

PK/2216/AG

Sposób otrzymywania kompozycji zawierającej klotrimazol oraz kompozycja farmaceutyczna uzyskana tym sposobem

Niniejszy wynalazek dotyczy stałych rozproszeń klotrimazolu z poloksamerem 407, sposobu ich otrzymywania oraz zastosowania w preparatach farmaceutycznych, w szczególności w leczeniu zakażeń grzybiczych.

W ostatnich latach obserwuje się stały wzrost liczby układowych i powierzchniowych zakażeń grzybiczych. Paradoksalnie jest on spowodowany postępowaniem w medycynie, szczególnie w zakresie transplantacji narządów, wprowadzenia bardziej inwazyjnych metod diagnostycznych i terapeutycznych, stosowania antybiotyków o szerokim spektrum działania, wydłużenia czasu przeżycia chorych na nowotwory i chorych z upośledzeniem odporności. Ten typ zakażeń stanowi około 10% wszystkich zakażeń u hospitalizowanych chorych i stanowi większe ryzyko zgonu chorych niż zakażenia bakteryjne. Stosowane w tych przypadkach imidazole I generacji charakteryzują się wysoką aktywnością przeciwgrzybiczą, szczególnie w leczeniu infekcji miejscowych. Opracowano wiele postaci farmaceutycznych zawierających te substancje lecznicze, m. in. kremy, maści, szampony, pudry, tabletki dopochwowe, pastylki do ssania, które są nadal szeroko stosowane, zarówno w medycynie, jak i weterynarii.

Ze względu na rosnącą liczbę zakażeń grzybiczych, pożądane jest poszukiwanie nowych postaci leku o działaniu miejscowym i ogólnoustrojowym, które wykazują zwiększoną skuteczność przeciwgrzybiczą.

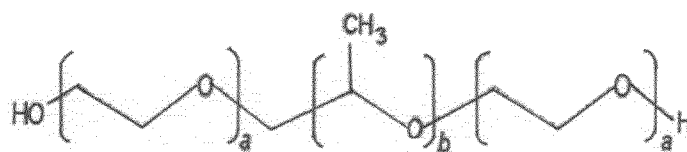
Klotrimazol należy do pochodnych imidazolu o szerokim spektrum działania przeciwgrzybiczego. Jest skuteczny w leczeniu zakażeń skórnych oraz pochwy i sromu wywołanych przez dermatofity oraz drożdżaki.

Klotrimazol jest substancją cechującą się dobrą przenikalnością przez błony biologiczne [Yang W., Wiederhold N. P., Williams R. O.: Drug delivery strategies for improved azole antifungal action. Expert Opin. Drug Deliv., 2008, 5, 1199-1216], jednak jest bardzo trudno rozpuszczalny w wodzie (jego rozpuszczalność wynosi 0,49 µg/ml). Ze względu na powyższe parametry został zaklasyfikowany do drugiej klasy Biofarmaceutycznego Systemu

PK/2216/AG

Klasyfikacji. Po podaniu doustnym tej substancji obserwowane są duże różnice w biodostępności, spowodowane jej słabą absorpcją z przewodu pokarmowego. Niska rozpuszczalność klotrimazolu stanowi także problem w miejscowym leczeniu zakażeń grzybiczych, gdyż limituje jego uwalnianie z postaci leku do miejsca zakażenia w stężeniu zapewniającym działanie terapeutyczne.

Poloksamer 407, o wzorze chemicznym przedstawionym poniżej, jest trójblokowym kopolimerem zbudowanym z hydrofobowego łańcucha polioksypropylenu (PPO) i dwóch identycznych hydrofilowych łańcuchów polioksyetylenowych (PEO). Jest to biały i gruboziarnisty proszek o woskowej konsystencji, który rozpuszcza się w wodzie, etanolu 95% i izopropanolu, a nie rozpuszcza się w eterze, parafinie i olejach. Poloksamer 407 jest głównie wykorzystywany jako środek zagęszczający, ułatwiający tworzenie żelu, a także jako koemulgator w kremach i emulsjach płynnych.



Poszukiwanie rozwiązań poprawiających rozpuszczalność oraz szybkość rozpuszczania klotrimazolu z formuacji stosowanych miejscowo, doustnie lub parenteralnie jest wysoce pożądane. Polepszenie właściwości fizykochemicznych otrzymanych formuacji może zwiększyć rozpuszczalność substancji w fizjologicznych płynach ustrojowych, co przekłada się na jej zwiększoną adsorpcję i/lub biodostępność. Może to również przyczynić się do zmniejszenia dawki, a w efekcie zwiększenia bezpieczeństwa farmakoterapii.

Stałe rozproszenia są jednym z najlepszych rozwiązań poprawiających rozpuszczalność, szybkość rozpuszczania i biodostępność substancji trudno rozpuszczalnych w wodzie. Jest to przykład modyfikacji fizycznej, w której słabo rozpuszczalny składnik jest wbudowany w matrycę polimeru w monomolekularnej, amorficznej lub mikrokryształicznej formie. Mechanizm poprawy rozpuszczalności API (ang. Active Pharmaceutical Ingredient) ze stałych rozproszeń zależy od wielu czynników, m. in. rodzaju uzyskanego stałego rozproszenia, właściwości fizyko-chemicznych substancji czynnej i polimeru, ich wzajemnego stosunku oraz metody otrzymywania.

