
M1	5439	B	2,0729×10 ⁻¹⁷
M2	6402	B	1,7611×10 ⁻¹⁷
M3	4662	B	2,4184×10 ⁻¹⁷
M4	8019	B	1,4060×10 ⁻¹⁷
M5	19052	B	5,9178×10 ⁻¹⁸
M6	4724	B	2,3866×10 ⁻¹⁷
M7	5718	B	1,9717×10 ⁻¹⁷
M8	4351	B	2,5912×10 ⁻¹⁷



Rycina 2. Uśrednione (n=3) wyniki uwalniania ketoprofenu z badanych maści po 1, 2, 3 i 4 godzinach



Rycina 3. Wykres rozrzutu dla zależności: lepkość – dostępność farmaceutyczna ketoprofenu z badanych maści

wpływu krytycznych parametrów procesu technologicznego, podjęto próbę interpretacji otrzymanych wyników na podstawie obserwacji i w oparciu o dane liczbowe.

Wnioski

1. Parametrami krytycznymi dla maści sporządzonych wg planu eliminacyjnego Placketta–Burmana okazały się:
 - czas homogenizacji,
 - rodzaj opakowania,
 - temperatura zestalania podłoża.

2. Zmniejszenie ilości wody na korzyść wazeliny białej o 5 g na 100 g podłoża nie wpłynęło w istotny sposób (poza maścią nr 5) na parametry reologiczne maści ani na jej cechy organoleptyczne.
3. Szybkość mieszania w trakcie łączenia fazy wodnej z fazą olejową podczas sporządzania podłoża maściowego również nie wpłynęła znacząco na jakość gotowych produktów.
4. Czas mikronizacji koncentratu substancji czynnej nie miał wpływu na wielkość kryształów ketoprofenu w sporządzonych maściach.
5. Statystyczna ocena otrzymanych wyników potwierdziła istnienie pewnych zależności pomiędzy lepkością preparatów, teoretycznym współczynnikiem dyfuzji a procentową zawartością ketoprofenu w płynie akceptorowym po 4 godz. dializie; im mniejsza lepkość, tym większy współczynnik dyfuzji i większe uwalnianie substancji czynnej z postaci leku.
6. Zastosowanie macierzy korelacji w programie statystycznym potwierdziło bardzo wysoki stopień korelacji pomiędzy obciążeniem a polem powierzchni rozciągniętej maści dla wszystkich

Tabela 9. Korelacja porządku rang Spearmana dla zależności uwalnianie – lepkość – współczynnik dyfuzji

Korelacja porządku rang Spearmana (Arkusz 1) BD usuwane parami Oznaczone wsp. korelacji są istotne z p<0,05000			
Zmienna	Uwalnianie	Lepkość	Współ. dyfuzji
Uwalnianie		-0,47619	0,47619
Lepkość	-0,476190		-1,00000
Współ. dyfuzji	0,476190	-1,00000	

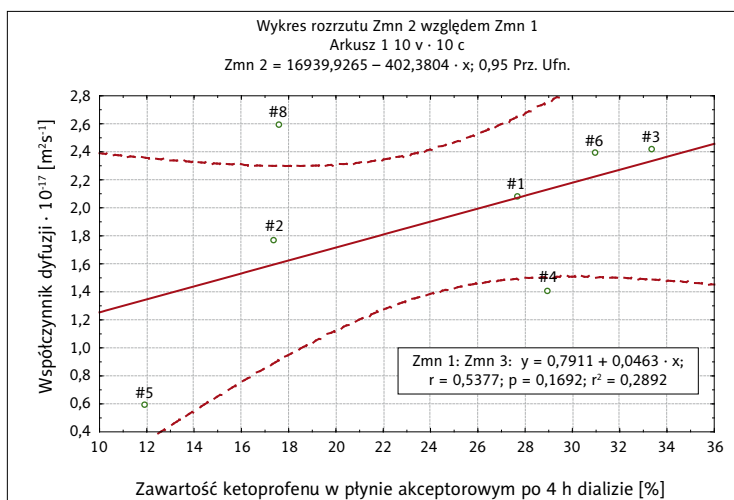
preparatów poddanych badaniu wiskoelastyczności, co może pozytywnie świadczyć o jakości zastosowanej metody pomiaru.

Praca została przedstawiona na Konferencji pt.: „Wpływ czynników technologicznych na wchłanianie substancji leczniczej z postaci leku” 18 listopada 2009 r. w Warszawie. Organizator: Komisja Postaci leku, Farmakokinetyki i Farmacji Klinicznej PAN, Wydział VI Nauk Medycznych PAN, Zakład Farmacji Stosowanej Wydziału Farmaceutycznego WUM.

Otrzymano: 2010.01.19 · Zaakceptowano: 2010.02.01

Piśmiennictwo

1. Woyna-Orlewicz: Planowane eksperymentów w praktyce w farmacji. PLIVA Kraków Zakłady Farmaceutyczne S.A., Laboratorium Form Leków; <http://www.statsoft.pl/czytelnia/jakosc/planowanie-eksperymentow-w-farmacji.pdf>.
2. Araujo P.W., Brereton R.G.: Experimental Design. I. Screening. Trends in Analytical Chemistry 1996, vol. 15, nr 1.
3. Woyna-Orlewicz K., Jachowicz R.: Ocena krytyczności parametrów sporządzania tabletek w analizie procesów technologicznych., Farmacja Polska 2006, tom 62, nr 11.



Rycina 4. Wykres rozrzutu dla zależności: współczynnik dyfuzji – dostępność farmaceutyczna

4. Farmakopea Polska VIII, Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne, Warszawa 2009.
5. Zgoda M.M., Pol. J. Cosmet., 3; 267; 2000.
6. <http://www.sixsigma.pl/>.
7. Wikipedia <http://pl.wikipedia.org>.