PK/2216/AG

Proponowana metoda ugniatania jest jedną z metod otrzymywania stałych rozproszeń. Jest wysoce wydajna, łatwa do wykonania, powtarzalna i tania. W metodzie tej składniki mieszaniny zwilża się niewielką ilością rozpuszczalnika, a następnie uciera w moździerz, aż do całkowitego odparowania. Mieszaniny powstałe w ten sposób są trwałe i bez problemu mogą być bezpośrednio tabletkowane.

Dotychczasowe rozwiązania poprawiające rozpuszczalność klotrimazolu obejmują m. in. dodatek solubilizatorów, tworzenie nanoemulsji [Borhade V., Pathak S., Sharma S., Patravale V.: Clotrimazole nanoemulsion for malaria chemotherapy. Part I: Preformulation studies, formulation design and physicochemical evaluation. *Int. J. Pharm.*, 2012, 431,138-148], sporządzanie liposomów, nanosfer, mikrokapsułek, zawiesin w roztworze polimeru [Yang W., Wiederhold N. P., Williams R. O.: Drug delivery strategies for improved azole antifungal action. *Expert Opin. Drug Deliv.*, 2008, 5, 1199-1216], kompleksów inkluzyjnych z β -cyklodekstrynami [Ahmed M. O., El-Gibaly I., Ahmed S. M.: Effect of cyclodextrins on the physicochemical properties and antimycotic activity of clotrimazole. *Int. J. Pharmaceut.*, 1998, 171, 111–121; Balakrishnan P. et al.: Enhanced bioavailability of poorly water-soluble clotrimazole by inclusion with β -cyclodextrin. *Arch. Pharm. Res.* 2007, 30, 249-254; Surendran S. A., Vinaya O. G.: Formulation And Evaluation Of Clotrimazole Solid Dispersion Incorporated Gels. *Int. J. Pharm Tech Res.*, 2013, 5, 1345-1354] oraz stałych rozproszeń klotrimazolu z poliwinylpirolidonem [Balata G., Mahdi M., Bakera R. A.: Improvement of solubility and dissolution properties of clotrimazole by solid dispersions and inclusion complexes. *Indian J. Pharm. Sci.*, 2011, 73, 517-526]. W przypadku tworzenia nanoemulsji oraz dodatku solubilizatorów istnieje problem ze stabilnością substancji w tak otrzymanych układach. Z kolei, podanie doustne lub doodbytnicze w czopkach na bazie poloksameru i glikolu propylenowego, klotrimazolu w kompleksach inkluzyjnych z cyklodekstrynami, pozwala jedynie na opracowanie postaci leku zawierającej niską dawkę tej substancji oraz nie gwarantuje jej całkowitego rozpuszczenia [Borhade V. et al.: Clotrimazole nanoemulsion for malaria chemotherapy. Part I: Preformulation studies, formulation design and physicochemical evaluation. *Int. J. Pharm.*, 2012, 431,138-148). Balata i wsp.(Improvement of solubility and dissolution properties of clotrimazole by solid dispersions and inclusion complexes. *Indian J. Pharm. Sci.*, 2011, 73, 517-526) otrzymywali stałe rozproszenia klotrimazolu z poliwinylpirolidonem lub PEG 4000 oraz kompleksy inkluzyjne z β -

PK/2216/AG

cyklodekstrynami, a następnie badali ich rozpuszczalność w wodzie destylowanej przy użyciu aparatu łopatkowego. W przypadku formulacji, zarówno z użyciem PVP K-25, jak i PEG 4000 oraz kompleksów inkluzyjnych z β -cyklodekstrynami, uzyskali maksymalnie około 2-krotną poprawę rozpuszczalności w stosunku do czystej substancji. Z kolei Ahmed i wsp. (Effect of cyclodextrins on the physicochemical properties and antimycotic activity of clotrimazole. Int. J. Pharmaceut., 1998, 171, 111-121) uzyskali poprawę rozpuszczalności klotrimazolu z kompleksów inkluzyjnych z dimetylo- β -cyklodekstryną nie większą niż 3,3-krotną w stosunku do czystej API. Opracowanie postaci leku do podania doustnego lub doodbytniczego w czopkach na bazie poloksameru i glikolu propylenowego, klotrimazolu w kompleksach inkluzyjnych z cyklodekstrynami, pozwala jedynie uzyskać postać zawierającą niską dawkę tej substancji oraz nie gwarantuje jej całkowitego rozpuszczenia [Yang W. et al.: Drug delivery strategies for improved azole antifungal action. Expert Opin. Drug Deliv., 2008, 5, 1199-1216].

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania kompozycji zawierającej klotrimazol, charakteryzujący się tym, że suchą mieszaninę składającą się z klotrimazolu i poloksameru 407 zwilża się etanolem i uciera się do odparowania rozpuszczalnika w temperaturze pokojowej.

Korzystnie, zawartość klotrimazolu w suchej mieszaninie wynosi od 1 do 99% wag., korzystniej od 10 % do 90 % wag., najkorzystniej około 80 % wag.

Zgodnie z wynalazkiem, etanol stosuje się korzystnie w ilości około 1 ml na 1 g suchej mieszaniny.

Korzystnie, uzyskaną sposobem według wynalazku suchą mieszaninę dodatkowo poddaje się sproszkowaniu i przesianiu przez sito, korzystnie o wielkości oczek 0,315 μm .

Kolejnym przedmiotem wynalazku jest kompozycja farmaceutyczna zawierająca klotrimazol, znamienna tym, że ma postać stałego rozproszenia klotrimazolu w poloksamerze 407, otrzymaną metodą ugniatania z etanolem.

Przedmiotem wynalazku jest kompozycja farmaceutyczna charakteryzująca się tym, że otrzymana jest sposobem według wynalazku.

Leki zawierające kompozycję według wynalazku mogą być wytworzone przy zastosowaniu znanych specjalistom w dziedzinie metod i zawierać standardowo stosowane w farmacji substancje pomocnicze, nośniki i zaróbki.

PK/2216/AG

W stanie techniki znane są sposoby przemysłowego przeniesienia produkcji stałych rozproszeń metodą ugniatania w tzw. "kneader'ach" (Yusuke Shibata et al., The preparation of a solid dispersion powder of indomethacin with crospovidone using a twin-screw extruder or kneader, Int J Pharm 365 (2009) 53–60).

Zgodnie z wynalazkiem, otrzymane stałe rozproszenia klotrimazolu na bazie poloksameru 407 metodą ugniatania pozwoliły uzyskać nawet ponad 105-krotną poprawę rozpuszczalności w stosunku do czystej API dla formułacji zawierającej 80% wag./wag. substancji czynnej.

Otrzymywanie stałych rozproszeń na bazie poloksameru 407 niesie ze sobą wiele korzyści:

- użyty polimer jest nietoksyczny i biogodny,
- cząsteczki trudno rozpuszczalnej substancji są solubilizowane przez hydrofilowy nośnik, co zwiększa kilkakrotnie jego rozpuszczalność w porównaniu z niemodyfikowanymi substancjami,
- użyty w sposobie otrzymywania rozpuszczalnik jest nietoksyczny,
- zastosowana modyfikacja jest prostą mieszaniną fizyczną, której składniki nie wchodzi z sobą w interakcje chemiczne, co powodowałoby powstanie nowej jakości,
- otrzymane mieszaniny można inkorporować w postaciach płynnych, półpłynnych i stałych.

Niniejszy wynalazek stwarza możliwość zastosowania klotrimazolu w nowych i skuteczniejszych postaciach leków z inkorporowanym stałym rozproszeniem, takich jak leki oczne, bądź lamelki. Istnieje możliwość udoskonalenia istniejących postaci, które będą cechowały się zwiększoną aktywnością przeciwgrzybiczą. Kompozycja według wynalazku znajduje zastosowanie w preparatach farmaceutycznych stosowanych miejscowo w postaci: kremów, maści, żeli, lamelek, pastylek, kropli ocznych, zawiesin, pudrów, aerozoli, globulek i czopków itp., stosowanych w szczególności w leczeniu zakażeń grzybiczych. Sposoby wytwarzania takich leków znane są specjalistom w dziedzinie farmacji.

Nieoczywistość rozwiązania wynika z wyboru polimeru, od którego zależą właściwości mieszanin, a w szczególności ich rozpuszczalność oraz metody ich otrzymywania. Z badań Twórców wynalazku wynika, iż z formułacji o takim samym składzie uzyskanych innymi metodami, tj. ucieranie czy stapianie, w tym samym czasie rozpuszczaniu ulega ponad połowę mniej substancji. Należy zaznaczyć, iż w metodzie ugniatania nie podgrzewa się

PK/2216/AG

mieszaniny składników i można ją wykorzystać do przeniesienia produkcji stałych rozproszeń na skalę przemysłową w zagmatarkach produkcyjnych (tzw. kneader), a następnie ich suszenia i przesiewania. Na rynku dostępne są gotowe stałe postaci leku zawierające stałe rozproszenia z substancjami o różnym działaniu farmakologicznym tj. Certican - tabletki z rozproszeniem ewerolimusem w HPMC; Cesamet - tabletki z nabilonem w PVP, Gris-PEG - tabletki z gryzeofulwiną z PEG, Isoptin SR-E – tabletki z werapamilem w HPC/HPMC, Nivadil – tabletki z niwaldipiną w HPMC, Rezulin – tabletki z troglitazonem w HPMC, Kaletra – tabletki z lopinawirem, titonawirem w PVPVA, Intelence – tabletki z etrawiryną w HPMC, Zelboraf – tabletki z wemurafenibem w HPMCAS, Incivek – tabletki z telaprewirem w HPMCAS-M, Crestor – tabletki z rosuwastatyną w HPMC, Afeditab CR – tabletki z nifedypiną w Poloxamer/PVP, Fenoglide – tabletki z fenofibratem w PEG, Prograf – kapsułki z tacrolimusem w HPMC, Sporanox – kapsułki z itraconazolem w HPMC.

Zgodnie z wynalazkiem, otrzymuje się kompozycję farmaceutyczną zawierającą w swoim składzie od 1% do 99% wag./wag. klotrimazolu w połączeniu z poloksamerem 407, uzyskaną sposobem ugniatania z etanolem. Odważone składniki kompozycji należy zwilżyć etanolem w ilości 1ml na 1g suchej mieszaniny i utrzymać, aż do całkowitego odparowania rozpuszczalnika w temperaturze pokojowej. Następnie, uzyskaną i suchą mieszaninę należy sproszkować, ucierając przez około 10 minut. Sproszkowaną mieszaninę należy przesiać przez sito o średnicy oczek 0,315 μm . Przechowywać w hermetycznie zamykanym naczyniu chroniącym przed dostępem światła i wilgoci.

Kompozycja o składzie 80% wag./wag. klotrimazolu cechowała się najlepszymi właściwościami fizyko-chemicznymi, co potwierdzono w badaniach specyficznej szybkości rozpuszczania, różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC), spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR), rentgenowskiej dyfraktometrii proszkowej (XRPD) oraz skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM). W testach rozpuszczania prawie 100% klotrimazolu uległo rozpuszczeniu z badanej mieszaniny, podczas, gdy w tym samym czasie w warunkach badania rozpuszczeniu ulegało tylko 0,9% czystej substancji. Pozostałe kompozycje również charakteryzowały się kilkakrotnym wzrostem rozpuszczalności klotrimazolu w stosunku do czystej substancji.

Stale rozproszenia klotrimazolu z poloksamerem 407 otrzymano metodą ugniatania z użyciem etanolu w różnych stosunkach wagowych. Właściwości fizykochemiczne uzyskanych

PK/2216/AG

mieszanin charakteryzowano metodami: specyficznej szybkości rozpuszczania, różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC), spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) oraz rentgenowskiej dyfraktometrii proszkowej (XRPD).

Przedmiot wynalazku w przykładzie wykonania uwidocznił na rysunku, na którym:

na figurze 1 przedstawiono zestawienie termogramów DSC zarejestrowanych na aparacie przepływowym DSC25 Mettler Toledo z szybkością ogrzewania 5°C/min, w zakresie temperatury 25-160°C i przepływie argonu 50ml/min: a) poloksamer 407, b) klotrimazol, c) CLT:PXM-90:10-KN, d) CLT:PXM-80:20-KN, e) CLT:PXM-70:30-KN, f) CLT:PXM-60:40-KN, g) CLT:PXM-50:50-KN, h) CLT:PXM-40:60-KN, i) CLT:PXM-30:70-KN, j) CLT:PXM-20:80-KN, k) CLT:PXM-10:90-KN;

na figurze 2 przedstawiono zestawione widm FTIR dla czystych substancji, tj. klotrimazolu (CLT) i poloksameru (PXM) oraz otrzymanych z ich udziałem stałych rozproszeń;

na figurze 3 przedstawiono zarejestrowane dyfraktogramy dla czystego klotrimazolu oraz otrzymanych stałych rozproszeń, linia 1: PXM, linia 2: CLT:PXM-20:80-KN, linia 3: CLT:PXM-50:50-KN, linia 4: CLT:PXM-80:20-KN, linia 5: CLT;

na figurze 4 przedstawiono procent rozpuszczonego klotrimazolu z formułacji uzyskanych metodą ugniatania w 0,5% roztworze laurylosiarczanu sodu w temperaturze 37°C ± SD (n=3).

Badanie specyficznej szybkości rozpuszczania wykazało, iż otrzymane stałe rozproszenia cechują się zwiększoną szybkością rozpuszczania oraz rozpuszczalnością w stosunku do czystego klotrimazolu. W przypadku formułacji zawierającej 80% wag./wag. API po 120 minutach przeprowadzonego badania uległo rozpuszczeniu prawie 100% klotrimazolu z badanej mieszaniny, podczas, gdy w tym samym czasie w warunkach badania rozpuszczeniu uległo 0,9% czystej substancji.

Przeprowadzone badania termiczne metodą skaningowej kalorymetrii różnicowej wykazały brak interakcji pomiędzy API a polimerem, co dowodzi, iż tworzą one prostą mieszaninę eutektyczną. Badania spektroskopowe uzyskane metodami spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera oraz rentgenowskiej dyfrakcji proszkowej również wykluczyły możliwość istnienia interakcji chemicznych pomiędzy składnikami stałego rozproszenia.

PK/2216/AG

Materiały i metody

Materiały

Klotrimazol (CLT) P. P. F. „Hasco-Lek” S.A., Polska. Poloksamer 407 (PXM) Fluka Biochemica, Niemcy. Laurylosiarczan sodu (SLS) P. P. H. „Stanlab, Polska. Ethanol czystość HPLC, Chempur, Polska. Metanol i acetonitryl czystość HPLC T. J. Baker, Holandia.

Otrzymywanie stałych rozproszeń metodą ugniatania tzw. kneading method (KN)

Odważone na wadze analitycznej składniki mieszanin, tj. klotrimazol i poloksamer 407, przenoszono do moździerza agatowego, a następnie zwilżano etanolem w ilości 1ml na 1 g suchej mieszaniny i ucierano do całkowitego odparowania rozpuszczalnika w temperaturze pokojowej. W celu ujednoczenia ziaren uzyskane mieszaniny przesiewano przez sito o wymiarze oczek 315 μm . Do momentu badań stałe rozproszenia były przechowywane w fiolkach z ciemnego szkła w eksykatorze zawierającym środek absorbujący wilgoć. Uzyskano mieszaniny w stosunkach wagowych klotrimazolu do poloksameru 407 odpowiednio 90.0:10.0, 80.0:20.0, 70.0:30.0, 60.0:40.0, 50.0:50.0, 40.0:60.0, 30.0:70.0, 20.0:80.0 i 10.0:90.0 % wag./wag.

Przedmiot wynalazku został przedstawiony na przykładach wykonania.

Przykład I

Stałe rozproszenie klotrimazolu (CLT) i Poloksameru 407 (PXM) otrzymano w wagowej proporcji 1cz. CLT+ 9cz. PXM zgodnie z metodą opisaną w niniejszym zgłoszeniu.

W celu wytworzenia stałego rozproszenia według wynalazku, z odważonych składników przygotowuje się jednorodną mieszaninę składników kompozycji, którą po zwilżeniu etanolem w ilości 1 ml na 1 g mieszaniny, ugniata się w moździerzu agatowym. W celu ujednoczenia ziaren, po całkowitym odparowaniu etanolu, mieszaninę przesiewa się przez sito 315 μm . Otrzymane stałe rozproszenie przechowuje się w zamkniętej fiole z ciemnego szkła w eksykatorze zawierającym środek absorbujący wilgoć.

Przykład II

PK/2216/AG

Stałe rozproszenie klotrimazolu (CLT) i Poloksameru 407 (PXM) otrzymano w wagowej proporcji 2cz. CLT+ 8cz. PXM zgodnie z metodą opisaną w niniejszym zgłoszeniu.

W celu wytworzenia stałego rozproszenia według wynalazku, z odważonych składników przygotowuje się jednorodną mieszaninę składników kompozycji, którą po zwilżeniu etanolem w ilości 1 ml na 1 g mieszaniny, ugniata się w moździerzu agatowym. W celu ujednolicenia ziaren, po całkowitym odparowaniu etanolu, mieszaninę przesiewa się przez sito 315 μm . Otrzymane stałe rozproszenie przechowuje się w zamkniętej fiolce z ciemnego szkła w eksykatorze zawierającym środek absorbujący wilgoć.

Przykład III

Stałe rozproszenie klotrimazolu (CLT) i Poloksameru 407 (PXM) otrzymano w wagowej proporcji 3cz. CLT+ 7cz. PXM zgodnie z metodą opisaną w niniejszym zgłoszeniu.

W celu wytworzenia stałego rozproszenia według wynalazku, z odważonych składników przygotowuje się jednorodną mieszaninę składników kompozycji, którą po zwilżeniu etanolem w ilości 1 ml na 1 g mieszaniny, ugniata się w moździerzu agatowym. W celu ujednolicenia ziaren, po całkowitym odparowaniu etanolu, mieszaninę przesiewa się przez sito 315 μm . Otrzymane stałe rozproszenie przechowuje się w zamkniętej fiolce z ciemnego szkła w eksykatorze zawierającym środek absorbujący wilgoć.

Przykład IV

Stałe rozproszenie klotrimazolu (CLT) i Poloksameru 407 (PXM) otrzymano w wagowej proporcji 4cz. CLT+ 6cz. PXM zgodnie z metodą opisaną w niniejszym zgłoszeniu.

W celu wytworzenia stałego rozproszenia według wynalazku, z odważonych składników przygotowuje się jednorodną mieszaninę składników kompozycji, którą po zwilżeniu etanolem w ilości 1 ml na 1 g mieszaniny, ugniata się w moździerzu agatowym. W celu ujednolicenia ziaren, po całkowitym odparowaniu etanolu, mieszaninę przesiewa się przez sito 315 μm . Otrzymane stałe rozproszenie przechowuje się w zamkniętej fiolce z ciemnego szkła w eksykatorze zawierającym środek absorbujący wilgoć.

Przykład V

PK/2216/AG

Stałe rozproszenie klotrimazolu (CLT) i Poloksameru 407 (PXM) otrzymano w wagowej proporcji 5cz. CLT+ 5cz. PXM zgodnie z metodą opisaną w niniejszym zgłoszeniu.

W celu wytworzenia stałego rozproszenia według wynalazku, z odważonych składników przygotowuje się jednorodną mieszaninę składników kompozycji, którą po zwilżeniu etanolem w ilości 1 ml na 1 g mieszaniny, ugniata się w moździerzu agatowym. W celu ujednolicenia ziaren, po całkowitym odparowaniu etanolu, mieszaninę przesiewa się przez sito 315 μm . Otrzymane stałe rozproszenie przechowuje się w zamkniętej fiołce z ciemnego szkła w eksykatorze zawierającym środek absorbujący wilgoć.

Przykład VI

Stałe rozproszenie klotrimazolu (CLT) i Poloksameru 407 (PXM) otrzymano w wagowej proporcji 6cz. CLT+ 4cz. PXM zgodnie z metodą opisaną w niniejszym zgłoszeniu.

W celu wytworzenia stałego rozproszenia według wynalazku, z odważonych składników przygotowuje się jednorodną mieszaninę składników kompozycji, którą po zwilżeniu etanolem w ilości 1 ml na 1 g mieszaniny, ugniata się w moździerzu agatowym. W celu ujednolicenia ziaren, po całkowitym odparowaniu etanolu, mieszaninę przesiewa się przez sito 315 μm . Otrzymane stałe rozproszenie przechowuje się w zamkniętej fiołce z ciemnego szkła w eksykatorze zawierającym środek absorbujący wilgoć.

Przykład VII

Stałe rozproszenie klotrimazolu (CLT) i Poloksameru 407 (PXM) otrzymano w wagowej proporcji 7cz. CLT+ 3cz. PXM zgodnie z metodą opisaną w niniejszym zgłoszeniu.

W celu wytworzenia stałego rozproszenia według wynalazku, z odważonych składników przygotowuje się jednorodną mieszaninę składników kompozycji, którą po zwilżeniu etanolem w ilości 1 ml na 1 g mieszaniny, ugniata się w moździerzu agatowym. W celu ujednolicenia ziaren, po całkowitym odparowaniu etanolu, mieszaninę przesiewa się przez sito 315 μm . Otrzymane stałe rozproszenie przechowuje się w zamkniętej fiołce z ciemnego szkła w eksykatorze zawierającym środek absorbujący wilgoć.

Przykład VIII

PK/2216/AG

Stałe rozproszenie klotrimazolu (CLT) i Poloksameru 407 (PXM) otrzymano w wagowej proporcji 8cz. CLT+ 2cz. PXM zgodnie z metodą opisaną w niniejszym zgłoszeniu.

W celu wytworzenia stałego rozproszenia według wynalazku, z odważonych składników przygotowuje się jednorodną mieszaninę składników kompozycji, którą po zwilżeniu etanolem w ilości 1 ml na 1 g mieszaniny, ugniata się w moździerzu agatowym. W celu ujednolicenia ziaren, po całkowitym odparowaniu etanolu, mieszaninę przesiewa się przez sito 315 μm . Otrzymane stałe rozproszenie przechowuje się w zamkniętej fiolce z ciemnego szkła w eksykatorze zawierającym środek absorbujący wilgoć.

Przykład IX

Stałe rozproszenie klotrimazolu (CLT) i Poloksameru 407 (PXM) otrzymano w wagowej proporcji 9cz. CLT+ 1cz. PXM zgodnie z metodą opisaną w niniejszym zgłoszeniu.

W celu wytworzenia stałego rozproszenia według wynalazku, z odważonych składników przygotowuje się jednorodną mieszaninę składników kompozycji, którą po zwilżeniu etanolem w ilości 1 ml na 1 g mieszaniny, ugniata się w moździerzu agatowym. W celu ujednolicenia ziaren, po całkowitym odparowaniu etanolu, mieszaninę przesiewa się przez sito 315 μm . Otrzymane stałe rozproszenie przechowuje się w zamkniętej fiolce z ciemnego szkła w eksykatorze zawierającym środek absorbujący wilgoć.

Metody badań

Badanie zawartości klotrimazolu w stałym rozproszeniu

W celu wykonania badania, odważano ekwiwalent stałego rozproszenia odpowiadający 10 mg klotrimazolu i rozpuszczano w 25 ml metanolu. Substancję oznaczano spektrofotometrycznie przy długości fali $\lambda = 260 \text{ nm}$, którą wyznaczono na podstawie wykreślonego widma absorbancji czystej API. Wartości stężenia obliczano w oparciu o wcześniej przygotowaną krzywą wzorcową, sporządzoną dla roztworów wzorcowych klotrimazolu o stężeniach w zakresie od 0,00999 mg/ml do 0,53760 mg/ml. Wykorzystując analizę regresji otrzymano liniową zależność absorbancji od stężenia substancji, którą opisuje równanie $y = 1,9478 x - 0,0078$ ($R^2=0,999$).

Badanie stałych rozprożeń metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej (ang. Differential Scanning Calorimetry – DSC)

PK/2216/AG

Termogramy zarejestrowano z użyciem kalorymetru przepływowego DSC 25 firmy Mettler Toledo, skalibrowanego względem temperatury topnienia indu o czystości 99,999%. Badane próbki umieszczano w standardowych naczynekach aluminiowych o pojemności 40 μl z przykrywką o pojedynczym otworze, natomiast próbkę odniesienia stanowiło puste naczynko z otworem w przykrywce. Obydwa naczynka przed umieszczeniem w komorze pomiarowej zamykano i ściskano w prasce. Próbki poddawano ogrzewaniu w zakresie temperatury od 25°C do 160°C przy szybkości ogrzewania 5°C/min. W trakcie badania przez komorę pomiarową przepuszczano gaz obojętny – argon o czystości 99,999%, z szybkością przepływu wynoszącą 50 ml/min.

Badanie stałych rozprożeń metodą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (ang. Fourier Transform Infrared Spectroscopy - FTIR)

Badanie przeprowadzono przy użyciu spektrofotometru FTIR Perkin-Elmer Spectrum Two z przystawką UATR. W celu wykonania pomiaru, na krystaliczną powierzchnię płytki urządzenia nanoszono odpowiednią ilość stałej próbki, tak aby przykryła całą powierzchnię pryzmatu. Następnie, próbkę dociśnięto za pomocą głowicy do miejsca przechodzenia wiązki promieniowania. Widma rejestrowano w zakresie 450 cm^{-1} do 4000 cm^{-1} .

Rentgenowska dyfraktometria proszkowa (XRPD)

Dyfraktogramy rejestrowane dla stałych rozprożeń zawierających klotrimazol i poloksamer oraz czystych substancji zarejestrowano z wykorzystaniem dyfraktometru proszkowego Ultima IV wyposażonego w system optyki CBO (Rigaku, Japonia) z promieniowaniem $\text{CuK}\alpha$ w temperaturze pokojowej. Stosowano prędkość skanowania 10°/min w zakresie kątów 2θ od 3° do 60°.

Badanie specyficznej szybkości rozpuszczania stałych rozprożeń w systemie z rotującym dyskami (Intrinsic Drug Dissolution Rates z użyciem tzw. Rotating Disc System)

Badanie rozpuszczalności otrzymanych stałych rozprożeń i czystego klotrimazolu przeprowadzono poprzez określenie specyficznej szybkości rozpuszczania w systemie z rotującymi dyskami. W przeprowadzonych testach czysta substancja była odnośnikiem, w stosunku do którego porównywano specyficzną szybkość rozpuszczania uzyskanych mieszanin. W celu przeprowadzenia badania, odważano na wadze analitycznej po 100 mg stałych rozprożeń i czystej API. Następnie, naważki przenoszono do matryc i prasowano

PK/2216/AG

przy pomocy laboratoryjnej prasy hydraulicznej pod naciskiem 2 ton. Nacisk ten utrzymywano przez 2 minuty. Przygotowane w ten sposób matryce ze sprasowanymi mieszaninami montowano w łaźni SR8-PLUS w systemie z rotującymi dyskami, spełniającym wymagania Farmakopei Polskiej IX. Pomiary prowadzono do 1000 ml 0,5 % roztworu laurylosiarczanu sodu (SLS) o temperaturze $37,0^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ przy prędkości rotacji dysków 50 obrotów/minutę. Medium do uwalniania przygotowywano bezpośrednio przed badaniem z użyciem odgazowanej wody oczyszczonej. Próbkę do oznaczeń pobierano w ilości 3 ml po przefiltrowaniu przez filtry o średnicy porów $45\ \mu\text{m}$ w 20, 40, 60, 80, 100 i 120 minucie badania.

Oznaczenie klotrimazolu metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej

Oznaczenie wykonano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej w aparacie Gilson wyposażonym w kolumnę Hewlett-Packard ODS Hypersil ($4,6 \times 100\ \text{mm}$, wielkość ziaren $5\ \mu\text{m}$), podwójną pompę, mikser oraz detektor spektrofotometryczny ze zmienną długością fali. Skład fazy ruchomej i warunki analizy ustalono empirycznie. Mieszanina acetonitrylu i wody w stosunku objętościowym 70:30 stanowiła eluent. Przygotowany bezpośrednio przed użyciem eluent był filtrowany przez filtr o wymiarze porów $0,22\ \mu\text{m}$ i odgazowywany przez 15 min przy pomocy myjki ultradźwiękowej. Prędkość przepływu fazy ruchomej przez kolumnę wynosiła $1,5\ \text{ml/min}$ w warunkach izokratycznych. Oznaczenie ilościowe wymywanego z kolumny klotrimazolu wykonywano przy pomocy detektora spektrofotometrycznego przy długości fali $\lambda = 230\ \text{nm}$. Czas retencji czystej substancji aktywnej wynosił około 2,6 minuty. Stężenie klotrimazolu oznaczano metodą wzorca zewnętrznego, a krzywą wzorcową opisaną równaniem $y = 59927x + 175,77$ ($R^2=0,9995$) wykreślono na podstawie wielkości pola powierzchni pików uzyskanych dla roztworów wzorcowych substancji o stężeniach w zakresie od $0,01170\ \text{mg/ml}$ do $0,00936\ \text{mg/ml}$.

Wyniki

Zawartość substancji

Zawartość klotrimazolu w stałych rozproszeniach mieściła się w zakresie 97,44% do 102,25% deklarowanej zawartości.

Badanie stałych rozprożeń metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej (ang. Differential Scanning Calorimetry – DSC)

PK/2216/AG

Krzywe DSC otrzymane dla czystych komponentów klotrimazolu, poloksameru i otrzymanych stałych rozproszeń przedstawiono na figurze 1. Na krzywej DSC czystego klotrimazolu zaobserwowano tylko jeden pik endotermiczny odpowiadający topnieniu leku w 143,6°C. Podobnie, dla czystego poloksameru 407 obserwowano jeden efekt endotermiczny, związany z topnieniem polimeru w temperaturze 52,6°C. Wyniki badania DSC pokazują, iż klotrimazol tworzy z poloksamerem prosty układ eutektyczny: na większości termogramów uzyskanych dla stałych rozproszeń obserwowano dwa piki endotermiczne. Położenie początku pierwszego piku pojawiało się w przybliżeniu w tej samej temperaturze 46,6°C, bez względu na skład ilościowy mieszaniny. Temperatura ta jest temperaturą reakcji eutektycznej pomiędzy poloksamerem i klotrimazolem. Natomiast, drugi pik endotermiczny, którego maksimum temperatury obniża się ze spadkiem udziału procentowego klotrimazolu w formulacji, odpowiada przejściu mieszaniny w stan ciekły.

Badanie stałych rozproszeń metodą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (ang. Fourier Transform Infrared Spectroscopy - FTIR)

Widma FTIR klotrimazolu i stałych rozproszeń klotrimazolu z poloksamerem przedstawiono na figurze 2. Pasma absorpcyjne pojawiające się przy liczbach falowych: 3166 cm^{-1} (drgania rozciągające C-H), 1584, 1487 cm^{-1} (drgania rozciągające C-C pierścienia benzenu) i 741 cm^{-1} (drgania rozciągające C-H) są charakterystyczne dla czystego klotrimazolu, natomiast na widmie poloksameru widoczne są charakterystyczne pasma absorpcyjne przy liczbach falowych 2889 cm^{-1} (drgania rozciągające C-H), 1342 cm^{-1} (O-H) i 1111 cm^{-1} (drgania rozciągające C-O-C). Na widmach FTIR badanych stałych rozproszeń stwierdzono jedynie obecność pasm absorpcyjnych charakterystycznych dla poszczególnych składników, co potwierdza, że klotrimazol i poloksamer 407 w stałych rozproszeniach uzyskanych metodą ugniatania nie wchodzi z sobą w interakcje.

Rentgenowska dyfraktometria proszkowa (XRPD)

Jak przedstawiono na figurze 3, na dyfraktogramach proszkowych czystego klotrimazolu obserwowano wyraźne, intensywne piki przy 2θ 12,34° i 20,66°, natomiast dla czystego poloksameru przy 2θ 19,06° i 23,24°, co potwierdza krystaliczny charakter obu substancji. Na dyfraktogramach stałych rozproszeń klotrimazolu z poloksamerem, otrzymanych metodą ugniatania, obserwowano jedynie piki charakterystyczne dla obu

PK/2216/AG

substancji o intensywności zależnej od ich udziału procentowego w mieszaninie i nie stwierdzono istotnych zmian w ich położeniu, co potwierdza brak interakcji pomiędzy substancją czynną i polimerem.

Badanie specyficznego szybkości rozpuszczania stałych rozprożeń w systemie z rotującym dyskami (Intrinsic Drug Dissolution Rates z użyciem tzw. Rotating Disc System)

Na figurze 4 pokazano przebieg procesu rozpuszczania czystego klotrimazolu oraz substancji zawartej w stałych rozprożeniach z poloksamerem w funkcji czasu. Szybkość rozpuszczania czystego klotrimazolu jest bardzo mała, rozpuszcza się mniej niż 1% leku w ciągu 2 godzin. Rozprożenie klotrimazolu w hydrofilowym nośniku, jakim jest poloksamer, znacznie zwiększa rozpuszczalność API do prawie 100% w przypadku kompozycji o składzie 80.0:20.0 % wag./wag. CLT/PXM i 70.0:30.0 % wag./wag. CLT/PXM. Z formułacji 60.0:40.0 % wag./wag. CLT/PXM oraz 50.0:50.0 % wag./wag. CLT/PXM zawierających odpowiednio 60.0 i 50.0 % wag./wag. klotrimazolu uległo rozpuszczeniu w czasie testu ponad 70% substancji. Z kompozycji zawierających od 10.0 % wag./wag. do 40.0 % wag./wag. klotrimazolu uległo rozpuszczeniu około 50% substancji. Najmniejszą poprawę rozpuszczalności – około 5 razy, odnotowano dla kompozycji zawierającej 90.0:10.0 % wag./wag. klotrimazolu.

Podsumowując, właściwości fizykochemiczne i badania rozpuszczania klotrimazolu ze stałych rozprożeń otrzymywanych metodą ugniatania potwierdzają wpływ tej techniki na zwiększenie szybkości rozpuszczania CLT. Ponadto, analiza XRPD i FTIR nie wykazała oddziaływania chemicznego pomiędzy składnikami mieszanin.